

КАЧЕСТВО ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ

Е.Н. Шарафутдинова¹, А.В. Иванова², А.И. Матерн², Х.З. Брайнина^{1,2}

¹Уральский государственный экономический университет
620219, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 62

²Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19.
allavl@mail.ustu.ru

Поступила в редакцию 31 мая 2011 г.

Качество пищевых продуктов имеет ключевое значение с точки зрения влияния на здоровье и продолжительность жизни человека. Антиоксидантная активность может рассматриваться, как один из аспектов качества пищевых продуктов. Предложено применять электрохимический экспресс-метод для оценки антиоксидантной активности пищевых продуктов.

Ключевые слова: качество пищевых продуктов, антиоксиданты, антиоксидантная активность, потенциометрия.

Шарафутдинова Елена Николаевна, к.х.н., доцент кафедры управления качеством Уральского государственного экономического университета.

Область научных интересов – качество и безопасность пищевых продуктов, моделирование процессов управления качеством.

Количество опубликованных работ - 75.

Иванова Алла Владимировна, к.х.н., доцент кафедры аналитической химии УрФУ.

Область научных интересов – электроаналитическая химия, электрохимические сенсоры.

Количество опубликованных работ - 92.

Матерн Анатолий Иванович, д.х.н., профессор, профессор кафедры аналитической химии УрФУ, первый проректор УрФУ.

Область научных интересов – аналитическая химия, органический синтез.

Количество опубликованных работ - 120.

Брайнина Хьена Залмановна, д.х.н., профессор, член-корреспондент РАЕН, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный деятель науки и образования РФ, профессор кафедры химии и физики Уральского государственного экономического университета, советник ректората УрФУ.

Область научных интересов – электрохимия, электроаналитическая химия, электрохимические сенсоры и методы.

Количество опубликованных работ – более 400, в том числе 5 книг.

Введение

Обеспечение человечества полноценными, физиологически сбалансированными продуктами питания до сих пор остается наиболее актуальной проблемой. Вещества, которые поступают в организм с пищей, влияют на здоровье и продолжительность жизни человека, здоровье его потомства. Общее ухудшение экологической обстановки увеличило риск развития окислительного стресса у людей. Окислительный стресс вызывается накоплением в организме свободных радикалов, что приводит к усугублению заболеваний сердечнососудистой и нервной систем, легких, глаз, крови и ускоряет старение. Вещества, способные снижать

уровень свободных радикалов и защищать макромолекулы живой клетки, получили название антиоксидантов (АО). Основным источником антиоксидантов служат продукты питания растительного происхождения: овощи, фрукты, соки, чай и т.д. [1]. Потребность оценки содержания антиоксидантов в продуктах питания обусловлена необходимостью соблюдения окислительного/антиоксидантного баланса в организме человека.

Применение электрохимических методов. Основные результаты

Исследование антиоксидантов в объектах со сложной многокомпонентной матрицей, каковыми являются пищевые продукты, в насто-

ящее время проводится в двух направлениях: определение состава веществ, способных выполнять функции антиоксидантов, и определение общих антиоксидантных свойств объектов. Группа веществ, предотвращающих образование сильных окислителей *in vivo*, разнообразна. К ним относится SH-содержащая аминокислота цистеин, некоторые пептиды и белки (глутатион, альбумин), убихинон, аскорбиновая кислота, мочевиная кислота, токоферолы, каротиноиды, флавоноиды и др. Определение антиоксидантной активности позволяет судить о возможной физиологической ценности продуктов. Определение отдельных антиоксидантов требует применения тех или иных процедур разделения, которые могут быть проведены только в условиях хорошо оснащенной исследовательской лаборатории [1, 2]. Кроме того, информации о концентрации отдельных антиоксидантов, как правило, недостаточно, поскольку в этом случае не учитываются процессы взаимного окисления/восстановления и влияние матрицы исследуемого объекта.

Оценить общую антиоксидантную активность (АОА) того или иного объекта можно с помощью интегральных методов. В основе методов оценки общей антиоксидантной активности, как правило, лежат реакции взаимодействия с долгоживущими свободными радикалами (СР), которые служат прототипом свободных радикалов, образующихся в живой клетке [3-6]. Обеспечивая получение информации об АОА того или иного образца, такие методы имеют ряд особенностей, которые ограничивают возможности их применения. А именно, анализ проходит в несколько стадий и занимает довольно продолжительное время, аналитический сигнал необходимо регистрировать с помощью дорогостоящих спектрофотометрического или флуориметрического оборудования и реактивов. Кроме того, получаемая информация не является прямой.

