

# Обзорные статьи

УДК 543.253

## СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

*Н.Л. Наумова*

В процессах обеспечения контроля качества продуктов питания, содержащих антиоксиданты, выделена проблема – оценка суммарного содержания аналитов. Актуальным является определение антиоксидантной активности (АОА) исследуемого продукта питания, учитывающего не только содержание, но и удельную активность каждого компонента в нем. В статье представлен обзор современных методов исследования антиоксидантной активности пищевых продуктов (волюмометрических, фотометрических, хемилюминисцентных, флуоресцентных, электрохимических и ряда более специфических), рассмотрены достоинства и недостатки отдельных методов.

*Ключевые слова: антиоксиданты, антиоксидантная активность, методы исследований антиоксидантной активности, пищевые продукты.*

Накопленные в мировой и отечественной литературе данные о важной роли антиоксидантов в профилактике онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, окислительного стресса наряду со сведениями о их недостаточном поступлении с рационом указывают на целесообразность широкого использования этих канцеро- и кардиопротекторов в качестве обогащающей пищевые продукты добавки.

Антиоксидантная терапия путем употребления в определенном количестве растительной продукции, отличающейся повышенным содержанием природных антиоксидантов (фруктов, ягод, чая, кофе, проросших зерен и др.), или продуктов питания, дополнительно обогащенных ими, снижает окислительный стресс в организме человека [9].

Открытие антиоксидантной активности органических соединений привело к новому пониманию роли пищевых продуктов как естественного источника антиоксидантов (АО), к сопоставлению разных продуктов по антиоксидантным свойствам, а также к производству продуктов, обогащенных антиоксидантами. Однако для контролируемого потребления антиоксидантов необходимо знать их содержание в продуктах питания. При большом содержании антиоксиданты становятся проантиоксидантами [9].

В 1990-е годы началась разработка соответствующих методик контроля качества пищевых продуктов (чай, кофе, вина, соки, фрукты и др.) [8]. Содержание индивидуальных АО (например, витамина Е, аскорбиновой кислоты и др.) в подобных объектах обычно не определяют, а оценивают суммарное содержание ( $\Sigma C_{AO}$ ), например, методом ВЭЖХ или капиллярного электрофореза. Возможно спектрофотометриче-

ское определение  $\Sigma C_{AO}$  без разделения индивидуальных аналитов по их поглощению в ближней ИК-области, с применением хемиметрических алгоритмов [3, 10]. Недостаточная изученность природных связей АО и трудоемкость получения многомерных градуировок препятствуют широкому применению таких методик.

В процессах обеспечения технологического контроля качества продуктов питания, содержащих антиоксиданты, необходимо выделить проблему – оценка суммарного содержания аналитов, родственных в структурном или функциональном отношении. С этой точки зрения актуальным является определение суммарного содержания АО и близкого к нему интегрального показателя – антиоксидантной активности (АОА) исследуемого объекта, учитывающего не только содержание, но и удельную активность каждого компонента в нем. АОА также называют суммарной антиоксидантной емкостью [7].

Методы исследований общей АОА различаются: по типу источника окисления, окисляемого соединения и способа измерения окисленного соединения. По способам регистрации проявляемой АОА можно разделить методы на: волюмометрические, фотометрические, хемилюминисцентные, флуоресцентные, электрохимические и ряд более специфических. На практике показатель АОА определяют, проводя неспецифическую реакцию с окислителем или веществом, генерирующим радикалы, и измеряя электрохимические, кинетические, оптические и др. свойства индикаторных систем в ходе реакции [6]. Как правило, АОА выражают в пересчете на стандартное вещество Хст, т. е. указывают массу или число молей Хст (кверцетина, рутина, тролокса и др.), которые в данных условиях дают такой же аналитический сигнал, что и 1 г

изучаемого объекта. При определении АОА пробоподготовка минимальна, а разделение индивидуальных АО не требуется.

Антиоксидантов очень много, их строение и свойства весьма разнообразны, а механизм действия во многих случаях неизвестен. Весьма проблематичной является задача определения этих веществ на низком концентрационном уровне ( $10^{-7}$ – $10^{-5}$  г), а их разбавленные растворы неустойчивы из-за окисления кислородом воздуха. В настоящее время наиболее популярны методы оценки антиоксидантной активности, основанные на ингибировании окисления различных липидных субстратов с последующим определением продуктов окисления. Соответствующие методики длительны и дают плохо воспроизводимые результаты. При оценке суммарного содержания антиоксидантов необходимо учитывать особенности состава анализируемого объекта.

