

А.А.Машенцева<sup>1</sup>, А.Т.Казбекова<sup>2</sup>, Т.С.Сейтеметов<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева;<sup>2</sup>АО Медицинский университет «Астана», Астана

## ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

*Мақалада полифенолды қосылыстардың антиоксиданттық белсенділігін зерттеудің методологиялық аспектілері қазіргі заманға сай электрохимиялық әдістері қолдану арқылы қарастырылған. Ұсынылған әдеби деректер оттектің белсенді формаларының полифенолдық қосылыстар мен тежелу процестерін зерттеу үшін вольтамперометрияны және потенциометрияны қолданудың болашағы зор екенін айғақтайды.*

*The methodological aspects of the antioxidant activity investigations of polyphenols using modern electrochemical assays were studied. The literature data presented in the paper are indicated the great perceptivity of voltammetry and potentiometry assays for investigations reactive species inhibition by polyphenols.*

Проблема ингибирования процессов кислородного метаболизма, вызываемого избытком активных форм кислорода (АФК) в организме человека, является одной из наиболее актуальных в настоящее время [1–4]. Повреждения клеточной структуры, вызванные АФК, являются первопричиной нарушения баланса между интенсивностью образования свободных радикалов (СР) и активностью антиоксидантной системы организма и, как следствие, развития серьезных заболеваний [5–7]. Для регулирования свободнорадикальных процессов в организме применяют биологически активные соединения, проявляющие антиоксидантные свойства. В качестве антиоксидантов широко используются препараты как синтетического, так и растительного происхождения. Большое количество исследований посвящено применению полифенольных соединений, в частности флавоноидов, представляющих обширную группу полифенольных соединений, в качестве ингибиторов свободнорадикальных процессов с участием АФК [7–9]. Флавоноиды являются многофункциональными антиоксидантами, так как они способны дезактивировать как липидные алкоксильные и пероксильные радикалы, так и другие АФК; связывать ионы металлов, предотвращая образование свободных радикалов по реакции Фентона, регенерировать токоферол, восстанавливая токофероксильный радикал. Использование биофлавоноидов в подобном качестве является весьма перспективным, так как они легко вступают в процессы метаболического обмена в организме без побочных эффектов, присущих синтетическим аналогам.

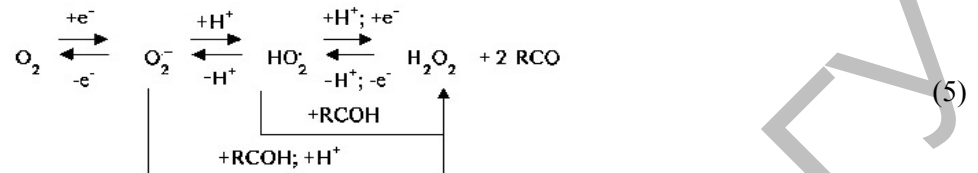
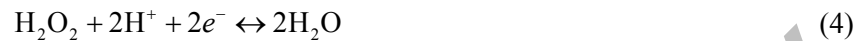
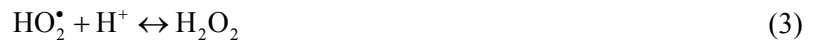
Всё разнообразие методик, используемых для определения антиоксидантной и антирадикальной активности, может быть классифицировано по нескольким признакам: по типу источника окисления, окисляемого соединения и способа измерения окисленного соединения, по способу регистрации — волюмометрические, фотометрические, хемилюминесцентные, флуоресцентные и электрохимические. Ранее [10–11] нами была рассмотрена группа оптических методов исследования антиоксидантной активности (АОА). В настоящей работе внимание уделено анализу имеющихся литературных данных исследования АОА с применением электрохимических методов анализа.

Методы оценки *in vitro*, применяемые в настоящее время, длительны и трудоемки и не позволяют оценивать эффективность антиоксидантов относительно влияния на определенные стадии свободнорадикальных процессов [12–13]. Одним из перспективных подходов для проведения подобного рода исследований было применение авторами [14] элементарных окислительно-восстановительных реакций с участием кислорода и метода импульсной вольтамперометрии для определения АОА и антирадикальной активности (АРА) ряда лекарственных растений. Эксперимент проводился в условиях режима поляризации медного электрода в 0,1 М фоновом растворе хлорида натрия. В результате проведенных испытаний определены эффективные концентрации экстрактов лекарственных растений и построены ряды сравнительной оценки их АОА:

*женьшень > родиола > зверобой > элеутерококк > ромашка > толокнянка >  
> пустырник > подорожник > эхинацея > шалфей.*

Вольтамперометрический метод определения АОА основан на измерении тока электрохимического восстановления кислорода (ЭВК) на ртутно-пленочном (или стеклографитовом) электроде.

