

Научная статья/Research Article

УДК 615.322:634(045)

DOI: 10.36718/1819-4036-2023-5-210-216

Евгений Дмитриевич Рожнов^{1✉}, Марина Николаевна Школьникова²,

Ольга Викторовна Чугунова³

¹Бийский технологический институт – филиал Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова, Бийск, Алтайский край, Россия

^{2,3}Уральский государственный экономический университет, Екатеринбург, Россия

¹red.bti@yandex.ru

²shkolnikova.m.n@mail.ru

³chugun.ova@yandex.ru

ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛОДОВ *HIPPORHAE RHAMNOIDES L.*

Цель исследования – сравнительное исследование антиоксидантной активности плодов облепихи электрохимическими методами. Задачи: определение в эксперименте АОА образцов плодов облепихи амперометрическим и потенциометрическим методами; исследование количественного состава компонентов, обуславливающих общую АОА плодов облепихи; установление зависимости АОА от соотношения компонентов в плодах; обоснование метода определения АОА плодов облепихи. Объектами исследования выступали плоды облепихи урожая 2021 г. Исследованы содержание отдельных компонентов, обладающих антиоксидантной активностью, и антиоксидантная активность для четырех сортов облепихи, произрастающей в Алтайском крае и Свердловской области. Антиоксидантная активность плодов облепихи, выращенных на территории Свердловской области, на 15–27 % выше аналогичного показателя для плодов, выращенных в Алтайском крае. Общую АОА исследуемого сырья измеряли двумя электрохимическими методами: метод инверсионной потенциометрии и амперометрический (референтный) метод. Определение общей АОА рассматриваемыми методами показывает сходимые результаты, однако в случае применения амперометрического сенсора результаты определения АОА могут оказаться заниженными, поскольку методика предусматривает предварительную водную экстракцию веществ, обладающих АОА, что не позволяет учитывать вклад каротиноидов в итоговое значения АОА. В то же время потенциометрический метод позволяет нивелировать этот недостаток за счет регистрации изменений потенциала системы при окислении или восстановлении медиаторной системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$, что делает его более универсальным. Также в работе были определены корреляционные зависимости между основными компонентами состава плодов облепихи и значением общей АОА. Наблюдается слабая корреляционная зависимость между содержанием аскорбиновой кислоты, суммой полифенольных веществ и общей АОА. Отмечена сильная корреляционная связь между содержанием процианидинов и общей АОА ($r = 0,9976$).

Ключевые слова: антиоксидантная активность, потенциометрический метод, амперометрический метод, облепиха, корреляция

Для цитирования: Рожнов Е.Д., Школьникова М.Н., Чугунова О.В. Возможности и ограничения некоторых электрохимических методов для определения антиоксидантной активности плодов *Hipporhae rhamnoides L.* // Вестник КрасГАУ. 2023. № 5. С. 210–216. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-5-210-216.

Evgeny Dmitrievich Rozhnov^{1✉}, Marina Nikolaevna Shkolnikova², Olga Viktorovna Chugunova³

¹Biysk Technological Institute – a branch of the Altai State Technical University named after I.I. Polzunov, Biysk, Altai Region, Russia

^{2,3}Ural State University of Economics, Yekaterinburg, Russia

¹red.bti@yandex.ru

²shkolnikova.m.n@mail.ru

³chugun.ova@yandex.ru

SOME ELECTROCHEMICAL METHODS POSSIBILITIES AND LIMITATIONS TO DETERMINE THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *HIPPOPHAE RHAMNOIDES* L. FRUITS

The purpose of research is a comparative study of the antioxidant activity of sea buckthorn fruits by electrochemical methods. Tasks: determination in the AOA experiment of samples of sea buckthorn fruits by amperometric and potentiometric methods; study of the quantitative composition of the components that determine the total AOA of sea buckthorn fruits; establishing the dependence of AOA on the ratio of components in fruits; substantiation of the method for determining the AOA of sea buckthorn fruits. The objects of the study were the fruits of sea buckthorn harvested in 2021. The content of individual components with antioxidant activity and antioxidant activity were studied for four varieties of sea buckthorn growing in the Altai Region and the Sverdlovsk Region. The antioxidant activity of sea buckthorn fruits grown in the Sverdlovsk Region is 15–27 % higher than that of fruits grown in the Altai Region. The total AOA of the studied raw materials was measured by two electrochemical methods: the method of inversion potentiometry and the amperometric (reference) method. The determination of the total AOA by the considered methods shows similar results, however, in the case of using an amperometric sensor, the results of determining the AOA may be underestimated, since the technique provides for the preliminary aqueous extraction of substances with AOA, which does not allow taking into account the contribution of carotenoids to the final AOA values. At the same time, the potentiometric method makes it possible to level this shortcoming by registering changes in the potential of the system during the oxidation or reduction of the mediator system $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$, which makes it more universal. Also in the work, correlations were determined between the main components of the composition of sea buckthorn fruits and the value of the total AOA. There is a weak correlation between the content of ascorbic acid, the amount of polyphenolic substances and the total AOA. A strong correlation was noted between the content of procyanidins and total AOA ($r = 0.9976$).

