

УДК 543.55:543.551.4

В.В. Євлаш, д-р техн. наук

Н.О. Отрошко, канд. хім. наук

О.Ф. Аксьонова, канд. техн. наук

В.Г. Михайленко, канд. техн. наук

АДАПТАЦІЯ МЕТОДУ КУЛОНОМЕТРИЧНОГО ТИТРУВАННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕГРАЛЬНОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

Розглянуто адаптацію методу кулонометричного титрування для визначення загальної антиоксидантної активності харчових продуктів. Показано необхідність пробопідготовки досліджуваної сировини залежно від природи та властивостей антиоксидантного комплексу.

Рассмотрена адаптация метода кулонометрического титрования для определения общей антиоксидантной активности пищевых продуктов. Показана необходимость пробоподготовки исследуемого сырья в зависимости от природы и свойств антиоксидантного комплекса.

The adaptation of the method of coulometric titration of determination the total antioxidant activity of food products is considered. It is shown the necessity of preparation of the raw materials depending on the nature and properties of antioxidant complex.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Вплив антиоксидантів на здоров'я людини останнім часом широко обговорюється медиками, фармацевтами, дієтологами та виробниками продуктів харчування. Фахівці всіх цих галузей мають спільну думку, що антиоксиданти, на сьогоднішній день, повинні вважатися такими ж невід'ємними та важливими нутрієнтами як білки, жири, вуглеводи, вітаміни та мікроелементи.

Це пояснюється здатністю антиоксидантів блокувати негативну дію на організм людини вільних радикалів та тим самим захищати людину не лише від великої кількості захворювань, а й від передчасного старіння.

Мета та завдання статті – розглянути адаптацію методу кулонометричного титрування для визначення загальної антиоксидантної активності харчових продуктів.

Виклад основного матеріала дослідження. Найважливішими природними антиоксидантами є: вітаміни А, С, Е, β-каротин, селен, біофлавоноїди (катехіни, антоціани, флаволи, ізофлаволи тощо). Рослинні екстракти, вітаміни, амінокислоти, мінерали, мікроелементи також мають антиоксидантні властивості або виступають як синергісти, оскі-

льки входять до складу ферментів-антиоксидантів. Якщо вони складова сировини, то можуть руйнуватися або змінювати свої властивості під час виробництва продуктів харчування.

Тому під час оцінки якості харчових продуктів великого значення набуває визначення антиоксидантної активності харчових систем.

Для вимірювання антиоксидантної активності (АА) використовують різні фізико-хімічні методи, найчастіше засновані на прямому чи непрямому вимірюванні швидкості або повноти окисно-відновної реакції [1].

Аналіз літературних джерел [2;3;4] показує, що електрохімічні методи оцінки інтегральної антиоксидантної активності більш перспективні, оскільки взаємодія активних кисневих сполук у водному середовищі супроводжується передачею електрона. До цих методів належать: потенціометричний, катодної вольтамперометрії, амперометричний, кулонометричний.

Кулонометричний метод визначення загальної антиоксидантної активності базується на здатності бромиду реагувати з більшістю біологічно-активних речовин, що мають антиоксидантну активність [5].

Загальна антиоксидантна активність (ЗАА) (Кл/100 г) речовини розраховується за формулою:

$$\text{ЗАА} = \frac{I \cdot t \cdot V_0 \cdot 100}{V_x \cdot m}, \quad (1)$$

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.

Метою роботи було адаптувати метод кулонометричного титрування для визначення антиоксидантної активності сировини та харчових продуктів із високим вмістом антиоксидантів. Робота складалася з декількох етапів, у ході яких було визначено антиоксидантну активність настоїв зеленого чаю, червоного сухого вина, ягід чорної смородини, напоїв на основі какао.

Для проведення досліджень нами створено установку (рис.1), яка складалася з джерела постійного струму (1), міліамперметра (2), електрохімічної комірки (3) та електронного вольтметра (4). До складу електрохімічної комірки входили графітові катод та анод (робочі електроди), а також індикаторні електроди - платиновий та хлорсрібний.

Новизна методики полягала у тому, що індикація завершення кулонометричного титрування здійснювалася за допомогою вимірювання окисно-відновного потенціалу системи. Таке удосконалення дозволяє вимірювати інтегральну антиоксидантну активність у грубодисперсних системах, якими є переважна більшість харчових середовищ.

