Химия растительного сырья. 2026. №2. С. 270–279.
Khimiya rastitel'nogo syr'ya, 2026, no. 2, pp. 270–279.
DOI: 10.14258/jcprm.20260217388

УДК 57.044:574.3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЯНТАРНОЙ И КОФЕЙНОЙ КИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ МЯТЫ МЕТОДОМ ВЭЖХ С УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМ (УФ) И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ (МС) ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ: ОПЫТ ОЦЕНКИ ИХ ЭКЗОГЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ*

© ***А.В. Стрелецкий[1], О.В. Шелепова[2]**, А.О. Моисеев[3], Л.П. Воронина[1,3]***

[1] Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью Федерального медико-биологического агентства, ул. Погодинская, 10/1, Москва, 119121, Россия
[2] Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, ул. Ботаническая, 4, Москва, 127276, Россия, shov_gbsad@mail.ru
[3] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1/12, Москва,119234, Россия

Разработан метод количественного определения янтарной и кофейной кислот в листьях мяты сорта Мелица методом ВЭЖХ с УФ- и МС-детектрированием. Установлено, что метод ВЭЖХ-УФ применим только для определения кофейной кислоты, а методы ВЭЖХ-МС в двух различных режимах регистрации ионов – мониторинга выделенных ионов (SIM) и выбранных реакций (MRM) могут быть использованы для определения концентраций обоих видов кислот – янтарной и кофейной. При анализе сложных смесей, к которым относятся анализируемые растительные экстракты, предпочтение необходимо отдавать режиму MRM, как более селективному и чувствительному методу.

Фолиарное использование 0.1% водного раствора янтарной кислоты в фазу вегетативного роста растений мяты для регулирования их роста и развития привело к увеличению биомассы одного растения и соцветия мяты на 20 и 43%, соответственно, по сравнению с контролем. Использование в качестве регулятора роста раствора кофейной кислоты двух концентраций (0.01 и 0.1%) такого результата не вызвало – наблюдалось снижение биомассы одного растения и соцветия на 9–8% и 3%, соответственно. Обработка растений мяты янтарной кислотой вызвала рост концентрации данного метаболита в листьях более чем в 20 раз. В то время как при фолиарном использовании кофейной кислоты содержание данного метаболита в листьях мяты оставалось на уровне контроля. Для повышения урожайности мяты сорта Мелица в фазу вегетативного роста рекомендуется использовать фолиарную обработку 0.1% раствором янтарной кислоты.

Ключевые слова: ВЭЖХ-УФ-МС, янтарная кислота, кофейная кислота, листья мяты.

Для цитирования: Стрелецкий А.В., Шелепова О.В., Моисеев А.О., Воронина Л.П. Определение янтарной и кофейной кислот в листьях мяты методом ВЭЖХ с ультрафиолетовым (УФ) и масс-спектрометрическим (МС) детектированием: опыт оценки их экзогенного применения // Химия растительного сырья. 2026. №2. С. 270–279. https://doi.org/10.14258/jcprm.20260217388.

Введение

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии занимает в настоящее время ведущее место в изучении растительного сырья. За последние годы накопился большой объем данных по исследованию культивируемых и природных видов растений для определения в них количественного содержания гидроксикоричных кислот [1, 2]. Гидроксикоричные кислоты по химическому строению относятся к представителям обширного класса фенилпропаноидов. Янтарная и кофейная кислоты обладают антиоксидантными свойствами. А применение биологически активных соединений (БАВ), обладающих антиоксидантной активностью, является одним из возможных путей регуляции физиологических процессов с целью повышения урожайности,

*Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20260217388s

** Автор, с которым следует вести переписку.

выхода эфирного масла и устойчивости растений к различным абиотическим и биотическим стрессам. Янтарная кислота (ЯК) стимулирует дыхание, фотосинтез и утилизацию запасных жиров, также увеличивает высоту растений, число стеблей, площадь листовой поверхности и содержание пигментов. Может изменять энергетический уровень ферментов и стимулировать синтез восстановленных форм аминокислот и выполнять сигнальную функцию, индуцируя устойчивость растений к патогенам и стрессорным факторам [3, 4]. В литературе отмечено, что кофейная кислота (КК) стимулирует фотохимическую активность хлоропластов, уменьшает деградацию клеточных мембран, увеличивает устойчивость к гипотермии [5].

И если определению содержания кофейной кислоты в растениях посвящено большое количество статей [6–12], то вопрос поиска прямого метода определения янтарной кислоты в растениях остается актуальным. Для качественного и количественного применения большинства гидроксикорчиных соединений (кумаровая, кофейная, феруловая, синаповая кислоты и др.) применим метод обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием, а для повышения точности определения многокомпонентной сложной смеси экстракта используют масс-спектрометрическое детектирование [8, 13, 14]. Обращенно-фазовая ВЭЖХ применима для разделения малых органических кислот, включая янтарную кислоту [15, 16]. Однако отсутствие у янтарной кислоты хромофорных групп, обеспечивающих сильное поглощение в УФ-области, осложняет ее количественное определение в сложных матрицах и требует этапа дополнительной очистки [17]. Для решения этой проблемы применяют предколоночную дериватизацию аналита. Эффективным подходом является превращение кислоты в производные, содержащие УФ-активные хромофорные группы. Например, для этого используют такие реагенты, как 1-нафтиламин в присутствии активирующего агента N,N'-диизопропилкарбодиимида [18]. Для прямого и одновременного определения 10 низкомолекулярных органических кислот в экстрактах растительных тканей был разработан метод ВЭЖХ-МС с ионизацией электрораспылением [19]. Данный метод не включает стадию дериватизации и был применен для определения янтарной кислоты в трех видах растительного сырья: экстрактах листьев сахарной свеклы, ксилемном соке томата и коммерческом апельсиновом соке.

