

УДК 543.062

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МАТРИЦЫ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЕМКОСТИ

© 2024 г. Е. Л. Герасимова^а, Е. Р. Салимгареева^а, Е. А. Елгышева^а, А. В. Иванова^{а, *}, А. И. Матерн^а

^а Химико-технологический институт Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
ул. Мира, 19, Екатеринбург, 620002 Россия

* e-mail: a.v.ivanova@urfu.ru

Поступила в редакцию 25.05.2023 г.

После доработки 16.06.2023 г.

Принята к публикации 21.06.2023 г.

Оценено влияние матричного эффекта и исследуемых антиоксидантов на результаты определения антиоксидантной емкости потенциометрическим способом. Предложен прием, позволяющий на примере окислительно-восстановительной (ОВ) системы гексацианоферратов учесть влияние указанных параметров на установление равновесного потенциала системы и свести к минимуму искажение результатов. Прием заключается во введении серии добавок окисленного компонента ОВ-системы после его взаимодействия с исследуемым образцом. Такой подход позволяет построить градуировочный график на фоне матрицы исследуемого объекта после завершения реакции антиоксиданта с окислителем и определить значение предлогарифмического коэффициента в условиях проведения эксперимента. Прием апробирован при определении индивидуальных антиоксидантов и анализе объектов сложного состава (экстрактов растительного сырья) как способом с участием ОВ-системы, так и с участием окисленного компонента ОВ-системы.

Ключевые слова: антиоксидантная емкость, потенциометрия, матричный эффект, экстракт лекарственного растительного сырья.

DOI: 10.31857/S0044450224010036, **EDN:** lfaanr

Соединения с антиоксидантными свойствами являются биологически активными соединениями, защищающими клетки организма от повреждения активными формами кислорода [1, 2]. Определение антиоксидантов (АО) как в экзогенных источниках, так и в биологических жидкостях и тканях представляет интерес для фармации, медицины, пищевой промышленности и многих других областей.

Существует большое количество подходов к определению антиоксидантов [3–10], что объясняется разнообразием механизмов их действия в организме, различными моделями окислителей, с использованием которых исследуются антиоксидантные свойства.

Выбор метода регистрации аналитического сигнала, как правило, зависит от свойств модельного окислителя, концентрация которого меняется в процессе окислительно-восстановительной

реакции, обеспечивающей возникновение аналитического сигнала.

Наиболее широко распространены спектрофотометрические и хемилюминесцентные методы, благодаря применению которых изучена способность инактивировать пероксильные радикалы, восстанавливать ионы меди и железа, способность к гашению радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила, выполнено определение общего содержания полифенольных соединений по методу Фолина–Чокалтеу и др. [3, 4, 6–9]. Однако для этих методов имеется ряд концентрационных ограничений, а также сложности при анализе мутных и окрашенных образцов.

Электрохимические методы [5, 10–16], в частности потенциометрический [11–16], не имеют указанных ограничений, достаточно просты и экспрессны. Кроме того, использование электрохимических подходов отвечает природе

электронно-протонного переноса, на котором основан механизм антиоксидантного действия [1, 2].

Ранее нами предложены подходы к исследованию антиоксидантов, основанные на использовании модели потенциалобразующей обратимой ОВ-системы и регистрации изменений потенциала в результате взаимодействия антиоксиданта с окисленным компонентом системы в качестве аналитического сигнала [11–16].

Подходы, основанные на применении потенциометрического метода, зарекомендовали себя как информативные, экспрессные и доступные. С их использованием проанализировано большое количество пищевых, фармацевтических и биологических объектов, показана достоверность получаемых результатов, выполнено сравнение с рядом независимых методов. Кроме того, простые и доступные потенциометрические методики перспективны при создании персонализированных миниатюрных устройств [15].

Несмотря на то, что применение ОВ-систем обосновано с термодинамической и кинетической точек зрения как при определении индивидуальных антиоксидантов, так и при анализе объектов сложного состава (экстрактов растительного сырья, пищевых продуктов, биологических объектов и т.п.), матрица объекта и сами вещества с антиоксидантными свойствами могут оказывать влияние на величину аналитического сигнала. Эффект матрицы и АО может проявляться из-за влияния компонентов пробы, в основном органического происхождения, на установление равновесного потенциала в результате специфической адсорбции на поверхности электрода.

Поскольку поверхность платинового электрода в водных растворах имеет положительный заряд (~ 0.2 – 0.3 В по водородной шкале в различных электролитах [17]), а компоненты растительной матрицы, особенно полифенольной и тиольной природы, могут быть частично диссоциированы и находиться в анионной форме, процессы адсорбции в данном случае имеют высокую вероятность. Кроме того, следует учитывать, что основной антиоксидантный состав объектов растительного происхождения представляют соединения полифенольной природы, поэтому возможно протекание конкурирующих реакций комплексообразования полифенолов с железом при использовании комплексов железа в качестве окислителя [18], также приводящее к сдвигу потенциала.

На этот сдвиг может влиять и собственный потенциал антиоксидантов, в большинстве случаев проявляющих восстановительные свойства и обладающих достаточно низкими значениями ОВ-потенциалов, что может приводить к смещению в отрицательную область и завышению значений антиоксидантной емкости (АОЕ). Однако при наличии определяющей потенциал системы, вероятнее всего, влияние потенциала антиоксидантов сводится к минимуму.

В практике аналитической химии для устранения влияния матричного эффекта используют различные подходы [19–22]. Возможно создание внутренних стандартов (калибровок) на каждый тип матрицы [20], что является очень трудоемким процессом и не позволяет учесть специфику каждого исследуемого объекта.