Процесс ЭВК является квазиобратимым и протекает в несколько стадий (1–5). Лимитирующими в протонных средах являются объединенные стадии 1–2.



Антиоксиданты (АО), легко и быстро вступающие во взаимодействие с активными кислородными радикалами, влияют на кинетику процесса ЭВК (5). Для большинства АО наблюдается уменьшение тока ЭВК и сдвиг потенциала предельного тока ЭВК в положительную область, что может быть следствием взаимодействия АО с продуктами взаимодействия кислорода. Авторами [15] рассмотрены теоретические закономерности ЭВК на стационарных электродах ограниченного объема в присутствии АО, определены параметры АОА для водно-спиртовых экстрактов растительных объектов, исследованы процессы релаксации ряда оксигенированных инфузионных растворов по отношению к процессу ЭВК с целью расширения возможностей неотложной помощи при острой гипоксии. Авторами [16–18] предложено определение АОА индивидуальных антиоксидантов (глюкоза, аскорбиновая и лимонная кислоты), их смесей, фармпрепаратов на ртутно-пленочном электроде в диапазоне от 0 до 0,6 В, в качестве фонового электролита в водной среде был использован децимолярный раствор сульфата натрия, в апротонной — 0,1 М раствор хлората натрия.

Считается, что многие проблемы вольтамперометрии связаны с электродами. Новое поколение сенсоров, которое сейчас интенсивно развивается, основано на химически модифицированных электродах (ХМЭ). На поверхность электродов наносят химические соединения или полимерные пленки, которые существенным образом изменяют их способность к вольтамперометрическому отклику. Использование ХМЭ в вольтамперометрии расширяет ее возможности как метода анализа. Авторами исследованы теоретические закономерности процесса окисления витамина В<sub>6</sub> (пиридоксина) в условиях нестационарной диффузии на ХМЭ, осложненного наличием предшествующей химической реакции образования промежуточного комплекса с модификатором. В работе [19] применяли метод анодной и циклической вольтамперометрии в постоянно-токовом и дифференциально-импульсном режимах с использованием химически модифицированного фталоцианином кобальта электрода. Вольтамперограммы исследуемых растворов регистрировали на стационарных электродах с линейной либо дифференциально-импульсной разверткой потенциала с варьируемой скоростью 20–250 мВ/с. В качестве фонового электролита использовался фосфатный буфер (рН = 6,86). Применена трехэлектродная электрохимическая ячейка, состоящая из рабочего электрода, хлорид-серебряного электрода (ХСЭ) сравнения и вспомогательного ХСЭ. Исследованы антиоксидантные свойства витамина В<sub>6</sub> в зависимости от его структуры, а также его лекарственных форм.

Для исследования АОА препаратов были сняты вольтамперограммы предельного тока ЭВК в присутствии исследуемых веществ в растворе. Для оценки антиоксидантной активности исследуемых веществ были построены зависимости относительного изменения предельного тока ЭВК от времени взаимодействия вещества с активными кислородными радикалами. Степень уменьшения тока ЭВК является показателем АОА исследуемых веществ. По тангенсу угла наклона полученных зависимостей определены коэффициенты АОА веществ по кинетическому критерию  $K_{кин}$  (6):

$$K_{кин} = \left(1 - \frac{I_i}{I_0}\right) \cdot \frac{C_{\text{O}_2}^0}{t}, \quad (6)$$

где  $I_i$  — ток ЭВК в присутствии АО в растворе, мкА;  $I_0$  — ток ЭВК в отсутствие АО в растворе, мкА;  $C_{\text{O}_2}^0$  — исходная концентрация кислорода в растворе, мкмоль/л;  $t$  — время протекания реакции взаимодействия антиоксиданта с активными кислородными радикалами, мин.

В обзоре [20] авторами рассмотрено использование электрохимических ДНК-сенсоров для определения биологически активных низкомолекулярных соединений, специфически взаимодействующих с нуклеиновыми кислотами. С помощью ДНК-сенсоров возможно электроаналитическое определение антиоксидантов, основанное на их способности препятствовать разрушению ДНК в присутствии сильных окислителей. При электрохимическом анализе в данных условиях наблюдается уменьшение сигналов, проявляющихся в присутствии ДНК-повреждающих факторов. Существует несколько подходов к оценке повреждения действия ДНК в составе электрохимических сенсоров. Наиболее изучен метод, по которому регистрируют сигналы окисления отдельных оснований в составе ДНК (гуанина, реже аденина), а также 8-оксогуанина (8-оксо-7,8-дигидрогуанин) — индикатора окислительного повреждения ДНК. Вторым по распространенности подходом к оценке повреждения ДНК является электрохимический контроль генерирования активных реагентов, расходуемых в реакции с ДНК. Классическим примером является реакция Фентона, в которой под действием пероксида водорода и ионов  $\text{Fe}^{2+}$  образуются гидроксильные и супероксидные радикалы. Поскольку реакция протекает в щелочной среде, ионы металла (железа) включают в комплекс с ЭДТА для повышения их гидролитической устойчивости, а для регенерации  $\text{Fe}^{2+}$  используют либо катодную реакцию [21], либо химические восстановители (например, аскорбиновую кислоту [22]).