Взаимодействие антиоксидантов с СР и активными кислородными соединениями ($O_2^{\cdot-}$, HO^{\cdot} , H_2O_2 , O_2^1 и др.) в водных средах сопровождается передачей электрона и, следовательно, имеет электрохимическую природу. Донорно-акцепторный характер реакции между антиоксидантами и свободными радикалами позволяет успешно применять электрохимические методы для оценки антиоксидантной активности различных объектов. Электрохимические методы характеризуются высокой чувствительностью, быстротой процедуры анализа, относительно невысокой стоимостью необходимого оборудования и реактивов, а значит, и анализа в целом. В связи с этим представляется целесообразным изучать взаимодействие АО и активных кислородных соединений с использованием

электрохимических методов [7-10]. В Казанском государственном университете разработан ряд методов оценки антиоксидантных свойств, основанных на кулонометрических измерениях с использованием электрогенерированных титрантов Cl_2 и Br_2 [11-14].

В научно-производственном объединении «Химвтоматика» (Москва) разработан амперометрический метод определения антиоксидантов, основанный на измерении электрического тока в ячейке, возникающего при окислении анализируемого вещества на поверхности рабочего электрода при подаче на него определенного потенциала [15]. Этот метод был применен для определения антиоксидантов в различных пищевых продуктах растительного происхождения, в частности, в винах [16].

В Томском политехническом университете предложен метод катодной вольтамперометрии с использованием процесса электровосстановления кислорода. Добавление растворов или экстрактов, содержащих антиоксиданты, приводило к уменьшению тока электровосстановления кислорода. Авторами был исследован ряд объектов, включавший как растворы чистых веществ, так и экстракты разных частей растений [17, 18].

Тем не менее, до сих пор не существует метода, который дал бы полную информацию о состоянии и взаимодействиях сложных систем, в которых образуются и вступают в реакции антиоксиданты. Нет также единого термина, который бы определял антиоксидантные свойства соединения или комплекса соединений. Предлагают различать «антиоксидантную емкость», «антиоксидантную активность», понимая под первым «количество молей ловушек радикалов в исследуемом образце» [19]. Под «антиоксидантной активностью» понимают константу скорости действия антиоксиданта против свободных радикалов. Используют также термины «антиоксидантной силы», «антиоксидантной способности». Таким образом, наблюдается смешение термодинамических и кинетических понятий. В общем случае термин «активность» используют как термодинамический, и его не следует применять как кинетический. По-видимому, надо согласиться с авторами [1] в том, что все существующие методы определения АО страдают теми или иными недостатками.

Потенциометрический метод оценки антиоксидантной активности

Доноры электронов являются основными веществами, улавливающими радикалы, вызывающими обрыв цепи радикальных реакций, разрушающими или инактивирующими сильные окислители. Очевидно, что в этом случае будет справедливо утверждение, что расходу-

вание правильно подобранного оксиданта в химической реакции окисления–восстановления дает информацию о концентрации (активности) «антиоксиданта». В этой ситуации наиболее доступным источником информации может служить измерение электрохимических параметров системы реагент/антиоксидант, например, окислительно-восстановительного потенциала. В Уральском государственном экономическом университете был предложен потенциометрический метод с использованием донорно-акцепторной (медиаторной) системы Me^{ox}/Me^{red} [20]. Определение антиоксидантных свойств растворов предложенным потенциометрическим методом основано на химическом взаимодействии антиоксидантов с медиаторной системой, в качестве которой используется смесь $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$. Добавление растворов, содержащих вещества, проявляющие антиоксидантную активность, в электрохимическую ячейку, приводит к изменению окислительно-восстановительного потенциала среды в результате взаимодействия антиоксидантов с окисленным компонентом ($K_3[Fe(CN)_6]$) медиаторной системы. Подробное описание методики потенциометрического определения АОА приведено в работах [20, 21]. Процедура проведения анализа включает следующие этапы:

- 1 – стеклянную электрохимическую ячейку заполняют 10 мл К-На фосфатного буферного раствора, содержащего медиаторную систему $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ в соотношении 0.01/0.0001 М;
- 2 – погружают в ячейку рабочий электрод и электрод сравнения;
- 3 – измеряют начальный потенциал медиаторной системы (E_1);
- 4 – добавляют 0.2 мл исследуемого образца;
- 5 – измеряют конечный потенциал медиаторной системы (E_2);
- 6 – производят расчет концентрации АОА, используя выражение

$$X = \frac{\alpha C_{ox} - C_{red}}{1 + \alpha}, \text{ где}$$

$\alpha = 10^{[(E_1 - E_2)/b]}$; C_{red}/C_{ox} ; $b = 2,3RT/nF$, $n = 1$; E_1, E_2 – потенциалы, устанавливающиеся в системе до и после введения анализируемого источника антиоксиданта, В; C_{ox} – концентрация окисленной формы медиатора, моль/дм³; C_{red} – концентрация восстановленной формы медиатора, моль/дм³; X – концентрация АО, вступившего в реакцию, моль \times экв./дм³.