Устранить матричный эффект можно путем использования вариантов пробоподготовки, в том числе обработки различными растворителями и воздействием температуры [21]. Описано также проведение анализа в среде растворителей, подавляющих ионизацию молекул.

В рассматриваемом случае такие подходы не применимы, так как антиоксиданты в основном легко окисляются, в том числе кислородом воздуха, и скорость этого процесса увеличивается с повышением температуры [22]. Кроме того, антиоксиданты целесообразно изучать в условиях, близких к физиологическим, что ограничивает круг используемых растворителей и возможность подавления их диссоциации.

Целью данной работы является разработка аналитических приемов, позволяющих учесть влияние матричного эффекта и исследуемых АО на установление равновесного потенциала сопряженной ОВ-системы и, соответственно, свести к минимуму связанные с этими факторами искажения результатов потенциометрического определения АОЕ.

В качестве сопряженной ОВ-системы использовали систему $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$; объектами исследования служили индивидуальные антиоксиданты и объекты сложного состава – экстракты растительного сырья.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы. Использовали $K_4[Fe(CN)_6]$, $K_3[Fe(CN)_6]$, KH_2PO_4 , $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ х.ч. (“Реахим”, Россия); антиоксиданты: пирокатехин, пирогаллол, галловая кислота, кверцетин,

цистеин, глутатион (Sigma-Aldrich, США). Растворы антиоксидантов, за исключением кварцетина, растворяли в дистиллированной воде; кварцетин – в этиловом спирте. Антиоксидантную емкость определяли в фосфатном буферном растворе с pH 7.4.

Объектом анализа служили водные настои лекарственного растительного сырья (трава зверобоя, душицы, цветки ноготков, листья мяты перечной, измельченная трава эхинацеи) торговой марки “ФармаЦвет”. Два фильтр-пакета, каждый из которых содержал 1.5 г растительного сырья, согласно указаниям на упаковке, помещали в стеклянную посуду, заливали необходимым объемом кипятка, закрывали и настаивали в течение 15–20 мин., периодически перемешивая.

Приборы и оборудование. Для потенциометрических измерений использовали рН-метр “Эксперт-рН” (“Эконикс-Эксперт”, Россия). Измерения проводили с помощью редокс-платинового электрода ЭПВ-1 и хлоридсеребряного электрода ЭВЛ-1 (Ag/AgCl/3 М КСl) (Гомельский ЗИП, Беларусь).

Методика эксперимента. Построение градуировочной зависимости в системе $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ потенциала от логарифма соотношений концентраций гексацианоферратов проводили путем четырех последовательных добавлений 0.1 мМ раствора гексацианоферрата (II) калия к системе, содержащей 0.01 М $K_3[Fe(CN)_6]$ и 0.1 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$. Предлогарифмический коэффициент z^* определяли по наклону зависимости потенциала от соотношения концентраций $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$. Наклон градуировочной зависимости в системе гексацианоферратов по результатам 10 измерений составляет 60 ± 1 мВ/декада ($s_r = 0.01$).

Потенциометрический способ определения антиоксидантной емкости с использованием системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ заключается в регистрации изменения потенциала, измеренного до E_1 и после E_2 введения определяемого соединения в раствор, содержащий систему гексацианоферратов калия [11, 13–15]. Сдвиг потенциала является следствием химического взаимодействия антиоксидантов с окислителем $K_3[Fe(CN)_6]$ по реакции (1), т.е. изменения соотношения концентраций окисленной и восстановленной форм компонентов системы:



где AO – антиоксидант; AO_{Ox} – продукт окисления антиоксиданта, f – стехиометрический коэффициент перед антиоксидантом в реакции с $K_3[Fe(CN)_6]$. Типичный график зависимости потенциала от времени для предложенного метода приведен на рис. 1.

Антиоксидантная емкость эквивалентна эффективной концентрации $K_3[Fe(CN)_6]$, вступившего во взаимодействие с антиоксидантом, выражается в универсальных единицах М-экв (моль-экв/л) и рассчитывается по формулам (1), (2):

$$AOE = \frac{c_{Ox} - \alpha c_{Red}}{1 + \alpha} q, \quad (1)$$

$$\alpha = (c_{Ox} / c_{Red}) 10^{(E_2 - E_1)F/2.3RT}, \quad (2)$$

где c_{Ox} – концентрация $K_3[Fe(CN)_6]$, М; c_{Red} – концентрация $K_4[Fe(CN)_6]$, М; E_1 – потенциал, измеренный до введения исследуемого образца, В; E_2 – потенциал, измеренный после добавления исследуемого образца, В; q – коэффициент разбавления образца; R – универсальная газовая постоянная, $R = 8.31$ Дж/К·моль; T – температура, К.

Потенциометрический способ определения антиоксидантной емкости с использованием $K_3[Fe(CN)_6]$. Источником информации об АОЕ в данном подходе служит изменение потенциала, который измеряют 1) после введения антиоксиданта в исходный раствор окислителя $K_3[Fe(CN)_6]$ (E_1) и 2) после добавки $K_3[Fe(CN)_6]$ в тот же раствор (E_2) [12, 16]. За счет избытка окислителя в системе после прохождения реакции (1) с антиоксидантами устанавливается

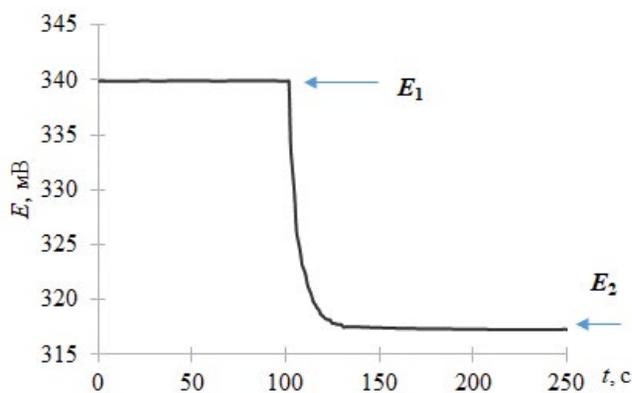


Рис. 1. Зависимость потенциала от времени при введении 0.1 мМ раствора цистеина в раствор системы 0.01 М $K_3[Fe(CN)_6]$ / 0.1 мМ $K_4[Fe(CN)_6]$.