Цель настоящей работы – отработка методики количественного определения янтарной и кофейной кислот в листьях мяты сорта Мелица методом высокоэффективной хроматографии с УФ- и МС-детектрированием (ВЭЖХ-УФ-МС). А также определение влияния фолиарной обработки растений мяты растворами янтарной и кофейной кислотами на урожайность и выхода эфирного масла растений мяты.

Экспериментальная часть

Характеристика растительных образцов. Объектами исследования были растения мяты. Представители рода *Mentha* (семейство Lamiaceae) давно, безопасно и широко используется как лекарственное и пряно-ароматическое растение. Из эфирного масла выделяют ментол – обезболивающее средство, входящее в состав многих комплексных препаратов, используемых в виде масляных и спиртовых настоек [20]. Кроме того, надземная часть растений мяты широко применяется в кондитерской и ликероводочной промышленности, а также в кулинарии многих народов как пряно-ароматическое и пряно-вкусовое растение. Входящие в ее состав физиологически активные вещества улучшают вкусовые качества продуктов и усиливают их усвояемость, благоприятно влияют на обмен веществ. Многие лечебные эффекты мяты, а именно болеутоляющие, противовоспалительные и успокаивающие свойства, тесно связаны как с основными компонентами эфирного масла, так и с вторичными метаболитами данного вида мяты. Кроме того, в мяте содержится ряд фенольных соединений, которые являются высокоэффективными антиоксидантами.

Мята сорта Мелица – травянистое растение семейства Яснотковые, цветки мелкие, лиловые, в наземных частях растений содержание эфирных масел – 0.3–0.5% [21].

Схема вегетационного опыта: контроль – растения мяты без обработки препаратами; вариант 1 – растения мяты в фазу вегетации фолиарно обработаны раствором янтарной кислоты в концентрации 0.1 мг/мл; вариант 2 – растения мяты в фазу вегетации фолиарно обработаны раствором кофейной кислоты в концентрации 0.01 мг/мл; вариант 3 – растения мяты в фазу вегетации фолиарно обработаны раствором кофейной кислоты в концентрации 0.1 мг/мл. Обработка проводилась в июле. Далее в течение 10 дней растения находились без полива. При этом среднемесячная температура воздуха соответствовала 25 °С и на этот период выпадал температурный максимум, который соответствовал 33 °С. На 11-е сутки после обработки провели отбор образцов свежих листьев мяты. Эксперимент был выполнен в трехкратной биологической повторности (n=3), при этом каждая повторность включала четыре растения, выращиваемых в одном сосуде (горшке).

С каждого растения отбирали листья 3–4-го яруса от точки роста. Листья со всех пяти растений одного сосуда объединяли в смешанную пробу, которая и представляла собой одну биологическую повторность для дальнейшего анализа.

После периода вегетации растения были срезаны и выполнен учет биомассы растений, а также спектрофотометрически определено содержание хлорофилла *a* и *b* и каротиноидов в листьях растений [22] и содержание общего азота с помощью CHNS-анализатора (EURO EA 3000 (EuroVector, Италия).

Хроматографическое определение содержания янтарной и кофейной кислот в листьях мяты проводили с использованием ВЭЖХ-системы Agilent 1200 (Agilent Technologies, США), оснащенной автосэпмлером, градиентным насосом, дегазатором, термостатом колонок, диодно-матричным детектором. Система сопряжена с трехквадрупольным масс-спектрометрическим детектором Agilent 6430 (Agilent Technologies, США). Сбор и анализ данных проводили с помощью ПО MassHunter (Agilent Technologies, США).

Приготовление образцов для хроматографирования. Навеску свежего растительного образца (около 2 г) гомогенизировали в ступке с прибавлением метанола (общий объем 10 мл), после чего перемешивали на вортексе и переносили в центрифужные пробирки. Далее центрифугировали опытные образцы при 4000 об./мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость переносили в пробирки типа эппендорф, перемешивали, фильтровали и отбирали аликвоту 100 мкл в хроматографические виалы объемом 1 мл с добавлением 900 мкл 0.1% водного раствора муравьиной кислоты. Коэффициент разбавления составил 50 раз относительно концентрации градуировочного раствора.

Хроматографическое разделение проводили в обращено-фазовом режиме на аналитической колонке ZORBAX SB-C18, 2 × 50 мм, 5 мкм, со скоростью потока подвижной фазы 0.1 мл/мин и при температуре термостата колонок, равной 30 °С. В качестве подвижной фазы использовали 0.1% водный раствор муравьиной кислоты (А, 70%) и ацетонитрил (Б, 30%). Разделение проводили в режиме изократического элюирования. Объем вводимой пробы составлял 5 мкл, продолжительность анализа – 10 мин.

Масс-хроматограммы записывались в режиме регистрации отрицательных и положительных ионов. Напряжение на капилляре – -4.0 кВ, температура газа-осушителя – 350 °С при расходе 5 л/мин. Детектирование масс проводили в диапазоне 50–500 Да в режимах полного сканирования, мониторинга выделенных ионов (SIM) и выбранных реакций (MRM) (табл. 1).