Сигнал повреждения ДНК достаточно показателен для того, чтобы определять также вещества, снижающие действие токсикантов. К таким веществам относятся прежде всего антиоксиданты — флавоноиды, полифенолы, некоторые витамины, эффективно подавляющие действие пероксида водорода, супероксидного и гидроксильного радикалов, переводя их в малоактивные и неопасные формы — воду или молекулярный кислород. Как правило, количественное определение антиоксидантов протекает в две стадии — это генерирование активных форм кислорода и оценка защитного действия определяемого соединения по относительному изменению тока маркера или нуклеиновых оснований.

Так, реактив Фентона использовали для оценки АОА растительных экстрактов из *Peumus boldus*, *Baccharis genstelloides*, *Cymbopogon citratus*, *Foeniculum vulgare*, *Mentha piperita* и *Camellia sinensis* с помощью печатного графитового электрода с нативной ДНК, электростатически адсорбированной на поверхности. Сигналом служит пик окисления гуанина, регистрируемый методом квадратно-волновой вольтамперометрии [23]. В этих исследованиях использовался также стандартный метод, основанный на фотометрическом измерении скорости захвата стабильного радикала 1,1-дифенил-2-пикрилгидразила [24]. Реактив Фентона вызывает снижение пика окисления гуанидина, присутствие которого в растворе экстракта частично нивелирует действие окислителя. По результатам тестирования с помощью ДНК-сенсора антиоксидантное действие экстрактов снижается в ряду: *Baccharis genstelloides* > *Peumus boldus* > *Foeniculum vulgare* > *Cymbopogon citratus* > *Camellia sinensis* > *Mentha piperita*. По данным стандартного метода эти антиоксиданты составляют ряд: *Peumus boldus* > *Baccharis genstelloides* > *Camellia sinensis* > *Mentha piperita* > *Foeniculum vulgare* > *Cymbopogon citratus*.

Простой электрохимический способ определения антиокислительной активности флавоноидов, основанный на измерении потенциала полуволны окисления на проточном колоночном электроде, предложен авторами [25]. Сообщается, что электрохимическая активность соединений коррелирует со способностью подавлять перекисное окисление липидов.

Новый экспрессный амперометрический способ определения АОА растительных лекарственных препаратов, биологически активных добавок и напитков предложен авторами [26–27]. Он основан на измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода, находящегося под определенным потенциалом. Чувствительность амперометрического способа определяется как природой рабочего электрода, так и потенциалом, приложенным к нему. В качестве материала рабочего электрода используются: стеклоуглерод, золото, платина, серебро, медь, никель, палладий и др. Потенциал может устанавливаться в пределах от 0 до 2,5 В.

Известно, что амперометрический способ анализа обладает рядом преимуществ: низким пределом обнаружения, высокой селективностью (определяются только соединения, молекулы которых могут окисляться, другие соединения, присутствующие даже в больших концентрациях, не определяются), малым объемом ячейки (0,1–5 мкл), простотой обслуживания.

В условиях амперометрического детектирования хорошо окисляются соединения, содержащие гидроксильные группы, предел их обнаружения на уровне  $10^{-9}$ – $10^{-12}$  г, в благоприятных условиях некоторые соединения определяются на уровне  $10^{-15}$  г (фемтограммов). Основные и наиболее активные природные антиоксиданты имеют фенольную природу. Это природные полифенолы, разные типы

флавоноидов, фенольные оксикислоты, витамины и др. Авторы считают амперометрический способ наиболее подходящим для оценки антиоксидантной активности.

В [28] разработан новый подход к оценке интегральной антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья (ЛРС) с помощью электрогенерированного брома, отличающийся экспрессностью и простотой. Электрохимическое окисление бромид-ионов на платиновом электроде в кислых средах приводит к образованию  $\text{Br}^{3+}$ ,  $\text{Br}_2$ , а также короткоживущих радикалов брома ( $\text{Br} \dot{\text{O}}_{\text{эл}}$ ), адсорбирующихся на поверхности платинового электрода. Образующиеся при электроокислении соединения брома и сам бром легко вступают в радикальные и окислительно-восстановительные реакции, а также реакции электрофильного замещения и присоединения по кратным связям, что позволяет охватить широкий круг биологически активных соединений различного строения, обладающих антиоксидантными свойствами. Поэтому электрогенерированный бром можно использовать в качестве некоторого универсального реагента для оценки АОА растительного сырья.