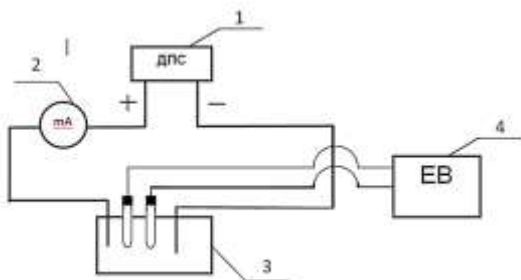


Рисунок 1 – Блок-схема установки для кулонометричного титрування: 1 – джерело постійного струму; 2 – міліамперметр; 3 – електрохімічна комірка; 4 – електронний вольтметр

Основними антиоксидантами, що входять до складу листа зеленого чаю можна назвати поліфенольні сполуки та вітаміни [6]. Антиоксидантна дія зеленого чаю може бути поясненою не лише наявністю антиоксидантів, а й синергізмом інших речовин, що присутні у чайних напоях.

Нами було досліджено зелений пакетований чай середньої цінової групи торгових марок “Ahmad”, “Greenfield”, “Lipton”. Напої приготувляли шляхом настоювання наважок чаю масою 2 г на 200 мл киплячої води протягом 3 хвилин. Після цього настої фільтрували, відбирали проби об’ємом 5 см³ та досліджували їх антиоксидантну активність. Визначено залежність потенціалу індикаторної системи від часу електролізу. Дані наведено на рис. 2.

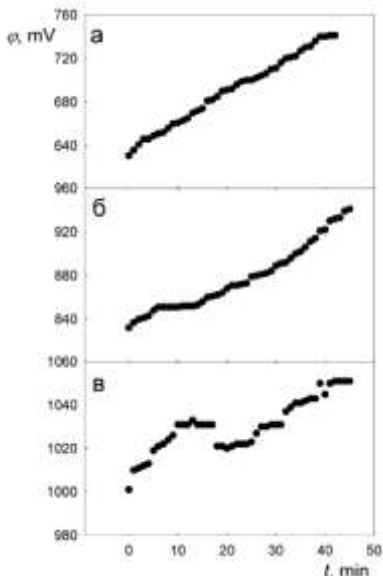


Рисунок 2 – Залежність потенціалу індикаторного електрода від часу електролізу: а – «AHMAD TEA»; б – «Greenfield»; в – «Lipton»

жоден із запропонованих зразків

зеленого пакетованого чаю не має ан-

тиоксидантних властивостей. Відсутність антиоксидантної активності може бути пов'язана із низькою якістю сировини та особливостями технологічного процесу виготовлення пакетованого чаю.

Антиоксидантний комплекс червоних сухих вин представлений різними поліфенольними сполуками, які можна розділити на дубильні (таніни або таніди) і барвні (антоціани) речовини [6].

Визначено загальну антиоксидантну активність сухих червоних вин ТМ «Ореанда», «Коблево», «Коктебель» та ТМ «VINIA». Проби вина об'ємом 10 мл відбиралися безпосередньо після відкорування пляшки, для запобігання довгого контакту вина із повітрям. Загальна антиоксидантна активність вина розраховувалась за формулою (2):

$$3AA = \frac{I \cdot t \cdot 100}{V_x} \quad (2)$$

Залежність потенціалу індикаторної системи від часу електролізу приведено на рис. 3.

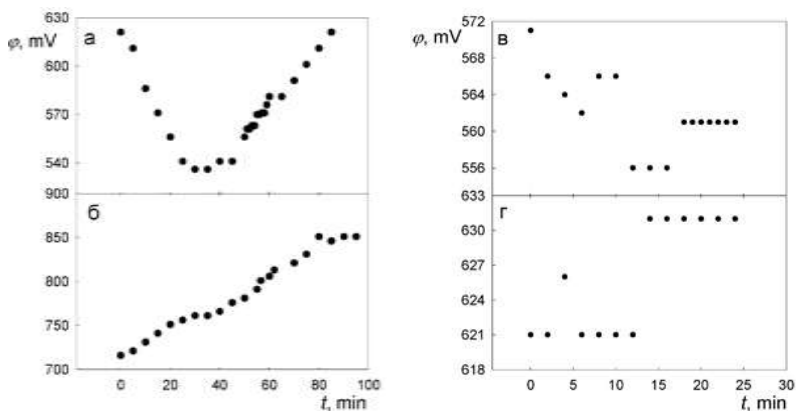


Рисунок 3 – Залежність потенціалу індикаторного електрода від часу електролізу: а – «Коблево»; б – «Коктебель»; в – «Ореанда»; г – «Vinia»

Як видно з рисунків, для вина ТМ «Ореанда», «Коблево» потенціал спочатку падає, що є результатом встановлення рівноваги на фоні постійної взаємодії молекулярного броду с антиоксидантами, після виділення на аноді кількості броду, що еквівалентна присутнім у пробі антиоксидантам, бром починає накопичуватися в розчині та спостерігається зростання потенціалу. Точка перегину кривої є кінцевою точкою титрування.