Keywords: antioxidant activity, potentiometric method, amperometric method, sea buckthorn, correlation

For citation: Rozhnov E. D., Shkolnikova M.N., Chugunova O.V. Some electrochemical methods possibilities and limitations to determine the antioxidant activity of *Hippophae rhamnoides* L. Fruits // Bulliten KrasSAU. 2023;(5): 210–216. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-5-210-216.

Введение. Общеизвестно и доказано, что употребление антиоксидантов в составе продуктов питания предотвращает широкий перечень алиментарно-зависимых заболеваний – осложнений сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, заболеваний, связанных с нарушением метаболических процессов и др. Поэтому в последние два десятилетия ведется активный поиск природных антиоксидантных веществ и богатых ими продуктов питания [1, 2].

В плодах облепихи крушиновидной (*Hippophae rhamnoides* L.) содержится широкий перечень антиоксидантов: аскорбиновая кислота (500–14000 мг/кг), токоферолы (до 1600 мг/кг),

каротиноиды (150–430 мг/кг), полифенольные вещества, представленные флавонами (1500–2000 мг/кг, в т. ч. изорамнетин, кверцетин, кемпферол и рутин), катехинами (700–1300 мг/кг), проантоцианидинами (1100–2900 мг/кг); хлорогеновая кислота (300–730 мг/кг), – что обуславливает высокую антиоксидантную активность (АОА) плодов облепихи [3].

Таким образом, исследование АОА плодов облепихи крушиновидной и продуктов ее переработки современно и достаточно актуально в свете разработки новых технологий переработки этой ценнейшей культуры.

Стоит отметить, что на сегодня исследование АОА продовольственного сырья, пищевых продуктов и напитков проводится в двух направлениях: определение состава и количественного содержания биологически активных веществ-антиоксидантов и определение общих антиоксидантных свойств объектов.

Электрохимические методы определения АОА характеризуются высокой чувствительностью и экспрессностью и, наряду со спектрофотометрическими, широко применяются для оценки АОА плодов и продуктов их переработки: по данным О.В. Тринеевой, на долю спектральных методов приходится около 50 %, электрохимических – более 30 %, среди которых наиболее часто используют амперометрический метод [4].

Однако для объектов сложного состава, к которым относятся плоды облепихи, содержащие как водо-, так и жирорастворимые антиоксиданты, приведенные методы имеют определенные возможности и ограничения. Поэтому представляет научный и практический интерес сопоставление значений АОА, полученных различными методами.

Цель исследования – сравнительное исследование антиоксидантной активности плодов облепихи электрохимическими методами.

Задачи: определение в эксперименте АОА образцов плодов облепихи амперометрическим и потенциометрическим методами; исследование количественного состава компонентов, обуславливающих общую АОА плодов облепихи; установление зависимости АОА от соотношения компонентов в плодах; обоснование метода определения АОА плодов облепихи.

Объекты и методы. Объектами исследования выступали плоды облепихи урожая 2021 г. (селекция отдела «Научно-исследовательский институт садоводства Сибири имени М.А. Лисавенкова» ФГБНУ Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий) сортов Чуйская, Алтайская, Эссель (плоды собраны на территории Алтайского края) и Превосходная (плоды собраны на территории Свердловской области).

Общую АОА исследуемого сырья измеряли двумя электрохимическими методами:

1-й метод – инверсионной потенциометрии, в основу которого положено химическое взаи-

модействие антиоксидантов с медиаторной системой $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$, которое приводит к изменению окислительно-восстановительного потенциала. В качестве средства измерения использовался многофункциональный потенциометрический анализатор МПА-1 (НПВП «Ива», Россия). Рабочий электрод – платиновый планарный электрод (НПВП «Ива», Россия), электрод сравнения – стандартный хлорсеребряный электрод. Измерение общей АОА данным методом осуществляли в порядке, описанном в [5].

