

УДК 615.322; 543.253

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И ПРОДУКТОВ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ

С.П. Завадский^{1*}, И.И. Краснюк (мл.)¹, Ю.Я. Харитонов¹, В.В. Тарасов¹, А.Н. Кузьменко¹, Д.А. Козин¹, Н.Б. Саидов², О.В. Ольшанская¹, А.А. Евграфов¹

Резюме. В статье описаны и систематизированы актуальные и наиболее широко используемые в настоящее время физико-химические методы изучения антиоксидантной активности растительного сырья и продуктов его переработки в области фармации, парфюмерии и пищевой промышленности.

Ключевые слова: антиоксиданты; антиоксидантная активность; методы изучения антиоксидантной активности; растительное сырье.

THE PHYSICAL AND CHEMICAL METHODS FOR TESTING ANTIOXIDATIVE ACTIVITY OF HERBAL RAW MATERIAL AND ITS CONVERSION PRODUCTS

S.P. Zavadskiy^{1*}, I.I. Krasnyuk (Jr.)¹, Yu.Ya. Kharitonov¹, V.V. Tarasov¹, A.N. Kuzmenko¹, D.A. Kozin¹, N.B. Saidov², O.V. Olshanskaya¹, A.A. Evgrafov¹

Abstract. In present review the actual and most widely used physical and chemical methods for testing antioxidative activity of herbal raw material and it's conversion products in pharmacy, perfumery and food industry are discussed and systematized.

Keywords: antioxidants; antioxidative activity; methods for testing antioxidative activity; herbal raw material.

1 – ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

2 – Национальный университет Таджикистана, 734025, Республика Таджикистан, г. Душанбе, пр. Рудаки 17, к. 3

1 – I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

2 – Tajik National University, 17, Rudaki avenue, Dushanbe city, 734025, Tajikistan

* адресат для переписки:
E-mail: argus78@bk.ru

ВВЕДЕНИЕ

В организме в результате окислительно-восстановительных реакций постоянно происходит образование активных форм кислорода (АФК) (ионы кислорода, свободные радикалы, перекиси). Избыточное накопление АФК, в частности свободных радикалов, является центральным фактором риска сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и ряда других патологий. Антиоксиданты (АО) – вещества, замедляющие или предотвращающие окислительные процессы в объектах. Антиоксидантная активность (АОА) – показатель, который позволяет оценить интегральную составляющую, характеризующую потенциальную возможность антиоксидантного действия всех компонентов, находящихся в образце, причем не только по отдельности, а в совокупности их взаимодействия между собой в сложной биологической системе, учитывая возможный синергизм или антагонизм их общего антиоксидантного действия и вклад неизвестных, редко встречающихся или минорных антиоксидантов [1]. Профилактическое потребление соответствующего количества АО защищает ор-

ганизм от окислительного стресса, вызванного дисбалансом между действием АФК и защитными системами организма, восстанавливает до нормы антиоксидантный статус организма и сохраняет здоровье и продолжительность полноценной жизни [2]. Важнейшим экзогенным источником АО для организма человека является растительное сырье и продукты его переработки, которые используются в фармацевтической, пищевой и косметической промышленности. В настоящей статье рассматриваются наиболее широко используемые физико-химические методы изучения АОА растительного сырья и продуктов его переработки.

АНТИОКСИДАНТЫ

Существуют различные типы классификаций АО [1–5]. Согласно [5] АО подразделяют на эндогенные, которые вырабатываются в организме, и экзогенные, которые поступают с пищей. Согласно [4] антиоксидант – вещество, в малых концентрациях тормозящее процессы окисления органических веществ кислородом по различным механизмам. Многие растительные экстракты об-

ладают антиоксидантными свойствами [6]. Важнейшими АО в растительных экстрактах являются витамины и полифенолы [6, 7].

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АО В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ И ПРОДУКТАХ ЕГО ПЕРЕРАБОТКИ

Существуют различные методы количественного определения антиоксидантов в растительном сырье и продуктах его переработки: спектрофотометрические, гравиметрические, титриметрические, амперометрические, хроматографические.

Широко используется спектрофотометрический метод с реактивом Фолина – Чокальтеу (смесь фосфорномолибденовой и фосфорновольфрамовой кислот) [8–11], с помощью которого определяют общую сумму фенольных соединений.

Фотометрическое титрование по Левенталю [12, 13] – метод количественного определения суммы дубильных веществ перманганатом калия с использованием индигокармина в качестве индикатора. Согласно Государственной фармакопее XI издания количественное определение суммарного содержания флавоноидов в сырье зверобоя проводят с помощью дифференциальной спектрофотометрии на основе реакции их взаимодействия с хлоридом алюминия в пересчете на рутин [14]. Суммарное содержание фенолпропаноидов определяют методом прямой спектрофотометрии в пересчете на хлорогеновую кислоту [15].

Также используются методы классического химического анализа – гравиметрические [16] и титриметрические [17], однако в настоящее время они используются реже).

Известны амперометрические методы определения содержания АО в растительном сырье и фитопрепаратах [18].

Многие методы предполагают предварительное хроматографическое разделение веществ [18–20].