равновесие между окисленной формой и образовавшейся восстановленной формой системы. Потенциал системы после введения образца в раствор $K_3[Fe(CN)_6]$ можно выразить уравнением (3):

$$E_1 = E^0 + b \lg \frac{c_{Ox} - X}{X}, \quad (3)$$

где E_1 – потенциал, измеренный после введения исследуемого образца в раствор окислителя, В; X – концентрация антиоксидантов в исследуемом образце, М.

После введения добавки $K_3[Fe(CN)_6]$ потенциал выражается уравнением (4):

$$E_2 = E^0 + b \lg \frac{c_{Ox} - X + c'_{Ox}}{X}, \quad (4)$$

где c'_{Ox} – концентрация $K_3[Fe(CN)_6]$ в добавке, М.

Типичный вид зависимости потенциала от времени при использовании предложенного подхода приведен на рис. 2.

Антиоксидантную емкость рассчитывают по формулам (5), (6):

$$AOE = \frac{c_{Ox}(1-\alpha) - \alpha c'_{Ox}}{(1-\alpha)}, \quad (5)$$

$$\alpha = 10^{(E_1 - E_2)nF/RT \cdot 2.3} \quad (6)$$

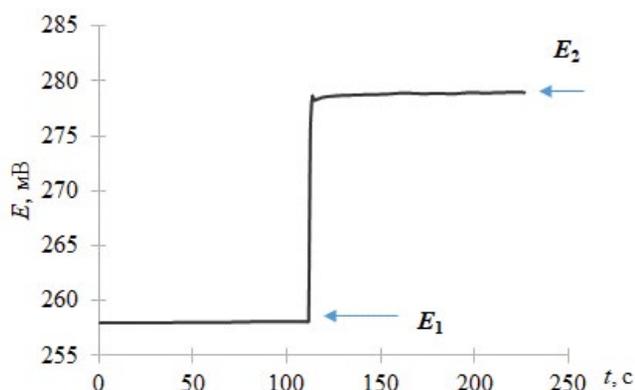


Рис. 2. Зависимость потенциала от времени при добавлении 0.1 М раствора аскорбиновой кислоты к 0.6 мМ раствору $K_3[Fe(CN)_6]$ и последующей добавке 0.6 мМ $K_3[Fe(CN)_6]$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве аналитического приема, позволяющего уменьшить влияние матричного эффекта и самих АО, предложено вводить добавки окисленного компонента ОВ-системы после его взаимодействия с исследуемым образцом. Такой подход позволит построить градуировочный график на фоне матрицы исследуемого объекта после прохождения реакции антиоксиданта с окислителем, определить значение предлогарифмического коэффициента в условиях эксперимента и таким образом нивелировать возможное влияние матрицы исследуемого объекта и самих АО на сдвиг равновесного потенциала и результаты определения АОЕ.

Для реализации предложенного подхода после взаимодействия исследуемого образца с системой гексацианоферратов вводили серию последовательных добавок $K_3[Fe(CN)_6]$ и фиксировали значения потенциалов $E_3 - E_5$. На рис. 3 представлена зависимость потенциала от времени. Построенная на фоне исследуемого образца градуировочная зависимость потенциала от логарифма соотношения концентраций $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ имеет линейный вид

$$E = 60.8 \{c(K_3[Fe(CN)_6])/C(K_4[Fe(CN)_6])\} + 204.5, R^2 = 0.99,$$

соответственно, значение предлогарифмического коэффициента (z^{**}) составляет 60.8 мВ/декада.

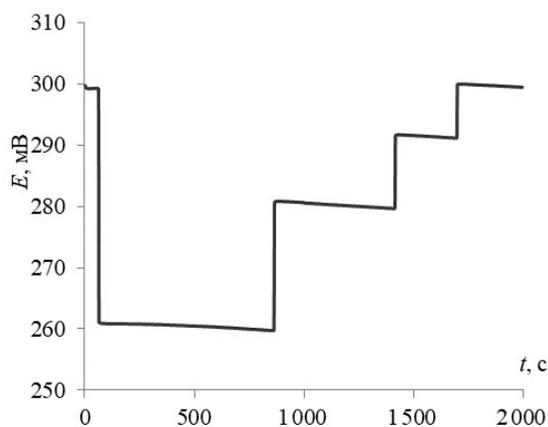


Рис. 3. Зависимость потенциала от времени (а) и от логарифма соотношения концентраций $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ (б) при добавлении к системе 0.01 М $K_3[Fe(CN)_6]$ / 0.0001 М $K_4[Fe(CN)_6]$ 0.1 мМ раствора аскорбиновой кислоты и последующих добавках $K_3[Fe(CN)_6]$ ($c_{доб1} = c_{доб2} = c_{доб3} = 0.01$ М).

Значение AOE^* рассчитывали по формуле (1) с учетом предлогарифмического коэффициента z^* , определенного в независимом эксперименте по построению градуировочной зависимости (60 ± 1 мВ/декада, см. ранее). Значение AOE^{**} определяли с учетом угла наклона градуировочной зависимости z^{**} (см. рис. 3), полученной на фоне реакции АО с $K_3[Fe(CN)_6]$. В табл. 1 и 2 приведены результаты определения антиоксидантной емкости индивидуальных антиоксидантов и экстрактов из лекарственного растительного сырья.