2-й метод – амперометрический (референтный), стандартизированный в [6]. Метод заключается в измерении силы электрического тока, возникающего при окислении антиоксидантных веществ на поверхности рабочего электрода при определенном установленном потенциале и сравнении полученного сигнала с сигналом от стандарта (галловая кислота моногидрат ASC (ICN Biomedicals Inc., Германия)) при тех же условиях измерения. Определение общей АОА по указанному методу проводили с использованием жидкостного анализатора «Цвет-Яуза-01-АА» (НПО «Химвтоматика», Россия).

Содержание аскорбиновой кислоты определяли методом, изложенным в [7], массовую концентрацию фенольных веществ – колориметрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу по [8] с предварительным разбавлением образцов в 100 раз, концентрацию процианидинов – колориметрическим методом Бейта-Смита по [9], содержание каротиноидов (β -каротина) – по методике, изложенной в [10]. При колориметрических исследованиях был использован двухлучевой спектрофотометр Shimadzu UV 1800 (Shimadzu, Япония).

Результаты и их обсуждение. За обеспечение общей АОА плодов облепихи и продуктов ее переработки отвечает значительное количество соединений, однако наибольший вклад, несомненно, принадлежит соединениям полифенольной природы, аскорбиновой кислоте, а также жирорастворимым каротиноидам, присутствующим непосредственно в жировой фазе сока облепихи. На начальном этапе исследования было определено содержание отдельных компонентов плодов облепихи, обеспечивающих формирование общей АОА (табл. 1).

Количественный состав компонентов, отвечающих за общую антиоксидантную активность плодов облепихи (n = 3, M ± m)

Показатель, мг/100 г	Образец			
	Чуйская	Алтайская	Эссель	Превосходная
Массовая концентрация аскорбиновой кислоты	83,4±0,6	72,7±0,6	67,3±0,4	204,7±7,3
Массовая концентрация полифенольных соединений	178,7±1,9	187,3±0,8	167,9±3,4	306,5±15,7
Массовая концентрация процианидинов	35,6±0,8	40,0±0,6	42,3±0,8	67,3±0,9
Массовая концентрация каротиноидов	2,17±0,08	2,39±0,05	1,83±0,04	3,14±0,07

Из данных, представленных в таблице 1, можно сделать вывод о существенном различии показателей состава плодов облепихи в зависимости от эколого-географической зоны произрастания (плоды сортов Чуйская, Алтайская и Эссель – собраны в Смоленском районе Алтайского края, плоды сорта Превосходная – в Сысертском районе Свердловской области). Так, плоды облепихи Превосходная содержат аскорбиновой

кислоты в 2,5–3,0 раза больше по сравнению с сортами, произрастающими в Алтайском крае; в 1,6–1,8 раза больше полифенольных веществ; в 1,1–1,9 раза больше процианидинов и 1,3–1,7 раза больше каротиноидов.

В таблице 2 представлено соотношение компонентов плодов облепихи, отвечающих за ее антиоксидантную активность.

Таблица 2

Соотношения компонентов плодов облепихи, формирующих антиоксидантную активность

Образец плодов облепихи	Каротиноиды : аскорбиновая кислота : сумма полифенолов : процианидины
Чуйская	1 : 38 : 82 : 16
Алтайская	1 : 27 : 69 : 15
Эссель	1 : 36 : 91 : 23
Превосходная	1 : 65 : 97 : 21

Из приведенных в таблице 2 данных можно увидеть, что наименьшей степенью варьирования по отношению к содержанию каротиноидов обладает фракция процианидинов, представляющая собой конденсированный катехин с различной степенью полимеризации. Главной особенностью процианидинов является способность эффективно инактивировать гидроксил-радикал и супероксид-анион [11]. При этом установлено, что АОА процианидинов в несколько раз превосходит АОА низкомолекулярных антиоксидантов – аскорбиновой кислоты и токоферола за счет способности улавливать активные

формы кислорода и азота благодаря электроно- и протонорным свойствам, образуя при этом феноксил-радикалы, более стабильные по природе, чем радикалы мономерных флавоноидов. Взаимодействие этого феноксил-радикала с другими свободными радикалами приводит к обрыву цепи свободнорадикального процесса в клетке [12, 13].

