

Научно-методическое издание

Лапин Анатолий Андреевич  
Горбунова Елена Владимировна  
Зеленков Валерий Николаевич  
Герасимов Михаил Кузьмич

Определение антиоксидантной активности вин кулонометрическим методом  
(научно-методическое пособие)

**Лапин А.А., Горбунова Е.В., Зеленков В.Н., Герасимов М.К.**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ  
ВИН КУЛОНОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

Научно-методическое пособие

УДК 636+635+664+641.56(082(470))  
ББК 20.18+34.7+65.304.25

Лапин А.А., Горбунова Е.В., Зеленков В.Н., Герасимов М.К.

Определение антиоксидантной активности вин кулонометрическим методом  
(Научно-методическое пособие) – М.:РАЕН, 2009. - 64 с.  
ISBN 978-5-94515-080-5

Научно-методическое пособие включает краткий обзор способов определения антиоксидантной активности биоматериалов, пищевых продуктов и напитков с подробным описанием авторского способа использования кулонометрического метода для определения антиоксидантной активности как интегрального показателя нового вида качества биологической ценности вин. В работе приводится методика выполнения измерений антиоксидантной активности и приведены результаты измерений вин разных производителей.

Пособие предназначено преимущественно для студентов, обучающихся по специальности 260204 «Технология бродильных производств и виноделие» (направление 260200 «Производство продуктов питания из растительного сырья»). Оно будет полезно аспирантам и специалистам, работающим в области производства продуктов питания, а также интересно широкому кругу читателей.

Подготовлено в технологической лаборатории института органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского НЦ РАН, центральной аналитической лаборатории хроматографических методов анализа КГЭУ, в лаборатории «ООО Концерн «Инновационные отечественные технологии», на кафедре оборудования пищевых производств КГТУ, в Государственной инспекции Республики Татарстан по обеспечению государственного контроля за производством, оборотом и качеством этилового спирта, алкогольной продукции и защите прав потребителей.

Издание одобрено и рекомендовано к печати Ученым советом факультета «Пищевая инженерия» Казанского государственного технологического университета: протокол №8 от 1 июля 2009 г.

Рецензенты:

ISBN 978-5-94515-080-5

© Текст. Авторы

“Жить в XXI веке”: Материалы конкурса на лучшую работу студентов и аспирантов. Казань, КГТУ 2008 г. – Казань.: Изд-во КГТУ, 2008. – С. 214-215.

78. Лапин А.А. Оценка антиоксидантной активности вин /А.А. Лапин // Индустрия напитков. -2008. -№ 5. - С. 118-122.

79. Лапин А.А., Герасимов М.К., Зеленков В.Н. Определение суммарной концентрации антиоксидантов в красных французских винах и их российских аналогах / А.А. Лапин, М.К. Герасимов, В.Н. Зеленков //Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов (Москва, 4-5 июня 2007 г.) : Материалы IV Российской научно-практической конференции. – М.: Изд-во РАЕН. 2007.- С 115.

80. Лапин А.А. Определение суммарной концентрации антиоксидантов в красных французских винах и их российских аналогах / А.А. Лапин, М.К. Герасимов, В.Н. Зеленков // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: Сборник научных трудов. Вып. 15 – М.: Изд-во РАЕН. 2007.- С 61-71.

81. Герасимов М.К. Повышение конкурентоспособности вин и ликероводочной продукции путем формирования антиоксидантного статуса при их производстве / М.К. Герасимов, Л.А. Костина, А.А. Лапин, В.Н. Зеленков // Перспективные направления научно-технического развития спиртовой и ликероводочной отрасли пищевой промышленности. –М.: Изд-во Пищевая промышленность. 2007.- С. 365-378.

82. Михайлова А.В. Технологические аспекты повышения антиоксидантных свойств вин / А.В. Михайлова, М.К. Герасимов, А.А. Лапин // Межрегиональная конференция молодых ученых “Пищевые технологии”, сборник тезисов. (Казань, 14 апреля 2004 г.). Казань.: Изд-во КГТУ - С. 83-84.

83. Лапин А.А. Методологические подходы к созданию геропротективных продуктов. Вино / А.А. Лапин, М.К. Герасимов, А.В. Михайлова // Проблемы геронтологии и гериатрии-2004. Материалы 2-й республиканской научно-практической конференции с международным участием. (Сыктывкар 27-28 мая 2004 г.) – Сыктывкар.: Изд-во СО ГО РАН. 2004. - С. 64-67.

84. Лапин А.А. Исследование антиоксидантных свойств вин в процессе их приготовления / А.А. Лапин, М.К. Герасимов, А.В. Михайлова // Материалы II Междунар. Науч.-техн. конф. “Прогрессивные технологии и оборудование для пищевой промышленности”: В 2 ч. - Воронеж.: Изд-во Гос. Технол. Акад. 2004. - Ч. 1. - С. 117 – 118.

85. Лапин А.А. Технологические потери антиоксидантных свойств при производстве красных десертных вин / А.А. Лапин, Н.Н. Чернышева, О.Н. Рябый // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: Сборник научных трудов. - Вып. 8. – М.: Изд-во РАЕН, 2003. -С. 182-188.

86. ГОСТ 52523-2006 Вина виноградные и виноматериалы виноградные обработанные. Общие технические условия. – М.: Изд-во стандартов,

87. Ковалевский К.А. Технология и техника виноделия: учебное пособие / К.А. Ковалевский, Н.И. Ксенжук, Г.Ф. Слезко. – Киев: ИНКОС, 2004. – 560 с.

88. Лапин А.А. Окислительное галогенирование красных вин при исследовании их антиоксидантных свойств / А.А. Лапин, М.К. Герасимов, В.Н. Зеленков //Вестник Казанского технологического университета. № 6. Казань: Изд-во Казан. гос. технол. ун-та, 2006. –С 91-97.

Багирова, А.П. Арзамаева, В.Г. Кукес, Е.В. Ших // Патент РФ № 2238554. G 01N 33/15, G 01N 27/26. Приоритет от 25.07. 2003 г.

64. Макарова М.Н. Флуориметрический метод оценки антиоксидантной активности природных антиоксидантов по отношению к гидроксильным радикалам / М.Н. Макарова, А.С. Кузнецов, И.Г. Зенкевич, В.Г. Макаров // Материалы VI Международного съезда фитотарм 2002 «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения» (СПб, 4-6 июля 2002 г.). СПб, 2002. –С. 437-441.

65. Макарова М.Н. Изучение антирадикальной активности индивидуальных флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами в опытах in vitro. / М.Н. Макарова, В.Г. Макаров, И.Г. Зенкевич // Материалы VII Международного съезда фитотарм 2003 «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения» (С-Пб-Пушкин, 3-5 июля 2003 г.). С-Пб, 2003. –С. 216-222.

66. Peyrat-Maillard M.N., Bonnely S., Berset C. Determination of the antioxidant activity of phenolic compounds by coulometric detection. Talanta, 2000, -V. 51, -P. 709-716.

67. Борисенков М.Ф. Антиоксидантная активность пектинов / М.Ф. Борисенков //Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов (4-5 июня 2007 г.) : Материалы IV Российской научно-практической конференции. – М.:РАЕН. 2007.-С. 98-99.

68. Будников Г.К., Чернышева Н.Н., Зиятдинова Г.К., Лапин А.А. Способ определения интегральной антиоксидантной емкости продуктов питания и напитков. Заявка на пат. РФ 2003132741 от 2003.

69. Лапин А.А. Методика выполнения измерений на кулонометрическом анализаторе МВИ 01-44538054-07. / А.А. Лапин // Свидетельство об аттестации МВИ № 4 выданное федеральным государственным учреждением «Тамбовский центр стандартизации, метрологии и сертификации» в 20007 г.

70. Нужный В.П. Умеренное потребление алкоголя, вино и французский парадокс / В.П. Нужный // Виноград и вино России. – 1996. - №4. – С. 34-40.

71. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты: реакционная способность и эффективность /В.А. Рогинский // М.: Изд-во Наука. - 1988. -274 с.

72. Панасюк Л.В. Увеличение содержания полифенолов в красных винах с помощью ферментных препаратов / Л.В. Панасюк, Е.И. Кузьмина, О.С. Станкевич // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2004. - №3. – С. 44-45.

73. Ганн Х. В поисках истины или история виноделия / Х. Ганн // Vinoland. 2008. - Вып. № 1. –С. 68-76.

74. Наука в Сибири. Сибирское отделение РАН. 2001. - № 24 (2310).

75. Лапин А.А. Настаивание лабазника вязолистного на вине / А.А. Лапин // Клиническая фитотерапия и фитохитодезтерерапия, биологически активные пищевые добавки (БАД) (г. Черноголовка, 23-24 января 2009 г.): Материалы 7-я Юбилейная Международной конференции. -г. Черноголовка.: Изд-во ИПХФ РАН. -2009. –С. 119-120.

76. Акатовская О.Н. Антиоксидантная активность красных и белых вин / О.Н. Акатовская, М.К. Герасимов, А.А. Лапин // X Международная конференция молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии». (г. Казань. 12-15 мая 2009 г.). Сборник тезисов докладов. – Казань.: Изд-во «Отечество». 2009. - С. 500.

77. Галавиева Д.Г., Герасимов М.К., Лапин А.А., Горбунова Е.В. / Красные вина ингибиторы активного кислорода // «VIII Республиканская школа студентов и аспирантов

## Содержание

	Стр
Список условных обозначений и сокращений .....	4
Введение .....	5
Способы определения антиоксидантной активности биологических материалов .....	10
Кулонометрический метод определения интегральной антиоксидантной активности биологических материалов.....	15
Методика выполнения измерений при определении антиоксидантной активности вин кулонометрическим титрованием .....	30
Примеры применения кулонометрического способа определения интегральной антиоксидантной активности различных вин .....	34
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах России .....	37
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах Грузии, Молдавии, Армении, Украины, Азербайджана.....	43
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах Франции .....	45
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах Италии .....	48
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах Испании .....	51
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах Чили .....	52
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах Аргентины, ЮАР и Австралии .....	53
Суммарная концентрация антиоксидантов в винах Болгарии, Румынии и Венгрии .....	54
Корреляция значений интегральной антиоксидантной активности, определенной кулонометрическим титрованием электрогенерированными бромом, йодом и окислительно-восстановительным потенциалом.....	54
Влияние различных обработок на антиоксидантную активность вин...	56
Заключение .....	57
Литература .....	58

### Список условных обозначений и сокращений

АО – антиоксидант;  
АОА – антиоксидантная активность;  
АОА<sub>асо</sub> – суммарное содержание антиоксидантов в г рутина в пересчете на 100 г абсолютно сухого образца;  
АОЕ – антиоксидантная емкость;  
а.с.о. – абсолютно сухой образец;  
АФК – активные формы кислорода;  
БАД – биологически активная добавка;  
РСО – Российский стандартный образец;  
ИП – измерительный прибор;  
МВИ – методика выполнения измерений;  
НТД – нормативно-техническая документация;  
ПК – персональный компьютер;  
СР – свободные радикалы;  
ОВП – окислительно-восстановительный потенциал;  
СВ – концентрация сухих веществ в образцах;  
АОР – (antioxidant power);  
АРР – (antiradical power);  
DPPH – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил;  
ТАЕ – антиоксидантный эквивалент по тролоксу;  
ТЕАС – (trolox equalent antioxidant capacity) антиоксидантный эквивалент по тролоксу;  
TRAP (total radical trapping antioxidant parameter);  
УФ – ультрафиолет;  
Q – количество электричества, Кл;  
QEA – Quercitin Equivalent Antioxidant, антиоксидантный эквивалент по кверцетину;  
K – коэффициент пересчета, определяемый экспериментально анализом по хлору и бромю в одинаковых условиях с исследуемыми образцами свежеприготовленных спиртовых растворов рутина, он показывает величину рутина в мг, эквивалентную 1 кулону;  
I – сила тока, мА;  
t – время, с;  
V<sub>аликвоты</sub> – объем аликвоты исследуемого образца;  
X<sub>max</sub> – максимальный результат из n параллельных определений;  
X<sub>min</sub> – минимальный результат из n параллельных определений;  
P – доверительная вероятность;  
R – величина достоверности аппроксимации (R<sup>2</sup>);  
S – значение стандартного отклонения;  
n – количество проведенных измерений при анализе;  
S<sub>x</sub> – значение относительного стандартного отклонения.

48. КТЖГ.413414.002 РЭ Анализатор кулонометрический «Эксперт – 006». Руководство по эксплуатации и методика поверки.

49. Чернышева Н.Н. Галогены как кулонометрические титранты: от анализа к обобщенным показателям / Чернышева Н.Н. // Дис. ... канд. хим.наук. Казань. 2003 г. –140 с.

50. Погорельцев В.И. Применение метода гальваностатической кулонометрии в клинической диагностике антиоксидантного статуса организма человека / В.И. Погорельцев, Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников // Казань.: Изд-во КГМУ. 2004. -55 с.

51. Chung H.S., Chang L.C., Lee S.K., Samon L.A., Van Breemen R.B., Menta R.G., Farnsworth N.R., Pezzuto J.M., Kinghorn A.D. Flavanoid constituents of chorizanthe diffusa with potential cancer chemopreventive activity. // J. Agr. And Food Chem. 1999, -V. 47, N 1. -P. 36-41.

52. Chang L.C., Cha'vez D., Gills J.J., Fong H.H.S., Pezzuto J.M., Kinghorn A.D. Rubiasins A-C, new anthracene derivatives from the roots and stems of Rubia cordifolia.// Tetrahedron Lett. 2000,-V. 41, N 37, -P. 7157-7162.

53. Seo Eun-Kyong et al., Resveratrol tetramers from Vatica diospyroides//Org.Chem. - 1999, -V. 64, N 19, -P. 6976-6983.

54. Pengsuparp T., Caj L., Constant H., Fong H.S., Lin Long – Ze, Hughes S.H., Kinghorn A.D., Pezzuto J.M., Cordell G.A., Jngolfsdottir K., Wagner H. Mechanistic evaluation of new plantderived compounds that inhibit HIV-1 reverse transcriptase.// J. Natur. Prod. 1995. -V. 58, N 7. -P. 1024-1031.

55. Kerem Z., Regev-Shoshani G., Flaishman M.A., Sivant L. Resveratrol and two monomethylated stilbenes from Israeli Rumex bucephalophorus and their antioxidant potential.// J. Natur.Prod. 2003, -V. 66, N 9, -P. 1270-1272.

56. Iliya I., Ali Z., Tanaka T., Iinuma M., Futusawa M., Nakaya K.-i, Murata J., Darnaedi D., Matsunta N., Ubukata M. Stilbene derivatives from Gnetum gnemon Linn. // Phytochemistry 2003. -V. 62, N 4, -P. 601-606.

57. Seo Fun-Kyong, Chai Heebyng, Constant H.L., Santisuk Thawatchai, Reutrakul Vichai, Becher C.W.W., Farnsworth N.R., Cordell G.T., Pezzuto J.M., Kinghorn A.D. Resveratrol tetramers from Vatica diospyroides.// J. Org. Chem. -1999. -V. 64, N19. -P. 6976-6983.

58. L'orent S.A., Delattre C., Bernard D., Mehul B. Compositions pour application topique comprenant an moins um polypeptide de la famille des hydrolases a activite amiolasique et/on un produ it capable de moduler son activite/ // Патент Франции № 0300454 от 23.07.2004, заявка № 2850024. МПК А 61Л 38/50 от 16.01.2003.