Однако необходимо учитывать, что суммарное содержание АО и их интегральная АOA есть разные понятия, на что обращают внимание авторы [21]. Различные АО могут между собой проявлять как синергизм, так и антагонизм в отношении АOA [22], поэтому для изучения АО тех или иных объектов представляется недостаточным определение суммарного содержания АО.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ

Методы определения АOA растительного и пищевого сырья можно разделить на две большие группы: прямые и косвенные. К прямым относятся методы, основанные на детектировании поглощения генери-

руемых в среду свободных радикалов, при этом детектирование и генерация могут осуществляться различными способами [23–28]. Косвенные методы включают измерение различных физико-химических параметров растительных экстрактов, масел, вина, соков и других пищевых объектов, связанных с АOA. Методы исследования АOA различаются по типу источника окисления, окисляемого соединения и способу измерения окисленного соединения [29]. По способам регистрации АOA растительного сырья можно разделить методы на волюмометрические (газометрические) [30], фотометрические [31–34], хемилюминесцентные [35–37] и флуоресцентные [38, 39], электрохимические [40, 41].

Кинетический газометрический метод

Газометрические методы являются кинетическими методами анализа, относятся к прямым методам. Основаны на мониторинге реакции разложения окислителя (прооксиданта) по уменьшению его концентрации под действием АО после введения в образец.

Авторами [42] представлен манометрический способ построения кинетических кривых свободнорадикального окисления сульфит-иона и разложения пероксида водорода для определения суммарной АOA природных объектов сложного химического состава. Кинетика окисления сульфит-иона контролируется в данном способе по выделению кислорода. АOA образцов определяется по кривым зависимости изменения концентрации кислорода в реакционной смеси от количества добавленного образца.

Е.В. Ермиловой с соавторами [43] представлено высокоточное газометрическое устройство для измерения микрорасхода газа, которое отработывалось применительно к анализу АО кинетическим методом на основе модельной реакции инициированного окисления кумола. Проведена сравнительная оценка АOA экстрактов и отдельных фракций, полученных из побегов водяники черной.

Фотометрические методы изучения АOA

Во многих работах АOA оценивают по способности АО ингибировать генерируемые в модельных смесях радикалы, образующиеся при окислении АВТС [2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолино-6-сульфоновая кислота)] [19], DPPH (ДПФГ) [2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (C₁₈H₁₂N₅O₆)] [44, 45], AIBN (динитрил азобисизомаасляной кислоты) [46–48], линолевой кислоты [49], тиобарбитуровой кислоты (ТБК) [50, 51], пероксида водорода [52] и т.д. Методы основаны на измерении восстанавливающей способности АО по отношению к радикалам. Измерения могут проводиться как с помощью ЭПР, так и спектрофотометрически. Существует множество экспериментально используемых методик на основе данного метода. Для оценки АOA используют два параметра: скорость восстановления радикалов и число радикалов, восстановленных одной молекулой АО.

В работе [19] для изучения АРА флавоноидов использованы способы, основанные на способности различных АО снижать концентрацию предварительно генерированных радикал-катионов АВТС⁺ (деколоризационный способ) и замедлять время начала их образования (кинетический способ).

Одним из способов оценки АОА [53] является колориметрия свободных радикалов, основанная на реакции DPPH [2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (C₁₈H₁₂N₅O₆), M=394,33 г/моль], растворенного в метаноле, с образцом АО.

В работе [54] изучалась АОА водных и спиртовых экстрактов лилейника по улавливанию радикалов DPPH и перекисного аниона и сравнению со стандартами, при этом было обнаружено, что этанол лучше экстрагирует АО-вещества, чем вода. Лиофильно высушенные образцы лучше сохраняли активность, чем высушенные на воздухе.

Однако данные методики имеют существенные недостатки. Они непригодны для веществ-хромофоров, имеющих максимум поглощения, близкий к максимуму поглощения самого радикала. Так как некоторые радикалы имеют высокий коэффициент экстинкции, область применения этого метода ограничена интервалом невысоких концентраций радикала и АО.

Колориметрическое определение общей антиокислительной активности (ТАС) по окислению кроцина впервые было предложено авторами [55]. Изучена АОА кроцина – красящего вещества желтых стручков плода китайского растения *Gardenia grandiflora*. АОА изучалась спектрофотометрическим методом. Свободно-радикальная реакция инициировалась добавлением 2,2'-азобис-(2-амидинопропан)гидрохлорида.

Метод хелирующей активности (метод FIC).

Среди всех металлов железо играет наиважнейшую роль в процессе липидного окисления благодаря своей высокой активности. Бивалентный переход ионов металлов катализирует окислительные процессы, так как приводит к образованию гидроксильных радикалов. Липидное окисление с образованием свободных радикалов ускоряется железом согласно реакции Фентона:



Ион Fe³⁺ также катализирует образование радикалов, но в гораздо меньшей степени, чем ион Fe²⁺. Феррозин используется как индикатор присутствия хелаторов в испытуемых системах. Он образует комплекс со свободным ионом Fe²⁺ и не образует комплекс с Fe²⁺, связанным АО экстракта. В присутствии хелирующих агентов образование комплекса между железом и феррозином снижается, что отражается на цвете и составляет суть метода FIC. С помощью экспериментальных данных строят кривые зависимости хелирующей активности от концентрации экстракта.

Часто АОА находят методом FRAP (ferric reducing/antioxidant power). В ходе такого анализа под действием АО (восстановителей) образуются комплексы железа(II) с фотометрическим реагентом. Суть метода FRAP заключается в восстановлении комплекса Fe(III)-2,4,6-трипиридил-*s*-триазина в комплекс Fe(II)-2,4,6-трипиридил-*s*-триазин под действием редуцтантов.

Метод FRAP широко применяют в биохимических исследованиях и в технологии пищевых продуктов, имеется множество публикаций, в которых приведены значения АОА, полученные методом FRAP [29, 49, 56]. Преимущества метода FRAP по сравнению с другими вариантами определения АОА следующие: экспрессность и низкая стоимость анализа, простота оборудования, хорошая сходимости результатов.