Применяемые на практике методики определения суммы АО не всегда стандартизованы, а результаты, получаемые для одних и тех же объектов по разным методикам, несопоставимы [9].

При определении АОА наиболее широко используются электрохимические и спектрофотометрические методы анализа. Электрохимические методы характеризуются высокой чувствительностью и экспрессностью. Так, в условиях амперометрического детектирования хорошо окисляются соединения, содержащие гидроксильные группы, предел обнаружения полифенолов и флавоноидов – на уровне 10–9–10–12 г. Амперометрический метод позволяет непосредственно измерять содержание всех АО в пробе. Другие методы – не прямые, в них измеряется ингибирование реакционных смесей (свободных радикалов), генерированных определенными реакциями [9].

Оценку АОА пищевых продуктов и настоек лекарственных растений предложено проводить кулонометрическим методом с электрогенерированными галогенами (бромом, хлором или йодом) постоянной силой тока 5,0 мА из 0,2 М водного раствора KCl и KBr в 0,1 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> с определением конца титрования амперометрической индикацией с двумя поляризованными платиновыми электродами [1].

Известно вольтамперометрическое определение суммарной АОА по относительному изменению тока электровосстановления кислорода в интервале потенциалов от 0,0 до 0,6 В (относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода) на ртутно-пленочном электроде [4], использование которого запрещено во многих странах [9].

Рядом авторов при потенциометрическом определении АОА пищевых продуктов предложено использовать медиаторную систему, содержащую одновременно окисленную и восста-

новленную формы реагента, например хинон/гидрохинон, V(IV)/V(III), Fe(III)/Fe(II) [2].

Существуют спектрофотометрические методики определения АОА пищевых продуктов и индивидуальных антиоксидантов, основанные на ОВР Fe(III)/Fe(II): известны методы определения витамина С по интенсивности окраски Fe(II) – пиридил-2,6-дикарбоновая кислота, Fe(II) – ферроцин; существует методика определения АОА различных сортов чая по степени восстановления комплекса – Fe(III) трипиридилтриазин; разработана фотометрическая методика определения АОА экстрактов из пищевых растительных материалов по их способности ингибировать перокисление линолевой кислоты, при этом образующиеся гидропероксиды контролируют по содержанию в системе тиоцианата железа [5].

Часто АОА находят методом FRAP (*ferric reducing/antioxidant power*). В ходе такого анализа под действием АО (восстановителей) образуются комплексы железа(II) с фотометрическим реагентом. Окраска развивается медленно, поэтому сигнал измеряют, не дожидаясь установления равновесия, а затем рассчитывают величину АОА по градуировочному графику. Метод FRAP широко применяют в технологии пищевых продуктов, имеется множество публикаций, в которых приведены значения АОА, полученные методом FRAP. Однако в ходе спектрофотометрического определения АО проявляются все проблемы, которые обычно осложняют анализ неразделенных смесей, а именно: не полностью известный качественный состав, наложение сигналов разных аналитов или дериватов, разная чувствительность их определения, непредсказуемое влияние посторонних веществ, неаддитивность аналитического сигнала [8]. Преимущества метода FRAP по сравнению с другими вариантами определения АОА очевидны: экспрессность и низкая стоимость анализа, простота оборудования, хорошая сходимости результатов [5]. В отличие от хорошо изученных аналитиками методов определения суммы углеводов или фенолов, методы спектрофотометрического определения АО исследованы недостаточно. Неизвестны источники систематических погрешностей, а часто и метрологические характеристики методик. Из вышеизложенного следует, что исследования в области определения суммарного содержания антиоксидантов и антиоксидантной активности продуктов питания актуальны как в практическом, так и теоретическом плане.