На примере анализа около 90 объектов растительного происхождения для количественной оценки антиоксидантной способности была предложена новая характеристика — бромная антиоксидантная способность. Эта величина отражает содержание в препаратах биологически активных веществ и может быть использована для оценки качества пищевых продуктов, стандартизации лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе, для контроля технологических процессов в производстве [27]. С использованием электрогенерированных соединений брома в качестве титранта были также определены антиоксидантные емкости продуктов растительного происхождения (настоев лекарственных трав, чаев, вин, бальзамов, пива). Показано, что высокими антиоксидантными свойствами обладают представители растительных биополимеров — лигнины различной ботанической принадлежности [29].

Изучены реакции рутина, танина, коричной и аскорбиновой кислот с электрогенерированным бромом [30]. Установлено, что рутин реагирует с бромом в соотношении 1:4, танин — 1:14, аскорбиновая кислота — 1:2. Кроме того, экспериментально установлено, что кофеин, теofilлин и теобромин, а также витамины  $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_2$ ,  $\text{B}_3$ , РР, растворимые сахара, шавелевая, коричная и лимонная кислоты с электрогенерированным бромом не реагируют и вклада в бромную АОС экстрактов чая не вносят. Исследованы водные и водно-спиртовые экстракты 35 фиточаев. Бромную и хлорную АОС выражали в единицах количества электричества (Кл), затрачиваемого на 100 г сухой травы. Показано, что хлорная АОА примерно в 1,5 раза превышает бромную АОА вследствие большей активности электрогенерированного хлора.

Антиоксидантные свойства фенолокислот — цинариновой, кофейной, хлорогеновой, феруловой и розмариновой были определены посредством различных методик, в том числе методом циклической вольтамперометрии. В эксперименте была использована трехэлектродная система — стеклянный угольный электрод, платиновый и насыщенный каломельный электроды. Образцы полифенолов приготавливались в фосфатном буфере при  $\text{pH} = 7,4$ . Растворы хранились в постоянном токе аргона в период проведения испытаний. Рабочий электрод полировался оксидом алюминия каждый раз непосредственно перед проведением измерений, так как полимерная пленка, образующаяся на поверхности, дезактивирует электрод [31].

Большую популярность среди исследователей snискали потенциометрические методы исследования АОА. Разнообразие используемых методик позволяет применять потенциометрию для детектирования различных АФК.

Авторами [32] предложен метод определения АРА, основанный на принципе косвенного определения пероксил-радикалов с использованием потенциометрического титрования. Данный метод характеризуется быстротой выполнения эксперимента (30 мин), не требует дорогостоящих реагентов и наиболее удобен для исследования водорастворимых АО. В качестве инициатора гидроксил-радикалов используется 2,2'-азобис(2-амидинопропа)дигидрохлорид, распадающийся при инкубации 35–40 °С, реагируя с кислородом воздуха и образуя при этом водорастворимые пероксил-радикалы (схема).

Количество йода, полученного в результате окисления насыщенного раствора йодида калия, потенциометрически оттитровывают 0,25  $\mu\text{M}$  раствором тиосульфата натрия с использованием комбинированного платинового электрода. АРА (%) определяют по формуле (7)

$$APA(\%) = \left( 1 - \frac{V' - V_0}{V - V_0} \right) \times 100, \quad (7)$$

где  $V'$  и  $V$  — количество титранта ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) в присутствии и в отсутствие образца;  $V_0$  — количество титранта в начальное время титрования.

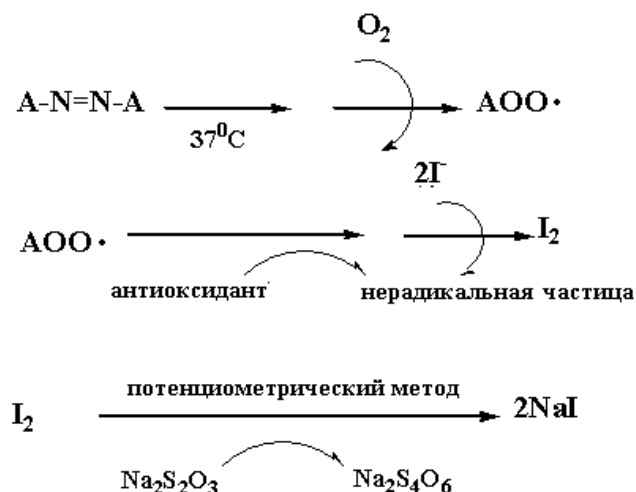


Схема. Потенциметрическое определение гидроксил радикалов

Концентрация антиоксиданта, при которой наблюдается ингибирование 50 % гидроксильных радикалов ( $IC_{50}$ ), рассчитывается из данных графика зависимости АРА от концентрации. Были исследованы АРА различных флавоноидов, включая 21 вид катехинов чая, а также экстрактов овощей. На рисунке 1 представлены кривые титрования аскорбиновой кислоты (АК) и эпигаллокатехин-О-галлата (ЭПКГ).