В режиме SIM регистрация велась по *m/z* депротонированной молекулы $[M\text{-}H]^-$, для ЯК и КК соответственно, *m/z* 117 и 179. Подбор ионов для регистрации в режиме MRM проводился исходя из данных масс-спектров, представленных на рисунке 1. Для ЯК (рис. 1А) исходным ионом предшественником является депротонированная молекула $[M\text{-}H]^-$, *m/z* 117, при фрагментации которой характерно образование таких фрагментов как $[M\text{-}H\text{-}H_2O]^-$, *m/z* 99 и $[M\text{-}H\text{-}CO_2]^-$, *m/z* 73. Масс-спектры фрагментов КК могут быть зарегистрированы как для положительных (рис. 1Б), так и для отрицательных (рис. 1В) ионов. Для отрицательных ионов, как и в случае янтарной кислоты, характерно отщепление CO_2 у иона-предшественника $[M\text{-}H]^-$, *m/z* 179 с образованием $[M\text{-}H\text{-}CO_2]^-$ *m/z* 135, в то же время для положительных ионов наблюдается отщепление H_2O от протонированной молекулы $[M+H]^+$, *m/z* 181, с образованием $[M+H\text{-}H_2O]^+$, *m/z* 163.

Градуировочные графики были получены при разведении аналитически чистых сухих препаратов КК и ЯК в воде, с приготовлением концентраций в интервале от 0.01 до 10 мкг/мл. Для определения количества аналита были отобраны следующие ионные переходы: 179>135 и 117>73 для отрицательных ионов ЯК и КК соответственно. С целью качественной идентификации веществ выбраны ионные переходы 181>163 для положительных ионов КК и 117>99 для отрицательных ионов ЯК.

Таблица 1. Условия масс-спектрометрического анализа в режимах MRM и SIM

Аналит	Режим MRM		Режим SIM	Время удерживания, мин
	ионный переход	энергия соударения, усл.ед.	$[M\text{-}H]^-$	
Янтарная кислота	117 > 73 отрицательные ионы 117 > 99 отрицательные ионы	5 5	117	4.1
Кофейная кислота	179 > 135 отрицательные ионы 181 > 163 положительные ионы	10 10	179	5.1

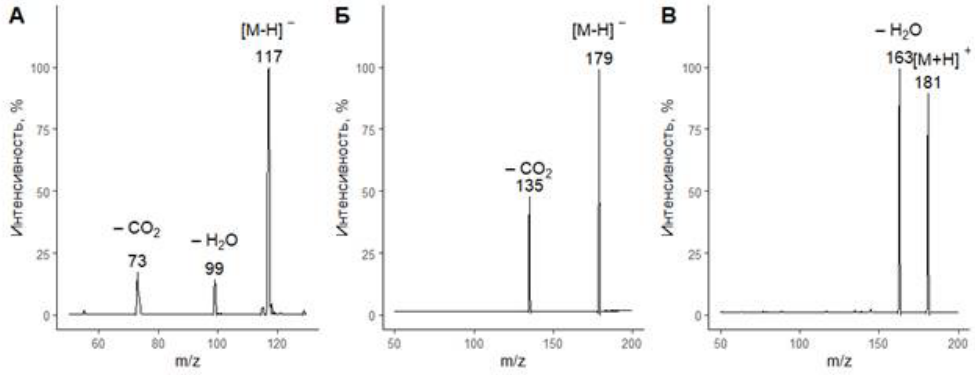


Рис. 1. Масс-спектры фрагментных ионов янтарной (А) и кофейной кислоты (Б, В), полученных в ходе ударной столкновительной ионизации

УФ-детектирование осуществлялось при длине волны 325 нм, соответствующей максимуму поглощения КК (рис. 1 электронного приложения), который объясняется ее структурой с сопряженной системой двойных связей и фенольными гидроксильными группами. Вместе с тем у ЯК, представляющей собой насыщенную дикарбоновую кислоту, подобные хромофорные группы отсутствуют, что исключает возможность ее детектирования во всем ультрафиолетовом диапазоне из-за отсутствия полос поглощения на спектре.

Хроматограммы градуировочных растворов представлены на рисунках 2 и 3. Пределы количественного определения (ПКО) были рассчитаны по стандартному отклонению (*SD*) регистрируемого аналитического сигнала по времени удерживания аналита в шести параллельных холостых пробах и тангенсу угла наклона (*a*) градуировочного графика по формуле: $ПКО = 10 \cdot SD / a$.

Отдельно стоит обратить внимание на возможность количественного определения кофейной кислоты УФ-детектированием, но только при ограничении концентрации от 1 мкг/мл и более.

