

СРАВНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ОБРАЗЦОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ

Б.Б. Тихонов, А.И. Сидоров, М.Г. Сульман

Тверской государственной технический университет, Тверь

В статье проведено определение антиоксидантной активности образцов различной природы 2 методами. Выявлено, что среди исследованных образцов индивидуальных антиоксидантов наибольшей активностью обладают биологически активная добавка «Pomegranate» и аскорбиновая кислота, наименьшей – глутатион. Среди антиоксидантного сырья наибольшей активностью обладает прополис, имеющий гораздо большую антиоксидантную активность, чем все другие образцы, далее следуют перегородки и кожура граната. Наименьшей активностью из исследованных видов сырья обладает боярышник.

Ключевые слова: антиоксиданты, растительное сырье, антиоксидантная активность, титрование

Молекулярный кислород необходим человеческому организму для химической энергии, накопленной в белках, углеводах и липидах. В аэробных живых организмах несколько тысяч окислительно-восстановительных реакций осуществляется с участием молекулярного кислорода и катализируется ферментами [1]. Однако в метаболизме кислорода неизбежно появление так называемых активных форм кислорода, активность которых заключается в том, что они спонтанно (без участия ферментов), взаимодействуют с жизненно важными биомолекулами, что чаще всего приводит к повреждению последних [2]. Многие химически активные формы кислорода представляют собой свободные радикалы и приводят к протеканию свободнорадикальных реакций [3]. Функция антиоксидантов заключается в предотвращении этих реакций и снижении степени окислительного повреждения молекул [4]. Важным фактом является то, что растения синтезируют практически все нужные им органические вещества, в том числе и антиоксиданты, в то время как животные в основном получают биологические молекулы с пищей. В частности, человеческий организм не синтезирует аскорбиновую кислоту, каротиноиды, флавоноиды, и единственным источником этих веществ для человека является растительная пища. Существуют несколько десятков тестов на антиоксидантную активность. Их условно можно разделить на тесты, основанные на измерении степени подавления процессов окисления субстратов в присутствии антиоксидантов; тесты на способность

антиоксиданта гасить свободные радикалы; тесты, направленные на определение восстановительного потенциала антиоксидантной вытяжки [5]. Результаты, полученные разными методами, могут существенно различаться и даже противоречить друг другу. В связи с этим, чаще всего при оценке антиоксидантной активности образцов используют результаты, полученные двумя-тремя разными способами.

В связи с этим, целью данного исследования было определение сравнение антиоксидантной активности наиболее известных антиоксидантов различными методами анализа.

Экспериментальная часть

Для экспериментов были выбраны следующие образцы:

1) Индивидуальные антиоксиданты:

- аскорбиновая кислота – органическое соединение, которое необходимо для нормального функционирования соединительной и костной ткани, выполняет биологические функции восстановителя и кофермента некоторых метаболических процессов;

- кверцетин – природное биохимическое вещество группы флавоноидов (от латинского названия дуба - *Quercus*), относящееся к витаминам группы Р;

- цистеин – алифатическая серосодержащая аминокислота, входит в состав белков и пептидов, играет важную роль в процессах формирования тканей кожи, имеет значение для дезинтоксикационных процессов;

- глутатион - трипептид γ -глутамилцистеинилглицин, который содержит пептидную связь между аминогруппой цистеина и карбоксильной группой боковой цепи глутамата;

- биологически активная добавка «Pomegranate» (Pherb) – растворимый высушенный концентрированный экстракт перегородок граната.

2) Антиоксидантное сырье:

- ромашка - многолетнее цветковое растение семейства Астровые или Сложноцветные (*Asteraceae*) ромашка аптечная (*Matricaria chamomilla*), которое широко используется в лечебных и косметических целях;

- горец птичий (спорыш) - однолетнее травянистое растение высотой рода горец, используемое в лекарственных и кормовых целях;

- мята – растение семейства Яснотковые (*Lamiaceae*), содержащее большое количество ментола;

- перегородки граната и кожура граната - растение из рода Гранат семейства Дербенниковые (*Lythraceae*) со съедобными плодами;

- боярышник – плоды небольших кустарников рода листопадных, относящихся к семейству Розовые;

- липа – цветки деревьев семейства Липовые (*Tiliaceae*).

- прополис - смолистое вещество от коричневого до тёмно-зелёного цвета, используемое пчёлами для замазывания щелей, регулирования проходимости летка, дезинфекции ячеек сот перед засевом яиц маткой, а также изоляции посторонних предметов в ульях;

- калина – плоды листопадного древесного растения, вид рода Калина (*Viburnum*) семейства Адоксовые (*Adoxaceae*);

- шиповник – плоды растения семейства Розовые (*Rosaceae*) порядка Розоцветные (*Rosales*).

3) Чай (черный и зеленый) – листья чайного куста, или камелии китайской (лат. *Camellia sinensis*), растения рода Камелия семейства Чайные (*Theaceae*).