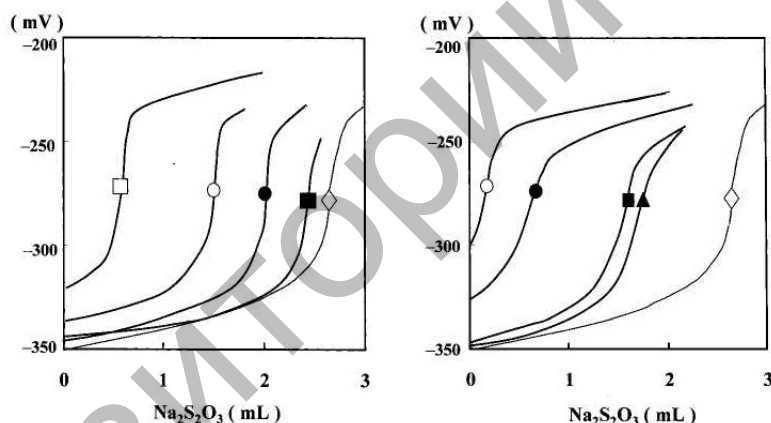


Рис. 1. Изменение электрического потенциала АК и ЭПКГ при автоматическом титровании  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Концентрации антиоксидантов в реакционной смеси:  $\diamond$  — контроль;  $\blacksquare$  —  $1,67 \mu\text{M}$ ;  $\blacktriangle$  —  $3,37 \mu\text{M}$ ;  $\bullet$  —  $16,67 \mu\text{M}$ ;  $\circ$  —  $33,33 \mu\text{M}$ ;  $\square$  —  $66,67 \mu\text{M}$  [32]

Предлагается простой экспрессный потенциметрический способ оценки АОА фитопрепаратов, соков, биологических субстратов и др. по аскорбиновой кислоте [33]. По значению окислительно-восстановительных потенциалов аскорбиновая кислота среди АО является одним из наиболее сильных восстановителей и, следовательно, образующаяся редокс-пара является потенциалопределяющей. В качестве электродов с потенциметрическим откликом на содержание аскорбиновой кислоты нами исследованы платиновый и графитовый, модифицированный йодом и берлинской лазурью соответственно, и медно-оксидный. Исследования проводили в ацетатном буферном растворе ( $\text{pH} = 4,67$ ) и на фоне  $0,1 \text{ M KCl}$  под током аргона. Берлинскую лазурь на поверхности графитового электрода получали электролизом соответствующих солей, платиновый электрод модифицировали йодом за счет адсорбции. Показано, что йод-йодидный платиновый электрод, в отличие от модифицированного берлинской лазурью графитового электрода, очень чувствителен к растворенному кислороду. Поэтому определения на этом электроде нужно проводить в инертной атмосфере. Установлено, что на электродах, модифицированных йодом и берлинской лазурью, имеется линейная зависимость потенциала от концентрации аскорбиновой кислоты в интервале  $1 \cdot 10^{-5} \div 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ . Изменение потенциала ( $\Delta E$ ) в указанном интервале концентраций аскорбиновой кислоты на электродах, моди-

фицированных йодом и берлинской лазурью, составляет 400 и 200 мВ соответственно. На медно-оксидном электроде линейная зависимость отсутствует.

С использованием методов потенциометрии и циклической вольтамперометрии была исследована АОА фенолпропионовых кислот — кофеиновой, феруловой, *n*-кумаровой, коричной кислот, а также схожих фенольных соединений — галловой, ванилиновой кислот, метилгаллата. Наименьший окислительный потенциал в эксперименте вольтамперометрии и наибольший восстановительный потенциал в потенциометрии  $\Delta E$  показали кофейная, галловая кислоты и метилгаллат, что напрямую указывает на их наибольшую АОА [34].

Потенциометрическое титрование с платиновым электродом в качестве индикаторного электрода, помещенного в анодное пространство электрохимической ячейки, наряду с насыщенным каломельным электродом сравнения, отделенного стеклом от катодного пространства, содержащего противозлектрод, было применено для определения АОА серии вин Хорватии. В качестве вещества-стандарта была использована галловая кислота. Кривые титрования были построены в координатах время – потенциал [35]. Данный метод имеет следующие преимущества: быстрота измерения, недорогое оборудование, маленькие объемы образцов, хорошо воспроизводимые результаты. Метод был оптимизирован относительно различных параметров, включая рН (от 2,0 до 11,0). Установлено, что наиболее подходящим является уровень рН = 2,0.