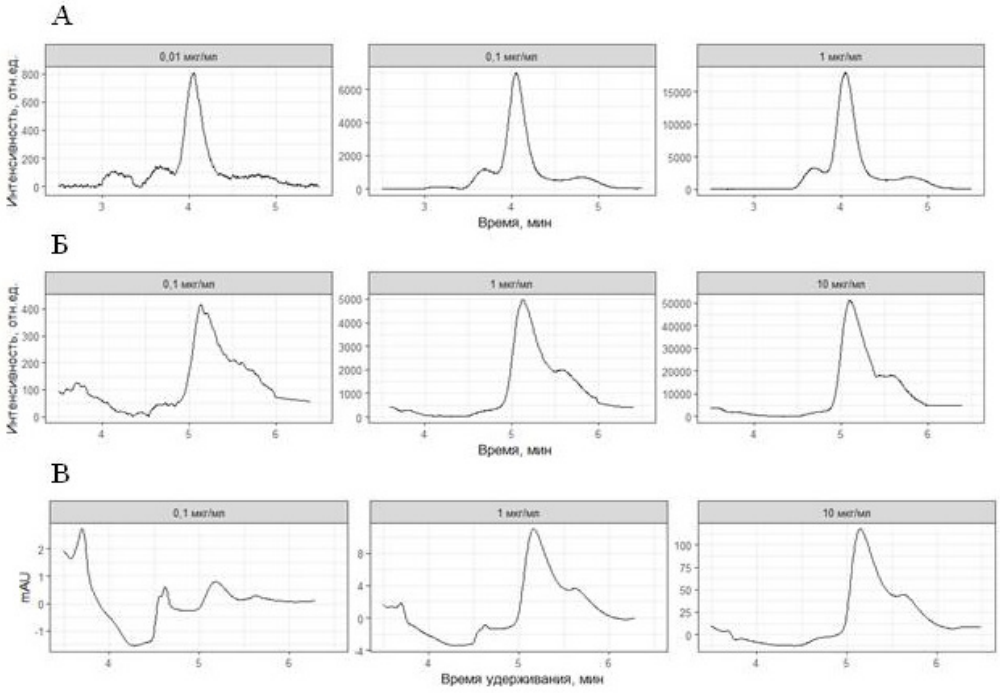


Рис. 2. SIM хроматограммы градуировочных растворов янтарной кислоты (А) и кофейной кислоты (Б) в разных концентрациях; (В) УФ-хроматограммы градуировочных растворов янтарной кислоты (В) при λ=325 нм

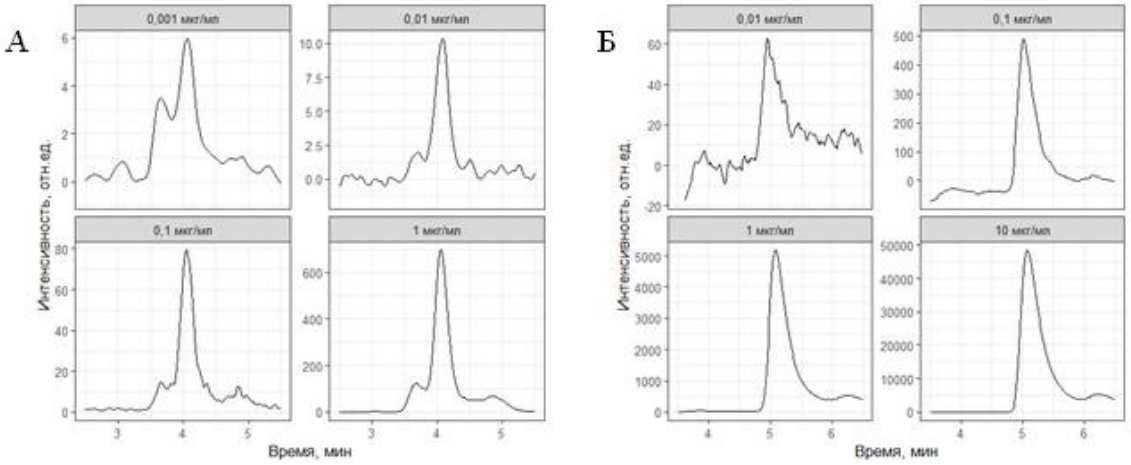


Рис. 3. MRM хроматограммы градуировочных растворов янтарной кислоты (А) и кофейной кислоты (Б) в разных концентрациях

Полученные метрологические характеристики представлены в таблице 2, согласно которым можно указать на следующее: метод ВЭЖХ-УФ применим только для КК, методы МС в двух различных режимах регистрации ионов SIM и MRM могут быть использованы для определения концентраций обоих видов кислот – ЯК и КК. Тем не менее в исследовании предпочтение отдается MRM как более селективному и чувствительному методу, что очень важно при анализе сложных смесей, к которым относятся экстракты.

Обсуждение результатов

Количественная оценка проводилась по MRM-хроматограммам (КК *m/z* 179/135 при RT=5.1 мин и ЯК *m/z* 117/73 при RT=4.1 мин). Наличие других хроматографических пиков MRM-хроматограммы при *m/z* 179/135 указывает на то, что в пробах присутствуют другие производные кофейной кислоты. Например, основной по площади пик при 7.1 мин на MRM-, УФ- и МС-хроматограммам (рис. 2 электронного приложения), согласно масс-спектральным данным, соответствует розмариновой кислоте, представляющий собой сложный эфир кофейной кислоты и 3,4-дигидроксифенилмолочной кислоты.

Применение ЯК положительно отразилось на формировании биомассы мяты, причем достоверно увеличилась масса стебля и проявляется тенденция к увеличению массы листьев (табл. 3). Определение влажности растительного материала показало, что содержание воды в листьях мяты во всех вариантах опыта было стабильным и варьировало в пределах 56.0±1.5%. Учитывая это, представление данных в пересчете на сырую биомассу является корректным для сравнительного анализа, так как пересчет на абсолютно сухую массу (с использованием коэффициента 2.27) привел бы к пропорциональному увеличению всех значений, но не изменил бы характер выявленных различий между вариантами.

При этом средняя высота растений увеличилась от 69 см на контроле до 76 см на опытном варианте с применением ЯК и равна 65–66 см в опытных вариантах с применением КК. Использование КК сопровождалось тенденцией к снижению массы растений, не отражаясь на массе сформированных соцветий, независимо от испытуемых концентраций (табл. 3).