Следует отметить, что для аскорбиновой кислоты изменение угла наклона градуировочной зависимости на фоне протекающей реакции незначительно, стехиометрический коэффициент перед аскорбиновой кислотой в реакции (1), как и ожидалось, близок к двум [1, 8]. Однако для тиольных производных, которые обладают выраженными нуклеофильными свойствами [23] и способны сорбироваться на поверхности различных электродов [24], наблюдаются значительные отклонения от теоретически ожидаемых значений стехиометрических коэффициентов. Причем при определении значения AOE с учетом изменения угла наклона градуировочной зависимости стехиометрические коэффициенты в реакции АО с $K_3[Fe(CN)_6]$ близки к единице, что характерно для окисления тиолов с образованием дисульфидных соединений [1].

Для полифенольных соединений также наблюдаются значительные отклонения угла наклона

градуировочной зависимости в чистых растворах ОВ-системы и на фоне реакции с антиоксидантом. Как отмечено ранее [19], это связано с протеканием конкурирующих реакций комплексообразования, чем обусловлены завышенные значения стехиометрических коэффициентов, которые для полифенольных соединений, по различным данным [1, 4, 25], изменяются от 2 до 4.

При исследовании антиоксидантных свойств объектов полифенольной природы эти особенности характерны для всех подходов с использованием комплексов железа, как электрохимических, так и спектрофотометрических, выделяемых в группу FRAP [3, 4], хотя достаточно редко упоминаются авторами. Смещение потенциала в сторону отрицательных значений связано, очевидно, с тем, что образующиеся комплексы полифенолов с ионами железа (III) более устойчивы, чем комплексы с железом (II) [18].

Для случаев, когда отсутствует возможность использования обоих компонентов ОВ-системы, например в случае радикала 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила и комплексов железа, растворимых в органических растворителях [12, 16], нами ранее предложен подход с использованием в качестве модели окислителя окисленного компонента ОВ-системы. В данном исследовании определяющая потенциал система образуется *in situ* в процессе анализа после взаимодействия АО с модельным окислителем, а аналитическим сигналом служит изменение

Таблица 1. Значения антиоксидантной емкости индивидуальных антиоксидантов, полученные с использованием системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ с учетом и без учета влияния матричного эффекта ($c(AO) = 0.1$ мМ, $n = 5$, $P = 0.95$)

Антиоксидант	С построением градуировочной зависимости		Без построения градуировочной зависимости, $AOE^* \times 10^4$, М-экв
	$AOE^{**} \times 10^4$, М-экв	z^{**} , мВ/декада	
Аскорбиновая кислота	1.99 ± 0.02 ($s_r = 0.01$)	61 ± 1 ($s_r = 0.01$)	2.02 ± 0.02 ($s_r = 0.01$)
Цистеин	1.02 ± 0.10 ($s_r = 0.03$)	64 ± 2 ($s_r = 0.01$)	1.19 ± 0.10 ($s_r = 0.03$)
Глутатион	1.00 ± 0.09 ($s_r = 0.03$)	62 ± 2 ($s_r = 0.02$)	1.24 ± 0.09 ($s_r = 0.03$)
Пирокатехин	4.82 ± 0.35 ($s_r = 0.02$)	65 ± 1 ($s_r = 0.003$)	5.56 ± 0.26 ($s_r = 0.03$)
Пирогаллол	4.25 ± 0.17 ($s_r = 0.01$)	66 ± 1 ($s_r = 0.02$)	5.18 ± 0.09 ($s_r = 0.01$)
Кверцетин	3.56 ± 0.19 ($s_r = 0.02$)	65 ± 1 ($s_r = 0.01$)	4.40 ± 0.15 ($s_r = 0.02$)
Галловая кислота	4.28 ± 0.18 ($s_r = 0.02$)	64 ± 2 ($s_r = 0.03$)	5.31 ± 0.26 ($s_r = 0.03$)

Таблица 2. Результаты определения антиоксидантной емкости экстрактов из растительного сырья с использованием системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ ($c(AO) = 0.1$ мМ, $n = 5$, $P = 0.95$)

Объект анализа	С построением градуировочной зависимости		Без построения градуировочной зависимости, $AOE^* \times 10^3$, моль-экв/100 г
	$AOE^{**} \times 10^3$, моль-экв/100 г	z^{**} , мВ/декада	
Календула лекарственная (<i>Calendula officinalis</i> L.)	0.33 ± 0.02 ($s_r = 0.05$)	62 ± 2 ($s_r = 0.01$)	0.41 ± 0.02 ($s_r = 0.01$)
Душица обыкновенная (<i>Origanum vulgare</i>)	1.82 ± 0.15 ($s_r = 0.08$)	64 ± 3 ($s_r = 0.02$)	2.16 ± 0.12 ($s_r = 0.05$)
Эхинацея пурпурная (<i>Echinacea purpurea</i>)	1.14 ± 0.06 ($s_r = 0.04$)	65 ± 2 ($s_r = 0.02$)	1.38 ± 0.10 ($s_r = 0.08$)
Зверобой стелющийся (<i>Hypericum humifusum</i>)	0.48 ± 0.04 ($s_r = 0.05$)	63 ± 1 ($s_r = 0.01$)	0.65 ± 0.02 ($s_r = 0.02$)
Мята перечная (<i>Mentha piperita</i>)	1.29 ± 0.04 ($s_r = 0.01$)	62 ± 2 ($s_r = 0.02$)	1.54 ± 0.05 ($s_r = 0.01$)

потенциала, регистрируемое после реакции АО с окислителем и последующей добавки модельного окислителя.