Пригодность заместительного потенциометрического титрования с электрогенерированным хлором для количественного определения АОА была определена в [36]. Титрование с электрогенерированными галогенами рассмотрено в ряде публикаций [37–39] в качестве метода измерения АОА как водо-, так и жирорастворимых антиоксидантов. Хлор, ввиду своей высокой реакционной способности, способен принимать участие в различных реакциях (радикальные, окислительно-восстановительные, электрофильного замещения и т.д.), что обеспечивает широкий спектр применения для титрования с электрогенерированным хлором. Авторами проведена корреляция полученных потенциометрических данных с результатами спектрофотометрического теста Фолина-Чоколтеу.

Автором [40] рассмотрено 2 вида титрования: смесь анализируемых окислителей восстанавливается смесью титрантов-восстановителей и смесь анализируемых восстановителей окисляется смесью титрантов-окислителей.

Проведено сравнение следующих индикаторных систем определения АОА посредством потенциометрического титрования:

1.  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ .
2.  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2(aq) / \text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2(aq)$ .
3. Смесь аскорбиновая кислота – ЭДТА – уксусная кислота / N-бромсукцинимид (NBS) – уксусная кислота.
4. Катехол – ЭДТА – уксусная кислота / N-бромсукцинимид (NBS) – уксусная кислота.

Используя математические выкладки, приведенные в работе, автор рассчитывает АОА компонентов исследуемых смесей.

Указанная выше индикаторная система  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  широко используется группой авторов для определения АОА вин, настоек, растительных экстрактов при помощи потенциометрического титрования [41]. Определение АОА основано на взаимодействии АО с медиаторной системой  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , реакция протекает в буферном растворе рН = 7,2. Потенциал системы измеряется до и после введения исследуемого образца (8)–(9):

$$E = E_0 + b \cdot \lg \frac{C_{ox}}{C_{red}}, \quad (8)$$

$$E_1 = E_0 + b \cdot \lg \frac{C_{ox} - X}{C_{red} + X}, \quad (9)$$

где  $E$  и  $E_1$  — потенциал системы до и после введения образца антиоксиданта;  $E_0$  — стандартный потенциал медиаторной системы;  $X$  — концентрация антиоксиданта.

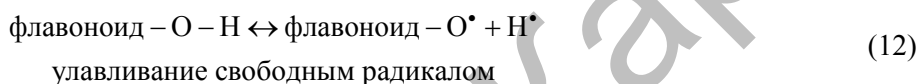
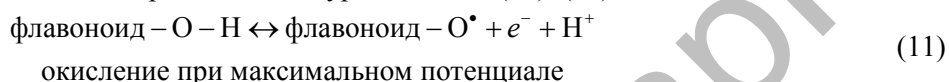
АОА рассчитывается согласно следующему уравнению (10):

$$AOA = \pm \frac{C_{Ox} - \alpha C_{Red}}{1 + \alpha}, \quad (10)$$

где  $C_{Ox}$  и  $C_{Red}$  — концентрации окисленной и восстановленной форм медиатора соответственно;  $\alpha = 10^{(E_1 - E)/b}$ ,  $b = 2,3RT / nF$ .

Проведен сравнительный регрессионный анализ данных, полученных с использованием потенциометрического титрования, и данных ингибирования DPPH и ABTS стабильных свободных радикалов спектрофотокolorиметрическими методами, супероксид-анион-радикала — хемолуминесцентным методом. Наибольшее значение коэффициента регрессии  $r^2 = 0,99$  наблюдается при сравнении потенциометрии с результатами теста DPPH-радикала [42].

Для оценки АОА продуктов питания, напитков и лекарственных форм часто используется хроматография с амперометрическим детектированием (АД) [43]. Большинство природных биологически активных соединений имеют фенольный гидроксил и способны окисляться на электроде, поэтому АД идеально подходит для их определения, а в совокупности с хроматографией, обладающей широким спектром свойств — высокой чувствительностью методов, низким пределом обнаружения, полнотой разделения смесей, экспрессностью анализов, — позволяет достичь высоких результатов при исследовании антиокислительных свойств различных классов соединений. Электрохимическое окисление может быть использовано [44] как модельное при измерении активности поглощения свободных радикалов в соответствии с нижеприведенными уравнениями (11)–(12):



Обе реакции включают разрыв одной и той же связи O–H. Следовательно, способность к захвату свободных радикалов флавоноидами или другими полифенолами может измеряться величиной окисляемости данных соединений на рабочем электроде. АОА оценивали по суммарной площади на хроматограммах после АД [45].