Таблица 2. Метрологические характеристики определения кофейной и янтарной кислот методом ВЭЖХ-УФ и ВЭЖХ-МС при регистрации в режимах MRM и SIM

Аналит	ВЭЖХ-УФ (при λ=325 нм)			Режим MRM			Режим SIM		
	ПКО, мкг/мл	Линейная область, нг/мл	R^2	ПКО, мкг/мл	Линейная область, нг/мл	R^2	ПКО, мкг/мл	Линейная область, нг/мл	R^2
КК	1.0	1–10	0.989	0.04	0.04–10	0.996	0.08	0.08–10	0.998
ЯК	–	–	–	0.007	0.007–1	0.979	0.04	0.04–1	0.982

Таблица 3. Сырая биомасса растения (Сорт – Метелица) в зависимости применения янтарной и кофейных кислот

Вариант	Общая биомасса, г	Масса стебля, г	Масса листа, г	Масса соцветий, г
Контроль*	8.1±2.6	5.0±1.1	3.0±0.7	1.5±0.7
Вариант 1 –ЯК-0.1 мг/мл	9.7±1.7	6.3±1.4	3.3±0.5	2.1±0.4
Вариант 2 –КК-0.01 мг/мл	7.4±1.7	4.3±0.8	2.8±0.9	1.4±0.4
Вариант 3 –КК-0.1 мг/мл	7.5±0.3	4.7±0.4	2.7±0.4	1.4±0.1
НСР$_{0.05}$	*1.1*	*0.9*	*0.5*	*0.3*

Примечание: * – контроль без фолиарной обработки, НСР$_{0.05}$ – наименьшая существенная разница при 5% уровне значимости.

Содержание хлорофилла *a* и *b* в листьях растений в опытных вариантах с применением ЯК снижается (табл. 4). При использовании КК проявляется тенденция к увеличению хлорофилла *a* и снижению хлорофилла *b,* что приводит к изменению соотношения Chl a/Chl b с 1.3 на контроле до 2.0 и 2.2 в вариантах 2 и 3 с разными концентрациями (0.01 и 0.1мг/мл) КК. Использование в эксперименте более высокой концентрации КК (0.1 мг/мл) приводит к увеличению содержания каротиноидов (от 0.64 до 0.85 мг/г сыр. массы) в листьях растений, а ЯК в этой же концентрации – к снижению их содержания (до 0.55 мг/г) (табл. 4).

Достоверно снижается в листьях мяты содержание общего азота от 1.24% на контроле до 0.98–1.00% в опытных вариантах с применением органических кислот (табл. 4).

После обработки листьев водным 0.1% раствором ЯК наблюдался резкий рост концентрации (более чем в 20 раз) метаболита ЯК в листьях (рис. 4). И даже после фолиарной обработки растений мяты КК фиксировалось увеличение концентрации ЯК в листьях в 2–3 раза. Противоположная картина наблюдалась при обработках растений КК. Во всех вариантах обработки, включая «контроль», концентрация не изменялась, оставаясь на уровне 6–7 мкг/г. При этом не удалось обнаружить различий на вариантах с фолиарной обработкой КК и без нее.

Рост концентрации ЯК в листьях мяты перечной после обработки ее раствором связан с быстрым поглощением кислоты, ее включением в метаболические процессы, стимуляцией синтеза собственной ЯК и защитной реакцией растения на обработку. Наблюдаемый нами эффект подтверждает эффективность ЯК как стимулятора метаболизма и роста растений. Аналогичные результаты по стимуляции роста растений пшеницы, ячменя и брусники после обработки растворами янтарной кислоты отмечены в серии работ [4, 23, 24].

Таблица 4. Содержание пигментов (*a*, *b*, каротиноиды) и общего азота в листьях мяты (Сорт – Метелица)

Вариант	Пигменты, мг/г сыр. массы				Общий азот, %
	a	*b*	Сумма хлорофилла	каротиноиды	
Контроль*	2.1±0.5	1.5±0.3	3.6	0.64±0.06	1.24±0.09
Вариант 1 –ЯК-0.1 мг/мл	1.5±0.2	0.7±0.2	2.2	0.55±0.05	0.98±0.05
Вариант 2 –КК-0.01 мг/мл	2.1±0.4	1.0±0.3	3.2	0.61±0.06	1.00±0.05
Вариант 3 –КК-0.1 мг/мл	2.4±0.5	1.1±0.3	3.5	0.85±0.08	1.00±0.06
НСР$_{0.05}$					*0.11*

Примечание: * – контроль без фолиарной обработки, НСР$_{0.05}$ – наименьшая существенная разница при 5% уровне значимости

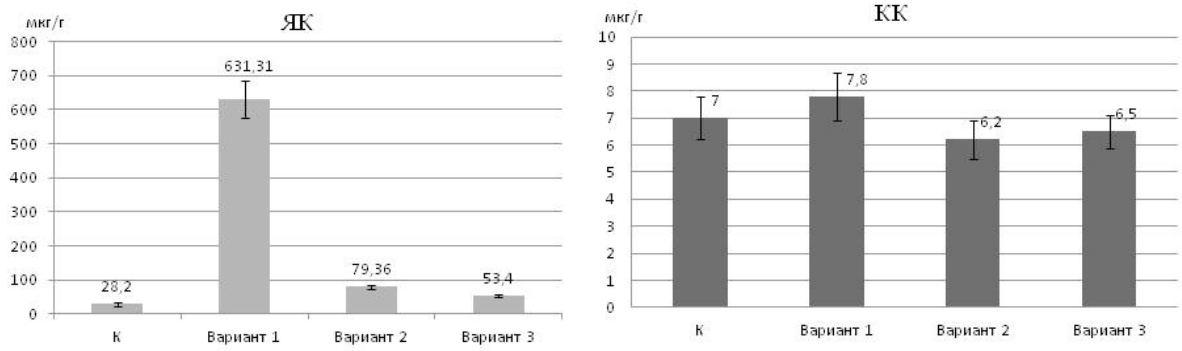


Рис. 4. Результаты анализа содержания янтарной (ЯК) и кофейной (КК) кислот в листьях мяты

