

5. Справочник по гидроколлоидам / Г.О. Филлипс, П.А. Адамс; пер. с англ. под ред. А.А. Кочетковой, Л.А. Сарафановой. – СПб.: ГИОРД, 2006. – 536 с.
6. Дробот В.И. Использование гречневой муки в производстве безглютенового хлеба / В.И. Дробот, А.М. Грищенко, Л.А. Михоник // Хранение и переработка зерна. – 2011. – № 4 (142). – С. 61-62.
7. Николаев Б.А. Структурно-механические свойства мучного теста / Б.А. Николаев. – М.: Пищ. пром-сть, 1976. – 246 с.

УДК 579.67:613.26

Євлаш В.В., д-р техн. наук, проф., Отрошко Н.О., канд. хім. наук,
Акмен В.О. (ХДУХТ, Харків)

ВДОСКОНАЛЕННЯ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОДУКТІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ ТА ЇЇ КІЛЬКІСНА ОЦІНКА

Запропоновано вдосконалення методики кулонометричного титрування електрогенерованим бромом для визначення загальної антиоксидантної активності харчових продуктів рослинного походження з метою зниження вартості аналізу і розширення переліку об'єктів, що підлягають дослідженню, та введено новий товарознавчий показник якості для кількісного вираження їхніх антиоксидантних властивостей – «Одиниця аскорбінової кислоти».

Ключові слова: *кулонометричне титрування, антиоксидантна активність, товарознавчий показник якості.*

Постановка проблеми і її зв'язок із найважливішими науковими та практичними завданнями. До числа пріоритетних напрямків сучасних наукових досліджень все частіше включають поліпшення структури харчування населення шляхом введення до раціону продуктів з високим вмістом біологічно активних сполук. До таких сполук з повним правом можна віднести антиоксиданти, позитивний вплив яких на здоров'я людини сьогодні не викликає сумніву [1]. Як відомо, антиоксиданти різної природи регулюють ступінь впливу неферментативного вільнорадикального окиснення на більшість біохімічних процесів організму, створюючи відтак оптимальні умови для метаболізму та забезпечення нормального зростання клітин і тканин. Найважливішими природними антиоксидантами є вітаміни А, С, Е, β-каротин, біофлавоноїди (катехіни, антоціани, флаволи, ізофлаволи тощо), амінокислоти, мінерали, мікроелементи. Оскільки антиоксиданти є інгредієнтами рецептури, то під час виробництва продуктів харчування вони можуть руйнуватися або змінювати свої властивості.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Наявність антиоксидантів у продуктах харчування (чайні напої, кава, какао, червоні вина) декларується виробниками як безперечна перевага, однак жодна етикетка не містить показника, який дозволяє пересічному споживачеві оцінити кількісний вміст антиоксидантів у товарі.

Для вимірювання антиоксидантної активності (А.О.А.) зазвичай використовують хімічні та фізико-хімічні методи, що полягають у прямому чи непрямому вимірюванні швидкості або повноти протікання окисно-відновної реакції. Усі відомі методи вимірювання А.О.А. можна розділити на три типи, що базуються на таких показниках: споживання кисню, утворення продуктів окиснення, поглинання (або зв'язування) вільних радикалів [2; 3].

Найбільш поширеними є такі методи, як TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), TRTAP (total radical trapping antioxidant parameter), FRAP (ferric reducing antioxidant power) та ін., в основі яких лежать реакції відновлення довгоживучих вільних радикалів або відновленні комплексу Fe (III). Основним недоліком цих методів є той факт, що антиоксидантна активність у них розглядається як функція багатьох параметрів (зокрема часу, температури, природи речовини, концентрації антиоксиданту та інших сполук); під час реалізації цих методів використовуються синтетичні вільні радикали, які нічого спільного не мають з вільними радикалами в організмі людини.

Аналіз наукових джерел [4-6] показує, що електрохімічні методи оцінки інтегральної антиоксидантної активності є більш перспективними, оскільки взаємодія активних кисневих сполук у водному середовищі супроводжується передачею електрона. До цих методів належать: потенціометричний, метод катодної вольтамперометрії, амперометричний, кулонометричний. Останній, на наш погляд, є одним з найбільш простих і економічних.