Известны спектрофотометрические методики, основанные на изучении АОА экстрактов растительного сырья по измерению концентрации комплекса продуктов окисления с ТБК [56].

Флуоресцентные методы изучения АОА

Метод определения адсорбционной емкости по отношению к кислородным радикалам (Oxygen Radical Absorption Capacity, – ORAC) [57] является одним из наиболее применяемых в настоящее время. Применяется при исследованиях антиоксидантов и окислительного стресса [58–60]. Метод основан на измерении интенсивности флуоресценции определенного соединения и ее изменении от времени протекания реакции. В присутствии соединений, связывающих кислородные радикалы, увеличивается время флуоресценции вследствие защитного действия антиокислителей. Количественное определение антиоксидантной активности (АОА) осуществляется по площади между двумя кривыми – свободной реакции и с добавлением антиоксидантов. Степень уменьшения флуоресценции есть мера степени деградации флуоресцирующего соединения под воздействием кислородных радикалов.

Метод ORAC измеряет только АОА против пероксидного и гидроксильного радикалов, но в дальнейшем может быть распространен и на другие вредные реакционноспособные частицы. Указанным методом (ORAC) может быть определена АОА как водорастворимых, так и жирорастворимых объектов, таких как пищевые продукты, химикаты, биологически активные добавки, плазма и сыворотка крови, моча и т.д. При этом не требуется практически никакой предварительной подготовки.

К недостаткам данного метода можно отнести то, что некоторые флуоресцирующие вещества, например белок β-фикоэритрин, могут взаимодействовать не только с радикалами, но и некоторыми АО фенольной природы, что может приводить к систематически заниженным результатам определения АОА.

Хемилюминесцентные методы изучения АОА

В настоящее время для оценки интенсивности свободнорадикальных реакций широко применяется хемилюминесцентный метод. Он основан на открытом в 1961 году новом явлении – спонтанном непрерывном сверхслабом свечении тканей и биосред в видимой области спектра, обусловленном липидными структурами [61]. Установлено, что биохемилюминесценция возникает в результате свободнорадикального окисления липидов. Возникающие при этих процессах кванты видимого участка спектра и соответствующие им электронные возбужденные состояния являются продуктами перекисного окисления липидов. Повышение спонтанной хемилюминесценции имеет место при усилении данных процессов, поскольку основным источником хемилюминесценции является реакция рекомбинации перекисных липидных радикалов. В присутствии ингибиторов свободнорадикальных реакций хемилюминесценция ослабляется, так как при этом снижается концентрация перекисных радикалов.

Высокая эффективность хемилюминесценции связана с тем, что время жизни радикалов чрезвычайно мало, что обусловлено их высокой реакционной способностью, а использование методов регистрации хемилюминесценции позволяет оценивать интенсивность реакций по мере их протекания [62].

Для изучения АОА часто используют модельные системы, основанные на окислении люминола, индуцированном пероксидом водорода [63, 64]. При действии пероксида водорода на белки, аминокислоты, а также на ненасыщенные жирные кислоты образуется сверхслабое свечение, достоверно регистрируемое квантометрическими установками.

Инициатором цепных окислительных реакций также может служить и 2,2'-азо-бис(2-метилпропионамидин)дигидрохлорид. Он претерпевает термоиндуцированную деградацию с образованием пероксильных радикалов, которые могут взаимодействовать с различными перехватчиками, предпочтительно водорастворимыми: люминолом, фикоэритрином, эмульсией линолевой кислоты и др. [65].

В работе [66] проведено исследование АОА сухого экстракта зубчатки обыкновенной в условиях эксперимента с применением метода хемилюминесценции. Экстракт зубчатки в исследованных дозах оказывал существенное ингибирующее влияние на кинетику Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции в тестируемой системе. Определение уровня люминесценции проводили по общепринятому методу [67].

Метод хемилюминесцентного анализа является одним из наиболее информативных методов и позволяет с большой точностью определить интенсивность протекания свободнорадикальных реакций в биологических системах, а также оценить эффективность работы систем антиоксидантной защиты организма и АОА фармакологических веществ.

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ АОА

В настоящее время большое развитие получило применение электрохимических методов анализа. Различные их варианты, предлагаемые в литературе, характеризуются высокой чувствительностью, экспрессностью и простотой в аппаратном оформлении. Эти методы представляют собой альтернативу применению общеизвестных методов определения АОА (хемилюминесценции и газометрии).

В России электрохимические методы анализа наиболее популярны в связи с их доступностью, удобством анализа, высокой чувствительностью. И конечно, исследование суммарной антиоксидантной активности (емкости) объектов не явилось исключением. Большинство известных школ электрохимических методов анализа России предложили свои варианты определения суммарной антиоксидантной активности объектов. Рассмотрим их более подробно.

Кулонометрическое определение интегральной антиоксидантной емкости объектов

В работах Г.К. Будникова, Г.К. Зиятдиновой (Казанский государственный университет) [68–70] оценка интегральной антиоксидантной емкости различных объектов (фармпрепаратов, фитопрепаратов, биологических жидкостей) проводилась методом кулонометрического титрования с помощью электрогенерируемых соединений брома и хлора. Электрохимическое окисление бромид-ионов на платиновом электроде в кислых средах приводит к образованию Br_2 , Br_3^- , а также короткоживущих радикалов брома ($Br\cdot$), адсорбированных на поверхности платинового электрода.