На графіку, що відноситься до вина ТМ «VINIA» немає ділянки падіння потенціалу, він має ступінчастий вигляд. Такий тип кривої титрування характерний, головним чином, для модельних систем.

Залежність $\varphi(t)$ для вина ТМ «Коктебель» має зростаючий характер. Як уже було сказано, такий вигляд графіку свідчить про відсутність антиоксидантів в пробі.

Оскільки антиоксидантна активність червоних сухих він зумовлюється, головним чином, дубильними та барвними речовинами було визначено вміст дубильних та барвних речовин перманганатометричним методом [7].

У таблиці 1 наведені дані щодо ЗАА та вмісту дубильних та барвних речовин у червоному сухому вині різних ТМ.

Таблиця 1 – Значення ЗАА та вмісту дубильних і барвних речовин у червоному сухому вині різних ТМ

Торговельна марка	ЗАА, Кл/100 мл	Кількість барвних та дубильних речовин, г/дм ³
Коблево	8,4	1,86
Коктебель	0	2,37
Ореанда	3,6	1,61
Vinia	8,4	0,66

Як видно з таблиці 1, відсутня кореляція між вмістом дубильних та барвних речовин та антиоксидантною активністю в червоному сухому вині.

Так каберне ТМ «Коктебель», яке характеризується найбільш великим вмістом барвних та дубильних речовин, має нульову антиоксидантну активність. На нашу думку, це свідчить про штучну природу барвників у цьому вині. З іншого боку, ЗАА вина ТМ «VINIA» має доволі високі значення, хоча кількість дубильних та барвних речовин у цьому зразку найменша серед досліджуваних. Скоріш всього, ЗАА цього вина була підвищена додаванням аскорбінової або лимонної кислоти.

Третім етапом нашої роботи було визначення антиоксидантної активності напоїв на основі какао-порошку, оскільки в какао-бобах, з яких виготовляється какао-порошок міститься ціла низка сполук із антиоксидантною активністю – теобромін, транс-ресвератрол та різні поліфенольні сполуки [8].

Для досліджень нами було взято какао-порошок трьох різних торговельних марок України: «Еко», «Мрія», «Золотий ярлик», а також «Золотий ярлик», кондитерської фабрики «Красный октябрь», Росія.

Для приготування напоїв на основі какао було взято наважки какао-порошку масою 5 г та дистильована вода об'ємом 200 см³. Какао-напої готувалися за традиційною технологією, тобто какао-порошок поміщався у холодну воду, після чого доводився до кипіння та кипів 1-2 хв. Від приготованого напою було відібрано пробу об'ємом 5 см³ та визначено загальну антиоксидантну активність методом кулонометричного титрування у фільтрованих та нефільтрованих зразках.

У таблиці 2 наведені значення загальної антиоксидантної активності для всіх досліджених об'єктів.

Таблиця 2 – ЗАА фільтрованих та нефільтрованих напоїв на основі какао-порошку різних ТМ

Торговельна марка	ЗАА, Кл/100 г, нефільтроване	ЗАА, Кл/100 г, фільтроване
«Золотий ярлик» (Україна)	720	240
«Еко» (Україна)	720	336
«Мрія» (Україна)	480	336
«Золотой ярлык», ТМ «Красный октябрь» (Росія)	96	12

Як видно з табл. 2, нефільтровані зразки какао-напою мають значно вищу антиоксидантну активність, ніж фільтровані. Поясненням цього може бути додаткове вивільнення теоброміну з твердої фази у розчин унаслідок зменшення його концентрації після зв'язування з електрогенованим бромом.

Крім того, найменше значення ЗАА має зразок какао-порошку «Золотой ярлык» виробництва фабрики «Красный октябрь» (Росія).

Ягоди чорної смородини – відомий продукт із великим вмістом вітаміну С та антоціанів. Аскорбінова кислота є одним із найсильніших природних антиоксидантів, тому що вона є сильним відновником і легко окислюється навіть слабкими окисниками.

З метою вибору адекватної методики оцінки ЗАА та визначення внеску в ЗАА активність саме вітаміну С для харчової сировини рослинного походження нами було проведено кулонометричне титрування настоїв чорної смородини електрогенованим бромом та йодом.