59. Плотников М.В. Лекарственные препараты на основе дикверцитина / М.В. Плотников, Н.А. Тюкавкина, Т.М. Плотников // Томск.: Изд-во Томского университета. – 2005, – 228 с.

60. Abdille Md. H., Singh R.P., Jayaprakasha G.K., Jena B.S. Antioxidant activity of the extracts from Dellenia indica fruits. // Food. Chem. 2005, -V. 90, N 4. -P. 891-896.

61. Хасанов В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцев// Химия растительного сырья, 2004. № 3, -С. 63-75.

62. Antolovich M., Prenzler P.D., Mc Donald E., Robards K/ Methods for testing antioxidant activity. Analyst, 2002, -V. 127, -P. 183 -198.

63. Пахомов В.П. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений / В.П. Пахомов, Я.И. Яшин, А.Я. Яшин, В.Л.



Регулярное профилактическое потребление соответствующего количества антиоксидантов с пищей позволит восстановить до нормы антиоксидантный статус организма и сохранить здоровье и продолжительность полноценной жизни [4].

Эффективными перехватчиками СР являются и другие ароматические соединения. Их действующим началом, позволяющим проявлять данные свойства, является гидроксильная группа, присоединенная к ароматическому кольцу.

Отмечено противовоспалительное действие полифенолов, вырабатываемых растениями, благодаря способности к улавливанию СР [5]. Найдено около 800 видов полифенолов, которые содержатся в корнях, стеблях, цветах и листьях растений в виде фенольных кислот, флавоноидов, изофлавоноидов, танинов и т.д., которые могут быть использованы при лечении сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а также при производстве косметических препаратов и БАД к пище.

Богаты полифенольными соединениями ягоды и плоды, различные соки, красные вина, лук, чеснок, чай, кофе, оливковое масло, пиво и т.п., которые постоянно и в значительном количестве поступают в организм человека как пищевые компоненты. В целом, потребность человека в данных соединениях, принятая условно как временная норма в ряде стран, на уровне 100 мг (в пересчете на кверцетин) в сутки может быть удовлетворена за счет овощей и чая; фрукты и ягоды являются важным сезонным источником поступления их в организм [6,7]. Почти во всех растительных источниках полифенолы присутствуют вместе и часто с аскорбиновой кислотой. Совместно с аскорбиновой кислотой они участвуют в окислительно-восстановительных процессах.

Аскорбиновая кислота (витамин С,  $\gamma$ -лактон-2, 3-дегидро-L-гулоновой кислоты) является основным АО среди других низкомолекулярных водорастворимых соединений; она обладает чрезвычайно широким набором АО-свойств: снижает уровень супероксиданион-радикала, синглетного кислорода, гидроксильного радикала, органических радикалов, перекисного радикала, гипогалоидов и восстанавливает окисленную форму витамина Е и глутатиона, тем самым возвращая им АО-свойства. Витамин принимает участие в синтезе коллагена и эластина, образовании гликозаминогликанов, в обмене холестерина, гистамина и ацетилхолина [8].

Аскорбиновая кислота обладает способностью восстанавливать промежуточные радикалы, образующиеся из других АО в их реакциях с радикалами. Так, она восстанавливает  $\alpha$ -токоферильный радикал, а также арилоксифлавоноидные и урацильные радикалы. Эти свойства аскорбиновой кислоты позволяют ей регенерировать другие АО [9], но в определенных условиях она способна проявлять и прооксидантные свойства. Это согласуется с результатами исследований [8], которые предполагают, что аскорбиновая кислота выступает, прежде всего, как фактор защиты от радикальных продуктов восстановления кислорода. Возможно, механизм ее действия в этом случае связан с тем, что благодаря наличию в этой ее форме диенольной группировки аскорбиновая кислота обладает сильно выраженными восстановительными свойствами и, как хороший донор электронов, способствует превращению гидроксильных радикалов в гидроксид-ионы, выполняя таким образом антиоксидантную функцию, снижая

15. Larrauri J.A., Sanced-Moreno C., Saura-Calixto F. Free radical scavenging the aging of selected red Spanish wines // J. Food Chem. – 1999. - V.47, N1. -P.44-47.

16. Fogliano V., Verde V., Randazzo G. Method for measuring antioxidant activity and application to monitoring the antioxidant in wines // J. Agr. Food Chem. - 1999. -V.47, N2. - P.1035-1040.

17. Kondo Y., Ohnishi M., Kawaguchi M. Deteolipid peroxidation catalyzed by chelated in measurement of antioxidant activity in wine chemiluminescence analyzer // J. Agr. Food Chem. – 1999. -V.47, N5. -P.1781-1784.

18. Абдуллин И.Ф. Разработка аналитического метода определения антиоксидантной способности новых сортов пива с профилактическими свойствами / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, А.А. Лапин // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: Сборник научных трудов. Вып. 6. – М.: ПАЕН, 2002. -С. 327-328.

19. Roginsky V., Lissi E.A. Review of methods to determine Chain-breaking antioxidant activity in food // J. Food Chem. – 2005. - V.92, N2. -P.235-254.

20. Lam H.S. et al. Rapid fruit extracts antioxidant capacity determination by Fourier transform infrared spectroscopy // J. Food sci. 2005. -V. 70, N 9. –P. 545-549.

21. Buenger J., Ackermann H., Jentzsch A., Mehling A., Pfitzner I., Reiffen K.-A., Schroeder K.-R., Wollenweber U. An interlaboratory comparison of methods used to assess antioxidant potentials // U. Jnt. J, Cosmet. Sci. 2006. –V. 28, N 2. –P. 135-146.

22. Mao Lin-Chun et al. Antioxidant properties of water and ethanol extracts from hot air-dried and freeze-dried daylily flowers // Eur. Food. Res and Technol. 2006. –V.222, N 3-4, -P. 236-241.

23. Uchida M., Ono M. Determination of hydrogen peroxide in beer and its role in beer oxidation // J. Am. Soc. Brew. Chem. - 1999. - V.57, N 4.- P.145-150.

24. Lichtenthaler R., Marx F., Kind O. Determination of antioxidative capacities using an enhanced total oxidant scavenging capacity assay // Food Res. and Technol. 2003. – V.216, N 2.-P.166-173.

25. Guadalupe Z., Soldevilla A., Saenz-Navajas M.-P., Ayestaran B. Analysis of polymeric phenolics in red wines using different techniques combined with gel permeation chromatography fractionation // J. Chromatogr. A. - 2006. – V. 1112, № 1-2. - P. 112-120.

26. Friedman M., Levin C. E., Choi S.-H., Kozukue E., Kozukue N. HPLC analysis of catechins, theaflavins, and alkaloids in commercial teas and green tea dietary supplements: Comparison of water and 80% ethanol/water extracts // J. Food Sci. - 2006. –V. 71, № 6. - P. C328-337.

27. Lu Hai-Tao, Sun Hai-Feng, Qu Bao-Han, Dai Hong-Yi. Одновременное определение шести фенольных соединений в яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Fenxi huaxue = Chin. J. Anal. Chem. - 2007. – T. 35, № 10. - С. 1425-1429. - Кит.

28. Mullen W., Marks S. C., Crozier Alan Evaluation of phenolic compounds in commercial fruit juices and fruit drinks // J. Agr. and Food Chem. - 2007. –V. 55, № 8. - P. 3148-3157.

29. Lavigne V., Pons A., Dubourdieu D. Assay of glutathione in must and wines using capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection Changes in concentration in dry white wines during alcoholic fermentation and aging // J. Chromatogr. A. - 2007. – V. 1139, № 1. - P. 130-135.

## Литература

1. Янковский О.Я. Токсичность кислорода и биологические системы (эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты) / О.Я. Янковский. // С-Пб.: «Игра», 2000. - 294 с.
2. Загоскина Н.В. Биофлавоноиды высших растений – биологически активные вещества для фармацевтической и пищевой промышленности / Н.В. Загоскина // Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов (4-5 июня 2007 г.): Материалы IV Российской научно-практической конференции. – М.:РАЕН. 2007.-С. 99.
3. Кошечкина А.С. Разработка методов анализа флавонов как индикаторных компонентов лекарственного растительного сырья / А.С. Кошечкина // Автореф. дис. канд. фарм. наук. Москва.2007. -24 с.
4. Пахомов В.П. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений / В.П. Пахомов, Я.И. Яшин, А.Я. Яшин, В.Л. Багирова, А.П. Арзамаева, В.Г. Кукес, Е.В. Ших // Патент РФ № 2238554. G 01N 33/15, G 01N 27/26. Приоритет от 25.07. 2003 г.
5. Цыбулько У. И. Об антиоксидантной и антирадикальной активности *Saropatia officinalis* L. флоры Приморского края / У. И. Цыбулько, Т. А. Ершова, Т. П. Юдина, Ю. В. Бабин // Хранение и перераб. с/х сырья. – 2004, - № 2. – С. 32-34.
6. Яшин А.Я. Экспрессный электрохимический метод анализа антиоксидантной активности пищевых продуктов / А.Я. Яшин, Я.И.Яшин, Н.И. Черноусова, В.П.Пахомов. // Пиво и напитки. – 2004, №6. – С.32-36.
7. Гелетий Ю.В. Определение суммарной концентрации и активности антиоксидантов в пищевых продуктах / Ю.В. Гелетий, Ж.Ж.А. Балавуэн, О.Н. Ефимов, В.С. Куликова // Биорганическая химия, 2002, Т. 28, № 6, -С. 551-566.
8. Шанин Ю.Н. Антиоксидантная терапия в клинической практике / Ю. Н. Шанин, В. Ю. Шанин, Е. В. Зиновьев.- Изд-во С-Пб. - 2003. – 120 с.
9. Гуревич П.А., Докучаева И.С., Герасимов М.К. Технологические и биохимические основы алкогольсодержащих напитков (Учебное пособие) – Спб.: Изд-во ООО «Перспектив науки»– 2007. – 448 с.
10. Горбунова Е.В. Антиоксидантная активность как показатель качества вина / Е.В. Горбунова, А.А. Лапин, М.К. Герасимов // «Нугаевские чтения» (г. Казань, 19-20 декабря 2008 г.) : Сборник материалов 1 Научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых – Казань: КГТУ, ВШЭ, 2008. -С. 293-296.
11. Бодорев М.М. Исследование антиоксидантной активности белых и красных вин / М.М. Бодорев, В.Б. Сучков, Ю.А. Тырсин // Виноделие и виноградарство, 2008, № 3. –С. 16-18.
12. Кишковский З.Н. Технология вина / З.Н. Кишковский, А.А. Мержанин // - М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 504 с.
13. Roginsky V., Barsukova T. Total chain-breaking antioxidant capability of some beverages as determined by Clark electrode technique // J.of Medicinal Food.- 2001.- V.4, N4.- P.219-229.
14. Sato M., Ramaratham N., Suzuki Y., Ohkuk Takeuchi M., Ochi H. Varietal differences phenolic content and superoxide radical potential of wines from different sources // J.Food Chem. -1996. - V.44, N1.-P.317-322.

уровень СР в системе. Механизм действия аскорбиновой кислоты в биосистемах в большей мере зависит от ее концентрации. Так, при концентрациях, меньше чем  $9 \cdot 10^{-4}$  моль/л, она может проявлять прооксидантные свойства.

Механизм регенерирования одного АО другим может играть важную роль *in vivo*. Полифенолы и другие соединения могут служить первичными акцепторами радикалов и образовывать менее опасные СР, которые могут восстанавливаться аскорбиновой кислотой. Таким образом, при нормальных физиологических условиях АО могут и не уничтожаться радикалами в стехиометрических количествах. В этом случае полифенолы можно рассматривать как пример своеобразных катализаторов окисления аскорбиновой кислоты радикалами.

АО классифицируются по реакционной способности к определенным радикалам, но их также можно классифицировать по способности регенерировать друг друга в смесях. По данной способности они могут быть условно расположены в определенном порядке, т.е. они имеют своеобразную иерархию. Рассмотрим равновесную реакцию:



Если это равновесие сдвинуто вправо, тогда антиоксидант  $A_1H$  находится выше в такой иерархии, чем  $A_2H$ . Если такую смесь АО подвергнуть воздействию радикалов, АО, находящийся в самом низу такой иерархической лестнице будет расходоваться намного быстрее остальных, если даже сам он непосредственно не реагирует с первичными окислителями. Таким образом, последовательность, в которой АО расходуются, присутствуя в смеси, может сильно отличаться от той последовательности, в которой они располагаются в соответствии со своей реакционной способностью по отношению к радикалам-окислителям. Это приводит к тому, что суммарный защитный эффект смеси различных АО может быть значительно выше величины, рассчитанной как сумма активностей индивидуальных компонентов с учетом их концентраций. С этой точки зрения регулярное употребление в пищу, даже в малых дозах, разнообразных природных АО может быть гораздо более выгодным, чем употребление одного, даже очень активного АО. Многие пищевые продукты содержат как большое количество, так и большое разнообразие активных АО.

Сложность определения активности АО-систем заключается в том, что активности каждого АО существенно зависит от среды и условий его функционирования. В разных экспериментальных системах выявляемые АО-свойства препаратов различны, что зависит как от типа окислительных реакций, так и от условий их протекания. Ярким примером служит убихинон, который в митохондриях является как основным АО, так и прооксидантом; ионы металлов переменной валентности в окисленном состоянии ( $Fe^{3+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $La^{3+}$ ) ингибируют СР, а в некоторых случаях сами «активированные кислородные метаболиты», такие как NO и  $O_2^-$ , выступают в качестве АО.

На сегодняшний день изучение антиоксидантных свойств природных веществ и биообъектов, а также создание объективного, надежного и воспроизводимого экспресс-метода определения антиоксидантной активности пищевых продуктов и напитков, растительного сырья, фитопрепаратов на его основе, биологически активных добавок является одной из актуальных проблем. Актуальность задачи

определяется и тем, что в настоящее время в ведущих странах широко дискутируется вопрос о нормировании показателя содержания АО при сертификации и использовании его в качестве объективного критерия, как положительного влияния антиоксидантных веществ на здоровье человека, так и показателя высокого качества поступающих на рынок продуктов питания и напитков.

Возрастающее использование АО в различных отраслях промышленности потребовало развития методов их исследований, как индивидуальных соединений, так и в составе сложных смесей, а также создания современных полностью автоматизированных быстродействующих и прецизионных приборов, которые могли бы удовлетворить работников научных и заводских лабораторий.

Проблема измерения АО вышла за рамки научных исследований, поскольку результаты измерений стали использоваться в практике различных областей медицины, биологии, пищевой промышленности, виноделии и др.

Алкогольная продукция при низкой себестоимости имеет высокие потребительские свойства, что обеспечивает ей сверхвысокую рентабельность. Поэтому к этой продукции большой интерес проявляют как государственные органы, так и структуры теневой экономики.

Население России более 70 % алкоголя потребляет в виде водки и других крепких напитков. При этом потребление вина составляет 5 литров, пива - 50 литров, а крепких алкогольных напитков – 20 литров на душу населения в год. Иная ситуация в таких странах, как Италия, Франция, Испания и Португалия, где среднедушевое потребление вина находится в пределах 70-100 литров в год, а доля потребления крепких напитков составляет 20-25 %.