Использование в качестве титранта электрогенерируемых соединений брома обусловлено не только сравнительной простотой их получения, но и их способностью вступать в радикальные и окислительно-восстановительные реакции, а также реакции электрофильного замещения и присоединения по кратным связям, что позволяет охватывать широкий круг биологически активных соединений различной структуры, обладающих антиоксидантными свойствами.

Для количественной оценки введена характеристика интегральной антиоксидантной емкости (АОЕ), выраженная в единицах количества электричества (кулонах), затраченного на титрование 100 г препарата или 1 л крови.

Данный метод несомненно превосходит все известные методы по точности определения, а использование электрогенерируемого титранта делает этот метод доступным и экспрессным.

В работах [71] с помощью кулонометрического метода была изучена интегральная АОА различ-

ных экстрактов: экстрактов имбиря, АОА виноматериалов [72], водных вытяжек чаги [73], водных настоев растительного сырья [74].

Некоторые авторы [75] считают недостатком данного метода то, что при взаимодействии брома с кверцетином происходит бромирование ароматических ядер кверцетина, а не реакция гидроксигрупп кверцетина, отвечающих за его антиоксидантные свойства.

Потенциометрический метод определения суммарной антиоксидантной активности объектов

Потенциометрический метод определения АОА основан на изменении окислительно-восстановительного потенциала системы при добавлении АО.

В Уральском государственном экономическом университете был предложен потенциометрический метод с использованием донорно-акцепторной (медиаторной системы) [76, 77]. 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. Этот метод является разновидностью уже упомянутого FRAP-метода, где восстанавливающую способность АО по отношению к комплексному соединению железа (III) определяют не по изменению оптической плотности в качестве аналитического сигнала, а по изменению окислительно-восстановительного потенциала медиаторной системы.

С использованием данного метода исследована антиоксидантная активность ряда природных и синтетических АО [78]. Показана высокая степень корреляции (80–90%) результатов определения АОА и противорадикальной активности ряда объектов методами потенциометрии, фотохемилюминесценции, фотокolorиметрии и др. Установлены метрологические характеристики методики измерения суммарного количества в АО продуктах питания.

Авторами Кубанского государственного университета (г. Краснодар) [79] предложено оценивать антиоксидантную активность коньяка как обобщенный показатель качества продукции, используя потенциометрический метод на основе медиаторной системы о-фенатролиновых или 2,2'-дипиридиловых комплексов $Fe(III)/Fe(II)$. В качестве вещества стандарта предложено использовать аскорбиновую кислоту. Также показана возможность пересчета величин антиоксидантной активности коньяка относительно различных веществ – стандартов (галловой кислоты, кверцетина).

Установлены метрологические характеристики методики измерения суммарного количества АО в продуктах питания.

Разработанная методика позволяет осуществить как идентификацию, так и количественное определение дубильных веществ в широком интервале концентраций. Отмечено, что метод обладает высокой чувствительностью.

Амперометрические и вольтамперометрические методы

Удобным для определения антиоксидантов и их активности является вольтамперометрический метод, так как он, как и антиоксиданты, весьма чувствителен к наличию в среде кислорода и его активных радикалов.

Известен способ циклической вольтамперометрии для оценки суммарной АОА биологических жидкостей, тканевых гомогенатов и экстрактов растений [80, 81]. Он основан на восстановительной способности низкомолекулярных АО, входящих в их состав. Низкомолекулярные антиоксиданты были идентифицированы как аскорбиновая кислота и мочевиная кислота, и по их общему содержанию судили об АОА методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектированием. В качестве параметра оценки суммарной АОА использовали изменение величины площади под анодным пиком окисления низкомолекулярных АО.

В работе [82] разработан вольтамперометрический анализатор «Антиоксидант» для определения антиоксидантной активности объектов искусственного и природного происхождения. Прибор прошел государственные испытания, по результатам которых ему присвоен тип средства измерения – «Анализатор АОА» с приписанными метрологическими и техническими характеристиками. Анализатор прошел международную сертификацию в Чехии и допущен к применению в аналитических и научно-исследовательских лабораториях Европы и Америки.

Предложен экспрессный амперометрический способ определения АОА [83–87]. Измерения проводились на приборе «ЦветЯза-01-АА» со стеклоуглеродным анодом. Он основан на измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода, находящегося при определенном потенциале. Чувствительность данного метода определяется как природой рабочего электрода, так и потенциалом, приложенным к нему. В качестве основного материала рабочего электрода используется стеклоуглерод. Электрохимическое окисление используется как модельное при измерении активности поглощения свободных радикалов. Таким образом, способность к захвату свободных радикалов флавоноидами или другими полифенолами (их АОА) может измеряться величиной окисляемости этих соединений на рабочем

электроде амперометрического детектора. В условиях амперометрического детектирования хорошо окисляются соединения, содержащие гидроксильные группы, предел их обнаружения – на уровне 10^{-9} – 10^{-12} г.

Электрод Кларка получил широкое распространение в 1960-х годах прошлого века [88, 89]. Он предназначался прежде всего для определения концентрации кислорода. Классический способ Кларка представляет собой амперометрическую установку с платиновым индикаторным электродом. Фоновый электролит – раствор KCl. Однако электрод Кларка сильно реагирует на адсорбцию органических соединений, уменьшая ток восстановления кислорода пропорционально их концентрации в растворе.

В связи с этим использовать электрод Кларка для исследования антиоксидантных свойств веществ можно только в случаях, когда исследуемые вещества являются настолько сильными восстановителями, что реагируют только с молекулярным кислородом в объеме раствора, и когда они не обладают поверхностной активностью.