#### Заключение

Анализируя представленные в обзоре данные, можно утверждать, что электрохимические методы создают разумную альтернативу традиционным методам анализа антиоксидантных свойств природных биологически активных соединений, они характеризуются высокой чувствительностью, точностью, экспрессностью анализа. Разнообразие используемых методик позволяет подобрать оптимальные условия для определения АОА любого класса соединений.

#### Список литературы

1. Biesalski H.K. Polyphenols and inflammation: basic interactions // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* — 2007. — № 10. — P. 724–728.
2. Scalbert A. et al. Dietary polyphenols and the prevention of Diseases // *Food science and nutrition.* — 2005. — № 45(4). — P. 287–306.
3. Pietta P.-G. Flavonoids as Antioxidants // *J. Nat. Prod.* — 2000. — № 63. — P. 1035–1042.
4. Harborne J.B., Baxter H. The handbook of natural flavonoids // New York: John Wiley and son, 1999. — Vol. 1–2.
5. Hertag M.G., Feskens E.J., Hallman P.C. et al Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphenelderly study // *Lancet.* — 1993. — Vol. 342. — P. 1007–1011.
6. Havsteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency // *Biochem Pharmacol.* — 1983. — Vol. 32(7). — P. 1141–1148.
7. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // *Вестн. АМН РФ.* — 1998. — № 7. — С. 43–51.
8. Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny E.C. van Hoorn et al Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2001. — 74:418–25.
9. Cuvelier M.E. Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: structure-activity relationship // *J. Amer. Oil Chem. Soc.* — 2000. — Vol. 11. — № 3. — P. 819–823.
10. Машенцева А.А., Казбекова А.Т., Сейтембаев Т.С. Оптические методы исследования антиоксидантной активности полифенольных соединений и экстрактов на основе растительного сырья in vitro и in vivo // *Вестн. КарГУ. Сер. Химия.* — 2009. — № 1(53). — С. 26–34.
11. Сейтембаев Т.С., Машенцева А.А., Сейтембаева А.Ж. и др. Сравнительное исследование антиоксидантной активности полифенольных соединений и суммарных фитопрепаратов in vitro и in vivo (обзор) // *Фарм. бюлл.* — 2009. — № 5–6. — С. 28–30.
12. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Мальцева Е.В. Методы исследования антиоксидантов // *Химия растит. сырья.* — 2004. — № 3. — С. 63–75.
13. Magalhães Luís M., Segundo Marcela A., Reis Salette, Lima José L.F.C. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties // *Analytica chimica acta.* — 2008. — Vol. 613(1). — P. 1–19.