Вместе с тем, Россия приближается к европейским стандартам. По прогнозу экспертов через пять лет население нашей страны станет пить в пять раз больше вина, чем сегодня, показатель среднедушевого потребления достигнет 15-17 литров (в пересчете на чистый алкоголь) в год, в том числе только 55 % потребленного чистого алкоголя придется на долю водки и других высокоградусных напитков. Обладая большим потенциалом потребления винодельческой продукции, Россия вошла в десятку стран с максимальными темпами роста потребления вина за 2000-2005 гг. и становится основным целевым рынком для стран-экспортеров вина [9].

В магазинах крупных городов сегодня можно приобрести вина, слабоалкогольные напитки практически из любой страны мира. Наметившаяся в последние годы тенденция изменения культуры потребления алкогольных напитков привела к тому, что многие потребители уже не выбирают вино по принципу «чем дороже, тем лучше», а в первую очередь обращают внимание на качество, и только потом на цену. Среди потребителей все чаще встречаются люди, которые умеют не просто наслаждаться напитком, но и стремятся познать его тайну, скрытую в уникальной рецептуре, особых приемах приготовления или необычной истории происхождения.

По уровню вредного воздействия на здоровье натуральные виноградные сухие вина значительно отличаются от крепких алкогольных напитков. Предпочтительное употребление населением алкоголя в виде вин естественного брожения в Германии, Англии, Италии и Франции ослабляет остроту алкогольной ситуации в этих странах,



Рис. 14 Влияние обработок виноматериала «Кагор Роше Де Десерт» на суммарную антиоксидантную активность

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Приведенные экспериментальные исследования показали возможность и целесообразность использования кулонометрического метода для определения антиоксидантной активности вин, который позволяет оценить влияние совокупности ряда факторов на данный показатель.
2. Высокая чувствительность, экспрессность, хорошая воспроизводимость результатов, обуславливает перспективность его применения на практике, он позволяет количественно оценивать суммарное содержание биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами.
3. Большой диапазон значений антиоксидантной активности вин обусловлен технологиями их получения, различными сортами винограда и условиями его созревания. Содержание антиоксидантов может понизиться при нагревании мезги от 40 до 70 °С, на стадиях созревания и старения вин.
4. Судить о вкладе различных компонентов, входящих в состав вин на результаты кулонометрического определения антиоксидантной активности пока достаточно сложно. Установлено, что минеральные кислоты (винная и яблочная,) с электрогенерированным бромом не реагируют, а, следовательно не вносят вклад в ее величину.
5. Некоторые российские кагоры превосходят по антиоксидантной активности французский сухой Кагор, но теряют значительное количество активных антиоксидантов при технологических процессах оклейки и пастеризации. Такие потери наблюдаются и при процессах брожения при получении игристых вин.



Величина окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) не является количественной оценкой противоокислительных свойств, а отражает отношение окисленных и восстановленных форм биологически активных компонентов в образце. Установлена взаимосвязь величины ОВП кагоров (табл. 19) от АОА (рис. 13).

Обратно пропорциональная зависимость ОВП от АОА наблюдается только в пределах данной группы исследуемых объектов, следовательно по величине ОВП нельзя сравнивать разные сорта вин и напитков.

### ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ОБРАБОТОК НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ ВИН

Одно из основных требований, предъявляемых к готовым винам, - обеспечение стабильной прозрачности в течение длительного времени. Для придания винам стабильности при выдержке их подвергают фильтрованию, оклейке, воздействию тепла и холода [85].

Для изучения влияния различных обработок, проводимых для стабилизации вина, нами были проведены исследования пробы Кагора на Казанском винзаводе [88]. Результаты представлены в таблице 17 и на графике (рис. 14).

Таблица 20 Изменение величины антиоксидантной активности виноматериала в процессе приготовления вина «Кагор Роше Де Десерт»

№	Стадии технологического процесса	АОА вина	S <sub>x</sub>
1	Приемка виноматериала	427.50±2.02	0.005
2	Оклейка	354.65±3.35	0.01
3	Обработка холодом	402.35±2.02	0.005
4	Пастеризация	393.54±1.34	0.003
5	Перед розливом	390.12±2.14	0.02

и следовательно, приводит к значительно менее заметным, чем в России социальным и медицинским последствиям.

Известен так называемый «французский парадокс», связанный с ежедневным употреблением вина французами. Несмотря на неумеренность в еде, курение и отсутствие интереса к занятиям спортом, французы на 40% меньше американцев подвержены сердечно-сосудистым заболеваниям, а средняя продолжительность жизни во Франции выше, чем в США на 2,5 года.

Виноградное вино, если рассматривать его как продукт питания, значительно превосходит по своим пищевым свойствам другие алкогольные напитки. Вино, особенно красное, является источником важных в биологическом отношении веществ, поступление которых в организм с другими пищевыми продуктами ограничено или невозможно. В вине содержится резвератрол – антиоксидант, который делает вино полезным для здоровья, поскольку препятствует развитию сердечно-сосудистых, раковых и других заболеваний. Доказано, что потребление вина в количестве, составляющем для мужчин 5-7% и для женщин 2-4% калорийности суточного рациона, при условии сбалансированного питания, не оказывает негативного влияния на организм.

Антиалкогольная кампания 80-х привела к резкому сокращению производства виноградных вин в нашей стране. Новые рыночные преобразования в 90-х годах, с одной стороны, предоставили предприятиям возможность для развития собственного производства, расширения ассортимента продукции, конкуренции импортным товарам на российском рынке, а с другой - государство практически сразу утратило влияние на отрасль и спровоцировало рост выпуска фальсифицированной продукции, изменение структуры производства в пользу малозатратных, но при этом экономически выгодных алкогольных изделий, практически исключив контроль за качеством выпускаемой продукции. Сегодня правительство предпринимает серьезные меры по восстановлению государственного контроля за деятельностью всего рынка алкогольной продукции и промышленности в целом, однако этот процесс идет крайне медленно.

Все возможные способы фальсификации алкогольных напитков могут быть идентифицированы с помощью органолептического анализа, который, однако, является субъективным, зависит от квалификации и опыта эксперта, требует специальной подготовки дегустатора. К объективным способам идентификации следует отнести физико-химические исследования с применением инструментальных методов анализа, которые проводятся в специализированных лабораториях. Недостатки нормативных показателей, используемых при контроле качества алкогольных напитков, в последние годы стали причиной появления дешевых подделок хорошо известных марок алкогольной продукции.

Анализ розничного и оптового рынка алкогольной продукции России показывает постоянно растущий потребительский спрос на слабоалкогольные коктейли и напитки. Слабоалкогольные напитки – это напитки с объемной долей этилового спирта не более 9 %, приготовленные из вин, виноматериалов, коньяков, спиртованных соков, спиртов (виноградного, плодового и этилового), настоев растительного сырья, концентратов квасного сусла, пивного сусла с добавлением пищевых вкусоароматических добавок, красителей, и других компонентов.

В данном научно-методическом пособии мы стремились представить обобщенный материал по антиоксидантам, их свойствам, роли и механизмам действия некоторых из них. Описаны возможности кулонометрии в оценке интегральной АОА объектов различной природы. Метод апробирован на практике при определении содержания антиоксидантов в различных биологических объектах, коррелирует с известными методиками определения отдельных показателей АОА и по замыслу авторов будет являться необходимым инструментом для скрининговых исследований вин, алкогольной продукции, сырья и вспомогательных материалов для их производства. Для подтверждения этого приведен опубликованный авторами научный материал по практическому использованию конкретной методики на основе кулонометрического метода (МВИ 01-44538054-07) определения АОА вин, он приведен не для рекламы или дискредитации конкретных вин или их производителей, а выявления тенденций и закономерностей в поведении данного показателя.

Научно-методическое пособие такого рода издается впервые, и все критические замечания и предложения будут приняты с благодарностью.

### СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Выше было сказано, что за последние годы разработано много методов определения противокислителей и антиоксидантов. Проблема измерения АОА вышла за рамки фундаментальных исследований и активно используется в практике различных областей медицины, биологии, виноделия, пищевой промышленности и др. Использование АО в продуктах питания стало брендовым ходом поднимающим их популярность, на рынке БАД АО занимают ведущую роль, они обещают множество полезных свойств для всего организма человека и животных, что требует дальнейшего развития методов их исследования и определения, как индивидуальных, так и в составе сложных смесей, а также создания полностью автоматизированных приборов, которые быстро и надежно могли бы удовлетворить потребности работающих в этой области ученых и специалистов заводских лабораторий [10].

АОА является показателем биологической ценности вин, несет дополнительную информацию о качестве, а для некоторых типов напитков ее активно используют в рекламных целях при продвижении их на рынок. Поэтому является важным нормирование показателя АОА как для различных типов вин и других напитков, аттестация методик его определения и внесение данных показателей в нормативные документы, регламентирующих их использование как критерия идентификации и качества напитков [11].

Классическими методами определения АО являются: газометрические, спектрофотометрические, хемилюминисцентные, электрохимические с использованием электрода Кларка и сравнительно недавно разработанные амперометрический, потенциометрический и вольтамперометрический методы [10]. Многие из данных методов взяты из других отраслей промышленности и на основании результатов медицинских и фармакологических исследований по

наиболее полное извлечение ароматических, красящих, дубильных и других экстрактивных веществ из твердых элементов грозди, а также на формирование в "Кагорах" типовых признаков в букете и во вкусе.

Таблица 19 – Антиоксидантная активность красных десертных вин типа "Кагор" по результатам кулонометрического титрования (n=5, p=0,95) в мг рутина на 100 мл (Бромная) и в мг аскорбиновой кислоты (Йодная).

№ п/п	Образцы кагоров	Бромная	S <sub>x</sub>	Йодная	S <sub>x</sub>
1	"32", Ставропольский край, Буденовский р-н, ОАО Агрофирма "Жемчужина ставрополья"	355.10±21.20	0.02	362.61±2.42	0.01
2	"32", г. Анапа	266.06±6.36	0.02	294.27±12.86	0.02
3	"Дивеевский", Нижегородская обл., г. Саров, ООО "Империл-С"	245.39±14.31	0.02	248.44±7.24	0.02
4	"Особый", г.Кишинев, Молдова, ООО "Николь", розлив г. Москва	197.69±7.42	0.02	206.63±4.02	0.02
5	"32", г. Краснодар, ООО "Экстра-Прим"	183.38±9.93	0.02	194.57±9.64	0.02
6	"Отборный", Россия, г. Дигора, СП ЗАО "Берд-Лавера". Розлив 06.10.02	41.87±1.59	0.02	41.80±4.02	0.04

Большой диапазон значений АОА вин обусловлен технологиями их получения, различными сортами винограда и условиями его созревания. Содержание антиоксидантов может понизиться при нагревании мезги от 40 до 70 °С (крымская технология), на стадиях созревания и старении вин в течение 3 лет.

Обработка данных таблицы 7 показала линейную зависимость АОА по йоду от АОА по брому ( $Y = 1.044 X, R^2 = 0.993$ ).

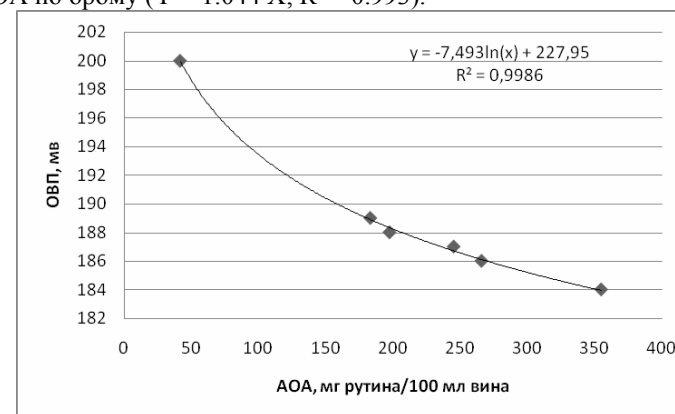


Рис. 13 Зависимость окислительно-восстановительного потенциала виноградных вин типа "Кагор" от антиоксидантной активности по бромру

## СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ БОЛГАРИИ, РУМЫНИИ И ВЕНГРИИ

Вина Болгарии, Румынии и Венгрии по своей АОА представлены в табл. 18. Самое высокое значение АОА определено нами у румынского сухого вина Мурфатлар Каберне Совиньон – 415 мг рутина на 100 мл. Белое сухое токайское вино Венгрии показало среднее значение АОА для белых вин - 71 мг рутина на 100 мл.

Таблица 18. Антиоксидантная активность вин Болгарии, Румынии и Венгрии

№	Образцы вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
<b>Красные вина</b>			
1	Мурфатлар Каберне Совиньон, сухое, S.C. "Vinia" S.A. Bld, Румыния	414.69±17.52	0.01
2	Кодарка, полусладкое, из региона Дунайского, Варга Пинцесет, Венгрия	335.60±1.13	0.001
3	Мурфатлар Каберне Совиньон, сухое, Румыния	331.39±9.60	0.01
4	Мурфатлар Каберне Совиньон, сухое, Румыния	317.52±7.35	0.02
5	Кагор, десертное специальное, Винекс, Славянцы, Бургаский район, Болгария	232.21±7.63	0.01
6	Кагор, десертное специальное, г. Търговище, Болгария	226.48±1.32	0.005
7	Мерло, сухое, Болгария	184.50±6.65	0.02
8	Мерло, сухое, Болгария	113.52±3.72	0.01
<b>Белые вина</b>			
9	Tokaji szamorodni, сухое, Толгва, Венгрия	71.25±2.48	0.01

## КОРРЕЛЯЦИЯ ЗНАЧЕНИЙ ИНТЕГРАЛЬНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ, ОПРЕДЕЛЕННОЙ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКИМ ТИТРОВАНИЕМ ЭЛЕКТРОГЕНЕРИРОВАННЫМ БРОМОМ, ЙОДОМ И ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ

Нами исследовалась АОА красных вин типа "Кагор" электргенерированными бромом и йодом. Йод является более слабым окислителем, чем бром. В связи с этим круг соединений, способных реагировать с электргенерированным йодом значительно уже, так, например, флавоноиды не вступают в реакцию с йодом и не вносят вклад в суммарную антиоксидантную емкость по йоду. Реакция биологически активных компонентов вин с электргенерированным йодом протекает только после их предварительной обработки 1М раствором NaOH.

Красные десертные вина "Кагор" готовят из интенсивно окрашенных сортов винограда. Различные технологии приготовления направлены на

применению на практике необходимо их усовершенствование. Многие химические и биохимические методы с трудом могут быть интерпретированы, что связано со сложным составом биологических сред. При этом в ряде случаев определяются или индивидуальные АО или только отдельные их группы, интегральную оценку АОА с помощью некоторых из приведенных методов проводить невозможно.

Известно, что присутствующие в растительных экстрактах фенольные соединения отвечают за их антиоксидантные свойства. Существует линейная зависимость между общим содержанием фенолов в образцах некоторых экстрактов и их способностью реагировать со СР [12]. Положительное влияние на организм человека многих пищевых продуктов и напитков, включая овощи, фрукты, чай, красные вина, кофе и какао, растительные масла все больше связывают с наличием в их составе природных антиоксидантов, которые в малых концентрациях тормозят процессы окисления органических веществ по различным механизмам, например, обрывающие цепи окисления.

Все существующие методы определения АОА растительного и пищевого сырья можно разделить на две большие группы: прямые и косвенные (рис. 1).