Поэтому в последнее время электрод Кларка в чистом виде практически не используется для исследования антиоксидантных свойств веществ и материалов. Однако данный электрод нашел широкое распространение в биосенсорах, как физический преобразователь сигнала.

Авторами [90] предложено биамперометрическое определение производных фенола с использованием композита лакказы-нафион. Концентрацию фенольных субстратов определяли по току восстановления продуктов ферментативного окисления при $E=0.1$ В на пироуглеродном электроде с композитом и по расходу кислорода на ферментативное окисление на электроде Кларка с композитной мембраной при $E=-0.7$ В.

В последнее время для определения антиоксидантной активности широко используются биосенсоры, о чем свидетельствует большое число публикаций. Для электрохимического определения АОА разработан амперометрический биосенсор, модифицированный цитохромом С [91]. В качестве подложки использовался золотой электрод. Образование супероксид-радикала ферментативно контролируется ксантинооксидазой. Добавление антиоксидантов облегчает разложение радикала в дополнение к самопроизвольному диспропорционированию, что приводит к уменьшению тока на электроде. Количественным критерием АОА служила концентрация АО, уменьшающая сигнал на 50% ($IC_{50\%}$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время существует большой арсенал различных методов определения АОА растительного сырья и продуктов его переработки. Широкое применение получают фотометрические, люминесцентные,

флуоресцентные, электрохимические методы определения АОА. Трудно отметить метод, получающий наиболее широкое использование. Невозможно предложить общий универсальный метод для оценки АОА. Ученые выбирают конкретный метод исследования, модифицируют его либо создают новый. Выбор метода и методики определяется поставленной целью и имеющимися аппаратными возможностями.

ЛИТЕРАТУРА

- G. Bartos. Total antioxidant capacity // Adv. Clin. Chem. 2003. V. 37. P. 219–292.
- Патент РФ № 2238554. G 01N 33/15, G 01N 27/26. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений / В.П. Пахомов, Я.И. Яшин, А.Я. Яшин, В.Л. Багирова, А.П. Арзамасцев, В.Г. Кукес, Е.В. Ших.
- В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. Пособие для врачей. – М.: Медицина, 2001. 78 с.
- Е.Б. Бурлакова, В.М. Мисин, Н.Г. Храпова, А.Ю. Завьялова. Антиоксиданты. Термины и определения. – М.: РУДН, 2010. 63 с.
- Н.Д. Бунатян, Е.В. Ших, Г.В. Раменская и др. Исследование антиоксидантных свойств лекарственных препаратов. – М. 2010. 36 с.
- В. М. Березовский. Химия витаминов. – М.: Пищевая промышленность, 1973. 632 с.
- В.А. Рогинский. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. 247 с.
- Т.В. Пилипенко. Изучение качества и функциональных свойств образцов китайского зеленого чая // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. № 4 (2). 2014. С. 64–68.
- Л.М. Федосеева, Т.А. Харлампович. Изучение некоторых водорастворимых соединений донника лекарственного травы (*Melilotus officinalis* L.) // Химия растительного сырья. 2013. № 2. С. 153–157.
- В.М. Косман, О.Н. Пожарицкая, А.Н. Шиков, В.Г. Макаров. Изучение состава биологически активных веществ сухих экстрактов эхинацеи узколистной и шалфея лекарственного // Химия растительного сырья. 2012. № 1. С. 153–160.
- K.U. Yilmaz, Y. Zengin, S. Ercisli, S. Serce, K. Gunduz, M. Sengul, B.M. Asma. Some selected physico-chemical characteristics of wild and cultivated blackberry fruits (*Rubus fruticosus* L.) from Turkey // Romanian Biotechnological Letters. 2009. V. 14(1). P. 4152–4163.
- К.Н. Разарёнова, Е.В. Жохова. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода *geranium* L. флоры северо-запада // Химия растительного сырья. 2011. № 4. С. 187–192.
- А.А. Федосеева, О.С. Лебедкова, Л.В. Каниболоцкая, А.Н. Шендик Антиоксидантная активность настоев чая // Химия растительного сырья. 2008. № 3. С. 123–127.
- Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье // Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. 11-е изд., доп. / МЗ СССР. – М.: Медицина, 1989. 398 с.
- В.В. Мжаванадзе, И.Л. Таргамадзе, Л.И. Драник. Количественное определение хлорогеновой кислоты в листьях черники кавказской // Сообщения АН Грузинской ССР. 1971. Т. 63. № 1. С. 205–207.
- А. Блажей, Л. Шутый. Фенольные соединения растительного происхождения. – М., 1977. 158 с.
- Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье // Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. 11-е изд., доп. / МЗ СССР. – М.: Медицина, 1989. 398 с.