Для определения антиоксидантной активности индивидуальных антиоксидантов титрованием раствором железосинеродистого калия приготовили их растворы в дистиллированной воде с концентрацией 5 ммоль/л (8,8 мг аскорбиновой кислоты в 100 мл воды; 15,1 мг кверцетина и несколько капель 0,1 Н NaOH в 100 мл воды; 8,2 мг цистеина в 100 мл воды; 15,4 мл глутатиона в 100 мл воды). Раствор биологически активной добавки «Pomegranate» (Iherb) готовился растворением 15 мг порошка в 100 мл дистиллированной воды. Для определения антиоксидантной активности индивидуальных антиоксидантов титрованием раствора перманганата калия приготовили их растворы в дистиллированной воде с концентрацией 50 ммоль/л (88 мг аскорбиновой кислоты в 100 мл воды; 151 мг кверцетина и несколько капель 0,1 Н NaOH в 100 мл воды; 82 мг цистеина в 100 мл воды; 154 мл глутатиона в 100 мл воды). Раствор биологически активной добавки «Pomegranate» (Iherb) готовился растворением 150 мг порошка в 100 мл дистиллированной воды. Для определения антиоксидантной активности антиоксидантного сырья и чая навеску сырья массой 1 г заливали 100 мл дистиллированной воды (для образца прополиса – смесью спирт/вода в соотношении 50:50), нагревали на кипящей водяной бане 15 мин, охлаждали при комнатной температуре, отфильтровывали, оставшееся сырье отжимали.

Антиоксидантную активность образцов определяли 2 методами окислительно-восстановительного титрования [6]:

1) Образцы антиоксидантов титровали раствором гексацианоферрата калия ($K_3[Fe(CN_6)]$) концентрацией 0,01 моль/л (3,29 г $K_3[Fe(CN_6)]$ в 1000 мл дистиллированной воды) до появления желтого окрашивания. До тех пор, пока не израсходуется весь антиоксидант, весь добавленный титрант вступает в реакцию с антиоксидантом и обесцвечивается. Появление желтой окраски свидетельствует о завершении реакции, титрование тут же прекращают, фиксируя израсходованное количество титранта. Чем больше титранта израсходовано, тем более высокая антиоксидантная активность у

образца. Также рассчитывалась относительная антиоксидантная активность образцов по отношению к образцу кверцетина.

2) Образцы антиоксидантов вносили в бюретку и титровали ими раствор перманганата калия (KMnO_4) концентрацией 0,05 Н (1,58 г KMnO_4 в 1000 мл дистиллированной воды) до обесцвечивания раствора перманганата калия. До тех пор, пока не израсходуется весь перманганат калия, он вступает в реакцию с антиоксидантом и обесцвечивается. Исчезновение фиолетовой окраски и появление темно-бурой свидетельствует о завершении реакции, титрование тут же прекращают, фиксируя израсходованное количество титранта. Чем меньше титранта израсходовано, тем более высокая антиоксидантная активность у образца. Из полученных данных рассчитывался показатель антиоксидантной активности образцов по формуле (1):

$$A = \frac{C_k \cdot V_k \cdot V_0}{V_x \cdot m}, \quad (1)$$

где A – концентрация биологически активных веществ восстанавливающего характера исследуемого образца, израсходованного на титрование 1 мл 0,05 Н раствора KMnO_4 , мг/г;

C_k – концентрация кверцетина в растворе, израсходованном на титрование 1 мл 0,05 Н раствора KMnO_4 , мг/мл;

V_k – объем раствора кверцетина, израсходованный на титрование 1 мл 0,05 Н раствора KMnO_4 , мл;

V_0 – объем исследуемого раствора, мл;

V_x – объем исследуемого раствора, израсходованный на титрование 1 мл 0,05 Н раствора KMnO_4 , мл;

M – масса навески исследуемого объекта, г.

Результаты исследований антиоксидантной активности образцов их титрованием раствором железосинеродистого калия приведены в таблице 1.

Результаты исследований антиоксидантной активности образцов титрованием ими раствора перманганата калия приведены в таблице 2.

Из таблиц 1 и 2 видно, что среди индивидуальных антиоксидантов наибольшей активностью обладают биологически активная добавка «Pomegranate» и аскорбиновая кислота, наименьшей – глутатион.

Среди антиоксидантного сырья наибольшей активностью обладает прополис, имеющий гораздо большую антиоксидантную активность, чем все другие образцы, далее идут перегородки и кожура граната. Наименьшую активность из исследованных видов сырья проявил боярышник.

Образцы чая проявили антиоксидантную активность, сравнимую с перегородками и кожурой граната.