К прямым относятся методы, основанные на детектировании поглощения генерируемых в среду СР, при этом детектирование и генерация могут осуществляться различными способами [13-18]. Косвенные методы включают измерение различных физико-химических параметров растительных экстрактов, масел, вина, соков и других пищевых объектов, связанных с АОА.

В обзоре [19] приводятся наиболее популярные методы определения АОА с оценкой их надежности, повторяемости получаемых данных и ограничений применения, а также рассмотрены основные требования, предъявляемые к этим методам. Рассматриваются корреляции значений АОА для различных способов определения активностей.

Lam H.S. с соавторами разработан экспресс-метод определения АОА экстрактов фруктов с помощью инфракрасной спектроскопии с Фурье преобразованием [20].

Для оценки АОА индивидуальных соединений Buenger J. с соавторами [21] предложен метод с использованием 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH) (метод А), АО-способности, эквивалентной тролоксу (метод Б), по липидной оценке [или 2,2'-азобис-(2-аминопропана)] и тиобарбитуровой кислоты. Каждым из приведенных методов оценивалась АОА тролокса, токоферола, липохромана-6, аскорбиновой кислоты, 4-метил-бензкатехина и 3,5-ди(третбутил)-4-

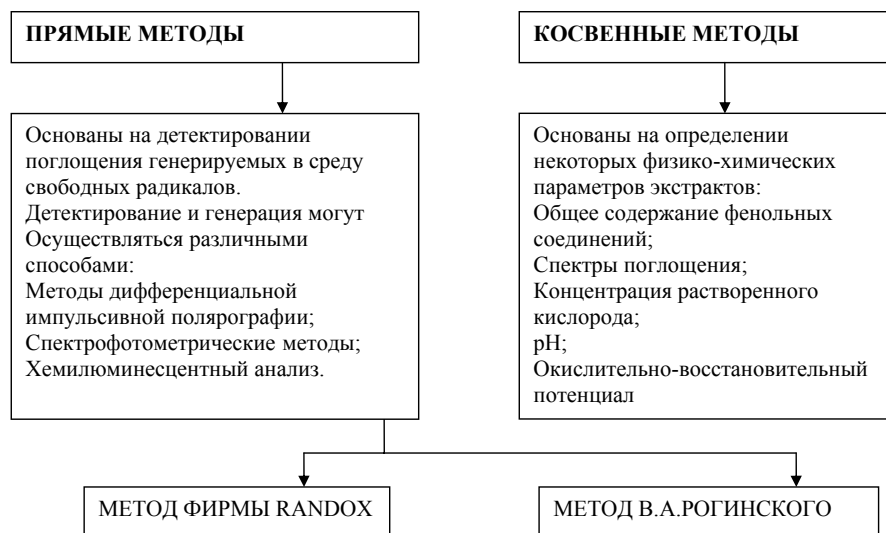


Рис. 1 Методы определения антиоксидантной активности растительного и пищевого сырья

гидрокситолуола. Все использованные методы сравнивались по различным характеристикам. При проведении межлабораторных испытаний по воспроизводимости результатов и чувствительности метода наилучшими оказались метод А и Б.

По улавливанию радикалов DPPH и перекисного аниона и сравнению со стандартами Мао Lin-Chun изучалась АОА водных и спиртовых экстрактов лилейника [22], при этом было обнаружено, что этанол лучше экстрагирует АО-вещества, чем вода. Лиофильно высушенные образцы лучше сохраняли активность, чем высушенные на воздухе.

Для определения фенольных соединений в различных экстрактах Uchida M. и Оно М. разработан метод высокоэффективной жидкостной хроматографии при прямом вводе анализируемой пробы в хроматограф. Разделение проводят на монолитной колонке C18 с обращенной фазой, с использованием бинарного градиентного элюирования и диодно-матричного детектирования. Применяя данную методику, можно разделить и количественно определить за один цикл в очень короткое время семнадцать мономерных соединений различных фенольных групп [23].

С помощью метода газовой хроматографии Lichenthaler R. с соавторами оценена АОА ряда стандартных соединений: аскорбиновой кислоты, бензойной кислоты, катехина, цианидин-3-глюкозида, циатидин-3-рутинозида, протокатехиновой кислоты, тропоксана и мочевой кислоты. Метод автоматизирован и требует минимальных затрат времени. Этим методом можно

Таблица 16. Антиоксидантная активность чилийских вин

№	Образцы вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
<b>Красные вина</b>			
1			
2	Кармен мерло, сухое	267.06±6.67	0.01
3	Казильеро дель дябло, сухое.	376.28±22.34	0.02
4	Исла-негра каберне Совиньон/мерло, полусухое	223.39±10.39	0.02
5	Мерло Санта Рита, сухое	264.22±4.21	0.006
6	Каберне совиньон terra андина, сухое	250.60±6.54	0.01
7	Санрайз Каберне Совиньон, полусухое	261.71±6.29	0.01
<b>Белые вина</b>			
8	Пьюпилла Совиньон блан, сухое	164.54±0.56	0.02

### СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ АРГЕНТИНЫ, ЮАР И АВСТРАЛИИ

Значения АОА 11 образцов красных вин Аргентины, ЮАР и Австралии по мере их убывания приведены в табл. 17, самое большое значение определено нами у полусухого австралийского вина Хардис стэмп Каберне-мерло (463 мг рутина на 100 мл вина), самое низкое значение 192 мг рутина у сухого вина ЮАР Жемчужная лагуна.

Таблица 17. Антиоксидантная активность вин Аргентины, ЮАР, Австралии

№	Образцы вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
<b>Красные вина</b>			
1	Хардис стэмп Каберне-мерло, полусухое, Австралия	462.68±12.41	0.01
2	Хардис стэмп Шираз-каберне, полусухое, Австралия	370.61±9.93	0.01
3	Мапу Каберне совиньон-карменер, сухое, ЮАР	332.21±19.86	0.02
4	Amabokoboko Vintage, сухое, ЮАР	291.73±16.17	0.02
5	Фантелли – Каберне Совиньон, сухое, Аргентина	252.14±4.61	0.007
6	Африка классик Каберне Совиньон, сухое, ЮАР	230.31±11.47	0.02
7	Флор де майпо, сухое, Аргентина	220.67±6.49	0.01
8	Санта Джулия Мальбек, сухое, Аргентина	210.15±5.73	0.01
9	ЮАР, сухое, ЮАР	209.62±7.45	0.01
10	Джиндали Шираз, полусухое, Австралия	199.08±7.74	0.02
11	Жемчужная лагуна, сухое, ЮАР	192.07±6.95	0.01

Таблица 15. Антиоксидантная активность испанских вин

№	Образцы вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
1	Heres Tio Pepe, сухой, белое специальное вино	687.02±69.63	0.04
	<b>Красные вина</b>		
	<b>Vino de mesa</b>		
2	Мария дель Мар, сухое	194.05±1.97	0.004
3	Дом Яго, полусладкое	161.58±3.63	0.009
	<b>DO</b>		
4	Кармен Карменер, сухое	437.29±24.83	0.02
5	Дон Рамон, сухое	383.06±7.45	0.008
6	Хойа де Каденас, сухое	356.78±9.93	0.01
7	Риоха де Барония крианса, сухое	353.68±10.67	0.01
8	Замок Лирия резерва, сухое	274.86±9.43	0.01
9	Амеласио Темпранильо, сухое	200.63±3.53	0.007
10	Коста де Луна, сухое	199.34±2.06	0.004
11	Каберне Крианса, сухое	177.04±12.63	0.03
12	Аньоранса Темпранильо Крианса, сухое	155,02 ± 9.50	0.02
13	Аньоранса Каберне Шираз, сухое, Хуан Рамон Лозано, С. А.	130.16 ± 5.86	0.01
14	Рондан резерва, сухое	126.99 ± 4.22	0.01
15	Terra Vaixa, полусладкое	119.84 ± 4.81	0.01
	<b>Белые вина</b>		
	<b>vino de mesa</b>		
16	Барон де Валлис, полусухое	147.14±9.78	0.03

### СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ ЧИЛИ

Чилийское законодательство не сильно ограничивает стандарты и обозначения вина. Существует четыре категории вин, на основе которых производители классифицируют свои вина, в соответствии с возрастом.

«Курант» - для вин в возрасте одного года.

«Спираль» - для двух- и трехлетних вин.

«Резерв» - для четырех- и пятилетних вин.

«Гран Вино» - для вин шести лет и старше

В табл. 16 приведены значения АОА 8 образцов вин Чили по мере их убывания, самое большое значение определено нами у сухого вина Кармен мерло (267 мг рутина на 100 мл вина), самое низкое значение 164 мг рутина у сухого белого вина Пьюпилла Совиньон Блан, хотя оно и превышает значения всех белых вин исследованных нами (табл. 10, 12, 14, 15).

классифицировать вещества как быстродействующие АО, замедлители окисления или прооксиданты [24].

Для определения различных фенольных соединений - мономерных фенолов и их производных, полимерных красителей и проантоцианидинов применены комплексные методики, после разделения гель-проникающей хроматографией использованы высокоэффективная жидкостная хроматография - детектирование с диодной матрицей, высокоэффективная жидкостная хроматография - масс-спектрометрия, капиллярный зонный электрофорез, спектрофотометрия. [25].

С помощью жидкостной хроматографии высокого разрешения произведен анализ катехинов, теафлавинов и алкалоидов в диетических добавках из спиртовых и водных экстрактах коммерческих видах зеленого чая [26].

Разработана простая, экспрессная и чувствительная методика определения шести фенольных соединений (катехин, эпикатехин, хлорогеновая, кофейная, кумаровая и феруловая кислоты) в яблочном соке с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с обращенными фазами [27].

Проведено определение фенольных соединений в 13 коммерчески доступных фруктовых соках (из винограда, грейпфрутов, клюквы и яблок) и фруктовых напитках, произведенных в Великобритании. Для определения общего содержания фенольных соединений использовали спектрофотометрический метод с реактивом Фолина-Чокальтеу. Индивидуальные фенольные соединения определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с детектированием при помощи фотометрии и тандемной масс-спектрометрии. Максимальное содержание фенольных соединений обнаружено в соке из фиолетового винограда. Определяли также антиоксидантную активность соков и напитков [28].

Разработана методика определения глутатиона в виноградном сусле и вине, включающая конъюгацию тиолов с монобромбиманом в буферном растворе (179 мМ) 2-(N-циклогексиламино)этансульфоновой кислоты, разделение капиллярным электрофорезом с детектированием индуцированной лазером флуоресценции. Оптимизированы условия получения производных глутатиона с монобромбиманом с целью повышения чувствительности. Предел обнаружения глутатиона 65 нМ. Методику использовали для контроля изменений содержания восстановленной формы глутатиона в белом вине во время спиртового брожения и старения в бочках [29].

Определение суммы антиоксидантных веществ, таких как фенольные соединения, с помощью фотометрического титрования по Левенталю, основано на их окислении в кислой среде перманганатом калия в присутствии индикатора индигокармина, являющегося регулятором реакции окисления. Для расчета используют коэффициент, равный 6.792 мг суммы фенольных соединений и соответствующий 1 мл 0.1 Н раствора перманганата калия. Недостатком метода является то, что фенольные соединения представляют собой не единственные действующие АО растений и фитопрепаратов на их основе - настоев, отваров, эликсиров, настоек, экстрактов, которые реагируют с перманганатом калия [30].

Установлена антиокислительная активность плодов кизила по способности восстанавливать ионы Fe на 100 г сухой массы, которая в пересчете на



аскорбиновую кислоту изменялась в диапазоне 41-149 мкмоль, содержание антоцианинов в пересчете на цианидан-3-гликозид от 1,3 до 223 мг эквивалента, то время как содержание фенольных соединений изменялось в диапазоне 657-2611 мг эквивалента (в пересчете на галловую кислоту). Установлено, что свежие ягоды кизила могут быть хорошим источником антиоксидантов и использоваться в качестве пищевой добавки [31].

Согласно действующей 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 [32].

В последнее время для оценки АОА сырья и продукции природного происхождения значительно возрос интерес к применению различных электрохимических методов [6,33-34], что связано с их высокой чувствительностью, быстротой анализа данной группы методов и отсутствием влияния цвета образцов на результаты анализа. Кроме того, данные методы легче коммерциализировать и использовать для массовых экспресс-анализов на различных производствах.

Silva D. проведена электрохимическая оценка липофильных АО из фруктов *Iryanthera jruensis* (Myristicaceae) [35]. Были идентифицированы два токотриенола, фенольные группы которых подвержены окислению и окислительные потенциалы этих соединений коррелируют с их АОА по механизму окисления  $\alpha$ -токоферола. Токотриенолы являются АО по отношению к  $\beta$ -каротину.

Avramchik O.A. методом дифференциальной пульсирующей вольтамперометрии изучены антиоксидантные и электрохимические свойства аскорбата кальция и лития, широко используемых в медицине, особенно при ухудшении памяти [36].

Абаляевой В.А. и Ефимовым О.Н. показана возможность создания электрохимического биосенсора для определения концентрации АО в растворах и смесях. В состав электрохимически синтезированного полиамина вводится органический или неорганический окислитель, который при заданной величине потенциала взаимодействует с АО в растворе. По величине тока можно судить о концентрации АО [37].

Для определения избранных АО, а также водорастворимых витаминов, ванильных ароматических веществ и изофлавонов в различных пищевых продуктах применено микропроточное аналитическое устройство с ультрачувствительным детектором на основе углеродных нанотрубок [38].

Morales G. с соавторами для определения добавок фенольного АО пропилгаллата в различных типах пищевых продуктов предложен композиционный графито-тефлоновый биосенсор на основе фермента тирозиназы с пределом обнаружения АО  $9.0 \cdot 10^{-7}$  и  $1.1 \cdot 10^{-6}$  моль/л [39].

В работах различных авторов предлагаются оригинальные экспресс-методы для определения соединений различной фенольной структуры с использованием ферментных препаратов. Ряд авторов установили принципиальную возможность использования ферментов (лаказы и тирозиназы) для определения фенолов различной структуры с применением электрохимического детектора [40-41].

Таблица 14. Антиоксидантная активность итальянских белых сухих вин

№	Образцы белых вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
1	Albizzia Chardonnay, Toscana, IGT	127.03±4.89	0.01
3	Galestro, Toscana, IGT	28.09±1.06	0.02
4	EST! EST!! EST!!! Montefascone, Malvasia Bianca DOC	21.73±0.53	0.02
5	Prosecco, Veneto, DOC	21.20±0.55	0.03
6	Orvieto Classico, DOC, Cecchi	19.61±0.51	0.03
7	Шардоне, Пулия, DOC	18.02±0.53	0.02

### СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ ИСПАНИИ

Согласно испанскому законодательству, вина подразделяются на 5 стандартов качества:

- Столовые вина (Vino de Mesa)**. Эта категория включает вина не классифицированных виноградников, которые производятся из нескольких сортов винограда,

- Местные вина (Vino de la tierra)**. На его этикетке разрешено указывать год урожая, сорта используемого винограда и регион производства. Все вышеперечисленные надписи запрещены к использованию в категории Vino de Mesa,

- Деклассированные вина (Vino Comarsal)** вследствие плохого урожая, несоблюдения производителем установленных норм урожайности и производства вина из определенных регионов,

- Марочные вина (Denominacion de Origen, DO)** из определенных винодельческих регионов, в каждом из которых существует свой регуляторный совет, контролирующий процессы выращивания винограда, производства и продажу вина в соответствии с определенными региональными стандартами.