В таблице 3 представлены результаты определения АОА в плодах облепихи крушиновидной двумя методами – амперометрическим и потенциометрическим.

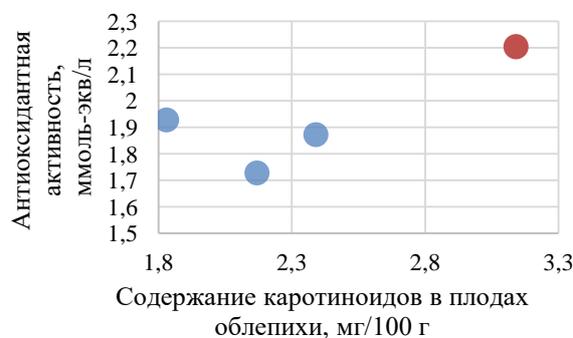
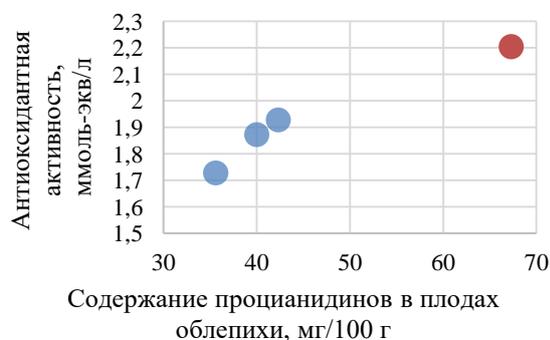
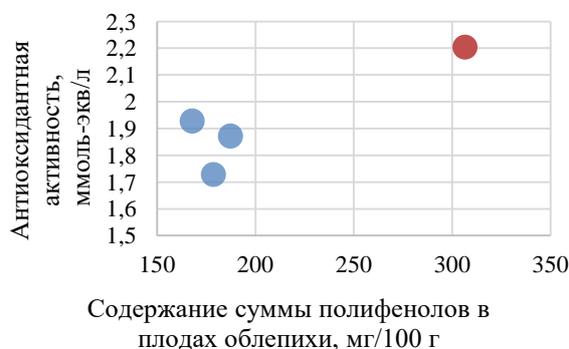
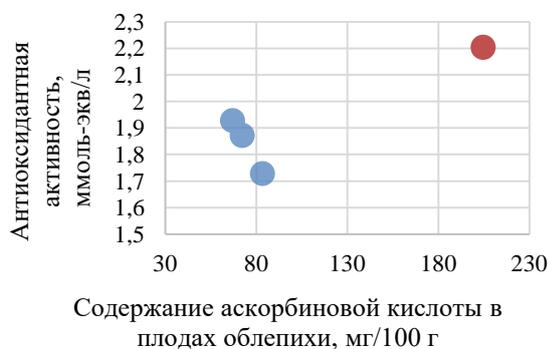
Антиоксидантная активность плодов облепихи

Образец плодов облепихи	Общая антиоксидантная активность, ммоль-экв/л
Использован амперометрический сенсор	
Чуйская	1,728±0,013
Алтайская	1,872±0,011
Эссель	1,928±0,012
Использован потенциометрический сенсор	
Превосходная	2,204±0,012

Можно видеть, что использование двух методов определения общей АОА с использованием коммерческих сенсоров двух видов показывает достаточно сходимые результаты, однако в случае использования амперометрического сенсора в составе анализатора АОА «Цвет-Яуза-01-АА» можно выделить следующий недостаток – методика распространяется только на водорастворимые антиоксидантные вещества, что, вероятно, в случае присутствия в объекте жирорастворимых антиоксидантов, например каротиноидов, может приводить к занижению

конечного результата. Использование потенциометрического сенсора в составе потенциометрического анализатора МПА-1 за счет регистрации изменений потенциала системы при окислении или восстановлении медиаторной системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ лишено данного недостатка, что делает метод более универсальным.

На рисунке 1 представлены корреляционные поля между содержанием основных компонентов плодов облепихи, обладающих АОА, и значением измеренной общей АОА.



Поля корреляции «антиоксидантная активность – компонент состава плодов облепихи»

Из данных, представленных на рисунке 1, можно сделать вывод, что наиболее выраженной корреляцией обладает пара данных: АОА – содержание процианидинов (коэффициент парной корреляции составляет 0,9976).