Таблица 1

Антиоксидантная активность образцов (метод 1)

№ образца	Наименование образца	Объем израсходованного раствора $K_3[Fe(CN)_6]$, мл	Относительная активность, %
1) Индивидуальные антиоксиданты			
1.1	Аскорбиновая кислота	1,70	130,76
1.2	Кверцетин	1,35	100
1.3	Цистеин	0,55	40,74
1.4	Глутатион	0,55	40,74
1.5	Pomegranate (Iherb)	2,35	174,07
2) Антиоксидантное сырье			
2.1	Ромашка	0,75	55,56
2.2	Горец птичий (спорыш)	1,20	88,89
2.3	Мята	1,45	107,41
2.4	Перегородки граната	2,70	200
2.5	Кожура граната	2,50	185,19
2.6	Боярышник	0,30	22,22
2.7	Липа	0,80	59,26
2.8	Прополис	4,80	355,56
2.9	Калина	2,10	155,56
2.10	Шиповник	1,60	118,52
3) Чай			
3.1	Черный чай	2,50	185,19
3.2	Зеленый чай	2,25	166,67

В целом следует отметить, что результаты, полученные 2 различными методами, практически совпадают. Однако для более полного понимания антиоксидантных свойств исследованных образцов необходимо использование более точных методов физико-химического анализа, в частности – спектроскопических (FRAP, CRAC, CUPRAC) или электрохимических (потенциометрического титрования) [7, 8].

Выводы

В процессе исследований определена антиоксидантная активность образцов различной природы 2 методами окислительно-восстановительного титрования. Выявлено, что среди индивидуальных антиоксидантов наибольшей активностью обладают биологически активная добавка «Pomegranate» и аскорбиновая кислота, наименьшей – глутатион. Среди антиоксидантного сырья наибольшей активностью

обладает прополис, далее следуют перегородки и кожура граната. Наименьшей активностью из исследованных видов сырья обладает боярышник.

Таблица 2

Антиоксидантная активность образцов (метод 2)

№ образца	Наименование образца	Объем израсходованного раствора образца, мл	Антиоксидантная активность, мг/г
1) Индивидуальные антиоксиданты			
1.1	Аскорбиновая кислота	18,2	304,5
1.2	Кверцетин	32,3	100,0
1.3	Цистеин	34,6	171,9
1.4	Глутатион	29,7	106,6
1.5	Pomegranate (Herb)	10,6	306,8
2) Антиоксидантное сырье			
2.1	Ромашка	22,0	22,2
2.2	Горец птичий (спорыш)	22,8	21,4
2.3	Мята	16,1	30,3
2.4	Перегородки граната	9,4	51,9
2.5	Кожура граната	11,0	44,3
2.6	Боярышник	62,1	7,9
2.7	Липа	14,6	33,4
2.8	Прополис	4,4	110,8
2.9	Калина	15,0	32,5
2.10	Шиповник	17,7	27,6
3) Чай			
3.1	Черный чай	9,8	49,8
3.2	Зеленый чай	11,2	43,5

Список литературы

1. Кобзев Г.И. Механизмы активации молекулярного кислорода в ферментативных окислительно-восстановительных реакциях // Вестник ОГУ. 2015. Т.2. №10. С. 48-55.
2. Полесская О. Г. Растительная клетка и активные формы кислорода. М.: Изд-во КДУ, 2007. 140 с.
3. Путилина Ф. Г., Ещенко Н. Д., Галкина О. В. Свободнорадикальное окисление. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2008. 161 с.
4. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты // Российский химический журнал. 2007. т. L1. №1. С. 3-12.
5. Панасенкова Ю.А., Ременякина Е.И., Левичкин В.Д., Басов А.А., Павлюченко И.И. Способы тестирования антиоксидантных свойств лекарственных препаратов в лабораторных условиях и возможности использования этих показателей в клинической практике // Научные

ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2013. № 25 (168). Выпуск 24, с. 239-243.

6. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. Ленинград: Колос. Ленингр. отд-ние, 1972. 456 с.
7. Benzie I.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay // Analytical Biochemistry. 1996. V. 239. P. 70–76.
8. 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.

Об авторах:

ТИХОНОВ Борис Борисович – доцент, кандидат химических наук, доцент кафедры Биотехнологии, химии и стандартизации ФГБОУ ВО «Тверской государственный технический университет», tiboris@yandex.ru

СИДОРОВ Александр Иванович – профессор, кандидат химических наук, профессор кафедры Биотехнологии, химии и стандартизации ФГБОУ ВО «Тверской государственный технический университет», sidorov@science.tver.ru

СУЛЬМАН Михаил Геннадьевич – профессор, доктор химических наук, заведующий кафедрой Биотехнологии, химии и стандартизации ФГБОУ ВО «Тверской государственный технический университет», sulman@online.tver.ru

COMPARISON OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ANTIOXIDANT SAMPLES OF DIFFERENT NATURE

B.B. Tikhonov, A.I. Sidorov, M.G. Sulman

Tver State Technical University, Tver

In the article, antioxidant activity of samples of different nature was determined by 2 methods. It was revealed that among the examined samples of individual antioxidants, the biologically active additive "Pomegranate" and ascorbic acid have the greatest activity, the smallest is glutathione. Among antioxidant raw materials, propolis has the greatest activity, having a much greater antioxidant activity than all other samples, followed by pomegranate partitions and peels. Hawthorn has the least activity from the raw materials studied.

Keywords: *antioxidants, plant raw materials, antioxidant activity, titration*