- Самая высокая категория испанских вин (Denominacion de Origen Calificada, DOC)**, которая присваивается только лучшим винодельческим регионам.

В табл. 15 приведены значения АОА вин Испании по мере их уменьшения, самое большое значение определено нами у белого сухого специального вина Heres Tio Pepe – 687 мг рутин на 100 мл вина, самое низкое значение у красного полусладкого вина Terra Vaixa – 120 мг рутин.

31	Valpolicella, сухое	231.36±9.93	0.02
32	Ла Бифора, сухое	225.27±4.51	0.008
33	Селекшн челентано, сухое	192.56±12.83	0.03
34	Кюве Фердинандо Джордано, сухое	178.45±4.72	0.01
35	Вино столовое, сухое	156.13±6.37	0.02
36	Ля Винетта, сухое	124.24±4.96	0.02

Из графика видно, что по такому показателю как АОА, в отличие от вин Франции, красные столовые вина Италии (124 – 231 мг рутина на 100 мл вина) уступают винам более высокой категории DOCG (241 – 262 мг рутина), хотя перекрываются с первыми подгруппами вин IGT (156 – 244 мг рутина) и DOC (202 – 277 мг рутина на 100 мл вина). Вероятно, это связано с тем, что вина категорий IGT и DOC производят по более сложной технологии, результаты которой могут в некоторых случаях оказать негативное влияние на АОА вина. Самые высокие значения АОА отмечены у вермутов (600 – 654 мг рутина на 100 мл) и сухого вина Valpolicella категории DOC (567 мг рутина на 100 мл вина). Белые вина Италии представлены

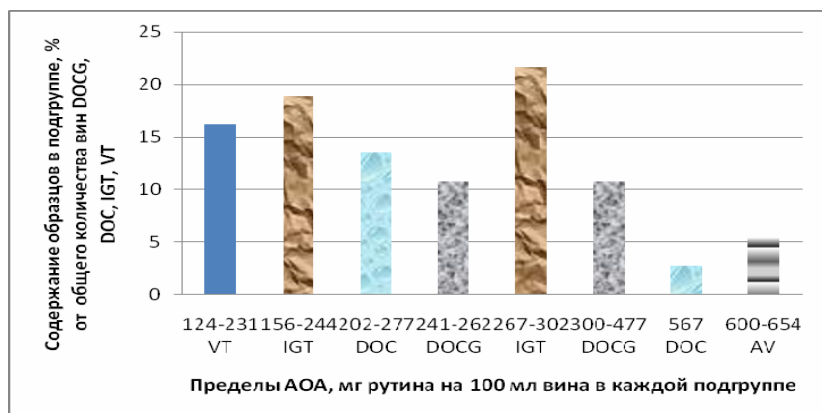


Рис. 12. Распределение красных вин Италии по подгруппам в зависимости от категории качества и антиоксидантной активности

Значения АОА белых вин Италии приведены в табл. 14, они намного ниже, чем у красных, хотя вино Альбиция превосходит красное Ля Винетта.

Для определения АО способности сложных смесей предложен метод измерения дегидрогеназной активности биологических систем, в частности экстрактов чая по дегидрогеназной активности ила бактерий, где синтезируется около ста различных ферментов, важнейшими из которых, катализирующими окислительно-восстановительные превращения органических компонентов, являются дегидрогеназы [42].

Разрабатываются комплексные подходы к изучению лекарственных растений, растительных сборов, продуктов пчеловодства методом регистрации хемиллюминесценции – свечения, возникающего при взаимодействия радикалов, а также их влияния на процессы свободно-радикального окисления в модельных системах и в экспериментах на животных [43].

Shanbrom E. запатентован косвенный метод количественного определения АО в пищевых продуктах и медицинских объектах, основанный на восстановлении элементарного йода в исследуемых средах, содержащих йодофор-поливинилпирролидол с определением образовавшихся иодидов с помощью йод-селективного электрода [44].

#### КУЛОНОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

Перспективным направлением в разработке методов определения АОА, на наш взгляд, является кулонометрическое определение интегральной АОА с помощью электрогенерированных галогенов.

Кулонометрическое титрование – метод, используемый в аналитической химии, в котором титрующий реагент генерируется электролитически вне титруемого раствора, он не добавляется к определяемому образцу в виде стандартного раствора общепринятым методом, а вместо объема и массы при титровании измеряют время титрования и ток [45].

Кулонометрия – это пока единственный метод, не использующий зависимость свойства от концентрации определяемого вещества, характерную для любого другого физико-химического метода анализа. В основе кулонометрических методов лежит закон Фарадея, устанавливающий связь между массой электропревращенного вещества и количеством затраченного электричества. Применение кулонометрии заметно сокращает время анализа по сравнению с классическими методами, время получения необходимой информации при одновременном снижении погрешности и увеличении точности полученных результатов.

Кулонометрический анализ обладает рядом существенных преимуществ по сравнению с другими физико-химическими методами анализа (надежное определение малых концентраций, легкость автоматизации, возможность использования неустойчивых реагентов, исключение стандартных растворов). Основным достоинством метода является возможность анализа без предварительной калибровки прибора по образцам с известным содержанием определяемого компонента (при наличии разработанной методики), между тем, частая калибровка присуща почти всем современным физико-химическим методам

анализа, в том числе важнейшим из них – оптическим, хроматографическим и полярографическим [46].

Область применения кулонометрии в настоящее время значительно расширилась вследствие развития теоретических основ электрохимии, использования новых электродных материалов, медиаторных систем, получения новых кулонометрических титрантов. В отечественной литературе методам кулонометрии уделено недостаточное внимание, и она еще мало используется в аналитической практике заводских и научно-исследовательских лабораторий. Практическое применение методик кулонометрического определения ограничено обеспечением лабораторий соответствующей аппаратурой, несмотря на то, что приборы для кулонометрического анализа выпускаются как в нашей стране, так и за рубежом в основном для анализа воды по методу Фишера.

Кулонометрические методы могут быть прямыми – когда определяемое вещество электролитически осаждается на электроде (снимается с него) или же окисляется или восстанавливается непосредственно на электроде и затем удаляется с него в массу анализируемого раствора. Они могут быть косвенными – когда на рабочем электроде генерируется какой-либо промежуточный компонент, количественно реагирующий с определяемым веществом. В первом из указанных вариантов контролируют потенциал рабочего (генераторного) электрода, во втором – силу тока, проходящего через электролитическую ячейку. Поэтому методы кулонометрического анализа (кулонометрические титрования) разделяют на две большие группы – кулонометрию при контролируемом потенциале (потенциостатическую) и кулонометрию при постоянной силе тока (гальваностатическую). Оба варианта, имеющие одну и ту же принципиальную основу, различаются по аппаратурному оформлению, технике определений и в некоторых случаях по достигаемой точности [46].

Следует отметить, что кулонометрия с контролируемым потенциалом является одним из наиболее точных и надежных методов аналитической химии. Потенциостатическая кулонометрия нашла более широкое применение в анализе неорганических соединений, поскольку далеко не все органические вещества электрохимически активны и электродные реакции большинства из них протекают в далекой катодной либо анодной области потенциалов с большим перенапряжением.

С точки зрения теоретических основ и прикладных аспектов гальваностатическая кулонометрия – весьма доступный для широкого применения метод, в котором основными контролируемыми параметрами являются время и сила тока. Имеющиеся в настоящее время приборы и устройства позволяют измерять эти параметры с очень высокой точностью. Кулонометрическое титрование при постоянной силе тока отличается простотой по своему инструментальному оформлению. Все это создает предпосылки для разработки высокочувствительных методик кулонометрического определения различных соединений.

Для индикации конечной точки кулонометрического титрования используют спектрофотометрический, хемилюминесцентный, потенциометрический,

Таблица 13. Антиоксидантная активность красных вин Италии

№	Образцы красных вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
	<b>Ароматизированные вина</b>		
1	Martini Rose, вермут, специальное	599.58±73.15	0.05
	<b>Denominazione di Origine Controllata e Garantita</b>		
2	Peppoli Chianti Classico, сухое	477.30±13.04	0.01
3	Кьянти, сухое	356.39±9.47	0.01
4	Кьянти классико, сухое	310.90±3.14	0.004
5	Кьянти, сухое	300.37±14.13	0.02
6	Кьянти классико резерва, сухое	261.71±6.29	0.01
7	Брунелло ди Монтальчино, сухое	252.82±3.17	0.005
8	Авиньонез Вино Нобиле, сухое	249.33±3.49	0.006
9	Кьянти Фиренце Понте Веччо, сухое	240.94±12.98	0.02
	<b>Denominazione di Origine Controllata</b>		
10	Valpolicella, сухое	566.96±17.28	0.01
11	Peppoli Chianti Classico, сухое	277.44±6.21	0.009
12	Кум лауде, сухое	274.99±6.29	0.009
13	Сито Мореско, сухое	236.54±3.29	0.009
14	Valpolicella, сухое	226.12±14.92	0.03
15	Монтепульчано д Абрुццо. Ла Карминая, сухое	202.40±8.26	0.02
	<b>Indicazione Geografica Tipica</b>		
16	Вилла антинори rosso Тоскана, сухое	302.49±2.78	0.005
17	Каберне Сира, Сицилия, сухое	295.82±9.33	0.01
18	Донна Мария Примитиво, сухое	287.68±11.35	0.01
19	Nero d' Avola, 2000, сухое	285.14±7.95	0.02
20	Rosso Conero, 1999, сухое	284.61±1.59	0.01
21	Неро ди Троя, Пулия, сухое	281.44±7.70	0.01
22	Примитиво, Пулия, 2000, сухое	280.90±6.36	0.02
23	Мерло Венето, сухое	266.67±4.24	0.006
24	Седара, сухое	244.07±11.00	0.02
25	Вальполличелла, сухое	240.96±8.47	0.01
26	Бардолино, сухое	234.19±20.62	0.03
27	Примитиво, сухое	229.48±9.90	0.02
28	Мерло Трентино, сухое	228.96±6.89	0.02
29	Сересо Альгьери Посесьюне Росо, полусухое	215.27±6.21	0.01
30	Росо Пулия, сухое	156.18±12.20	0.03
	<b>Vina da tavola</b>		



Таблица 12. Антиоксидантная активность французских белых вин

№	Образцы белых вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
	<b>АОС</b>		
1	Бордо, сухое		
2	Condrien AOC La Petit cote Yves Cuilleron, сухое	93.33±9.66	0.04
3	Chateaneuf du Pape 2003 chteau de la Gardine, сухое	89.46±8.83	0.04
	<b>Vin de table</b>		
4	Шарм де Франс, сухое	40.46±0.50	0.005
5	Плюи Д'ор, сухое	37.22±0.49	0.005

### СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ ИТАЛИИ

Законом от 1992 г было определено деление итальянских вин на следующие категории:

• **Vina da tavola (VT) – столовые вина**, имеющие несколько ограничений, в том числе содержание алкоголя не ниже 10% и упоминание в названии дополнительных описаний, таких как название винограда, имя виноградаря и т.д.

• **Indicazione Geografica Tipica (IGT)** - вина с указанием региона происхождения, где может обозначаться основной сорт винограда, год сбора урожая, имя производителя.

• **Denominazione di Origine Controllata – итальянская система DOC**, вина производятся в определенных регионах в соответствии с традиционными правилами, исконно существующими на данной территории по уровню урожайности, сортовому составу, способу и срокам выдержки вин, а также по минимальным параметрам готовых напитков (количество алкоголя, сахара, цвету, вкусу, аромату). Производителями таких вин указываются на этикетках винтаж, в некоторых случаях, сорта винограда. Термин Classico употребляется для обозначения того, что вино произведено на лучших участках данного региона, контролируется законодательно.

• **Denominazione di Origine Controllata e Garantita (DOCG)** - вина перед розливом в бутылки проходят тщательный отбор в дегустационном комитете. На горлышко бутылок вин этой категории наклеиваются специальные марки, розовая для красных вин и зеленая для белых.

• **Ароматизированные вина (AV)** – получили свое название от немецкого слова Wermut (полынь), лучшими в мире принято считать итальянские вермуты, особенно туринские.

При обработке полученных данных об АОА красных вин Италии, приведенных в табл. 13, в каждой категории были выделены подгруппы с определенным интервалом АОА, график приведен на рис. 12.

амперометрический методы. Наиболее распространенный способ – амперометрия с двумя поляризованными электродами.

В своей работе мы использовали универсальный прецизионный кулонометр «Эксперт-006» и более усовершенствованный «Эксперт-006- антиоксиданты» разработанные и серийно выпускаемые НПК ООО «Эконикс-Эксперт», г. Москва, №23192-02 в Госреестре СИ РФ средств измерений РФ [47]. Он используется для решения широкого круга химико-аналитических задач по определению массы вещества, содержащегося в растворе в форме ионов, комплексных соединений, нейтральных молекул и других электроактивных соединений. Вид прибора показан на рисунке 2, технические и метрологические характеристики прибора приведены в таблицах 1, 2.



Рис. 2. Кулонометр «Эксперт-006»

#### Комплект поставки:

- ИП «Эксперт-006»
- электрохимическая ячейка
- генераторные электроды
- индикаторный электрод
- магнитная мешалка ПЭ-6100
- блок питания
- кабель ПК
- ПО
- документация

Эксплуатационные преимущества кулонометра «Эксперт– 006»

#### Технические:

- современная элементная база
- мощный микропроцессор
- возможность работы со сменными ячейками
- легкое и удобное подключение к ПК через интерфейс RS 232
- вывод результатов измерения на дисплей прибора или ПК

#### Аналитические:

- возможность работы и построения графиков без компьютера
- титрование до заданной точки или анализ всей кривой титрования
- возможность записи в память прибора результатов измерений количества вещества с указанием времени измерения

Электрогенерация титрантов в ячейке дает явные преимущества: позволяет использовать неустойчивые реагенты, исключает их хранение и стандартизацию, обеспечивает прецизионность и возможность определения малых содержаний веществ. В некоторых случаях электрогенерированные титранты в момент образования являются более реакционноспособными, чем их растворы. Остановимся кратко на возможностях гальваностатической кулонометрии при анализе образцов органического происхождения.

Таблица 1 – Технические характеристики кулонометра «Эксперт-006»

Режимы работы:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• гальваностатический с уменьшением величины тока при приближении к точке эквивалентности</li> <li>• автоматический с учетом дрейфа</li> </ul>
Индикация точки эквивалентности:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• по потенциометрическому сигналу</li> <li>• по оптическому сигналу (изменению цвета)</li> <li>• по изменению электропроводности или поляризационного сопротивления</li> </ul>
Дисплей	ЖК графический с яркой подсветкой
Потребляемая мощность	не более 6 Вт
Питание через БП от сети	220 В
Масса анализатора	не более 0.95 кг.
Время установления рабочего режима	не более 20 мин.
Продолжительность непрерывной работы	не менее 20 часов
Габаритные размеры ИП (ширина x длина x высота), мм	220 x 210 x 70

Ранее электрогенерированные титранты применяли для определения индивидуальных соединений. Были найдены условия генерации новых кулонометрических титрантов путем анодного растворения активных металлов, электроокисления или восстановления соответствующих солей металлов и соединений галогенов в водных и водно-органических средах.