Первоначально для исследования антиоксидантных свойств использовали потенциометрическую аппаратуру, платиновый и стандартный хлоридсеребряный электроды промышленного изготовления. Впоследствии были разработаны многофункциональный потенциометрический анализатор МПА-1 и плати-



Рис. 1. Общий вид ячейки с планарным платиновым электродом и потенциометрическим анализатором МПА-1 (ООО «НПВП «ИВА», Россия)

новый планарный электрод (ООО «НПВП «Ива», Россия). Общий вид ячейки с потенциометрическим анализатором приведен на рис. 1.

Предложенным методом исследованы стехиометрические коэффициенты реакций взаимодействия ряда антиоксидантов с медиаторной системой. Сюда вошли антиоксиданты, которые являются природными компонентами растительных продуктов питания. Показана зависимость стехиометрических коэффициентов от структуры молекулы антиоксиданта. Данные о стехиометрических коэффициентах реакции

$$n \cdot Me^{ox} + m \cdot AO_{red} + n \cdot e \rightarrow n \cdot Me^{red} + m \cdot AO_{ox}$$

приведены в табл. 1.

Проведены корреляционные исследования измерений антиоксидантных свойств потенциометрическим методом и методами перекисного окисления липидов, хемилюминесценции, Randox и фотоколориметрическим методом с использованием стабильного свободного радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразина. Корреляционная зависимость во всех случаях имеет линейный характер, коэффициенты близки к 1, что подтверждает правомерность выбора медиаторной системы и метода измерения антиоксидантной активности [22].

Таблица 1

Стехиометрические коэффициенты реакции медиаторной системы с антиоксидантами [23]

Вещество	$m : n$
Аскорбиновая кислота	1:2
Цистеин	1:1
Глутатион	1:1
Гидрохинон	1:2
Катехол	1:2
Танин	1:10-12
Мочевая кислота	1:2

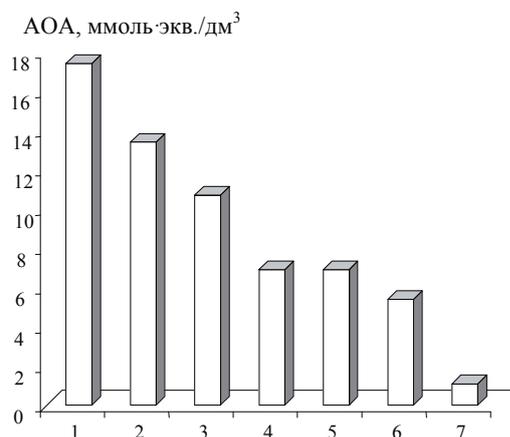


Рис. 2. АОА спиртосодержащих напитков (1- вино натуральное красное, 2 - вино специальное красное, 3 - вино натуральное розовое, 4 - портвейны, 5 - настойки, 6 - вино натуральное белое, 7 - винные напитки)

Исследована АОА объектов со сложной многокомпонентной матрицей, в том числе широкого круга продуктов питания растительного происхождения. Показано влияние способа приготовления фруктовых соков на величину показателя АОА: антиоксидантная активность соков промышленного изготовления была существенно меньше, чем у одноименных свежесжатых соков. Проведённые измерения подтвердили предположение, что АОА, например, пива зависит от содержания экстрактивных веществ в сусле. Антиоксидантная активность чая зависит от степени ферментации чайного листа (черный, зеленый), от степени измельчения листа и качества исходного сырья. Ниже всего оказалась антиоксидантная активность пакетированного чая разовой заварки [23]. На рис. 2 представлены результаты исследования 60 образцов спиртных напитков, предоставленных испытательной лабораторией ФГУ «Уралтест» (г. Екатеринбург). Исследован-

ные в представленной работе спиртные напитки были объединены в группы в соответствии с особенностями технологии изготовления. Далее потенциометрическим методом была измерена АОА каждого образца и рассчитан средний показатель для каждой группы. Наибольшие значения АОА были характерны для красных вин, как натуральных, так и специальных. Далее в порядке убывания располагались: вино розовое, портвейны, настойки, вино белое и винные напитки. Полученные результаты согласуются с известными данными о том, что АОА белых вин существенно ниже, чем красных. Кроме того, уровень АОА коррелировал с количеством растительного материала, используемого при производстве той или иной группы напитков. В табл. 2 представлены сведения об особенностях производства исследованных спиртных напитков. Ранее авторами показана 97 % корреляция результатов потенциометрического определения АОА и общего содержания полифенольных соединений, найденная методом Фолина-Чокальтеу, в образцах вина [22].