Йод є більш слабким окислювачем, ніж бром. У зв'язку з цим кількість сполук, здатних реагувати з електрогенованим йодом значно менша. Так наприклад, каротин, флаваноїди, вітаміни В1, В2, дубильні речовини, органічні кислоти (крім аскорбінової) не вступають у реак-

цію з йодом і не роблять внесок у сумарну антиоксидантну здатність за йодом.

Для приготування екстрактів було відібрано наважку свіжозамороженої чорної смородини, масою 5 г. Наважку розтирали у ступці та готували настої на 200 см³ дистильованої води кімнатної температури.

Екстракцію проводили 15 хв; 1, 2 та 4 доби. Після закінчення часу екстракції проводили фільтрування та відбирали пробу об'ємом 5 см³. ЗАА екстрактів чорної смородини визначали за стандартною методикою.

Дані залежності загальної антиоксидантної активності від часу екстракції наведено у таблиці 3.

Таблиця 3 – Залежність ЗАА за бромом та йодом від часу екстракції

Час настоювання	ЗАА, Кл/100 г, Br ⁻ /Br ₂	ЗАА, Кл/100 г, I/I ₂
15 хвилин	288	192
1 доба	576	96
2 доби	1440	96
4 доби	3120	24

Як видно з таблиці 3 антиоксидантна здатність за йодом значно нижча від аналогічної величини за бромом та зменшується від часу настоювання, що можна пояснити окисненням аскорбінової кислоти.

Антиоксидантна активність за бромом збільшується з часом настоювання. Ймовірною причиною цього є мікробіологічні процеси, що перебігають у настоях, але в будь якому випадку це не означає збільшення кількості речовин з антиоксидантною дією. У зв'язку з цим ми вважаємо, що для об'єктів, антиоксидантна активність яких зумовлена, в основному, високим вмістом вітаміну С, більш доцільно використовувати йодну антиоксидантну активність, за винятком випадків, коли антиоксидантна активність вимірюється відразу після приготування.

Висновки:

1. Адаптовано метод кулонометричного титрування для визначення ЗАА харчових продуктів.

2. Методики визначення ЗАА різних продуктів мають відмінності у пробопідготовці, під час якої треба враховувати форму існування, кількість та окисно-відновний потенціал антиоксидантного комплексу.

3. Для рослинної сировини, ЗАА якої зумовлена, головним чином, наявністю вітаміну С, є доцільним визначення ЗАА за йодом. Для визначення частки аскорбінової кислоти у значеннях ЗАА цих продук-

тів є доцільним визначення ЗАА за бромом та подальше порівняння значень бромної та йодної ЗАА.

4. Аналіз кривих кулонометричного титрування може бути використаний не лише для розрахунку ЗАА, але й для визначення натуральності харчового продукту, та введено як показник якості за умов адаптації методу для кожної групи товарів.

Список літератури

1. Хасанов, В. В. Методы исследования антиоксидантов [Текст] / В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – № 3. – С. 63–95.

2. Федина, П. А. Определение антиоксидантов в продуктах растительного происхождения амперометрическим методом [Текст] / П. А. Федина, Н. И. Яшин, Н. И. Черноусова // Химия растительного сырья. – 2010. – № 2. – С. 91–97.

3. Брайнина, Х. З. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов методом потенциометрии [Текст] / Х. З. Брайнина, А. В. Иванова, Е. Н. Шарафутдинова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2004. – № 4. – С. 73–75.

4. Короткова, Е. И. Новый способ определения активности антиоксидантов [Текст] / Е. И. Короткова // Журнал физической химии. – 2000. – Т. 74, № 9. – С. 1544–1546.

5. Электрогенерированный бром – реагент для определения антиоксидантной способности соков и экстрактов [Текст] / И. Ф. Абдуллин [та ін.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2002. – Т. 68, № 9. – С. 12–15.

6. Будников, Г. К. Антиоксиданты как объекты биоаналитической химии [Текст] / Г. К. Будников, Г. К. Зиятдинова // Журнал аналитической химии. – 2005. – Т. 60, № 7. – С. 678–691.

7. Мамай, О. І. Хімічний і технологічний контроль виноробства [Текст] : навч. посібник / О. І. Мамай, Г. Ф. Сльозко, О. В. Стоянова. – К. : ІНКОС, 2004. – 224 с.

8. Belitz, H.-D. Food Chemistry [Text] / H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle. – Springer, 2009. – 1070 p.

Отримано 30.03.2011. ХДУХТ, Харків.

© В.В. Євлаш, Н.О. Отрошко, О.Ф. Аксьонова, В.Г. Михайленко, 2011.