64	Кюве де Дюа, сухое	168.05±5.68	0.01
65	Ле жарден дю руа, полусладкое	165.51±6.65	0.01
66	Луи Мондевил Мерло, сухое, "Paul Sapin"	154.67 ± 8.32	0.02
67	Луи Мондевил Сира, сухое, "Paul Sapin"	154.08 ± 8.91	0.02
68	Тайан руж, полусухое	149.57±3.89	0.01
69	Луи Мондевил Каберне Совиньон, сухое	144.11 ± 9.15	0.02
70	Тур дю Рев, сухое	141.52±9.19	0.03
71	Селекцион Сан-Мишель, сухое	127.36±6.20	0.02

При обработке полученных данных, приведенных в табл. 11 в каждой категории были выделены подгруппы с определенным интервалом АОА, график приведен на рис. 11.

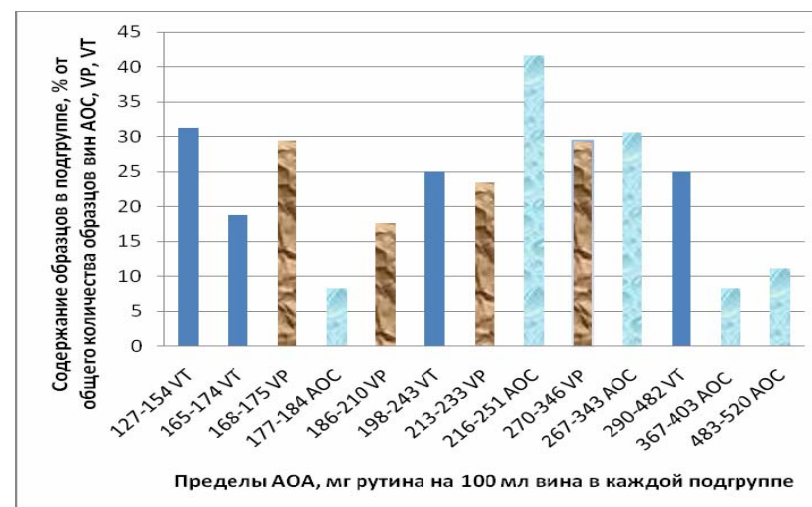


Рис. 11. Распределение красных вин Франции по подгруппам в зависимости от категории качества и антиоксидантной активности

Из графика видно, что по такому показателю как АОА красные столовые вина не уступают винам более высокой категории. Вероятно, это связано с тем, что вина категории АОС производят по более сложной технологии, результаты которой могут в некоторых случаях оказать негативное влияние на АОА вина.

25	Шато Линч баж, сухое	241.19±9.66	0.02
26	Шамболь Мюзиньи, сухое, 2003	235.83±8.29	0.01
27	Шато Марки д'Алем (Марго), сухое	232.80±10.24	0.02
28	Шато д'Армайяк, сухое	229.84±13.62	0.02
29	Шато Жискур (Марго) сухое, 2001	225.70±11.27	0.02
30	Вон Романе, сухое	223.45±9.92	0.02
31	Шато Линч баж, сухое	219.67±3.04	0.005
32	Шато дю Тертр (Марго), сухое	216.80±12.05	0.02
33	Резерв Спесьяль Руж, сухое	216.42±5.63	0.01
34	Dupray Saint-Emilion, сухое	183.60±3.23	0.007
35	Бургонь Пино Нуар Бошарм, сухое, 2006	183.44±0.16	0.003
36	Божоле Жан Девиль, Бургундия, сухое, 2001	177.48±6.88	0.02
	<b>Vin de Pays</b>		
38	Мерло Луи Эшенауэр, сухое	346.30±6,50	0.008
39	Каберне совиньон, сухое	316.95±16.35	0.02
40	Алексис Лишин Каберне Совиньон, сухое	314.03±12.01	0.01
41	Мерло, сухое	302.41±3.32	0.004
42	Крессманн Мерло, сухое	270.18±6.34	0.009
43	Мерло Ж.П.Шене, полусухое	232.83±9.91	0.02
44	Франсуа дюлак, сухое	229.73±3.69	0.006
45	Флер де Амур, полусухое	222.00±9.19	0.03
46	Каберне, сухое	212.89±1.02	0.02
47	Каберне-Сира. Ж. П. Шене, сухое	209.82±0.78	0.01
48	Нозми Верми Каберне совиньон, сухое	195.95±16.49	0.03
49	Патримуан, сухое	186.14±12.13	0.03
50	Бриз де Франс Каберне Совиньон, сухое	174.95 ± 9.03	0.02
51	Бриз де Франс Мерло, сухое	174.83 ± 11.02	0.02
52	Барон де Бюфон, сухое	173.55±10.13	0.02
53	Бистро де Франс Мерло, сухое	171.90 ± 1.47	0.003
54	Бистро де Франс Каберне Совиньон, сухое	168.03 ± 10.73	0.03
	<b>Vin de table</b>		
55	Же Тэм, сухое	481.94±12.53	0.03
56	Булонский пикник, сухое	302.83±9.51	0.01
57	Кюве Престиж, сухое	293.79±4.80	0.01
58	Принцесса Мари, сухое	290.12±12.71	0.02
59	Гран гурман, сухое	242.91±11.83	0.02
60	Кюве дю Пап, сухое	229.87±5.20	0.009
61	Плюи Д'ор, сухое	226.18±7.67	0.01
62	Флер де Франс, сухое	198.46±10.56	0.02
63	Барон де Берне, сухое	173.59±11.36	0.03

Таблица 2 – Метрологические характеристики кулометра «Эксперт-006»

Пределы допускаемой основной относительной погрешности измерительного преобразователя	± 0,2 %
Пределы допускаемой основной относительной погрешности анализатора с использованием комбинированного рН-электрода в качестве индикаторного электрода	± 2,0 %
Пределы допускаемой дополнительной относительной погрешности анализатора при изменении температуры окружающего воздуха на каждые 10 °С относительно температуры (20 ± 1) °С	± 0,05 %

Принцип работы анализатора основан на использовании закона Фарадея, согласно которому масса анализируемого вещества определяется количеством электричества, израсходованного на проведение реакции. Анализатор регистрирует время электролиза и рассчитывает, согласно закону Фарадея, количество определяемого вещества  $n$ , содержащейся во введенной в кулометрическую ячейку пробе. Величина  $n$  прямо пропорционально количеству электричества  $Q$ , проходящего через электролит:

$$n = \frac{M \cdot Q}{z \cdot F} = \frac{M \cdot \int I dt}{z \cdot F}$$

где:  $M$  – молекулярная масса определяемого вещества;

$I$  – сила тока, А;

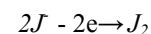
$t$  – время электролиза, с;

$z$  – количество электронов, переходящих в ходе электродной реакции;

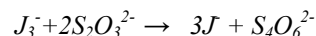
$F$  – константа Фарадея (96485,3415 ± 0,0039), Кл/моль.

Анализатор предназначен для проведения кулометрического анализа количества определяемого вещества при постоянной силе тока (кулометрического титрования). При этом в электролит добавляют вещество, из которого при электролизе получается некоторый промежуточный компонент, способный сравнительно быстро и стехиометрически реагировать с определяемым веществом [48].

Например при йодометрическом определении тиосульфата в электролит (йодистый калий в ацетатном буфере) добавляют вещество (тиосульфат натрия), способное сравнительно быстро и стехиометрически реагировать с определяемым веществом. При электролизе в ячейке происходит анодное окисление йодид-ионов с образованием элементарного йода



Метод определения основан на окислении сернистой кислоты йодом в серную кислоту в кислой среде.



Точка эквивалентности обнаруживается по появлению в ячейке элементарного йода с помощью специальных бипотенциометрических электродов, а в потенциостатическом режиме увеличение концентрации йода приводит к возрастанию силы тока между индикаторными биамперометрическими электродами и при достижении некоего заданного значения силы тока электролиз прекращается. В обоих случаях анализатор регистрирует время электролиза [48].

Определение индивидуальных антиоксидантных соединений в сложной системе может встретить определенные трудности, если не провести предварительного их разделения. Однако этот недостаток метода может сыграть положительную роль, если использовать недорогой, экспрессный и надежный кулонометрический способ для оценки суммарного содержания АО в растительном сырье, пищевых продуктах и лекарственных материалах. В этом случае гальваностатическая кулонометрия выступает как универсальный аналитический метод для определения не только индивидуальных соединений различной природы, но также и для установления интегрального показателя качества продуктов [49]. В работе применен подход к оценке интегральной АОЕ с помощью электрогенерированных титрантов. Выбор электрогенерированных соединений галогенов в качестве титрантов обусловлен их способностью вступать в радикальные и окислительно-восстановительные реакции, а также в реакции электрофильного замещения и присоединения по кратным связям, что позволяет охватить практически все группы биоантиоксидантов. Электрогенерация галогенов осуществлялась в потенциостате П-5827 М при постоянной силе тока 5.0 мА из водных 0.2 М растворов KCl и KBr в 0.1М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и KI на фоне тартратного буферного раствора с рН=3.56. Конечную точку кулонометрического титрования определяли амперометрически с двумя поляризованными игольчатыми платиновыми электродами (E=300 мВ).

Чернышевой Н.Н. были разработаны методики кулонометрического определения фармпрепаратов различной природы, в основе которых лежат реакции кислотно-основного, окислительно-восстановительного взаимодействия и осаждения. Анализом при этом служили витамины С, Р, Е, А, группы В, гидразиды кислот и их производные, сульфаниламидные препараты, пуриновые алкалоиды, салициловая кислота и ее производные, аминокислоты и различные азот- и серосодержащие лекарственные препараты. Однако, в ряде случаев кроме отдельных компонентов необходимо было определять обобщенные показатели, отражающие свойства анализируемого объекта в целом [49].

В аналитической химии такие задачи, т.е. оценка обобщенных показателей для характеристики различных объектов стали появляться особенно часто в последнее десятилетие (рис. 3). Зачастую они связаны с проблемами биологии и медицины, охраны окружающей среды и оценки качества пищевых продуктов и напитков. С одной стороны к общим показателям можно отнести величины, характеризующие суммарное содержание какого-либо элемента, находящегося в различных формах в образце (общее содержание серы, азота, ртути, углерода и

## СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ ФРАНЦИИ

Национальный институт контроля по происхождению – INAO был основан в 1935 году, он выделил четыре категории качества французских вин:

- **Vin de table** – столовые вина,
- **Vin de Pays** – местные вина,
- **Vin de limité de qualité supérieur** – деклассифицированные вина с определенным местом происхождения,
- **Vin d' appellation d' origine controlee (АОС)** – вина контролируемого наименования по происхождению.

Таблица 1. Антиоксидантная активность французских красных вин

№	Образцы красных вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
	<b>АОС</b>		
1	Castel Cabernet Sauvignon, полусухое 2005	519.84±8.69	0.007
2	Dupray Sairf-Emilion, сухое	513.56±12.41	0.01
3	Бордо, сухое	503.68±13.03	0.01
4	Chavron Cabernet Sauvignon, сухое	483.06±19.43	0.02
5	Шато бегивиль (Марго, Бургундия), сухое	402.87±32.03	0.03
6	Бордо Премиум Yvon Mau, сухое 2005	401.95±10.35	0.01
7	Мерло Бургонь Шардоне, полусухое	367.29±15.87	0.01
8	Бордо Премиум Yvon Mau, сухое	342.94±6.11	0.02
9	Шато бегивиль, сухое	342.06±9.93	0.01
10	Жевре-Шамбертан, Бургундия, сухое, 2001	331.91±26.51	0.03
11	Cote-Rotie АОС Yves Cuilleron, сухое	328.00 ±13.65	0.02
12	Ле Жарден Дю Руа, полусладкое, 2005	326.06±12.04	0.01
13	St.emillion Grande Cru, сухое	312.29±8.17	0.01
14	Kahor Бордо, сухое, 1999	310.10±14.27	0.02
15	Pomerol Chateau Nenin, сухое	289.78±6.90	0.01
16	ME DOC (DULONG) АОС Бордо, сухое	289.38±23.75	0.03
17	Жевре-Шамбертан, сухое	281.81±6.98	0.01
18	Шато Кантмерль (О-Медок), сухое	266.68±8.62	0.01
19	Шато Бонне, сухое, 2004	250.92±5.65	0.009
20	Шато Ля Гург (Марго), сухое	250.87±8.77	0.01
21	Шато Миль Роз (О-Медок), сухое	248.05±7.78	0.01
22	Бордо Medok Dulong, сухое	246.92±20.14	0.03
23	Бордо, сухое	244.35±3.78	0.006
24	Сен Жюльен Градиссон, сухое	242.09±6.84	0.01

20	Гянджа, полусладкое, г. Гянджа	135.20 ± 7.74	0.002
21	Каспийский берег, полусладкое, г. Гянджа	134.50 ± 10.52	0.03
22	Мадраса, сухое, г. Габала,	115.62 ± 3.93	0.01
23	Шахдаг, полусладкое, г. Габала	109.52 ± 1.97	0.007
24	Акстафа, полусладкое, г. Габала	105.42 ± 1.99	0.007
25	Шемаха, полусладкое, г. Габала	103.31 ± 5.51	0.02
<b>Белые вина</b>			
26	Херес Массандра, крепкое, специальное, НΠΑО «Масандра», Ялта, Украина	149.80±5.47	0.01
27	Злато Молдовы, полусладкое. АО «Орхей-Вин», Молдова	62.13±8.34	0.05
28	Мадера крымская, крепкое, специальное, НΠΑО «Масандра», Ялта, Украина	62.12±2.98	0.02
29	Портвейн Белый Сурож, специальное, НΠΑО «Масандра», Ялта, Украина	53.53±3.82	0.03
30	Ркацители, сухое, Украина	28.11±1.24	0.02

На рис. 10 приведен график зависимости содержания образцов в подгруппе от пределов АОА в порядке ее увеличения, самые низкие значения отмечены у белых вин (БВ 28 - 62,1 мг рутина на 100 мл вина), хотя украинский Херес Массандра по своей АОА обошел красные вина Азербайджана (АЗ) и Молдавии (МД) (БВ УК 150 мг рутина на 100 мл). Низкие значения найдены для азербайджанских красных вин, которые разделились на две подгруппы с АОА в пределах от 103 до 139 мг рутина на 100 мл вина. Самые высокие значения определены для красных вин Грузии (ГР), которые разделены по АОА на три подгруппы (155 – 192, 223 – 317 и 320 – 362 мг рутина на 100 мл вина). Единственный образец вина Армении (АР) имел АОА 283 мг рутина на 100 мл вина.



Рис. 10. Распределение вин Грузии, Молдавии, Армении, Украины, Азербайджана по подгруппам в зависимости от антиоксидантной активности

т.п.). С другой стороны обобщенные показатели могут качественно характеризовать тот или иной объект, например, отражая общее содержание тяжелых металлов, суммарное содержание в объекте кислот, окислителей, восстановителей, отдельного класса органических соединений, содержащих однотипные функциональные группы [50].

Обобщенные показатели – это первый шаг в создании надежных и экспрессных тест-методов, с помощью которых можно контролировать качество различных продуктов, характеризовать состояние той или иной системы (рис.3).



Рис. 3. Обобщенные показатели в аналитической химии

Актуальным в настоящее время является определение суммарного содержания антиоксидантов в биологических объектах, то есть оценка их АОЕ.

