

УДК 543:614.3:543.42.062

**АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ КАК ОБОБЩАЮЩАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА КАЧЕСТВА ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ¹*****Т. Г. Цюпко², О. Б. Воронова³, Н. В. Храпко⁴, З. А. Темердашев⁵*****ANTIOXIDANT ACTIVITY AS A GENERALIZED FACTOR OF FOOD PRODUCTS
QUALITY****Tsyupko T. G., Voronova O. B., Khrapko N. V., Temerdashev Z. A.**

The work offers a methodic approach and identifies optimal conditions for spectrophotometric determining of the summary quality index, i.e. antioxidating activity, which reflects the summary contents of reducers of various nature. The possibility of the application of the indicating system iron (III) – *o*-phenanthroline and the standard substance — ascorbic acid to determine the summary antioxidating activity of foods has been theoretically substantiated and experimentally proved. It has been proved that the proposed quality assessment according to the quantity of antioxidating activity is the summary index.

Свободно-радикальные окислительные процессы, протекающие в организме человека, являются причиной возникновения многих заболеваний. Важная роль в регуляции этих процессов принадлежит антиоксидантам, действие которых основано на способности инактивировать свободные радикалы, образуя новые более стабильные радикалы, прерывая тем самым реакцию автоокисления, протекающую по цепному механизму [1].

Активность и продолжительность действия антиоксидантов увеличивается в присутствии синергистов, которые способны регенерировать антиоксиданты, повышая их концентрацию до исходного уровня, но не вступать при этом во взаимодействие со свободными радикалами. Активными синергистами являются окси- и аминокислоты, произ-

водные фосфорной кислоты, фосфолипиды и др. [2]. Аскорбиновая кислота обладает ярко выраженным синергетическим действием, которое наряду с антиокислительными свойствами обуславливает ее широкое применение в качестве антиоксиданта.

Как правило, антиоксидантные свойства проявляют органические соединения, содержащие в структуре фенольные фрагменты, способные образовывать малоактивные радикалы. Так, в растительных природных объектах наиболее часто встречаются такие фенольные антиоксиданты как фенолкарбоновые и оксикоричные кислоты, флавоноиды, дубильные вещества [3, 4].

Основными источниками биоантиоксидантов для человека являются продукты питания, поэтому, для наиболее полной оценки

¹Работа выполнена при поддержке РФФИ (03-03-96-548).

²Цюпко Татьяна Григорьевна, канд. хим. наук, доцент кафедры аналитической химии Кубанского государственного университета.

³Воронова Ольга Борисовна, канд. хим. наук, старший преподаватель кафедры аналитической химии Кубанского государственного университета.

⁴Храпко Наталья Вячеславовна, аспирант кафедры аналитической химии Кубанского государственного университета.

⁵Темердашев Зауаль Ахлоович, д-р хим. наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии Кубанского государственного университета.

их биологической ценности, целесообразно использовать величину антиоксидантной активности (АОА) как суммарного показателя качества, отражающего содержание и действие всех присутствующих в объекте восстановителей органической природы.

Определение АОА проводят различными методами. Известны оценки антиоксидантной активности пищевых продуктов по ингибированию окисления линолевой кислоты [5], пептида глицилтриптофана [6], липопротеинов низкой плотности [7], по поглощающей способности пероксид и гидроксил радикалов [8], по реакции взаимодействия с электрогенерированным бромом [9].

Однако сопоставление результатов, полученных разными методами, затруднено ввиду отсутствия единых единиц измерения и вещества-стандарта. Цель данной работы – разработка методики определения суммарной АОА пищевых продуктов методом спектрофотометрии.

Учитывая специфические свойства антиоксидантов и их различную восстановительную активность, было предложено применить окислительно-восстановительную систему Fe(III)/Fe(II)–*o*-фенантролин для определения суммарной антиоксидантной активности пищевых продуктов.