Неоднозначное действие кофейной кислоты на ростовые показатели также отмечалось в работах [25, 26] – а именно не выявлено эффекта обработки КК растений картофеля на высоту побегов и число ярусов, но отмечено увеличение массы корневой системы. Отсутствие изменений в концентрации КК после обработки может быть связано с ее быстрым превращением в другие фенольные соединения.

Выводы

Таким образом, разработан метод количественного анализа ЯК и КК в листьях мяты методом ВЭЖХ-УФ-МС. Установлено, что ВЭЖХ-УФ применим исключительно для определения КК, тогда как ВЭЖХ-МС в режимах SIM и MRM позволяет количественно определять обе кислоты. Для анализа растительных экстрактов режим MRM признан предпочтительным благодаря более высокой селективности и чувствительности.

С помощью разработанного метода исследована динамика содержания ЯК и КК в листьях мяты сорта Метелица после фолиарной обработки растворами этих кислот. Установлена прямая корреляция между увеличением эндогенного содержания янтарной кислоты, стимуляцией роста и повышением урожайности мяты. На основании полученных результатов для повышения продуктивности мяты рекомендована фолиарная обработка 0.1% раствором янтарной кислоты в фазу вегетативного роста.

Дополнительная информация
В электронном приложении к статье (DOI: https://www.doi.org/10.14258/jcprm.20260217388s) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование
Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было. Образцы мяты сорта Метелица получены из коллекции научно-исследовательского отдела экспериментальной биологии и патологии растений ГБС РАН, развиваемой при поддержке государственного задания № 124030100058-4.

Конфликт интересов
Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ
Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы предоставите соответствующие ссылки на автора(ов), источник и Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Компанцева Е.В., Саушкина А.С. Использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации гидроксикоричных кислот в растительном сырье (Обзор). Сообщение 2 // Химия растительного сырья, 2024. №3. С. 5–27. https://doi.org/10.14258/jcprm.20240312784.
2. Величко В.В., Ластовка А.В., Карташова М.Е., Гайдук А.А., Круглов Д.С. Разработка и валидация ВЭЖХ-методики определения кофейной кислоты в траве нонеи русской // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2025. Т. 15, №2. С. 222–228. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-680.
3. Змушко А.А., Красинская Т.А. Применение янтарной кислоты в растениеводстве // Плодоводство. 2022. Т. 31, №1. С. 288–292.
4. Якунина А.В., Синицына Ю.В. Влияние салициловой и янтарной кислот разных концентраций на всхожесть и морфометрические показатели растений овса посевного *Avena sativa* L. и пшеницы твердой *Triticum durum* L. // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. 2023. Т. 16, №1. С. 54–63.
5. Кириллова И.Г., Макеева И.Ю. Действие регуляторов роста с антиоксидантными свойствами на биохимические показатели клубней растения картофеля // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2021. Т. 3, №35. С. 3–12.
6. Zeb A. A reversed phase HPLC-DAD method for the determination of phenolic compounds in plant leaves // Anal. Methods. 2015. Vol. 7, no. 18. Pp. 7753–7757.
7. Дитченко Т.И., Шабуня П.С., Фатыхова С.А., Молчан О.В., Юрин В.М. Анализ производных кофейной кислоты в каллусной культуре Echinaceapurpurea // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7, №3. Pp. 54–63. https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-2-54-63.
8. Bajkacz S. et al. Determination of Flavonoids and Phenolic Acids in Plant Materials Using SLE-SPE-UHPLC-MS/MS Method // Food Anal. Methods. 2018. Vol. 11, no. 12. Pp. 3563–3575.