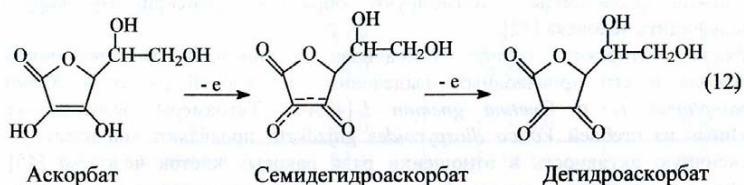
До настоящего времени отсутствует строго определенная стандартная единица измерения интегральной АОЕ различных объектов. В зависимости от применяемого метода в литературе встречаются различные способы выражения АОЕ, вследствие чего возникают определенные трудности при сопоставлении полученных результатов. Интегральная АОЕ выражается либо в пересчете на индивидуальное соединение (например, кверцетин, рутин, аскорбиновую кислоту и т.д.), либо в абсолютных концентрациях и характеризуется числом кинетических



цепей окисления, которые могут оборваться единицей объема тестируемого объекта.

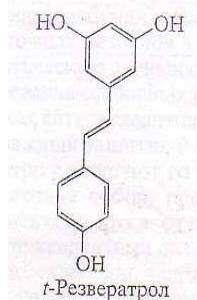
Аскорбиновая кислота реагирует с электрогенерированным йодом и бромом в соотношении 1 : 1 с образованием дегидроаскорбиновой кислоты.

Отрыв одного электрона от аскорбиновой кислоты приводит к образованию семидегидроаскорбата, который в результате дальнейшего окисления переходит в дегидроаскорбат. Это взаимодействие может быть представлено следующей схемой:



Рутин, кверцетин и дигидрокверцетин в реакцию с электрогенерированным йодом не вступают, а с бромом реагируют с количественным выходом. Стехиометрические коэффициенты реакций растительных полифенолов с электрогенерированным бромом, равны 1:2 для рутина и кверцетина; 1:3 для дигидрокверцетина [49].

Из полифенольных соединений, исключение составляет резвератрол, который, в отличие от рутина, кверцетина и дигидрокверцетина реагирует с электрогенерированным йодом [34]:



Группа ученых под руководством Pezzuto J. из университета в Иллинойсе выявила целебные свойства резвератрола, который активен в трех фазах рака:

- в первой фазе возникновения опухоли он демонстрирует антиокислительный эффект и блокирует мутацию ДНК;

- во второй фазе «продвижения» раковой клетки он усиливает иммунную реакцию и подавляет циклооксигеназы – ферменты, вызывающие рост и размножение раковых клеток;

- в третьей фазе увеличения опухоли он мешает размножению и распространению раковых клеток по всему организму.

Было показано, что потенциальной активностью против рака обладают также флавоноиды, выделенные экстракцией из растения *Chorizauthe diffuse*,

## СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ ГРУЗИИ, МОЛДАВИИ, АРМЕНИИ, УКРАИНЫ, АЗЕРБАЙДЖАНА

По причине малого количества образцов от каждой из стран СНГ мы объединили их в подгруппы по мере убывания АОА, результаты приведены в табл. 10.

Таблица 10. Антиоксидантная активность вин Грузии, Молдавии, Армении, Украины, Азербайджана

№	Образцы вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
<b>Красные вина</b>			
<b>Грузии</b>			
1	Мукузани Talisman, сухое	362.10±38.26	0.04
2	Алазанская долина, полусладкое Шота, «Тифлиский марани», 2005	320.42±1.29	0.002
3	Киндзмараули Talisman, полусладкое	316.98±30.16	0.04
4	Киндзмараули Сенакури, полусладкое	275.30±34.25	0.05
5	<b>Киндзмараули, сухое</b>	222.84±9.72	0.02
6	Алазанская долина, сухое	192.26±8.34	0.02
7	<b>Алазанская долина, сухое</b>	174.15±15.77	0.04
8	Киндзмараули Шота, сухое	155.43±16.12	0.04
<b>Молдавии</b>			
9	Грант Пино-Фран, полусладкое, «Басвинекс», г. Кишинев	306.78±9.04	0.01
10	Пино Фран, сухое, АО «Басвинекс», г. Кишинев	201.48±9.10	0.02
11	Кагор "Особый", специальное, ООО "Николь", г. Кишинев	197.69±7.42	0.02
12	Мускат, полудесертный, розовый, ООО «Винария Бостван», г. Кишинев	154.24±0.28	0.001
13	Букет Дионисос, специальное крепкое розовое	133.06±4.76	0.01
<b>Армении</b>			
14	Старый Иджеван, сухое	283.06±6.22	0.01
<b>Украины</b>			
15	Портвейн Массандра марочный, 2000, специальное, Ялта	217.98±8.66	0.02
16	Портвейн Массандра, розовый, специальное, Ялта	117.92±8.64	0.03
<b>Азербайджана</b>			
17	Букет Азербайджана, полусладкое, г. Ганджа	138.84 ± 9.61	0.03
18	Семь красавиц, полусладкое, г. Ганджа	137.90 ± 8.68	0.03
19	Огни Баку, полусладкое, г. Гянджа	136.25 ± 9.03	0.02

17	Херес, специальное, винзавод «Голубицкая», станция Голубицкая	50.35±4.24	0.04
18	Портвейн 33, специальное, Ставропольский край	46.52±0.43	0.003
19	Портвейн 777, специальное, Ставропольский край	42.42±1.58	0.02
20	Мускат, полусладкий, Тверская область	42.36±0.88	0.008
21	Мускат, полусладкий, Краснодарский край	41.64±0.44	0.004
22	Донская ночь, полудесертное, специальное, Ростовская область	41.07±2.48	0.02
23	Шардоне, полусладкое, Краснодарский край	40.85±0.23	0.002
24	Портвейн 72, специальное, Ставропольский край	39.75±1.00	0.01
25	Портвейн 33, специальное, Ставропольский край	39.67±0.59	0.01
26	Мускат, полусладкий, Краснодарский край	38.23±0.21	0.002
27	Мускат, полусладкий, Винзавод «Казанский»	34.68±1.15	0.02
28	Шардоне, полусладкое, Темрюкский район	34.45±0.99	0.01
29	Совиньон, полусладкое, Краснодарский край	33.62±0.24	0.003
30	Портвейн 72, специальное, Ставропольский край	30.85±1.62	0.02
31	Шардоне, полусладкое, Винзавод «Казанский»	29.64±1.52	0.02
32	Мускат, полусладкое, Калужская область	28.62±0.68	0.01
33	Мускат, полусладкое, Ленинградская область	28.41±0.30	0.004
34	Мускат, полусладкое, РСО-Алания	27.91±0.34	0.005
35	Мускат, полусладкое, Краснодарский край	23.71±0.68	0.01

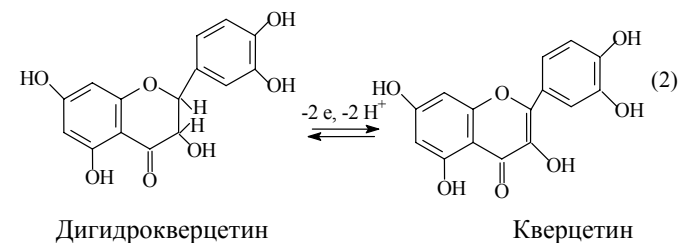


Рис. 9. Распределение белых вин России по подгруппам в зависимости от антиоксидантной активности

проявляющие АО-активность в опытах со стабильным 1.1-дифенил-2-пикрилгидразильным радикалом и в индуцируемом форбол-13-ацетатом образовании CP в клетках HL-60 [51]. Производные антрацена, выделенные из растительного сырья рекомендованы для химиотерапии злокачественных опухолей [52]. Тетрамеры резвератрола, выделенные из растения *Vatica diospyroides* экстракцией этилацетатом, проявляют значительную цитотоксическую активность в отношении ряда раковых клеток человека [53]. Растительные флавоноиды ингибируют обратную транскриптазу вируса иммунодефицита человека [54].

Рядом авторских групп исследована антиоксидантная активность резвератрола и его производных, выделенных из корней растений *Rumex bucephalophorus L.* и *Gnetum gnetum L.* [55,56]. Тетрамеры резвератрола, выделенные из стеблей *Vatica diospyroides* проявляют значительную цитотоксическую активность в отношении ряда раковых клеток человека [57]. Резвератрол в сочетании с янтарной кислотой используют в составах на основе полипептидов с амилазной активностью замедляющих старение кожи и ускоряющих лечение псориаза, дерматитов и других кожных заболеваний [58].

Дигидрокверцетин является восстановленной формой кверцетина, и поэтому при переходе по цепи окисления дигидрокверцетин можно перевести в кверцетин, затратив 2 электрона в соответствии со схемой 2, что подтверждается экспериментальными данными:



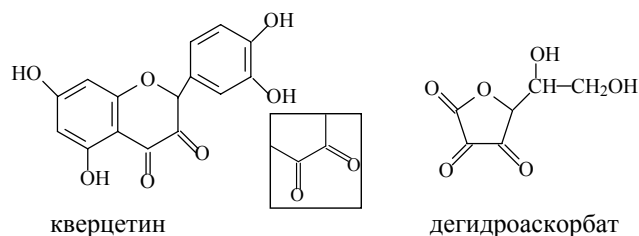
Этот процесс является обратимым и протекает в клетках живого организма. На основании экспериментальных данных можно сделать вывод, что дигидрокверцетин является более сильным восстановителем, а для эффективного действия рутина и кверцетина необходима аскорбиновая кислота. Дигидрокверцетин получают из древесины лиственницы сибирской, он относится к группе витамина P, обладает высокой степенью биологической активности и оказывает положительное действие на обменные реакции и динамику различных патологических процессов (тормозит развитие опухолей, снижает вероятность заболевания диабетом, обладает сосудоукрепляющим действием [59]).

Различие в реакционной способности аскорбиновой кислоты и растительных полифенолов с галогенами дает возможность разработать способы кулометрического определения их в смесях. Результаты представлены в таблице 3 - электрогенерированным йодом определяется лишь аскорбиновая кислота, а бромом вся сумма АО

Таблица 3 – Результаты кулонометрического определения смесей аскорбиновой кислоты и растительных полифенолов (n=5, P=0,95)

№	Смесь	Введено, мг	Найдено, мг	S <sub>x</sub>
1	Аскорбиновая кислота	53.8	60.2±7.1	0.05
	Рутин	57.8	53.1±11.2	0.09
2	Аскорбиновая кислота	23.9	24.4±2.3	0.08
	Кверцетин	10.0	12.2±0.9	0.03
3	Аскорбиновая кислота	63.1	63.0±3.0	0.02
	Дигидрокверцетин	53.8	47.4±5.2	0.04

В водных растворах рутин, кверцетин и дигидрокверцетин не устойчивы и легко окисляются. Стабильность в водных растворах возрастает в ряду рутин < дигидрокверцетин < кверцетин, поскольку кверцетин является наиболее окисленной формой и в меньшей степени подвержен действию растворенного кислорода, что объясняется идентичностью структур фрагмента окисленной формы аскорбиновой кислоты и кверцетина (рутина):



При введении аскорбиновой кислоты в растворы окисление растительных полифенолов значительно замедляется в ряду: кверцетин > дигидрокверцетин > рутин, при этом аскорбиновая кислота практически полностью расходуется. Это связано с тем, что аскорбиновая кислота, проявляя антиоксидантные свойства, стабилизирует растительные полифенолы, сама в первую очередь участвует в реакции как восстановитель. Меньшая устойчивость рутина в этом ряду, очевидно, обусловлена его гидролизом, при котором образуется легкоокисляющийся сахар – глюкоза. Эти наблюдения имеют практическое значение для стабилизации полифенолов в пищевых продуктах, или их использовании в качестве антиоксидантов [60].

Чернышевой Н.Н. кулонометрическим титрованием с помощью электрогенерированного брома установлено, что существует обратная пропорциональная зависимость окислительно-восстановительного потенциала от lg(AOE) пива и вин (рис. 4,5) [49].



Рис. 8. Распределение красных вин России по подгруппам в зависимости от антиоксидантной активности

Таблица 9. Антиоксидантная активность российских белых вин

№	Образцы белых вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
1	Геленджик, сухое, Краснодарский край	131.67±8.33	0.02
2	Мадера, специальное, ООО «Крымский винный завод», г. Крымск, Краснодарский край	129.10±4.96	0.01
3	Мадера, специальное, ООО «Крымский винный завод», г. Крымск, Краснодарский край	128.73±3.93	0.01
4	Херес таманский, специальное, ООО «Крымский винный завод», г. Крымск, Краснодарский край	122.16±6.78	0.02
5	Мускат, полусладкое, Ленинградская область	113.20±4.72	0.02
6	Совиньон, столовое, полусладкое, Винзавод «Казанский»	110.74±3.72	0.01
7	Совиньон, столовое, полусладкое, Винзавод «Казанский»	103.96±3.23	0.01
8	Шардоне, полусладкое, г. Челябинск	94.81±0.08	0.005
9	Портвейн 777, специальное, Ставропольский край	86.01±1.99	0.009
10	Портвейн 72, специальное, Ставропольский край	74.07±1.24	0.007
	Граса де Котнар, полусладкое, Винзавод «Казанский»	69.46±4.00	0.02
11	Алиготе, полусладкое, Винзавод «Казанский»	67.23±1.74	0.01
12	Совиньон, полусладкое, Винзавод «Казанский»	66.95±2.98	0.02
13	Алиготе, сухое, Винзавод «Казанский»	64.97±3.23	0.02
14	Алиготе, сухое, Винзавод «Казанский»	63.00±2.23	0.01
15	Ркацителы Тамани, сухое, Винзавод «Казанский»	59.47±1.27	0.01
16	Портвейн Анапа, специальное, г. Анапа	50.88±1.06	0.01



28	Мерло, сухое.	212.33±0.69	0.001
29	Кагор бальзамный, ароматизированный натуральными травами, специальное, АОА АПФ «Фанагория», Краснодарский край	206.96±4.56	0.01
30	Виноградная долина, сухое, Краснодарский край	205.87±2.44	0.005
31	Изабелла, сухое, г. Темрюк	191.33±3.71	0.01
32	Кагор 32, специальное, десертное, г. Краснодар	183.38±9.93	0.02
33	Деласи, вермут, ароматизированное, Ставропольский край	169.49±4.04	0.01
34	Пино-Фран, розовое полусладкое, Краснодарский край	160.55±2.48	0.006
35	Каберне, сухое, Краснодарский край	156.10±5.24	0.01
36	Изабелла, полусладкое	148.70±0.74	0.002
37	Изабелла Жемчужная, полусладкое, ЗАО "Жемчуг"	142.04±6.36	0.02
38	Земфира, полусладкое, РСО-Алания	135.42±3.74	0.01
39	Каберне, сухое, Краснодарский край	114.38±2.67	0.009
40	Кагор, специальное, десертное, РСО-Алания	107.68±4.48	0.02
41	Изабелла, столовое, сухое, Винзавод «Казанский»	102.41±5.83	0.02
42	Изабелла, столовое, сухое, Винзавод «Казанский»	102.24±5.92	0.02
43	Изабелла, полусладкое, Московская область	96.66±4.15	0.02
44	Каберне, полусладкое, г. Майкоп	85.40±6.51	0.03
45	Кагор отборный, специальное, десертное, г. Дигора	83.74±2.65	0.01
46	Изабелла, полусладкое, г. Майкоп	78.06±4.01	0.02
47	Каберне, сухое, г. Майкоп	72.76±5.87	0.03
48	Кагор специальный, специальное, десертное, РСО-Алания	48.76±3.66	0.03
49	Целитель, полусладкое, ароматизированное натуральными травами, специальное, Краснодарский край	41.76±3.02	0.03
50	Каберне, сухое, РСО - Алания.	16.21±0.86	0.02
51	Кагор, специальное, десертное, г. Реутов	12.56±0.42	0.01

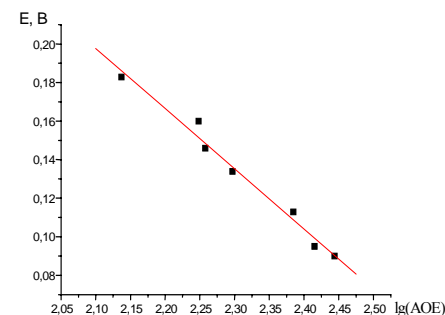


Рис.4 Зависимость окислительно-восстановительного потенциала пива от  $\lg(\text{AOE})$   
 $(Y = (0.85 \pm 0.04) - (0.31 \pm 0.02)\lg X,$   
 $R = 0.99)$

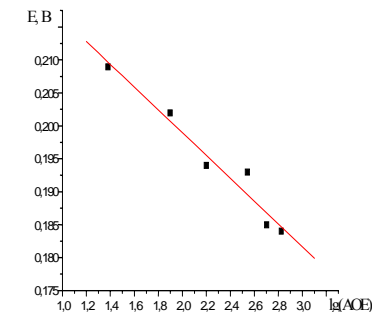


Рис.5 Зависимость окислительно-восстановительного потенциала виноградных вин типа "Кагор" от  $\lg(\text{AOE})$   
 $(Y = (0.233 \pm 0.004) - (0.017 \pm 0.002)\lg X,$   
 $R = 0.98)$

Величина ОВП не является количественной оценкой противоокислительных свойств, а отражает отношение концентраций окисленных и восстановленных форм биологически активных компонентов в образцах. Обратная пропорциональная зависимость ОВП от  $\lg(\text{AOE})$  наблюдается только в пределах данной группы исследуемых объектов. Поэтому, сравнение различных сортов вин и напитков по величине ОВП не дает объективной информации об их качестве [49].