Для пищевых продуктов на основе растительного сырья наиболее универсальным веществом-стандартом может служить аскорбиновая кислота благодаря сочетанию высокого окислительно-восстановительного потенциала, широкого распространения, ярко выраженных синергетических свойств, а также применения в пищевой промышленности в качестве консерванта и антиоксиданта. Тогда АОА пищевых продуктов предложено выражать через количество вещества-стандарта (мг аскорбиновой кислоты), производящего эквивалентный антиоксидантный эффект.

1. Экспериментальная часть

Для приготовления всех растворов использовали реактивы квалификации х. ч. и бидистиллированную воду.

Для приготовления 1,0 мг/мл стандартного раствора аскорбиновой кислоты 0,10000 г аскорбиновой кислоты растворяли в 100 мл воды. Для получения рабочих растворов этот стандартный раствор разбавляли бидистил-

лированной водой до соответствующей концентрации.

Стандартные растворы танина и рутина готовили по точной навеске препаратов растворением в бидистиллированной воде.

Стандартный раствор кверцетина готовили растворением точной навески в этиловом спирте.

Комплексный реагент получали смешиванием отдельно приготовленных растворов Fe(III) и *o*-фенантролина в колбе на 100 мл с последующим доведением раствора водой до указанного объема. Для приготовления раствора Fe(III) навеску железоаммонийных квасцов массой 0,28920 г растворяли в 30–40 мл воды, подкисленной 2 мл 1М HCl. Раствор *o*-фенантролина готовили растворением при нагревании 0,1980 г *o*-фенантролина в 40–50 мл воды. Перед употреблением реагент выдерживали не менее 12 часов.

Фотометрическое определение проводили на приборе КФК-2МП в кюветах с шириной поглощающего слоя 20 мм при $\lambda = 490$ нм. Измеренная оптическая плотность растворов является аналитическим сигналом.

2. Результаты и их обсуждение

Предлагаемый способ определения АОА пищевых продуктов на основе растительного сырья основан на реакции взаимодействия восстановителей, присутствующих в анализируемом объекте, с индикаторной системой Fe(III) – *o*-фенантролин, при которой Fe(III) восстанавливается до Fe(II), образующего с *o*-фенантролином растворимый в воде хелат красно-оранжевого цвета с максимумом поглощения при $\lambda = 512$ нм.

Для разработки методики необходимо изучить влияние различных типов органических веществ, обладающих восстановительными свойствами, и вещества-стандарта на индикаторную систему Fe(III) – *o*-фенантролин. В качестве веществ-восстановителей были выбраны рутин, танин и кверцетин как наиболее часто встречаемые полифенолы в реальных объектах.

При изучении зависимости аналитических сигналов от количеств вводимых восстановителей и вещества-стандарта в диапазоне от 10 до 100 мкг было установлено, что они носят линейный, изменяющийся во времени характер (табл. 1).

Таблица 1

Изменение тангенса наклона зависимости аналитического сигнала от количества восстановителя во времени

Восстановитель	Тангенс угла наклона		
	Время реакции, мин		
	30	60	90
аскорбиновая кислота	0,0022	0,0024	0,0025
танин	0,0023	0,0029	0,0032
рутин	0,0013	0,0017	0,0020
кверцетин	0,0035	0,0043	0,0047

Таблица 2

 Результаты определения АОА модельных смесей ($P=0,95$; $n=3$)

Количество компонентов в смеси								АОА теор., мкг	АОА экспер., мкг
Введено				В пересчете на АК*					
АК*	Танин	Рутин	Квер- цетин	АК*	Танин	Рутин	Квер- цетин		
—	20	20	20	—	16,77	9,56	32,73	59,06	57,08
—	10	10	10	—	8,35	4,77	16,41	37,95	26,95
—	50	10	10	—	42,02	4,77	16,41	63,20	55,04
—	10	50	10	—	8,35	23,93	16,41	48,69	50,06
—	10	10	50	—	8,35	4,77	81,70	94,82	91,61
—	30	10	10	—	25,19	4,77	16,41	46,37	39,24
—	10	30	30	—	8,35	14,35	49,06	71,76	73,47
20	20	20	20	20	16,77	9,56	32,73	79,06	96,29
50	10	10	10	50	8,35	4,77	16,41	87,95	93,07
10	50	10	10	10	42,02	4,77	16,41	73,20	78,15
10	10	50	10	10	8,35	23,93	16,41	58,69	78,74
10	10	10	50	10	8,35	4,77	81,70	104,82	121,45
30	30	10	10	30	25,19	4,77	16,41	76,37	84,59
10	10	30	30	10	8,35	14,35	49,06	81,76	103,31