Метод кулонометричного титрування з амперометричною індикацією [7; 8] використовується для оцінки А.О.А. соків і водних рослинних екстрактів. Згідно з цією методикою вимірюється кількість електрики, що проходить через комірку під час окиснення антиоксидантного комплексу аналізованої речовини на поверхні з певним потенціалом. У цьому випадку для визначення антиоксидантної активності можна використовувати електрогенеровані окиснювачі: хлор, бром і йод. Електрогенерацію галогенів у методі кулонометричного титрування проводять за постійної сили струму 5,0 мА із 0,2 моль/дм³ водного розчину KCl, KBr або KI у 0,1 моль/дм³ H₂SO₄ з визначенням кінця титрування за допомогою амперометричної індикації з двома поляризованими платиновими електродами. Залежність між кількістю доданого титранта і величиною дифузійного струму є кривою амперометричного титрування.

Основним недоліком цієї методики є необхідність залучення 2-х джерел живлення: перше подає постійний струм на кулонометричний титратор, а друге подає малий струм на два вимірювальні платинові електроди. Саме цей струм і вимірюється. Результат залежить від електричної провідності розчину, яка, у свою чергу, визначається його чистотою (відсутністю завислих часток), тобто кулонометричне титрування з амперометричною індикацією дозволяє проводити вимірювання антиоксидантної активності тільки істинних розчинів. Але харчові продукти – це колоїдні системи: суспензії, емульсії, і цей метод для них непридатний. Отже, амперометрична індикація в кулонометричному титруванні дозволяє вимірювати лише ту частину антиоксидантів, що екстрагується у розчин.

Обробка експериментальних даних під час оцінки антиоксидантної активності за допомогою кулонометричного титрування ґрунтується на об'єднаному

законі електролізу М. Фарадея, який сполучає в єдину формулу кількість електрики та масу продукту електролізу і має вигляд:

$$m = \frac{I \cdot t \cdot M}{n \cdot F}, \quad (1)$$

де m – маса речовини, вміст якої визначають, г;

I – сила струму, А;

t – час електролізу, с;

M – молярна маса речовини, г/моль;

n – число електронів, що беруть участь в електродному процесі;

F – стала (число) Фарадея, що дорівнює ≈ 96500 Кл/моль.

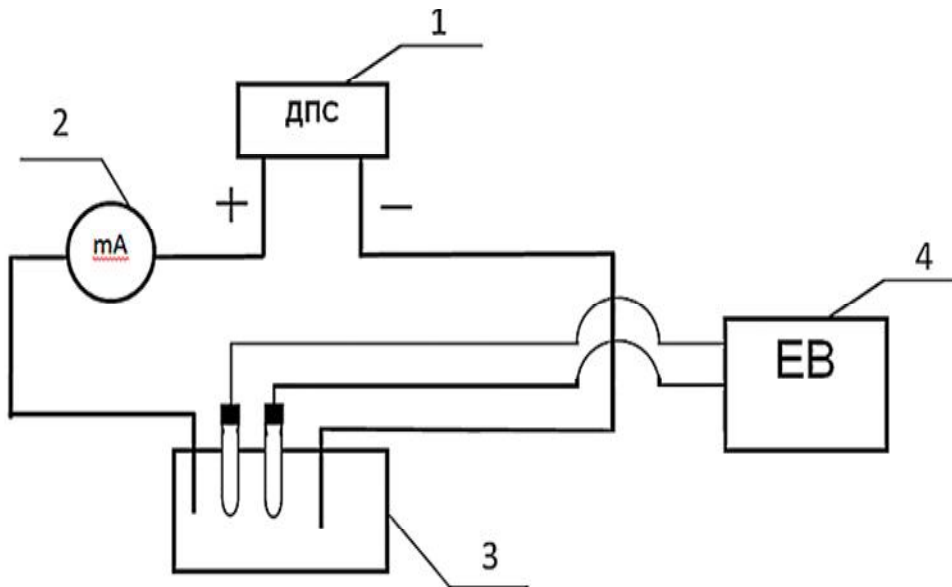
Продуктом електролізу є речовини-антиоксиданти. Оскільки це не індивідуальна речовина, а сукупність речовин (вітаміни, барвні речовини, таніни, антоціани тощо), то в рівнянні (1) є дві невідомі: молярна маса та кількість електронів, що беруть участь в електродному процесі. Відповідно, одержана характеристика А.О.А. не може мати звичної для більшості кількісних оцінок вмісту речовин розмірності маси (г) або кількості речовини (моль). Зазвичай її виражають в Кл/100 г або Кл/100 см³. З одного боку, це повноцінна кількісна характеристика, яка дозволяє проводити порівняння харчових продуктів з точки зору вмісту в них речовин з антиоксидантними властивостями, з іншого боку, такі одиниці вимірювання складні для сприйняття, особливо для споживачів без спеціальної освіти. Таким чином, ця характеристика має суто наукове значення і не може бути використана виробниками для маркування своєї продукції.