Значения АОА пищевых продуктов, полученные методом FRAP, применяют для сопоставления ценности разных продуктов как источников поступления антиоксидантов в организм человека. Однако абсолютные значения АОА,

полученные разными авторами в рамках метода FRAP, плохо согласуются друг с другом и сильно отличаются от результатов, полученных для тех же объектов другими методами (особенно основанными на проведении свободнорадикальных реакций). А.Я. Яшиным и другими авторами показано, что значения АОА, полученные разными методами для серии однотипных продуктов, зачастую не коррелируют друг с другом. Однако это не мешает использовать значения АОА, найденные по одной и той же методике, для сопоставления относительной ценности однотипных продуктов [6, 8, 9].

Показатель АОА имеет объективный характер и может использоваться как показатель качества, подобно оценкам энергетической ценности пищевых продуктов [5, 8]. Показатель АОА, независимо от способа его измерения, должен быть близок к действительному значению соответствующей физической величины – суммарному содержанию водорастворимых антиоксидантов в исследуемой пробе. Также была проверена возможность оценки содержания жирорастворимых антиоксидантов. В этом случае показатель АОА пищевых продуктов, например, растительных масел, определяли по методу FRAP в неводных растворах (в среде хлороформа), а в качестве стандартного вещества использовали аскорбилпальмитат (жирорастворимый аналог витамина С) [8].

Таким образом, на сегодняшний день спектр методов определения суммарной антиоксидантной активности веществ очень разнообразен. Однако зачастую сравнивать данные, полученные разными методами, не представляется возможным, поскольку методы основаны на различных принципах измерения, модельных системах, имеют разную размерность показателя АОА. В результате каждый исследователь выбирает готовый, создает новый или модифицирует уже известный метод, исходя из своих целей и возможностей.

### Литература

1. Абдуллин, И.Ф. Кулонометрическая оценка антиоксидантной способности экстрактов чая электрогенерированным бромом / И.Ф. Абдуллин, Е.Н. Турова, Г.К. Будников // *Аналитическая химия*. – 2001. – Т. 56. – № 6. – С. 627–629.
2. Брайнина, Х.З. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов методом потенциометрии / Х.З. Брайнина, А.В. Иванова, Е.Н. Шарафутдинова // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. – 2004. – № 4. – С. 73–75.
3. Власова, И.В. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Проблема неаддитивности светопоглощения / И.В. Власова, В.И. Вершинин, Т.Г. Цюпко // *Аналитическая химия*. – 2011. – Т. 66, № 1. – С. 25–33.
4. Короткова, Е.И. Вольтамперометрический способ определения суммарной антиоксидантной активности объектов / Е.И. Короткова, А.Н. Лукина (Вторушина), Л.А. Гончаров // *Материалы научно-практического семинара «Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения»*. – М., 2004. – С. 182–194.
5. Определение антиоксидантной активности ряда пищевых продуктов с использованием индикаторной системы Fe(III)/Fe(II) – органический реагент / З.А. Темердашев, Н.В. Храпко, Т.Г. Цюпко и др. // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. – 2006. – Т. 72, № 11. – С. 15–19.
6. Хасанов, В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // *Химия растительного сырья*. – 2004. – № 3. – С. 63–95.
7. Цюпко, Т.Г. Определение суммарного содержания антиоксидантов методом FRAP / Т.Г. Цюпко, И.С. Петракова, Н.С. Бриленок и др. // *Аналитика и контроль*. – 2011. – Т. 15, № 3. – С. 287–298.
8. Цюпко, Т.Г. Аналитические решения при определении некоторых показателей безопасности и качества пищевых продуктов: автореф. дис. ... д-ра хим. наук / Т.Г. Цюпко. – Краснодар, 2012. – 48 с.
9. Яшин, Я.И. Проблема определения содержания антиоксидантов / Я.И. Яшин, А.Я. Яшин // *Метрология*. – 2009. – № 8 (69). – С. 50–53.
10. Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms / С. Quansheng and al. // *J. of pharm. biomed. analysis*. – 2008. – Vol. 46. – № 3. – P. 568–573.

**Наумова Наталья Леонидовна.** Кандидат технических наук, доцент кафедры «Технология и организация питания» Института экономики, торговли и технологий, Южно-Уральский государственный университет, г. Челябинск, n.naumova@inbox.ru

Поступила в редакцию 28 января 2014 г.