Примечание. АК* — аскорбиновая кислота

Очевидно, наибольшее нарастание сигнала характерно для кверцетина и танина. Антиоксидантная активность при равных концентрациях для рутина ниже, кверцетина выше, а танина приближается к АОА вещества-стандарта — аскорбиновой кислоте.

Для выражения АОА индивидуального восстановителя по веществу-стандарту использовали уравнение количественного соответствия, связывающее их уравнения регрессии в условиях равной антиоксидантной активности, как предложено [10]. Расчет АОА проводили по формуле

$$\text{АОА} = \frac{a'}{a} x_{\text{восст}} - \frac{b' - b}{a}$$

где a , b — коэффициенты в уравнении регрессии для зависимости аналитического сигнала

от количества вещества-стандарта, a' , b' — коэффициенты в уравнении регрессии для зависимости аналитического сигнала от количества исследуемого восстановителя, $x_{\text{восст}}$ — масса исследуемого вещества восстановителя.

Учитывая сложный химический состав реальных объектов, различное содержание антиоксидантов и возможность их синергетического воздействия, представляло интерес изучить влияние модельных смесей, содержащих выбранные вещества — восстановители органической природы в различных соотношениях, на индикаторную систему. Результаты анализа модельных смесей представлены в табл. 2.

Теоретическая величина АОА представляет собой сумму АОА индивидуальных восстановителей модельных смесей, полученных

Т а б л и ц а 3

Зависимость аналитического сигнала во времени при использовании «стоп-реагента»

Восстановитель	Количество восстановителя, мкг	Аналитический сигнал		
		Время выдерживания, мин		
		30	60	90
аскорбиновая кислота	10,0	0,027	0,026	0,026
танин	30,0	0,061	0,061	0,062
рутин	10,0	0,016	0,017	0,017
модельная смесь	*	0,165	0,164	0,165

Примечание. * — состав модельной смеси: по 20 мкг аскорбиновой кислоты, танина, рутина, кверцетина

Т а б л и ц а 4

Результаты определения АОА пищевых продуктов

Объект исследования	АОА, мкгАК/г продукта
пиво «Ячменный колос»	0,22
пиво «Ячменный колос» *	0,33
пиво «Дон»	0,24
вино «Каберне»	3,1
вино «Каберне» *	1,8
чай «Майский»	166
чай «Dilmah»	170

Примечание. * — образцы хранились длительное время при доступе воздуха

по уравнениям количественных соответствий в пересчете на аскорбиновую кислоту. Экспериментальные значения АОА рассчитывали по усредненному уравнению регрессии для зависимости аналитического сигнала от количества аскорбиновой кислоты.

Из табл. 2 видно, что экспериментально полученные и теоретически рассчитанные величины АОА хорошо согласуются. Несколько завышенные результаты для моделей, содержащих аскорбиновую кислоту, вероятно можно объяснить проявлением ею синергетических свойств.

Полученные данные позволяют утверждать, что, определяемая предлагаемым способом величина АОА, является результатом совместного действия всех восстановителей, присутствующих в анализируемом объекте.

Проведение измерений зависимости аналитического сигнала от времени показывает, что этот процесс весьма продолжителен, трудновоспроизводим, в результате чего метрологические характеристики аналитических методик определения АОА имеют большие

погрешности. Экспериментальные исследования показали возможность устранения этих недостатков при введении в систему «стоп-реагента».