18. Е.Ю. Демченкова. Стандартизация лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов на содержание антиоксидантов амперометрическим методом: дисс. ... канд. фарм. наук. – М. 2012. 121 с.
19. Е.В. Романенко, Е.А. Сосюра, А.Ф. Нуднова, Н.А. Есаулко, М.В. Селиванова, К.В. Парусова. Антиоксидантная активность плодов унаби // Пищевая промышленность. 2016. № 9. С. 28–29.
20. А.Н. Кузьменко. Стандартизация лекарственного растительного сырья и растительных сборов методами ионо-эксклюзионной и газо-жидкостной хроматографии: дисс. ... докт. фарм. наук. – М. 2013. 319 с.
21. В.М. Мисин, Н.Г. Храпова, А.Ю. Завьялов, Е.Б. Бурлакова, А. М. Кочнев, Г.Е. Заиков. Стандартизация терминов и определений в области «антиоксиданты» // Вестник КНИТУ. 2012. № 17. С. 236–241.
22. И.Р. Ильясов. Исследование антирадикальной активности композиции на базе диквертина: дисс. ... канд. фарм. наук. – М. 2009. 139 с.
23. А.А. Лапин, Е.В. Горбунова, В.Н. Зеленков, М.К. Герасимов. Определение антиоксидантной активности вин кулонометрическим методом (Научно-методическое пособие). – М.: РАЕН, 2009. 64 с.
24. M. Sato, N. Ramaratham, Y. Suzuki, M. Ohkuk Takeuchi, H. Ochi. Varietal differences phenolic content and superoxide radical potential of wines from different sources // J. Food Chem. 1996. V. 44 (1). P. 317–322.
25. J.A. Larrauri, C. Sanced-Moreno, F. Saura-Calixto. Free radical scavenging the aging of selected red Spanish wines // J. Food Chem. 1999. V. 47 (1). P. 44–47.
26. V. Fogliano, V. Verde, G. Randazzo. Method for measuring antioxidant activity and plication to monitoring the antioxidant in wines // J. Agr. Food Chem. 1999. V. 47 (2). P. 1035–1040.
27. Y. Kondo, M. Ohnishi, M. Kawaguchi. Deteolipid peroxidation catalyzed by chelated in measurement of antioxidant activity in wine chemiluminescence analyzer // J. Agr. Food Chem. 1999. V. 47 (5). P. 1781–1784.
28. И.Ф. Абдуллин. Разработка аналитического метода определения антиоксидантной способности новых сортов пива с профилактическими свойствами // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: Сборник научных трудов. Вып. 6. – М.: РАЕН, 2002. С. 327–328.
29. В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева. Методы исследования антиоксидантов // Химия растительного сырья. 2004. № 3. С. 63–75.
30. А.В. Письменский, Б.Л. Психа, В.В. Харитонов. Механизм и эффективность ингибирующего действия 1,3-ди(4-фениламинофенокси)- 2-пропанола и 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола при окислении метиллинолеата // Нефтехимия. 2001. Т. 41. № 5. С. 377–383.
31. Н.В. Сизова, О.Ю. Веретникова, А.А. Ефремов. Оценка антиоксидантной активности эфирных масел методом микрокалориметрии // Химия растительного сырья. 2002. № 3. С. 57–60.
32. V. Fogliano, V. Verde, G. Randazzo, A. Ritieni. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines // Journal Agricultural and Food Chemistry. 1999. V. 47. № 3. P. 1035–1040.
33. F. Tubaro, E. Micossi., F. Ursini. The antioxidant capacity of complex mixtures by kinetic analysis of crocin bleaching inhibition // Journal of the American Oil Chemists's Society. 1996. V. 73, № 3. P. 173–176.
34. M. Kampa, A. Nistikaki, V. Tsaousis, N. Maliaraki, G. Notas., E. Castanas. A new automated method for the determination of the Total Antioxidant Capacity (TAC) of human plasma, based on the crocin bleaching assay // BMC Clinical Pathology. 2002. V. 2. URL: <http://www.biomedcentral. Com / 1472-6890/2/3>. (дата обращения 27.02.2017)
35. Д.В. Магин, Д.Ю. Измайлов, И.Н. Попов, Г.А. Левин, Ю.А. Владимиров. Фотохемилюминесценция как метод изучения антиоксидантной активности в биологических системах. Математическое моделирование // Вопросы медицинской химии. 2000. № 4. С. 65–68.