Метою роботи було вдосконалення існуючої методики визначення А.О.А. та введення нового товарознавчого показника якості для кількісної оцінки антиоксидантної активності харчових продуктів рослинного походження.

Виклад основного матеріалу досліджень. Після всебічного аналізу методики визначення А.О.А. за допомогою методу кулонометричного титрування електрогенерованим бромом було запропоновано замінити амперометричну індикацію для реєстрації завершення експерименту на потенціометричну [9]. Це дозволило використовувати в якості робочих електродів для електрогенерації броду графітові електроди замість платинових, що робить процес вимірювання більш дешевим, а також значно розширює область використання методики, оскільки в запропонованій модифікації її можна застосовувати до будь-яких об'єктів у рідкому стані, у тому числі і до колоїдних.

Вдосконалена установка, схему якої наведено на рисунку 1, складається з джерела постійного струму, мілівольтметра, електрохімічної комірки та електронного мілівольтметра. Анодом, на якому виділяється електрогенерований титрант, служить графітовий електрод. Як катод виступає графітовий електрод, забраний у капіляр Лугіна (капіляр було використано, щоб уникнути розрядження титранту на катоді).

Для індикації потенціалу використовуються платиновий і хлорсрібний електроди, підключені до електронного мілівольтметра.



1 – джерело постійного струму, 2 – міліамперметр,
3 – електрохімічна комірка, 4 – електронний вольтметр

Рисунок 1 – Блок-схема установки для кулонометричного титрування

Для ініціювання процесу електрогенерації струм пропускають через систему. Під впливом струму на аноді виділяється вільний бром, який вступає у реакцію з речовинами, що мають антиоксидантну активність, чим поступово нейтралізує антиоксиданти. У той момент, коли в системі з'являється вільний бром, тобто антиоксиданти у розчині вже відсутні, відбувається стрибок потенціалу, який саме фіксується. Кількість антиоксидантів прямо пропорційна часу, що пройшов, струму, який є постійним, та обернено-пропорційна об'єму проби, взятої для дослідження.

Після вимірювання розраховують кількість електрики, Кл, що пройшла крізь розчин до моменту стрибка потенціалу та відносять цю кількість до 100 г (100 мл) рослинної сировини.

Розрахунок роблять за формулою:

$$A.O.A. = \frac{I \cdot t \cdot V_0 \cdot 100}{V_x \cdot m}, \quad (2)$$

де I – сила струму, А;

t – час електролізу, с;

V_0 – об'єм розчину екстракту, см³;

V_x – об'єм проби, см³;

m – маса наважки сировини, г.

З метою кращого сприйняття результатів кількісної оцінки А.О.А. харчових продуктів методом кулонометричного титрування з електрогенерованим

бромом ми пропонуємо ввести нову розмірність: «одиниця аскорбінової кислоти» (О.А.К.) на 100 г (100 см³) продукту.

Під час введення цієї характеристики ми виходили з таких положень.

Розповсюдженим і відомим усім споживачам антиоксидантом є аскорбінова кислота, яка є індивідуальною хімічною речовиною з однаковим проявом антиоксидантної активності незалежно від виду рослинної сировини, тому для більшої наочності, а також з метою полегшення порівняння, за стандарт взято саме цю речовину.

Під час окиснення аскорбінової кислоти електрохімічно генерованим бромом до дегідроаскорбінової кислоти, одна молекула кислоти еквівалентна молекулі бромоводню або двом електронам, тобто ланцюг еквівалентності має вигляд: $C_6H_8O_6 = Br_2 = 2e^-$.