Получены результаты, подтверждающие возможность использования показателя АОА для установления подлинности виноградного вина. Применение потенциометрического метода определения антиоксидантной активности позволит проводить экспрессный отбор образцов виноградного вина для их дальнейшей идентификации [25].

Показатель АОА продуктов и продовольственного сырья может быть применен для оценки качества и соблюдения технологии при производстве и хранении продуктов питания. Предложенный потенциометрический метод адаптирован к условиям проточно-инжекционного анализа, что предоставляет дополнительную возможность его использования непосредственно в процессе производства продуктов питания [26].

Таблица 2

Особенности технологии изготовления спиртных напитков [24]

Группы напитков	Технология
Вино натуральное	Получают в результате сбраживания (полного или частичного) виноградного сусла и мезги
Вино специальное	Получают в результате неполного сбраживания виноградного сусла и мезги с добавлением спирта-ректификата и купажирования виноматериалов
Портвейн	Вид специального вина с содержанием спирта 17-20 %, сахара 6-14 % и характерными вкусовыми качествами
Настойки	Напитки, основу которых составляет спиртованный натуральный сок фруктов и ягод и их настои
Винные напитки	Получают из виноградных и плодовых виноматериалов с добавлением ректифицированного этилового спирта, коньячных, виноградных и плодовых спиртов, пищевых вкусо-ароматических добавок, пищевых красителей и др. компонентов согласно технологической инструкции

Метрологические характеристики потенциометрической методики определения АОА продуктов питания устанавливали методом разбавления анализируемой пробы [21]. Значения прецизионности, правильности и точности, полученные в условиях повторяемости и воспроизводимости, соответствуют нормативам, приведенным в РГМ 61-2003 [27]. Эти результаты подтверждают стабильность потенциометрических измерений АОА в сложных многокомпонентных средах, каковыми являются пищевые продукты растительного происхождения. Методика успешно прошла аттестацию в Уральском НИИ метрологии [28].

Заключение

Результаты определения антиоксидантной активности, полученные потенциометрическим методом, хорошо согласуются с литературными данными, касающимися антиоксидантных свойств различных продуктов питания. Величина АОА продуктов также может быть использована для оценки их качества и соблюдения технологии при производстве и хранении продуктов питания растительного происхождения. Показатель антиоксидантной активности может быть не только источником информации о безопасности, свежести и подлинности продуктов питания растительного происхождения, но и дать информацию для формирования нового взгляда на оценку их качества.