36. S.R. Georgetti, R. Casagrande, V.M Di Mambro, A. Azzolini, M.J. Forseka. Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method // AAPS Pharm Sci. 2003. V. 5(2). URL: www.pharmsci.org (дата обращения 27.02.2017).
37. А.П. Потанина, С.Р. Хасанова, Н.В. Кудашкина, Р.Р. Фархутдинов. Исследование антиоксидантной активности сбора «Кардиофит» хемилюминесцентным методом // Медицинский вестник Башкортостана. 2013. Т. 8. № 5. С. 75–77.
38. M.K. Ehlenfeldt, R.L. Prior. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001. V. 49. P. 2222–2227.
39. G. Cao, C. Sanchez-Moreno, R.L. Prior. Procyanidins, anthocyanins and antioxidant capacity in wines // Faseb Journal. 2000. V. 14. P. A564–A564.
40. E.I. Korotkova, Y.A. Karbainov, A.V. Shevchuk. Study of antioxidant properties by voltammetry // Journal of Electroanalytical Chemistry. 2002. V. 518. № 1. P. 56–60.
41. B. Yang, A. Kotani, K. Arai, F. Kusu. Estimation of the antioxidant activities of flavonoids from their oxidation potentials // Analytical Sciences (Japan). 2001. V. 17. P. 599–604.
42. В.В. Хасанов, К.А. Дычко, Г.Л. Рыжова. Кинетический метод свободно радикального окисления сульфит-иона для определения антиоксидантов в биообъектах // Химико-фармацевтический журнал. 2001. Т. 35. № 12. С. 36–37.
43. Е.В. Ермилова, Т.В. Кадырова., Е.А. Краснов, С.И. Писарева, В.И. Пынченков. Антиокислительная активность экстрактов водяники черной. // Химико-фармацевтический журнал. 2000. Т. 34. № 11. С. 28–30.
44. W. Brand-Williams, M.E Cuvelier, C. Berset. Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity // Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. 1995. V. 28(1). P. 25–30.
45. А.А. Торопова, Э.Т. Батоцыренова, Д.Н. Оленников, Л.М. Танхаева, Л.Н. Шантанова, С.М. Николаев. Антиоксидантная активность сухого экстракта подземных органов *Astragalus membranaceus* и его фракций // Сибирский медицинский журнал. 2012. № 7. С. 107–109.
46. Н.М. Бейлерян, Э.Р. Саруханян, П.Г. Минасян. Кинетика иницированного ДАК автоокисления кумола в хлорбензольных растворах в присутствии диметилсульфоксида // Ученые записки Ереванского государственного университета. Серия Химия, Биология. 2010. № 3. С. 8–12.
47. М.В. Веселова, С.А. Федореев, Н.А. Василевская, В.А. Денисенко. Антиоксидантная активность полифенолов из дальневосточного растения тиса остроконечного // Химико-фармацевтический журнал. 2007. Т. 41. № 2. С. 29–34.
48. Е.Г. Линхоева, А.А. Торопова, Е.В. Петров, С.В. Лемза. Определение антиоксидантной активности противодиабетического средства «Глюковит» // Вестник Бурятского государственного университета. 2013. № 2. С. 147–149.
49. Н.В. Макарова, А.В. Зюзина. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств яблочно-ягодных соков // Известия вузов. Пищевая технология. 2012. № 1. С. 22–24.
50. А.Ю. Айрапетова, Е.О. Сергеева, Л.С. Ушакова, С.Г. Тираспольская. Изучение антиоксидантной активности липидной фракции Трутовика лекарственного (*Fomipolis Officinalis* (Vill.) Bond. et Sing.). Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 2013. Т. 15. № 3 (2). С. 692–694.
51. П.Б. Лубсандоржиева. Биологически активные вещества и антиоксидантная активность *in vitro* полиэкстракта *Lomatogonium Carinthiacum* (Wulfen) ABR // Химия растительного сырья. 2008. № 1. С. 101–105.
52. Н.Г. Гамбарова, В.К. Гинс. Влияние экзогенного пероксида водорода на антиоксидантную систему хлоропластов у пшеницы // Сельскохозяйственная биология. 2012. № 3. С. 75–79.
53. M.S. Blois. Antioxidant determination by the use of a stable freeradical // Nature. 1958. V. 26. P. 1198–1200.
54. Mao Lin-Chun. Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air-dried and freeze-dried daylily flowers // Eur. Food Res. And Technol. 2006. V. 222. № 3–4. P. 236–241.