Фактор еквівалентності аскорбінової кислоти дорівнює ½ (молярна маса еквіваленту – 88, 0624 г/моль).

Таким чином, формула (2) набуває вигляду:

$$O.A.K. = \frac{I \cdot t \cdot V_0 \cdot 100}{2 \cdot F \cdot V_x \cdot m}, \quad (3)$$

де О.А.К. – антиоксидантна активність за аскорбіновою кислотою, що виражається у кількості молей речовин-антиоксидантів, що містяться у 100 г дослідної речовини (моль/100 г або моль/100 см³).

У таблиці 1 представлено результати визначення А.О.А. в різних харчових продуктах і дієтичних добавках на основі харчової крові та рослинної сировини за допомогою вдосконаленої методики кулонометричного титрування електрогенерованим бромом, виражені в традиційних одиницях та в одиницях аскорбінової кислоти.

Таблиця 1 – Антиоксидантна активність харчових продуктів і дієтичних добавок

Об'єкт дослідження	А.О.А., Кл/100 г (см ³)	О.А.К., моль/100 г (см ³)
Свіжозаморожена чорна смородина	288	$1,5 \cdot 10^{-3}$
Сухе червоне вино каберне ТМ «Коблево»	8,4	$4,4 \cdot 10^{-5}$
Какао-порошку ТМ «Мрія»	720	$3,7 \cdot 10^{-3}$
Дієтична добавка «Калгем»	875	$4,5 \cdot 10^{-3}$
Дієтична добавка «Редгем»	1100	$5,6 \cdot 10^{-3}$
Дієтична добавка «Фітогем»	990	$5,1 \cdot 10^{-3}$

Висновки.

1. Вдосконалено методику визначення загальної антиоксидантної активності харчових продуктів, що дозволяє визначати антиоксидантну активність не лише у фільтрованих розчинах, а й у колоїдних системах, а також дає можливість використання в якості робочих електродів для електрогенерації броду графіту замість платини, що значно здешевлює установку.

2. Запропоновано новий товарознавчий показник кількісної оцінки антиоксидантної активності рослинної сировини – «Одиниця аскорбінової кислоти» – О.А.К. (моль/100г або моль/100 см³), який під час кулонометричного титрування об'єктивно визначає антиоксидантну активність харчових продуктів рослинного походження.

Список літератури

1. Зенков Н.К. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. – М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. – 343 с.
2. Хасанов В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – № 3. – С. 63-95.
3. Roginsky V. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food / V. Roginsky, E.A. Lissi // Food chemistry. – 2005. – Vol. 92. – P. 235.
4. Федина П.А. Определение антиоксидантов в продуктах растительного происхождения амперометрическим методом / П.А. Федина, Н.И. Яшин, Н.И. Черноусова // Химия растительного сырья. – 2010. – № 2. – С. 91-97.
5. Брайнина Х.З. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов методом потенциометрии / Х.З. Брайнина, А.В. Иванова, Е.Н. Шарафутдинова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2004. – № 4. – С. 73-75.
6. Короткова Е.И. Новый способ определения активности антиоксидантов / Е.И. Короткова // Журнал физической химии. – 2000. – Т. 74, № 9. – С. 1544-1546.
7. Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках / А.Я. Яшин // Российский химический журнал (Журнал российского химического общества им. Д.И. Менделеева). – 2008. – Т. LII, № 2. – С. 130-135.
8. Электрогенерированный бром – реагент для определения антиоксидантной способности соков и экстрактов / И.Ф. Абдуллин, Е.Н. Турова, Г.К. Будников и др. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2002. – Т. 68, № 9. – С. 12-15.
9. Пат. 69294 Україна, МПК 51 (2012.01) А61Р 39/06. Спосіб оцінки інтегральної антиоксидантної активності водних екстрактів рослинної сировини та дієтичних добавок / В.В. Євлаш, О.Ф. Аксьонова, Н.О. Отрошко, В.О. Акмен, В.Г. Михайленко, О.Г. Д'якович заявник та патентовласник Харківський державний університет харчування та торгівлі; опубл. 25.04.12, Бюл. № 118. – 4 с.