Очевидно, поскольку в данном случае добавка окислителя вводится на фоне произошедшей реакции с антиоксидантом, влияние матрицы будет нивелировано. Для подтверждения данной гипотезы сравнили результаты определения АОЕ с использованием реакции АО с окисленной формой $K_3[Fe(CN)_6]$ и последующей добавки $K_3[Fe(CN)_6]$ (AOE^{***}) [12, 16] с результатами, полученными при введении серии последовательных добавок окисленного компонента и определении угла наклона градуировочной зависимости (z^{****} , AOE^{****}). На рис. 4 представлена зависимость потенциала от времени при введении цистеина в раствор $K_3[Fe(CN)_6]$ и серии добавок $K_3[Fe(CN)_6]$.

При определении антиоксидантной емкости с использованием реакции АО с $K_3[Fe(CN)_6]$ и серии последовательных добавок $K_3[Fe(CN)_6]$ ($E_2 - E_4$) AOE^{****} и предлогарифмический коэффициент z^{****} рассчитывали путем решения системы уравнений (3), (4), (7), (8):

$$E_3 = E^0 + b \lg \frac{c_{Ox} - X + c'_{Ox} + c''_{Ox}}{X}, \quad (7)$$

где E_3 – потенциал, измеренный после введения второй добавки окислителя, В; c''_{Ox} – концентрация $K_3[Fe(CN)_6]$ во второй добавке, М;

$$E_4 = E^0 + b \lg \frac{c_{Ox} - X + c'_{Ox} + c''_{Ox} + c'''_{Ox}}{X}, \quad (8)$$

где E_4 – потенциал, измеренный после введения третьей добавки окислителя, В; c'''_{Ox} – концентрация $K_3[Fe(CN)_6]$ в третьей добавке, М.

В табл. 3 и 4 приведены результаты определения антиоксидантной емкости индивидуальных антиоксидантов и экстрактов из лекарственного растительного сырья с учетом предлогарифмического коэффициента z^{***} , определенного в независимом эксперименте AOE^{***} с учетом угла наклона градуировочной зависимости z^{****} , полученного решением системы уравнений (3), (4), (7), (8) (AOE^{****}).

На рис. 5 представлены результаты определения АОЕ индивидуальных модельных антиоксидантов, полученных без учета (а) и с учетом (б) изменения наклона градуировочного графика при использовании системы гексацианоферратов и окисленной формы системы $K_3[Fe(CN)_6]$.

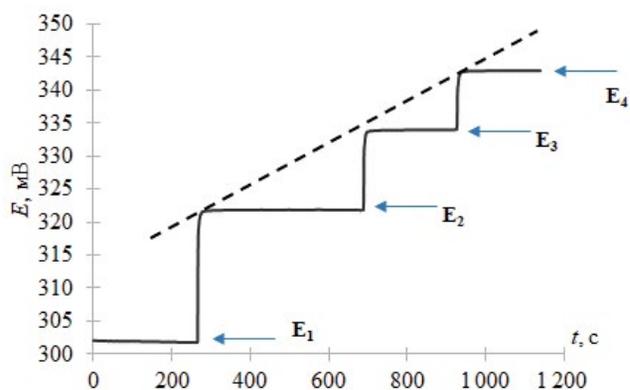
**Рис. 4.** Зависимость потенциала от времени при введении цистеина ($c = 0.1$ мМ) в раствор $K_3[Fe(CN)_6]$ (0.3 мМ) (E_1) и серии последовательных добавок $K_3[Fe(CN)_6]$ (0.3 мМ) ($E_2 - E_4$).

Таблица 3. Значения антиоксидантной емкости индивидуальных антиоксидантов, полученные с использованием окисленной формы системы $K_3[Fe(CN)_6]$ ($c(AO) = 0.1$ мМ, $n = 5$, $P = 0.95$)

Антиоксидант	С построением градуировочной зависимости		Без построения градуировочной зависимости
	АОЕ ^{****} × 10 ⁴ , М-экв	z^{****} , мВ/декада	АОЕ ^{***} × 10 ⁴ , М-экв
Аскорбиновая кислота	1.97 ± 0.07 ($s_r = 0.03$)	60 ± 1 ($s_r = 0.02$)	2.01 ± 0.09 ($s_r = 0.04$)
Цистеин	1.04 ± 0.32 ($s_r = 0.03$)	59 ± 2 ($s_r = 0.01$)	1.4 ± 0.25 ($s_r = 0.02$)
Глутатион	1.02 ± 0.09 ($s_r = 0.10$)	60 ± 2 ($s_r = 0.03$)	1.04 ± 0.34 ($s_r = 0.11$)
Пирокатехин	4.78 ± 0.69 ($s_r = 0.02$)	61 ± 1 ($s_r = 0.01$)	4.86 ± 0.59 ($s_r = 0.01$)
Пирогаллол	4.19 ± 0.23 ($s_r = 0.02$)	59 ± 2 ($s_r = 0.03$)	4.23 ± 0.28 ($s_r = 0.02$)
Кверцетин	3.48 ± 0.57 ($s_r = 0.07$)	60 ± 1 ($s_r = 0.01$)	3.65 ± 0.59 ($s_r = 0.07$)
Галловая кислота	4.26 ± 0.90 ($s_r = 0.05$)	60 ± 1 ($s_r = 0.01$)	4.36 ± 0.76 ($s_r = 0.04$)

Таблица 4. Результаты определения антиоксидантной емкости экстрактов из растительного сырья с использованием окисленной формы системы $K_3[Fe(CN)_6]$ ($c(AO) = 0.1$ мМ, $n = 5$, $P = 0.95$)