55. F. Tubaro, A. Ghiselli, P. Rapuzzi, M. Maiorino, F. Ursini. Analysis of plasma antioxidant capacity by competition kinetics // *Free Radicals in Biology and Medicine*. 1998. V. 24. P. 1228–1234.
56. M. Antolovich. Methods for testing antioxidant activity // *Analyst*. 2002. V. 127. P. 183–198.
57. G.H. Cao, H.M. Alessio, R.G. Cutler. Oxygen Radical Absorbency Capacity Assay for Antioxidants // *Free Radicals in Biology and Medicine*. 1993. V. 3. № 14. P. 303–311.
58. M.K. Ehlensfeldt, R.L. Prior. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of high-bush blueberry // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. V. 49. P. 2222–2227.
59. G. Cao, C. Sanchez-Moreno, R.L. Prior. Procyanidins, anthocyanins and antioxidant capacity in wines // *Faseb Journal*. 2000. V. 14. P. A564–A564.
60. G.H. Cao, B. Shukitt-Hale, P.C. Bickford, J.A. Joseph, J. McEwen, R.L. Prior. Hyperoxia-induced changes in antioxidant capacity and the effect of dietary antioxidants // *Journal of Applied Physiology*. 1999. V. 86. P. 1817–1822.
61. U. Devanboyina, R. C. Gupta. Sensitive detection of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA by 32P-postlabeling assay and the basal levels in rat tissues // *Carcinogenesis*. 1996. V. 17. P. 917–924.
62. K. Nakagawa, M. Kawagoe, M. Yoshimura, H. Arata, T. Minamikawa, M. Nakamura, A. Matsumoto. Differential Effects of Flavonoid Quercetin on Oxidative Damages Induced by Hydrophilic and Lipophilic Radical Generators in Hepatic Lysosomal Fractions of Mice // *Journal of Health Science*. 2000. V. 46. № 6. P. 509–512.
63. A.N. Glazer. Phycoerythrin fluorescence-based assay for reactive oxygen species // *Methods of Enzymology*. 1990. V. 186. P. 161–168.
64. A. Abella, C. Messaoudi, D. Laurent, D. Marot, J. Chalas, J. Breux, C. Claise, A. Lindenbaum. A method for simultaneous determination of plasma and erythrocyte antioxidant status. Evaluation of the antioxidant activity of vitamin E in healthy volunteers // *British Journal of Clinical Pharmacology*. 1996. V. 42. P. 737–741.
65. I.F. Benzie, J.J. Strain. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay // *Analytical Biochemistry*. 1996. V. 239. P. 70–76.
66. А.В. Бодоев, П.В. Алексеев. Исследование антиоксидантной активности экстракта зубчатки обыкновенной хемилюминесцентным методом // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*, 2011. № 1 (77), Ч. 2. С. 126–127.
67. Г.И. Клебанов, М.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // *Лабораторное дело*. 1988. № 5. С. 59–62.
68. И.Ф. Абдуллин, Е.Н. Турова, Г.К. Будников, Г.К. Зиятдинова, Г.Х. Гайсина. Электрогенерированный бром – реагент для определения антиоксидантной способности соков и экстрактов // *Заводская лаборатория*. 2002. Т. 68. № 9. С. 12–15.
69. И.Ф. Абдуллин, Е.Н. Турова, Г.Х. Гайсина, Г.К. Будников. Применение электрогенерированного брома для оценки интегральной антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья и препаратов на его основе // *Журнал аналитической химии*. 2002. Т. 57. № 6. С. 666–670.
70. Г.К. Зиятдинова. Электрохимические методы оценки интегральной антиоксидантной емкости медико-биологических объектов: дисс. ... канд. хим. наук. – Казань. 2005. 187 с.
71. Н.Г. Габрук, Л.В. Тхуан, И.И. Олейникова. Определение интегральной антиоксидантной активности различных экстрактов имбиря с помощью электрохимического детектирования // *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Естественные науки*. 2012. № 9 (128). Выпуск 19. С. 159–162.
72. Г.Е. Султанова, М.И. Евгеньев, М.К. Герасимов. Методы оценки антиоксидантной активности виноматериалов в процессе их технологической обработки // *Вестник Казанского технологического университета*: Т. 14. № 6. 2011. С. 262–268.
73. М.А. Сысоева, О.Ю. Кузнецова, В.С. Гамаюрова, П.П. Суханов, Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников // *Химия растительного сырья*. 2005. №1. С. 41–47.
74. А.А. Лапин, М.Ф. Борисенков, А.П. Карманов, И.В. Бердник, Л.С. Кочева, Р.З. Мусин, И.М. Магдеев. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения // *Химия растительного сырья*. 2007. № 2. С. 79–83.
75. В.М. Мисин, Н.Г. Храпова, А.Ю. Завьялов, Е.Б. Бурлакова, А.М. Кочнев, Г.Е. Заиков. Стандартизация терминов и определений в области «антиоксиданты» // *Вестник КНИТУ*. 2012. № 17. С. 236–241.
76. Патент РФ № 2235998. Способ определения оксидантной/антиоксидантной активности растворов / Х.З. Брайнина, А.В. Иванова; заявитель и патентообладатель ООО «НПВП «ИВА» УргЭУ. – Заявл. 14.11.2002, опубл. 10.09.2004. Бюл. № 25. 4 с.
77. Е.Н. Шарафутдинова. Потенциометрический метод определения динона // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2008. Т. 74. № 6. С. 9–14.
78. Е.Н. Шарафутдинова. Потенциометрия в исследовании антиоксидантной активности объектов растительного происхождения: автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Екатеринбург. 2007. 24 с.
79. Т.Г. Цюпко, О.Б. Воронова, В.В. Перекотий, З.А. Темердашев, Н.В. Храпко, Н.Е. Крутых, А.Ю. Кондарева, Е.В. Переврзева. Оценка качества коньяка по обобщающим показателям // *Материалы II Всер. конф. «Аналитика России»*. 2007. – Краснодар. 2007. С. 475.
80. S. Chevion, M. A. Roberts, M. Chevion. The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity // *Free Radical Biology and Medicine*. 2000. V.28. № 6. P. 860–870.
81. R. Kohen, E. Vellaichamy, J. Hrbac, I. Gati, O. Nirosh. Quantification of the overall reactive oxygen species scavenging capacity of biological fluids and tissues // *Free Radical Biology and Medicine*. 2000. V.2 8. № 6. P. 871–879.
82. Е.И. Короткова. Вольтамперометрический метод определения суммарной активности антиоксидантов в объектах искусственного и природного происхождения: дисс ... докт. хим. наук. – Томск. 2009. 400 с.
83. А.Я. Яшин, Я.И. Яшин, Н.И. Черноусова, В.П. Пахомов. Экспрессный электрохимический метод определения антиоксидантной активности пищевых продуктов // *Пиво и напитки*. 2004. № 6. С. 44–46.
84. А.Я. Яшин, Я.И. Яшин. Новый прибор для определения антиоксидантной активности пищевых продуктов, биологически активных добавок, растительных лекарственных экстрактов и напитков // *Приборы и автоматизация*. 2004. № 11. С. 45–48.
85. В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, П.А. Жандармова, С.Л. Макаревич. Влияние строения антоцианов на их антиоксидантную активность: цианидин-3-рутинозид с гидроксильной группой в положении 6 // *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация*. 2014. № 24 (195). Вып. 28. С. 60–64.
86. С.Л. Макаревич, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, В.Н. Сорокопудов. Влияние строения антоцианов на их антиоксидантную активность: 3,5-диглюкозиды относительно 3-глюкозидов // *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация*. 2014. № 24 (195). Вып. 28. С. 216–220.
87. Е.Ю. Демченкова, В.П. Пахомов. Определение антиоксидантной активности лекарственных средств, бадов и лекарственного растительного сырья // *Биомедицина*. 2010. № 5. С. 76–78.
88. M.L. Hitchman. Measurement of dissolved oxygen. – Geneva: John Wiley&Sons Inc., 1978. 255 p.
89. Г.К. Будников, В.Н. Майстренко, М.Р. Вяселев. Основы современного электрохимического анализа. – М.: Мир. 2003. 592 с.
90. М.А. Осина, В.А. Богдановская, М.Р. Тарасевич. Биоамперометрическое определение производных фенола с использованием композита лакказанафион // *Электрохимия*. 2003. Т. 39, № 4. С. 450–456.
91. B. Ge, F. Lisdat. Superoxide sensor based on cytochrome C immobilized on mixed-thiol SAM with a new calibration method // *Analytica Chimica Acta*. 2002. V. 454, № 1. P. 53–64.