14. Громова В.Ф., Шаповал Г.С., Миролюк И.Е., Нестюк Н.В. Антиоксидантные свойства лекарственных растений // Хим.-фарм. журнал. — 2008. — № 1. — С. 26–29.
15. Аврамчик О.А. Закономерности процесса электровосстановления кислорода в присутствии антиоксидантов и их применение в аналитической практике // Автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02 — Аналитическая химия. — Томск, 2006. — 21 с.
16. Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Avramchik O.A. Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biologically active substances by voltammetry // Anal. Bioanal. Chem. — 2003. — Vol. 375. — № 3. — P. 465–468.
17. Korotkova E.I., Avramchik O.A., Kagiya T. et al Study of antioxidant properties of a water-soluble vitamin E derivative — Tocopherol monoglucoside (TMG) by differential pulse voltammetry // Talanta. — 2004. — Vol. 63. — № 3. — P. 729–734.
18. Avramchik O.A., Korotkova E.I., Plotnikov E.V. et al Investigation of antioxidant properties of some complex compounds of lithium // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2005. — Vol. 37. — P. 1149–1154.
19. Боев А.С. Вольтамперометрическое определение форм витамина В<sub>6</sub> с помощью химически модифицированного фталоцианином кобальта электрода: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. — Томск, 2008. — 21 с.
20. Евтюгин Г.А., Будников Г.К., Порфирьева А.В. Электрохимические ДНК-сенсоры для определения биологически активных низкомолекулярных соединений // Российский хим. журнал. — 2008. — Т. LII. — № 2. — С. 66–79.
21. Fojta M., Kubicarova T., Palecek E. Sensitive voltammetric detection of DNA damage at carbon electrodes using DNA repair enzymes and an electroactive osmium marker // Biosens. Bioelectron. — 2000. — Vol. 15. — P. 107–115.
22. Fojta M. Voltammetry of osmium-modified DNA at a mercury film electrode: Application in detecting DNA hybridization // Electroanalysis. — 2002. — Vol. 14. — P. 1449–1463.
23. Mello L.D., Hernandez S., Marrazza G. et al Investigations of the antioxidant properties of plant extracts using a DNA-electrochemical biosensor // Biosens. Bioelectron. — 2006. — Vol. 21. — P. 1374–1382.
24. Molyneux P. Use of DPPH to estimate antioxidant activity // Songklanakarin J. Sci. Technol. — 2004. — Vol. 26. — P. 211–219.
25. Yang B., Kotani A., Arai K., Kusu F. Estimation of the antioxidant activities of flavonoids from their oxidation potentials // Analytical Sciences (Japan). — 2001. — Vol. 17. — P. 599–604.
26. Пахомов В.П., Яшин Я.И., Яшин А.Я. и др. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений. Решение о выдаче патента на изобретение № 2003123072/15 (024964).
27. 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 // Журнал аналит. химии. — 2002. — Т. 57. — № 6. — С. 666–670.
28. Абдуллин И.Ф., Чернышева Н.Н., Турова Е.Н., Офицеров Е.Н. Экспрессная оценка антиоксидантной активности растительного сырья // Химия и технология растительных веществ: Материалы II Всероссийск. конф. — 2002. — С. 77–78.
29. Латин А.А., Борисенков М.Ф., Карманов А.П. и др. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения // Химия растит. сырья. — 2007. — № 2. — С. 79–83.
30. Турова Е.Н. Электрохимическая оценка антиоксидантной способности некоторых фитопрепаратов // Поволжск. конф. по аналит. химии: Тез. докл. — Казань, 2001. — С. 136.
31. Psotova J., Lasovsky J., Vičar J. Metal-chelating properties, electrochemical behavior scavenging and cytoprotective activities of six natural phenolics // Biomed. Papers. — 2003. — № 147(2). — P. 147–153.
32. Sano M., Yoshida R., Degawa M. et al. Determination of peroxy radical scavenging activity of flavonoids and plant extracts using an automatic potentiometric titrator // J. Agric. Food Chem. — 2003. — Vol. 51. — № 10. — P. 2912–2916.
33. Абдуллин И.Ф. Потенциометрическая оценка антиоксидантной способности по аскорбиновой кислоте // Поволжск. конф. по аналит. химии: Тез. докл. — Казань, 2001. — С. 129.
34. Galato D., Ckless K., Susin M.F. et al Antioxidant capacity of phenolic and related compounds: correlation among electrochemical, visible spectroscopy methods and structure-antioxidant activity // Redox Rep. — 2001. — Vol. 6(4). — P. 243–50.
35. Piljac J. et al. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Croatian Wines // Food Technol. Biotechnol. — 2005. — Vol. 43(3). — P. 271–276.
36. Martinez S., Valek L., Piljac J., Metiko{Hukovi} M. Determination of wine antioxidant capacity by derivative potentiometric titration with electrogenerated chlorine // Eur. Food Res. Technol. — 2004. — Vol. 220. — P. 658–661.
37. Castaignede V., Durliat H., Comtat M. Amperometric and potentiometric determination of catechin as model of polyphenols in wines // Anal. Lett. — 2003. — Vol. 36. — P. 1707–1720.
38. Westerhoff P., Chao P., Mash H. Reactivity of natural organic matter with aqueous chlorine and bromine // Water Res. — 2004. — Vol. 38. — P. 1502–1513.
39. Kilmartin P.A., Zou H., Waterhouse A.L. Correlation of wine phenolic composition versus cyclic voltammetry response// Am. J. Enol. Vitic. — 2002. — Vol. 53. — P. 294–302.
40. Edens G.J. Redox titration of antioxidant mixtures with N-bromosuccinimide as titrant: analysis by non-linear least-squares with novel weighting function // Japan Soc. for Anal. Chem. — 2005. — Vol. 21. (11). — P. 1349–1354.
41. Shpigun L., Arharova M., Brainina Kh., Ivanova A. Flow injection potentiometric determination of total antioxidant activity of plant extracts // Anal. Chimica Acta. — Vol. 573–574. — P. 419–426.
42. Brainina Kh., Ivanova A., Sharafutdinova E. et al Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation // Talanta. — 2007. — Vol. 71. — Issue 1. — P. 13–18.
43. Семенистая Е.Н., Ларионов О.Г. Изучение состава и антиоксидантной активности растительных экстрактов методом ВЭЖХ с УФ- и амперометрическим детектированием // Хим.-фарм. журнал. — 2008. — Т. 42. — С. 43–48.
44. Peyrat-Maillard M.N., Bonnely S., Berset C. Determination of the antioxidant activity of phenolic compounds by coulometric detection // Talanta. — 2000. — Vol. 51. — P. 709–716.
45. Zbynek Gazdik, Boris Krska, Vojtech A. et al Electrochemical Determination of the Antioxidant Potential of Some Less Common Fruit Species // Sensors. — 2008. — Vol. 8(12). — P. 7564–7570.