Объект анализа	С построением градуировочной зависимости		Без построения градуировочной зависимости, АОЕ ^{***} × 10 ³ , моль-экв/100 г
	АОЕ ^{****} × 10 ³ , моль-экв/100 г	z^{****} , мВ/декада	
Календула лекарственная (<i>Calendula officinalis</i> L.)	0.31 ± 0.02 ($s_r = 0.06$)	60 ± 1 ($s_r = 0.01$)	0.34 ± 0.02 ($s_r = 0.06$)
Душица обыкновенная (<i>Origanum vulgare</i>)	1.79 ± 0.12 ($s_r = 0.03$)	59 ± 1 ($s_r = 0.01$)	1.84 ± 0.11 ($s_r = 0.03$)
Эхинацея пурпурная (<i>Echinacea purpurea</i>)	1.11 ± 0.05 ($s_r = 0.04$)	59 ± 2 ($s_r = 0.02$)	1.16 ± 0.07 ($s_r = 0.04$)
Зверобой стелющийся (<i>Hypericum humifusum</i>)	0.48 ± 0.05 ($s_r = 0.10$)	60 ± 2 ($s_r = 0.02$)	0.51 ± 0.04 ($s_r = 0.10$)
Мята перечная (<i>Mentha piperita</i>)	1.28 ± 0.15 ($s_r = 0.08$)	60 ± 2 ($s_r = 0.01$)	1.32 ± 0.17 ($s_r = 0.08$)

На рис. 6 представлены аналогичные результаты для экстрактов из растительного сырья.

Таким образом, результаты определения АОЕ*, полученные с использованием системы гексацианоферратов, выше значений АОЕ**, полученных с учетом изменения угла наклона градуировочного графика, и выше значений АОЕ***, полученных с использованием одной окисленной формы системы $K_3[Fe(CN)_6]$ с последующей добавкой $K_3[Fe(CN)_6]$, как для большинства индивидуальных антиоксидантов (за исключением аскорбиновой кислоты), так и для экстрактов сложного состава.

Результаты, полученные с использованием системы гексацианоферратов и учетом изменения угла градуировочной зависимости потенциала

АОЕ** от соотношения концентраций гексацианоферратов калия, статистически не отличаются от результатов, полученных с использованием одной формы системы с последующей добавкой АОЕ***. Это может свидетельствовать о том, что подход с использованием окисленной формы системы с последующей добавкой $K_3[Fe(CN)_6]$ позволяет нивелировать матричный эффект, так как добавка $K_3[Fe(CN)_6]$ вносится на фоне произошедшей реакции с антиоксидантом.

Подтверждает эту гипотезу и то, что результаты, полученные с использованием окисленной формы системы без построения градуировочного графика, и способом с использованием серии добавок статистически не различаются.

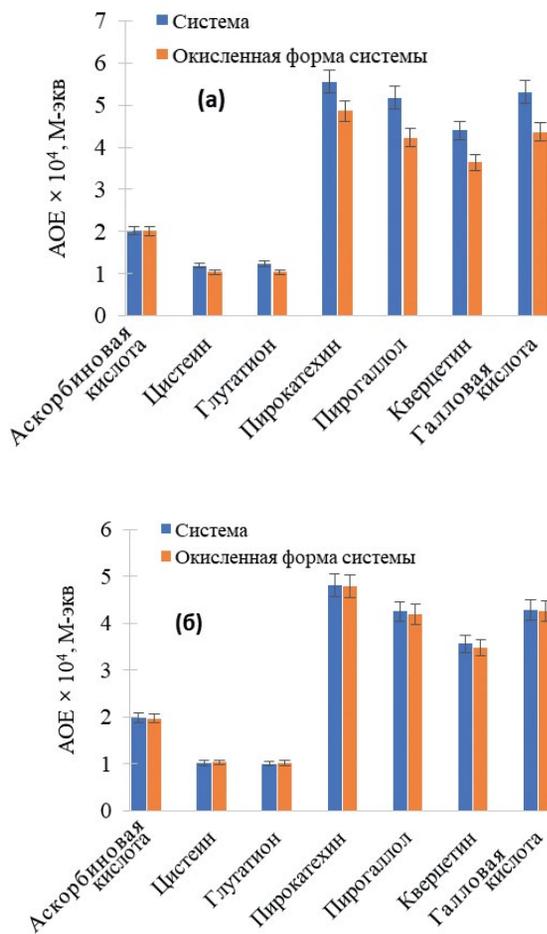


Рис. 5. Антиоксидантная емкость индивидуальных антиоксидантов без учета (а) и с учетом изменения наклона градуировочного графика (б).

Исследовали также влияние концентрации АО на степень отклонения угла наклона электродной функции с использованием системы гексацианоферратов (табл. 5).

Как видно, для цистеина (представителя тиольных антиоксидантов) и пирокатехина (представителя полифенольных антиоксидантов) характерно увеличение отклонения угла наклона электродной функции от угла наклона, определенного в независимом эксперименте (60 ± 1 мВ/декада) при увеличении их концентрации. Данная закономерность подтверждает предположение о влиянии специфической адсорбции и, возможно, в некоторой степени собственного потенциала АО на результаты определения.