9. Mattila P., Kumpulainen J. Determination of Free and Total Phenolic Acids in Plant-Derived Foods by HPLC with Diode-Array Detection // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. Vol. 50, no. 13. Pp. 3660–3667. https://doi.org/10.1021/jf020028p
10. Chaowuttikul C., Palanuvej C., Ruangrungsi N. Quantification of chlorogenic acid, rosmarinic acid, and caffeic acid contents in selected Thai medicinal plants using RP-HPLC-DAD // Braz. J. Pharm. Sci. 2020. Vol. 56. e17547.
11. Моисеев Д. Определение фенольных кислот в растениях методом ВЭЖХ // Химия растительного сырья. 2014. №3. С. 171–174.
12. Компанцева Е.В., Сливкин А.И. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в количественном анализе гидроксикоричных кислот растений, произрастающих в Российской Федерации // Сорбционные и хроматографические процессы. 2023. Т. 23, №2. С. 255–268. https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11149.
13. Matei A.O., Gatea F., Radu G.L. Analysis of Phenolic Compounds in Some Medicinal Herbs by LC-MS // J. Chromatogr. Sci. 2015. Vol. 53, no. 7. Pp. 1147–1154.
14. Szewczyk K., Olech M. Optimization of extraction method for LC-MS based determination of phenolic acid profiles in different Impatiens species // Phytochemistry Letters. 2017. Vol. 20. Pp. 322–330.
15. Cawthray G.R. An improved reversed-phase liquid chromatographic method for the analysis of low-molecular mass organic acids in plant root exudates // Journal of Chromatography A. 2003. Vol. 1011, no. 1. Pp. 233–240.
16. Zotou A., Loukou Z., Karava O. Method Development for the Determination of Seven Organic Acids in Wines by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography // Chromatographia. 2004. Vol. 60, no. 1. Pp. 39–44.
17. Wang P., Zhou R. Determination of Organic Acids Exuded from Plant Roots by High Performance Liquid Chromatography // Chinese Journal of Chromatography. 2006. Vol. 24, no. 3. Pp. 239–243.
18. Seddiq N., Asan A. One-step pre-column derivatization method for HPLC-UV determination of organic acids in fruit juices // Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 2023. Vol. 46, no. 11–15. Pp. 192–199.
19. Rellán-Álvarez R. et al. Development of a New High-Performance Liquid Chromatography–Electrospray Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Method for the Determination of Low Molecular Mass Organic Acids in Plant Tissue Extracts // J. Agric. Food Chem. 2011. Vol. 59, no. 13. Pp. 6864–6870.
20. Shelepova O.V., Baranova E.N., Tkacheva E.V., Evdokimenkova Y.B, Ivanovskii A.A., Konovalova L.N., Gulevich A.A. Aromatic Plants Metabolic Engineering: A review // Agronomy. 2022. Vol. 12. 3131. https://doi.org/10.3390/agronomy12123131.
21. Патент на селекционное достижение № 11374 (РФ). Мята (*Mentha* × *piperita* L.) Метелица / Т.В. Воронкова, О.Л. Енина, В.В. Кондратьева, Л.С. Олехнович, М.В. Семенова, О.В. Шелепова. – 2021.
22. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy // Current Protocols of Food and Analytical Chemistry. 2001. Vol. 1. Pp. 1–8. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01.
23. Кузнецова В.А., Науменко О.А. Положительное влияние янтарной кислоты на процессы биохимической адаптации растений // Теория и практика инновационных исследований в области естественных наук. Оренбург, 2023. С. 226–229.
24. Вайновская И.Ф., Круль А.С., Чижик О.В. Влияние элиситоров на морфолого-физиологические параметры *Vaccinium vitis-idaea* L. при адаптации ex vitro // Теоретические и прикладные аспекты организации, проведения и использования мониторинговых наблюдений. Минск, 2023. С. 143–145.
25. Мосина К.Р., Макеева И.Ю. Реакция элементов продукционного процесса растений картофеля на действие кофейной кислоты в зависимости от целостности тубулинового цитоскелета // Естественные и гуманитарные науки в современном мире. 2021. С. 129–136.
26. Кириллова И.Г., Макеева И.Ю., Кузьменко Ю.А. Влияние регуляторов роста с антиоксидантными свойствами на процесс дыхания у растений картофеля в оптимальных и стрессовых условиях среды // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2023. Т. 2, №42. С. 94–105.

Поступила в редакцию 27 мая 2025 г.

После переработки 17 февраля 2026 г.

Принята к публикации 5 марта 2026 г.

Streletsky A.V.[1], Shelepova O.V.[2], Moiseev A.O.[3], Voronina L.P.[1,3]* DETERMINATION OF SUCCINIC AND CAFFEIC ACIDS IN MINT LEAVES BY HPLC WITH ULTRAVIOLET (UV) AND MASS SPECTROMETRIC (MS) DETECTION: EXPERIENCE IN EVALUATING THEIR EXOGENOUS APPLICATION

[1] Center for Strategic Planning and Management of Medical and Biological Health Risks of the Federal Medical and Biological Agency, st. Pogodinskaya, 10/1, Moscow, 119121, Russia

[2] Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences, st. Botanicheskaya, 4, Moscow, 127276, Russia, shov_gbsad@mail.ru.

[3] Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119234, Russia

A method for quantitative determination of succinic and caffeic acids in leaves of mint variety Metelitsa by HPLC with UV- and MS-detection was developed. It was found that the HPLC-UV method is applicable only for the determination of caffeic acid, while HPLC-MS methods in two different modes of ion registration - selected ion monitoring (SIM) and selected reaction monitoring (MRM), can be used to determine the concentrations of both types of acids - succinic and caffeic acids. When analyzing complex mixtures, to which the analyzed plant extracts belong, the MRM mode should be preferred as a more selective and sensitive method.

Foliar use of 0.1% aqueous succinic acid solution during the vegetative growth phase of mint plants to regulate their growth and development resulted in a 20 and 43% increase in the biomass of 1 mint plant and inflorescence, respectively, compared to the control. The use of caffeic acid solution of two concentrations (0.01 and 0.1%) as a growth regulator did not cause such a result – a decrease in biomass of one plant and inflorescence by 9–8% and 3%, respectively, was observed. Treatment of mint plants with succinic acid caused an increase in the concentration of this metabolite in leaves - more than 20 times. While at foliar use of caffeic acid the content of this metabolite in mint leaves remained at the level of control. To increase the yield of mint variety Metelitsa in the phase of vegetative growth it is recommended to use foliar treatment with 0.1% solution of succinic acid.

Keywords: HPLC-UV-MS, succinic acid, caffeic acid, mint leaves.

For citing: Streletsky A.V., Shelepova O.V., Moiseev A.O., Voronina L.P. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2026, no. 2, pp. 270–279. (in Russ.). https://doi.org/10.14258/jcprm.20260217388.