ЛИТЕРАТУРА

- Prior R.L. In vivo total antioxidant capacity comparison of different analytical methods // *Free Radical Biology & Medicine*. 1999. V. 27. P. 1173–1181.
- Cheng Z., Yan G., Li Y., Chang W. Determination of antioxidant activity of phenolic antioxidants in Fenton-type reaction system by chemiluminescence assay // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2000. V. 28, № 6. P. 860–870.
- Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits / K. Robards et [al.] // *Food Chemistry*. 1999. V. 66. P. 401–436.
- Liebert M., Licht U., Bohm V., Bitsch R. Antioxidant properties and total phenolic content of green and black tea under different brewing conditions // *European Food Research and Technology*. 1999. V. 204. № 1. P. 217–220.
- Вклад в увеличение стабильности вкуса пива / Г. Бессендерфер и [др.] // *Brauwelt Мир пива*. 2002. II. С.10–18.
- Lavelly V., Peri C., Rizzolo A. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reaction using xantine oxidase, myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation // *J. Agric Food Chem*. 2000. V. 48, № 5. P. 1442–1448.
- Chevion Sh., Roberts M.A., Chevion M. The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity // *Free Radical Biology & Medicine*. 2000. V. 28, № 6. P. 860–870.
- Campanella L., Bonnani A., Favero G., Tomasetti M. Determination of antioxidant properties of aromatic herbs, Olives and fresh fruit using an enzymatic sensor // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2003. V. 375. P. 1011–1016.
- Amperometric biosensor based on a functionalized gold electrode for the detection of antioxidants / S. Ignatov et [al.] // *Biosensor & Bioelectronics*. 2002. V. 17. P. 191–199.
- Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Shevchuk A.V. Study of antioxidant properties by voltammetry. Short Communication // *J. of Electroanalytical Chemistry*. 2002. V. 518. P. 56–60.
- Абдуллин И.Ф., Турова Е.Н., Будников Г.К. Кулонометрическая оценка антиоксидантной способности экстрактов чая электрогенерированным бромом // *Ж. аналитической химии*. 2001. Т. 56, № 6. С. 627–629.
- Абдуллин И.Ф., Турова Е.Н., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Потенциометрическая оценка вклада аскорбиновой кислоты в интегральную антиоксидантную способность растительного материала // *Ж. аналит. химии*. 2002. Т. 57, № 4. С.418–421.
- Абдуллин И.Ф., Турова Е.Н., Гайсина Г.Х., Будников Г.К. Применение электрогенерированного брома для оценки интегральной антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе // *Ж. аналитической химии*. 2002. Т. 57, № 6. С. 666–670.
- Электрогенерированный бром - реагент для определения антиоксидантной способности соков и экстрактов / И.Ф. Абдуллин и [др.] // *Заводская лаборатория*. 2002. Т. 68, № 9. С. 12–15.
- Яшин А.Я., Яшин Я.И. Применение жидкостных хроматографов «ЦветЯуза» с электрохимическими детекторами в медицине, экологии и для контроля пищевых продуктов // *Приборы*. 2009. № 9. С. 14–17.
- Яшин Д.Я., Яшин Я.И., Черноусова Н.И. Антиоксиданты в красном вине и их определение амперометрическим методом // *Виноделие и виноградарство*. 2007. № 6. С. 22–23.
- Определение антиоксидантной активности экстрактов растительного сырья методом катодной вольтамперометрии / Е.И. Короткова и [др.] // *Химико-фармацевтический журнал*. 2003. Т. 37, № 9. С. 55–56.
- Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Avramchik O.A. Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biological active substances by voltammetry. Short Communication // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2003. V. 375. P. 465–468.

19. Ghiselli A., Serafini M., Natella F., Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data // *Free Radical Biology & Medicine*. 2000. V. 29, № 11. P. 1106–1114.
20. Способ определения оксидантной/антиоксидантной активности растворов / Х.З. Брайнина, А.В. Иванова, ООО «НПВП «ИВА» - УрГЭУ: Пат. 2235998 Рос. Федерация; заявл. 14.11.2002, опубл. 10.09.2004. Бюл. № 25. 4 с.
21. Потенциометрический метод определения антиоксидантной активности: оценка основных метрологических характеристик / Е.Н. Шарафутдинова и [др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2008. Т. 74, № 6. С. 9–14.
22. Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation / Kh.Z. Brainina et al. // *Talanta*. 2007. V. 71, № 1. P. 13–18.
23. Брайнина Х.З., Иванова А.В., Шарафутдинова Е.Н. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов методом потенциометрии // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. 2004. № 4. С. 73–75.
24. Справочник по товароведению продовольственных товаров / [под ред. Т.Г. Родиной], М.: «КолосС», 2001. 608 с.
25. Sharafutdinova E.N., Fedorov M.V., Brainina Kh.Z. New aspects of quality evaluation of vegetative foodstuffs // *European J. of Natural History*. 2008. № 6. P. 66–68.
26. Shpigun L.K., Arharova M.A., Brainina Kh.Z., Ivanova A.V. Flow injection potentiometric determination of total antioxidant activity of plant extracts // *Analytica Chimica Acta*. 2006.V. 573–574. P. 419–426.
27. РГМ 61-2003. Рекомендации по межгосударственной стандартизации. ГСИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.: ИПК Издательство стандартов, 2004. 4 с.
28. Методика определения антиоксидантной активности пищевых продуктов, продовольственного сырья, БАД и витаминов. Свидетельство УНИИМ № 224.04.10.063/2007.

FOODSTUFFS QUALITY AND ANTIOXIDANT ACTIVITY

E.N. Sharafutdinova¹, A.V. Ivanova², A.I. Matern², Kh.Z. Brainina^{1,2}

*¹Ural State University of Economics
Russia, Yekaterinburg*

*²Ural Federal University
Russia, Yekaterinburg*

Foodstuffs quality is crucial in terms of impact on health and human lifespan. Antioxidant activity can be regarded as one of the aspects of food quality. Apply of electrochemical express-method for evaluating antioxidant activity is suggested.

Key words: foodstuffs quality, antioxidants, antioxidant activity, potentiometric method.