В качестве «стоп-реагента» выбран фторид натрия, образующий с ионами Fe(III) прочный бесцветный комплекс, не мешающий определению. Реакцию останавливали введением в реакционную смесь (Fe(III) – *o*-фенантролин – восстановитель) 10 мМ NaF, взятых в избытке по отношению к исходной концентрации Fe(III) и измеряли аналитический сигнал во времени. Установлено, что после введения «стоп-реагента» аналитический сигнал сначала плохо воспроизводим ($S_r=0,15$ при $\tau=10$ мин), а затем стабилизируется при 60 мин (табл. 3). Как видно, введение «стоп-реагента» позволяет получить стабильный во времени аналитический сигнал и проводить определение АОА экспрессно и с минимальной трудоемкостью.

В аналогичных условиях были получены стабильные во времени аналитические сигналы для реальных образцов (пищевые продук-

ты) и рассчитана их АОА, выраженная относительно вещества-стандарта – аскорбиновой кислоты (табл. 4).

Проведенные исследования позволили заключить, что для каждого вида пищевой продукции существует диапазон значений АОА, характеризующий качественную продукцию. Низкое качество продукции может привести к отклонениям значения АОА от группового критерия качества как в сторону его увеличения, так и уменьшения. Так при старении пива происходит накопление продуктов распада, которые имеют восстановительную природу, что приводит к возрастанию значения АОА. В случае анализа некачественных образцов вин группы «Каберне» наблюдается уменьшение значения АОА.

Таким образом, показана возможность определения антиоксидантной активности пищевых продуктов, представляющей сумму веществ-восстановителей органической природы и характеризующей их качество.

Литература

1. *Kaur Charanjit, Kapoor Harish C.* Antioxidants in fruits and vegetables — the millenniums health // *J. Food of Sci. and Technol.* 2001. V. 36. No 7. P. 703–725.
2. Пищевая химия: учебник для студентов вузов / Нечаев А.П., Траубенберг С.Е., Кочеткова А.А. и др.; Под. ред. А.П. Нечаева. СПб.: ГИОРД, 2004. 632 с.
3. *Мицкевич Н.И. и др.* Процессы окисления в природе и технике / Н.И. Мицкевич, В.Е. Агабеков, Н.Г. Арико. Минск: Наука и техника, 1978. 135 с.
4. *Блажей А., Шутый А.* Фенольные соединения растительного происхождения. Пер. со славянского А.П. Сергеева. М.: Мир, 1977. 239 с.
5. *Kuo J.-M., Jeh D.-B., Pan S.* Rapid photometric assay evaluating antioxidative activity in edible plant material // *J. Agr. and Food Chem.* 1999. V. 47. No 8. P. 3206–3209.
6. *Шкарина Е.И., Максимова Т.В., Пахомов В.И., Лозовская Е.Л.* Оценка антиокислительной активности пищевых продуктов // *Химия и биотехнология пищевых веществ. Экол. безопас. технол. на основе возобновляемых природных ресурсов: Тез. докл. Междунар. конф. молодых ученых.* М., 2000. С. 86–87.
7. *Vinson Joe A., Hao Yong, Su Xuehui, Zubik Ligia* Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables // *J. Agr. and Food Chem.* 1998. V. 46. No 9. P. 3630–3634.
8. *Gao Guohua, Sofic Emin, Prior Ronald L.* Antioxidant capacity of tea and common vegetables // *J. Agr. and Food Chem.* 1996. V. 44. No 11. P. 3426–3431.
9. *Турова Е.Н.* Применение электрохимических методов для оценки интегральной антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья и пищевых продуктов: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. М., 2001. 23 с.
10. *Навас М.Х., Хименеца А.М., Асуэро А.Г.* Определение восстановительной способности настоек семени канарского канареечника методом хемиллюминесценции // *Журнал аналитической химии.* 2004. Т. 59. № 1. С. 84–86.

Статья поступила 2 июня 2005 г.

Кубанский государственный университет

© Цюпко Т.Г., Воронова О.Б., Храпко Н.В., Темердашев З.А., 2005