Заключение. Таким образом, определение АОА электрохимическими методами (потенциометрическим и амперометрическим) показывает сходимые результаты. При использовании амперометрического метода результаты определения АОА могут оказаться заниженными, поскольку методика предусматривает предварительную водную экстракцию обладающих АОА веществ, что не позволяет учитывать вклад жирорастворимых антиоксидантов, в частности каротиноидов, в суммарное значения АОА. Тогда как использование потенциометрического метода позволяет исключить данный недостаток за счет регистрации изменений потенциала системы при окислении или восстановлении медиаторной системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$. Определены корреляционные зависимости между основными компонентами состава плодов облепихи и значением общей АОА: наблюдается слабая корреляционная зависимость между содержанием аскорбиновой кислоты, суммы полифенольных веществ и общей АОА, выявлена сильная корреляционная связь между содержанием процианидинов и общей АОА ($r = 0,9976$).

Список источников

1. Лудан В.В., Польская Л.В. Роль антиоксидантов в жизнедеятельности организма // Таврический медико-биологический вестник. 2019. Т. 22, № 3. С. 86–92.
2. Serafini Mauro, Peluso Ilaria Functional Foods for Health: The Interrelated Antioxidant and Anti-Inflammatory Role of Fruits, Vegetables, Herbs, Spices and Cocoa in Humans // Current Pharmaceutical Design. 2016. V. 22, № 44. P. 6701–6715 (15).
3. Ферментализ сырья как фактор интенсификации процесса выделения фенольных веществ облепихового шрота / Е.Д. Рожнов [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2020. № 9 (162). С. 177–184.
4. Тринеева О.В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. Т. 22, № 3. С. 180–197.
5. Brainina K.Z., Zaharov A.S., Vidrevich M.B. Potentiometry for the determination of oxidant activity // Analytical methods. 2016. Т. 8, № 28. P. 5667–5675.
6. ГОСТ Р. 54037-2010. Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках. М.: Стандартинформ, 2011.
7. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid combined to 6-Benzylaminopurine on callus induction, total phenolic and ascorbic acid production, and antioxidant activities in leafy issue cultures of *Crataegus azarolus* L. var. aronia / G. Chaabani [et al.] // Acta Physiologiae Plantarum. 2015. Т. 37, № 2.
8. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we use an in vitro screening methods? / D. Granato [et al.] // Food Chemistry. 2018. Т. 264. P. 471–475.
9. Content of Total Phenolics, Flavan-3-Ols and Proanthocyanidins, Oxidative Stability and Antioxidant Capacity of Chocolate During Storage / J. Lalicic-Petronijevic [et al.] // Food Technology and Biotechnology. 2016. Т. 54, № 1. P. 13–20.
10. Спектрофотометрический метод определения содержания каротинов, ксантофиллов и хлорофиллов в экстрактах семян растений / О. Булда [и др.] // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 4. С. 604–611.
11. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grapeseed proanthocyanidin extract in vitro / D. Bagchi [et al.] // Research communications in molecular pathology and pharmacology. 1997. Т. 95, № 2. P. 179–189.
12. Антирадикальная активность извлечений из дальневосточных растений, содержащих олигомерный проантоцианидиновый комплекс / В. Спрыгин [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2002. № 11.

13. Bors W., Michel C., Stettmaier K. Electron paramagnetic resonance studies of radical species of proanthocyanidins and gallate esters // Archives of Biochemistry and Biophysics. 2000. Т. 374, № 2. С. 347–355.

Статья принята к публикации 22.03.2023 / The article accepted for publication 22.03.2023.

Информация об авторах:

Евгений Дмитриевич Рожнов¹, доцент кафедры биотехнологии, доктор технических наук

Марина Николаевна Школьникова², профессор кафедры технологии питания, доктор технических наук, доцент

Ольга Викторовна Чугунова³, заведующая кафедрой технологии питания, доктор технических наук, профессор

Information about the authors:

Evgeny Dmitrievich Rozhnov¹, Associate Professor at the Department of Biotechnology, Doctor of Technical Sciences

Marina Nikolaevna Shkolnikova², Professor at the Department of Nutrition Technology, Doctor of Technical Sciences, Docent

Olga Viktorovna Chugunova³, Head of the Department of Nutrition Technology, Doctor of Technical Sciences, Professor