## MODERN LOOK ON THE PROBLEM OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FOOD PRODUCTS

*N.L. Naumova*, South Ural State University, Chelyabinsk, Russian Federation

The problem of evaluating total content of analytes to maintain quality control of food products containing antioxidants is singled out. It's a topical issue to determine antioxidant activity of the studied food product, taking into consideration not only contents, but also a specific activity of each component. This paper outlines such modern methods for examination of antioxidant activity of food products as volumetric, photometric, chemiluminescent, fluorescent, electrochemical and special methods. Advantages and disadvantages of other methods are considered.

*Keywords: antioxidants, antioxidant activity, methods of study on antioxidant activity, food products.*

### References

1. Abdullin I.F., Turova E.N. [Coulometric evaluation of antioxidant capacity of tea extracts by electrogenerated brom]. *Analiticheskaja himija* [Analytical Chemistry], 2001, vol. 56, no. 6, pp. 627–629. (in Russ.)
2. Brajnina H.Z., Ivanova A.V., Sharafutdinova E.N. [Evaluation of Food Products Antioxidant Activity by Potentiometry]. *Izvestija vysshih uchebnyh zavedenij. Pishhevaja tehnologija* [Proceedings of Higher Educational Institutions. Food Technology], 2004, no. 4, pp. 73–75. (in Russ.)
3. Vlasova I.V., Vershinin V.I., Cjupko T.G. [Methodology of Spectrophotometric Analysis of Organic Compounds Mixtures. Problem of Nonadditivity of Light Absorption]. *Analiticheskaja himija* [Analytical Chemistry], 2011, vol. 66, no. 1, pp. 25–33. (in Russ.)
4. Korotkova E.I., Lukina A.N. (Vtorushina), Goncharov L.A. [Voltammetric Method for Determination of Total Antioxidant Activity of Objects]. *Materialy nauchno-prakticheskogo seminara «Metody ocenki antioksidantnoj aktivno-sti biologicheskii aktivnyh veshhestv lechebnogo i profilakticheskogo naznachenija»* [Materials of Scientific and Practical Seminar "Methods of Assessing Antioxidant Activity of Biologically Active Substances for Therapeutic and Prophylactic Purposes"]. Moscow, 2004, pp. 182–194. (in Russ.)
5. Temerdashev Z.A., Hrapko N.V., Cjupko T.G. e.a. [Determination of Several Food Products Antioxidant Activity Using Indicator System Fe(III)/Fe(II) – Organic Reagent]. *Zavodskaja laboratorija. Diagnostika materialov* [Plant Laboratory. Materials Diagnostics], 2006, vol. 72, no. 11, pp. 15–19. (in Russ.)
6. Hasanov V.V., Ryzhova G.L., Mal'ceva E.V. [Methods of Examination of Antioxidants]. *Himija rastitel'nogo syr'ja* [Chemistry of Plant Raw Materials], 2004, no. № 3, pp. 63–95. (in Russ.)
7. Cjupko T.G., Petrakova I.S., Brilenok N.S. e.a. [Determination of Total Antioxidant Capacity According to FRAP Method]. *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2011, vol. 15, no. 3, pp. 287–298. (in Russ.)
8. Cjupko T.G. *Analiticheskie reshenija pri opredelenii nekotoryh pokazatelej bezopasnosti i kachestva pishhevych produktov*. Avtoref. Diss. dokt him. nauk [Analytical Solutions when Determining Some Indicators of Safety and Quality Control of Food Products: Abstract from Doct. Dis. (Chemistry)]. Krasnodar, 2012. 48 p.
9. Jashin Ja.I., Jashin A.Ja. [Problem of Antioxidant Determination]. *Metrologija* [Metrology], 2009, no. 8(69), pp. 50–53. (in Russ.)
10. Quansheng C. e. a. Determination of Total Polyphenols Content in Green Tea Using FT-NIR Spectroscopy and Different PLS Algorithms. *J. of Pharm. Biomed. Analysis*, 2008, vol. 46, no. 3, pp. 568–573.

**Naumova Natalia Leonidovna**, Candidate of Science (Engineering), associate professor, Department of Catering Technology and Organization of the Institute of Economics, Trade and Technologies, South Ural State University, Chelyabinsk, n.naumova@inbox.ru.

*Received 28 January 2014*