References

1. Kompantseva Ye.V., Saushkina A.S. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2024, no. 3, pp. 5–27. https://doi.org/10.14258/jcprm.20240312784. (in Russ.).
2. Velichko V.V., Lastovka A.V., Kartashova M.Ye., Gayduk A.A., Kruglov D.S. *Regulyatornyye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv*, 2025, vol. 15, no. 2, pp. 222–228. https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-680. (in Russ.).
3. Zmushko A.A., Krasinskaya T.A. *Plodovodstvo*, 2022, vol. 31, no. 1, pp. 288–292. (in Russ.).
4. Yakunina A.V., Sinitsyna Yu.V. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Biologiya*, 2023, vol. 16, no. 1, pp. 54–63. (in Russ.).
5. Kirillova I.G., Makeyeva I.Yu. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Yestestvennyye nauki*, 2021, vol. 3, no. 35, pp. 3–12. (in Russ.).
6. Zeb A. *Anal. Methods*, 2015, vol. 7, no. 18, pp. 7753–7757.
7. Ditchenko T.I., Shabunya P.S., Fatykhova S.A., Molchan O.V., Yurin V.M. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 54–63. https://doi.org/10.21285/2227-2925-2017-7-2-54-63. (in Russ.).
8. Bajkacz S. et al. *Food Anal. Methods*, 2018, vol. 11, no. 12, pp. 3563–3575.
9. Mattila P., Kumpulainen J. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, no. 13, pp. 3660–3667. https://doi.org/10.1021/jf020028p
10. Chaowuttikul C., Palanuvej C., Ruangrungsi N. *Braz. J. Pharm. Sci*., 2020, vol. 56, e17547.
11. Moiseyev D. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2014, no. 3, pp. 171–174. (in Russ.).
12. Kompantseva E.V., Slivkin A.I. *Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy,* 2023, vol. 23, no. 2, pp. 255–268. https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2023.23/11149. (in Russ.).
13. Matei A.O., Gatea F., Radu G.L. *J. Chromatogr. Sci*., 2015, vol. 53, no. 7, pp. 1147–1154.
14. Szewczyk K., Olech M. *Phytochemistry Letters*, 2017, vol. 20, pp. 322–330.
15. Cawthray G.R. *Journal of Chromatography A*, 2003, vol. 1011, no. 1, pp. 233–240.
16. Zotou A., Loukou Z., Karava O. *Chromatographia*, 2004, vol. 60, no. 1, pp. 39–44.
17. Wang P., Zhou R. *Chinese Journal of Chromatography*, 2006, vol. 24, no. 3, pp. 239–243.
18. Seddiq N., Asan A. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2023, vol. 46, no. 11–15, pp. 192–199.
19. Rellán-Álvarez R. et al. *J. Agric. Food Chem*., 2011, vol. 59, no. 13, pp. 6864–6870.
20. Shelepova O.V., Baranova E.N., Tkacheva E.V., Evdokimenkova Y.B, Ivanovskii A.A., Konovalova L.N., Gulevich A.A. *Agronomy*, 2022, vol. 12, 3131. https://doi.org/10.3390/agronomy12123131.
21. Patent for a selection achievement 11374 (RU). 2021. (in Russ.).
22. Lichtenthaler H.K., Buschmann C. *Current Protocols of Food and Analytical Chemistry*, 2001, vol. 1, pp. 1–8. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01.
23. Kuznetsova V.A., Naumenko O.A. *Teoriya i praktika innovatsionnykh issledovaniy v oblasti yestestvennykh nauk*. [Theory and practice of innovative research in the field of natural sciences]. Orenburg, 2023, pp. 226–229. (in Russ.).

* Corresponding author.

24. Vaynovskaya I.F., Krul' A.S., Chizhik O.V. *Teoreticheskiye i prikladnyye aspekty organizatsii, provedeniya i ispol'zovaniya monitoringovykh nablyudeniy*. [Theoretical and applied aspects of the organization, conduct and use of monitoring observations]. Minsk, 2023, pp. 143–145. (in Russ.).
25. Mosina K.R., Makeyeva I.Yu. *Yestestvennyye i gumanitarnyye nauki v sovremennom mire*, 2021, pp. 129–136. (in Russ.).
26. Kirillova I.G., Makeyeva I.Yu., Kuz'menko Yu.A. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Yestestvennyye nauki*, 2023, vol. 2, no. 42, pp. 94–105. (in Russ.).

Received May 27, 2025

Revised February 17, 2026

Accepted March 5, 2026

Сведения об авторах

Стрелецкий Алексей Владимирович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела физико-химических исследований и экотоксикологии, astreletsky@cspfmba.ru

Шелепова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела экспериментальной биологии и патологии растений, shov_gbsad@mail.ru

Моисеев Антон Олегович – аспирант, anton.moiseev.01@bk.ru

Воронина Людмила Петровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела физико-химических исследований и экотоксикологии, ведущий научный сотрудник кафедры агрохимии и биохимии растений, Luydmila.voronina@gmail.com

Information about authors

Streletsky Alexey Vladimirovich – Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher in the Department of Physical and Chemical Research and Ecotoxicology, astreletsky@cspfmba.ru

Shelepova Olga Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher at the Department of Experimental Biology and Plant Pathology, shov_gbsad@mail.ru

Moiseev Anton Olegovich – postgraduate student, anton.moiseev.01@bk.ru

Voronina Lyudmila Petrovna – Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher in the Department of Physicochemical Research and Ecotoxicology, Leading Researcher in the Department of Agrochemistry and Plant Biochemistry, Luydmila.voronina@gmail.com