* * *

Таким образом, матричный эффект и свойства самих антиоксидантов могут существенно влиять на результаты потенциометрического

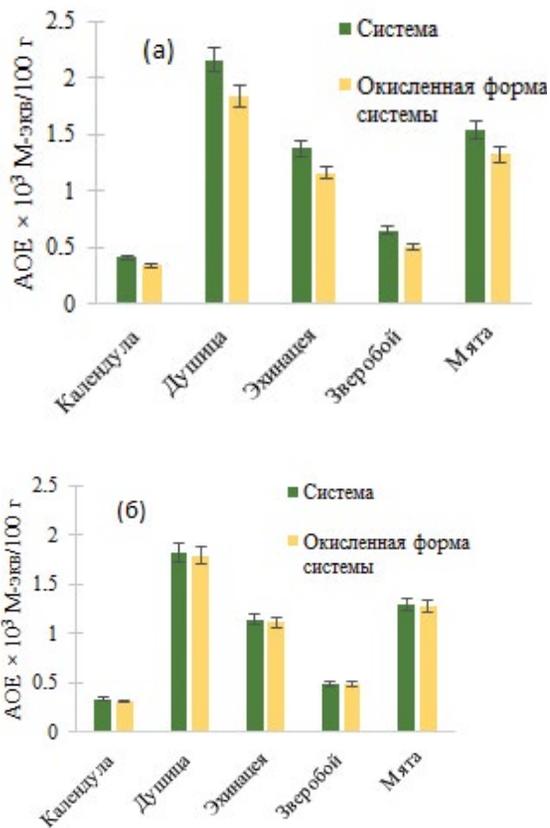


Рис. 6. Антиоксидантная емкость экстрактов растительного сырья без учета (а) и с учетом изменения наклона градуировочного графика (б).

определения антиоксидантной емкости. Особенно это следует учитывать при исследовании объектов растительного происхождения, которые содержат большое количество полифенолов, и биообъектов, содержащих тиольные соединения.

Это, в свою очередь, может служить рекомендацией для учета изменения угла наклона градуировочного графика при определении АО с использованием ОВ-систем или применения подхода с использованием реакции АО с окисленной формой системы и последующей добавкой окисленной формы системы на фоне произошедшей реакции.

Применение описанных приемов, особенно для анализа объектов сложного состава, позволит повысить точность методики потенциометрического определения АОЕ. Подходы, описанные в данном исследовании, могут быть использованы и для других ОВ-систем.

Таблица 5. Значения антиоксидантной емкости индивидуальных антиоксидантов, полученные потенциометрическим способом с использованием системы $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ в зависимости от концентрации антиоксиданта ($n = 5$, $P = 0.95$)

Антиоксидант	$c(АО) \times \Gamma$	С построением градуировочной зависимости		Без построения градуировочной зависимости	Δz , мВ/декада
		АОЕ** $\times 10^4$, М-экв	z^{**} , мВ/декада	АОЕ* $\times 10^4$, М-экв	
Аскорбиновая кислота	0.5	0.96 \pm 0.04 ($s_r = 0.04$)	61 \pm 1 ($s_r = 0.04$)	0.98 \pm 0.06 ($s_r = 0.05$)	1
	1	1.99 \pm 0.02 ($s_r = 0.01$)	61 \pm 1 ($s_r = 0.01$)	2.02 \pm 0.02 ($s_r = 0.01$)	1
	2	3.94 \pm 0.15 ($s_r = 0.03$)	60 \pm 2 ($s_r = 0.02$)	3.95 \pm 0.18 ($s_r = 0.03$)	0
	3	5.95 \pm 0.26 ($s_r = 0.04$)	60 \pm 2 ($s_r = 0.01$)	5.92 \pm 0.20 ($s_r = 0.04$)	0
	5	9.95 \pm 0.51 ($s_r = 0.03$)	60 \pm 1 ($s_r = 0.01$)	9.97 \pm 0.45 ($s_r = 0.02$)	0
Цистеин	0.5	0.44 \pm 0.03 ($s_r = 0.02$)	61 \pm 1 ($s_r = 0.02$)	0.59 \pm 0.03 ($s_r = 0.02$)	1
	1	1.02 \pm 0.06 ($s_r = 0.03$)	64 \pm 1 ($s_r = 0.01$)	1.19 \pm 0.07 ($s_r = 0.03$)	4
	2	1.95 \pm 0.10 ($s_r = 0.04$)	64 \pm 2 ($s_r = 0.03$)	2.19 \pm 0.14 ($s_r = 0.04$)	4
	3	2.97 \pm 0.05 ($s_r = 0.01$)	64 \pm 2 ($s_r = 0.02$)	3.28 \pm 0.07 ($s_r = 0.01$)	4
	5	5.05 \pm 0.30 ($s_r = 0.03$)	65 \pm 1 ($s_r = 0.02$)	5.31 \pm 0.31 ($s_r = 0.03$)	5
Пирокатехин	0.5	2.21 \pm 0.11 ($s_r = 0.05$)	62 \pm 1 ($s_r = 0.01$)	2.42 \pm 0.17 ($s_r = 0.05$)	2
	1	4.82 \pm 0.25 ($s_r = 0.02$)	65 \pm 1 ($s_r = 0.003$)	5.56 \pm 0.26 ($s_r = 0.03$)	5
	2	9.75 \pm 0.82 ($s_r = 0.07$)	65 \pm 2 ($s_r = 0.02$)	10.52 \pm 0.75 ($s_r = 0.06$)	5
	3	14.36 \pm 0.41 ($s_r = 0.01$)	66 \pm 2 ($s_r = 0.02$)	16.18 \pm 0.54 ($s_r = 0.01$)	6

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 20-13-00142, <https://rscf.ru/project/20-13-00142/>

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford, UK: Oxford University Press, 2015. P. 961.
- Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2017. С. 284.
- Apak R., Ozyurek M., Guklu K., Capanoglu E. Antioxidant activity/capacity measurement. I. Classification, physico-chemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays // J. Agric. Food Chem. 2016. V. 64. P. 997.
- Apak R., Ozyurek M., Guklu K., Capanoglu E. Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays // J. Agric. Food Chem. 2016. V. 64. P. 1028.
- Зиятдинова Г.К., Жупанова А.С., Будников Г.К. Электрохимические сенсоры для одновременного определения фенольных антиоксидантов // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. С. 129. (Ziyatdinova G.K., Zhupanova A.S., Budnikov H.C. Electrochemical sensors for the simultaneous detection of phenolic antioxidants // J. Anal. Chem. 2022. V. 77. P. 155.)
- Вершинин В.И., Власова И.В., Цюпко Т.Г., Николаева Н.А., Харьковская М.А. Методология

- спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Применение статических моделей // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 7. С. 708. (Vershinin V.I., Vlasova I.V., Tsytko T.G., Nikolaeva N.A., Khar'kova M.A. Methodology of the spectrophotometric analysis of organic mixtures: Application of statistical models // J. Anal. Chem. 2011. V. 66. P. 595.)
7. Hawash M., Jaradat N., Abualhasan M., Thaher M., Sawalhi R., Younes N., Shanaa A., Nuseirat M., Mousa A. In vitro and in vivo assessment of the antioxidant potential of isoxazole derivatives // Sci. Rep. 2022. V. 12. Article 18223.
 8. Apak R., Capanoglu E., Shahidi F. Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2018. P. 337.
 9. George J., Edwards D., Pun S., Williams D. Evaluation of antioxidant capacity (ABTS and CUPRAC) and total phenolic content (Folin-Ciocalteu) assays of selected fruit, vegetables, and spices // Int. J. Food Sci. 2022. V. 2022. Article 2581470.
 10. Voronova O.A., Korotkova E.I., Plotnikov E.V., Geraskevich A.V., Kataeva N.G., Dorozhko E.V., Gamayurova I.S., Lipskikh O.I., Derina K.V. Voltammetric study of the total activity of antioxidants in the blood serum of patients with neurological diseases // Chemosensors. 2021. V. 9. Article 103.
 11. Ivanova A.V., Gerasimova E.L., Brainina Kh.Z. Potentiometric study of antioxidant activity: Development and prospects // Crit. Rev. Anal. Chem. 2015. V. 45. P. 311.
 12. Иванова А.В., Герасимова Е.Л., Кравец И.А., Матерн А.И. Потенциометрическое определение водорастворимых антиоксидантов с использованием комплексов металлов // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70. № 2. С. 156. (Ivanova A.V., Gerasimova E.L., Kravets I.A., Matern A.I. Potentiometric determination of water-soluble antioxidants using metal complexes // J. Anal. Chem. 2015. V. 70. P. 173.)
 13. Ivanova A.V., Gerasimova E.L., Gazizullina E.R. An integrated approach to the investigation of antioxidant properties by potentiometry // Anal. Chim. Acta. 2020. V. 1111. P. 83.
 14. Иванова А.В., Герасимова Е.Л., Газизуллина Е.Р., Тимина Д.С., Герасимова Н.Л., Собина А.В., Шалыгина Ж.В., Крашенинина М.П. Определение антиоксидантной емкости объектов фармации потенциометрическим методом. Показатели точности измерений // Журн. аналит. химии. 2020. Т. 75. № 3. С. 259. (Ivanova A.V., Gerasimova E.L., Gazizullina E.R., Timina D.S., Gerasimova N.L., Sobina A.V., Shalygina Zh.V., Krasheninina M.P. Determination of the antioxidant capacity of pharmaceuticals by potentiometry: Indicators of measurement accuracy // J. Anal. Chem. 2020. V. 75. P. 378.)
 15. Salimgareeva E., Igdisanova D., Gordeeva D., Yarkova E., Matern A., Gerasimova E., Ivanova A. Portable potentiometric device for determining the antioxidant capacity // Chim. Techno Acta. 2023. V. 10. Article 202310104.
 16. Gerasimova E., Gazizullina E., Kolbaczskaya S., Ivanova A. The novel potentiometric approach to antioxidant capacity assay based on the reaction with stable radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl // Antioxidants. 2022. V. 11. Article 1974.
 17. Антропов Л.И. Теоретическая электрохимия. М.: Высшая школа, 1984. С. 519.
 18. Perron N.R., Brumaghim J.L. A Review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding // Cell Biochem. Biophys. 2009. V. 53. P. 75.
 19. Ярошенко Д.В., Карцова Л.А. Матричный эффект и способы его устранения в биоаналитических методиках, использующих хромато-масс-спектрометрию // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. С. 351. (Yaroshenko D.V., Kartsova L.A. Matrix effect and methods for its elimination in bioanalytical methods using chromatography-mass spectrometry // J. Anal. Chem. 2014. V. 69. P. 311.)
 20. Zhou W., Yang Sh., Wang P.G. Matrix effects and application of matrix effect factor // Bioanalysis. 2017. V. 9. P. 1839.
 21. Coelho A.V., de Matos Ferraz Franco C. Tandem Mass Spectrometry. Barcelona: InTechOpen, 2013. P. 650.
 22. Xu D.L., Xu M.M., Wang D.H. Effect of temperature on antioxidant defense and innate immunity in Brandt's voles // Zool Res. 2019. V. 40. P. 305.
 23. Klinger G.E., Zhou Y., Foote J.A., Wester A.M., Cui Y., Alherech M., Stahl Sh.S., Jackson J.E., Hegg E.L. Nucleophilic thiols reductively cleave ether linkages in lignin model polymers and lignin // ChemSusChem. 2020. V. 13. P. 4394.
 24. Roushani M., Jalilian Z., Nezhadali A. Screen printed carbon electrode sensor with thiol graphene quantum dots and gold nanoparticles for voltammetric determination of solatol // Heliyon. 2019. V. 5. Article e01984.
 25. Tanaka T., Matsuo Y., Kouno I. Chemistry of secondary polyphenols produced during processing of tea and selected foods // Int. J. Mol. Sci. 2010. V. 11. P. 14.