С 2003 года в научной литературе термин АОЕ для биологических образцов стал применяться реже и получил распространение термин АОА, поскольку активность есть проявление свойств конкретных биологических образцов взаимодействовать с электрогенерированными галогенами в пересчете на рутин, кверцетин или дегидрокверцетин. Этому показателю АОА в своих разработках мы отдаем предпочтение по сравнению с ранее применявшимся прототипом АОЕ.

В обзорах [61,62] авторы отмечали объективную невозможность существования не то что единого метода для оценки АОА соединений, но и даже возможности сравнения результатов, полученных разными методами в связи с многообразием протекающих в природе радикальных процессов. Поэтому каждый исследователь выбирает готовый, создает новый или модифицирует уже известный метод, исходя из своих целей и возможностей.

В работе [63] приводится АОА стандартных АО: галловой кислоты, мочевой кислоты, тролокса и аскорбиновой кислоты, измеренная методами TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), TRAP (total radical trapping antioxidant parameter), AOP (antioxidant power), ARP (antiradical power), и амперометрически.

Таблица 4 - Результаты определения разными методами антиоксидантной активности флавоноидов, оксикислот, витаминов, фенольных соединений

Соединения – антиоксиданты	TEAC [64,65]	C 1/2, мМ [64,65]	AOP, моль/моль [66]	ARP, моль/моль [66]	Амперометрический способ [63]
<b>Стандартные вещества</b>					
Тролокс	1.0	1.05	-	-	-
Аскорбиновая кислота	0.8	0.92	-	-	-
Мочевая кислота	0.78	1.07	4763	11.1	3754
Кверцетин	10.6	0.19	4763	11.1	3754
Дигидрокверцетин	-	-	-	-	3924
Рутин	4.8	0.28	617	1.18	767
$\alpha$ - Токоферол	-	-	-	4.1	-
Галловая кислота	5.42	0.58	2684	12.5	3700
Пирокатехин	0.49	2.14	-	-	-
Фенол	0.34	3.15	-	-	-
Мексидол	-	-	-	-	2224
<b>Флавоноиды</b>					
Нарингенин	1.3	1.76	63	0.02	-
Генистеин	1.3	1.76	-	-	-
(+) Катехин	-	-	2148	9.1	-
(-) Эпикатехин	-	-	567	-	-
(-) Эпигаллокатехин	-	-	2538	-	-
Мирицетин	-	-	1600	-	-
Изокверцетин	-	-	832	8,6	-
<b>Ароматические кислоты</b>					
Кофейная	0.64	2.02	2860	9.1	-
Феруловая	-	-	340	2.3	-
Сиреневая	-	-	202	-	-
Ванилиновая	-	-	126	0.17	-
p – Кумариновая	-	-	164	0.02	-

В таблице 4 приведены значения АОА, измеренные данными методами, которые в большинстве случаев не сопоставимы.

Исследованы водные и водно-спиртовые экстракты лекарственных растений на АОА с использованием электрогенерированных радикалов брома и хлора, а также методом ванадатной окисляемости.

Результаты исследований представлены в таблицах 5 и 6.

Корреляционный анализ показал линейную зависимость Ванадатной окисляемости от АОА по бром (Y = 38.212X, R<sup>2</sup> = 0.972) и по хлору (Y = 66.571X, R<sup>2</sup> = 0.982). Найдена линейная зависимость АОА по хлору от АОА по бром (Y = 0.574X, R<sup>2</sup> = 0.989).

Таблица 8. Антиоксидантная активность российских красных вин

№	Образцы красных вин	АОА вина	S <sub>x</sub>
1	Геленджик, сухое, Краснодарский край	687.41±32.88	0.02
2	Мерло, сухое, Ленинградская область	546.93±15.52	0.01
3	Саперави, сухое, Ростовская область	445.90±20.77	0.02
4	Мерло Фанагории, сухое, Краснодарский край	439.66±13.34	0.01
5	Донское, полусладкое, Ростовская область	400.11±12.34	0.01
6	«Кагор Роше Де Десерт», специальное, десертное, винзавод «Казанский»	390.12±2.14	0.02
7	Кагор, специальное, десертное, 2005, г. Темрюк	386.37±11.13	0.01
8	Кагор 32, специальное, десертное, Ставропольский край	355.10±21.20	0.02
9	Цимлянское черное, сухое, Краснодарский край	354.81±19.19	0.02
10	Кагор, специальное, десертное, винзавод «Казанский»	338.54±11.14	0.01
11	Казачка, полусладкое, Ростовская область	334.08±3.32	0.004
12	Кармен-Сюита, сладкое, Ставропольский край	310.33±0.59	0.001
13	Саперави, полусухое, г. Челябинск	307.67±20.71	0.03
14	Изабелла розовое, полусухое, г. Челябинск	306.84±7.37	0.01
15	Мерло, полусухое, г. Челябинск	299.74±9.93	0.01
16	Пьер Руж, сухое, г. Черноголовка	298.31±11.62	0.01
17	Каберне Совиньон, сухое, винзавод «Казанский»	289.09±18.18	0.02
18	Пино-Фран, розовое полусладкое, Краснодарский край	276.27±2.49	0.004
19	Кагор ВК, специальное, десертное, Московская область	274.27±6.57	0.01
20	Кагор 32, специальное, десертное, г. Анапа	266.06±6.36	0.02
21	Каберне Геленджика, сухое, Краснодарский край	262.14±14.19	0.02
22	Кагор 32, Монастырская вечерня, специальное, десертное, Краснодарский край	261.02±23.36	0.04
23	Кагор "Дивеевский", специальное, десертное, Нижегородская область	245.39±14.31	0.02
24	Каберне, сухое, г. Крымск	244.93±12.41	0.02
25	Изабелла, полусладкое, РСО-Алания	240.72±2.76	0.005
26	Изабелла, полусладкое, Московская область	240.14±1.41	0.002
27	Кагор, специальное, десертное, г. Саратов	218.36±4.05	0.007

сбраживанием виноградного сока в герметичных резервуарах под давлением с остановкой брожения на определенном этапе.

Шипучие, или газированные вина, искусственно насыщенные углекислотой путем так называемой "сатурации".

Кроме того, известно, что вина отличаются окраской (цветом одежды), что зависит от способа производства. Красные вина изготавливают по красному способу, белые – по белому (из белых и красных сортов), розовые – по собственной технологии, но не смешением белого с красным (за редким исключением).

Вино может быть приготовлено из одного сорта винограда (сортовые вина) или нескольких сортов - тогда оно называется купажным (от французского слова "couper" - резать). В России применим термин эгализация. Существуют крепкие вина, некоторые портвейны и мадеры, приготовленные из пятнадцати сортов винограда, композиция которых дает вино очень высокого качества. Также, кроме купажа сортов, применяются купажи вин, поступающих из разных винодельческих районов, и купажи вин разного возраста.

По качеству тихие вина делятся на ординарные, марочные и коллекционные. Сразу уточним, что данная классификация принята в России. В странах Запада существует несколько другое деление.

Ординарные вина, выпускаемые без выдержки, но не ранее чем через три месяца со дня переработки винограда. Это обычные, дешевые вина, не отличающиеся какими-либо особо высокими качествами.

Марочные - выдержанные высококачественные вина, вырабатываемые из лучших сортов винограда в отдельных винодельческих районах или микрорайонах по специальной технологии, установленной для каждой марки вина. Продолжительность выдержки марочных вин: для сухих столовых - не менее 1,5 года, для крепких и десертных - не менее двух лет. Эти вина обладают высокими вкусовыми качествами.

Коллекционные - выдающиеся по качеству марочные вина, которые после окончания срока выдержки в бочках (бутах, цистернах), дополнительно выдерживаются не менее трех лет.

Нами определялась АОА различных сортов российских красных и белых вин, полученные результаты представлены в таблицах 8-9 в мг рутина на 100 мл вина (АОА вина) по мере убывания их активности. При обработке полученных данных, приведенных в табл. 8 и 9, были выделены подгруппы с определенным интервалом АОА, графики зависимости содержания образцов в подгруппе от пределов АОА в порядке ее увеличения приведены на рис. 8 и 9. Наибольшее содержание исследованных образцов красных вин сосредоточено в двух подгруппах с пределами АОА 135 -310 мг рутина на 100 мл вина, а у белых вин в трех равнозначных подгруппах (по 20 % от общего числа образцов вин) с пределами АОА 40 – 111 мг рутина на 100 мл вина. Хотя белые вина имеют АОА намного ниже, чем у красных вин, их образцы с максимальными значениями АОА перекрывают две подгруппы красных вин с минимальными значениями АОА, вероятно это связано с их качеством, потерями антиоксидантных веществ в результате различных обработок при вторичном виноделии [85].

Таблица 5 – Антиоксидантная активность водных настоев лекарственного растительного сырья

№ п/п	Лекарственные травы	АОА, мг рутина на 100 г				Ванадатная окисляемость, ммоль/100 г
		Бромная	S <sub>x</sub>	Хлорная	S <sub>x</sub>	
1	Цветы лабазника вязолистного	23.90±0.37	0.01	13.49±0.38	0.02	915
2	Тысячелистник обыкновенный (цветы)	3.82±0.10	0.01	2.41±0.06	0.02	78
3	Пижма обыкновенная	3.07±0.09	0.01	2.70±0.09	0.02	174
4	Береза (почки)	3.29±0.11	0,02	1.92±0.06	0.02	96
5	Чага (березовый гриб)	1.85±0.11	0.03	1.39±0.06	0.03	76
6	Шиповник (плоды)	1.85±0.05	0.01	1.01±0.02	0.02	58
7	Ноготки лекарственные (цветы)	1.75±0.07	0.02	1.61±0.04	0.02	156
8	Боярышник (плоды)	0.29±0.05	0.02	0.09±0.01	0.03	9

Известно, что величина стандартного окислительно-восстановительного потенциала пары V(V)/V(IV) близка к потенциалу системы Br<sub>2</sub>/Br<sup>-</sup> и многие органические соединения в кислой среде окисляются ванадием (V). В этих условиях обычно V(V) восстанавливается до V(IV). Это позволило предложить V(V) для сравнительной оценки антиоксидантной способности фитопрепаратов. Хотя окислительные свойства ванадия (V) и брома соизмеримы в этих условиях, но его ионы, в отличие от брома, не вступают в реакции электрофильного замещения и присоединения. Ванадатная окисляемость (ванадатное число) отражает суммарное содержание в препаратах веществ только восстанавливающего характера [49].

Обработка данных таблицы 6 показала линейную зависимость Ванадатной окисляемости от АОА по брому (Y = 33.725X, R<sup>2</sup> = 0.843) и по хлору (Y = 57.454X, R<sup>2</sup> = 0.790). Линейная зависимость АОА по хлору от АОА по бромю почти соответствует данным таблицы 5 (Y = 0.607X, R<sup>2</sup> = 0.904).

Дубильные вещества - одни из существенных компонентов (до 15 %) растительного сырья и представляют собой сложную смесь полифенольных соединений, состоящую из танина и различных катехинов, полифенолов и их производных [67]. На рис. 6 представлен график линейной зависимости содержания дубильных веществ от АОА водно-спиртовых (40 % об.) настоев высушенных образцов лабазника вязолистного и камчатского, он построен в порядке возрастания АОА: 1точка – стебли в фазе плодоношения (вязолистный), 2 –

стебли в фазе плодоношения (камчатский), 3 – стебли в фазе плодоношения (вязалистный), 4 - стебли в фазе завершения цветения (вязалистный), 5 – стебли в фазе плодоношения (вязалистный), 6 – листья в фазе цветения (камчатский), 7 – листья в фазе начала цветения (вязалистный), 8 – листья в фазе бутонизации (камчатский), 9 – листья в фазе плодоношения (вязалистный), 10 – листья в фазе бутонизации (вязалистный).

Таблица 6 – Антиоксидантная активность водно-спиртовых настоев лекарственного растительного сырья

№ п/п	Лекарственные травы	АОА, мг рутин на 100 г				Ванадатная окисляемость, ммоль/100 г
		Бромная	S <sub>x</sub>	Хлорная	S <sub>x</sub>	
1	Шалфей лекарственный	9.27±0.11	0.01	6.46±0.20	0.01	296
2	Базилик	9.17±0.21	0.02	5.07±0.25	0.02	363
3	Эвкалипт	8.59±0.32	0.03	3.76±0.15	0.02	245
4	Зверобой продырявленный	7.31±0.21	0.03	3.61±0.12	0.01	222
5	Малина обыкновенная	5.46±0.30	0.02	4.05±0.10	0.01	245
6	Пустырник пятилопастный	3.71±0.17	0.02	2.15±0.12	0.02	116
7	Ромашка аптечная	2.44±0.05	0.02	1.67±0.05	0.01	52

Флавоноиды представляют из себя фенольные соединения, в основе которых лежит дифенилпропановый скелет C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> составляют большую группу природных соединений, широко распространенных в растительном мире, окраска различных частей растений обусловлена их присутствием, поэтому флавоноиды относят к растительным пигментам. Известно более 6.5 тысяч флавоноидов. Флавоноидные соединения накапливаются во всех органах растений, в основном в виде гликозидов, они защищают их ткани от вредоносного воздействия УФ-лучей, участвуют в процессах дыхания. Флавоноиды участвуют в различных окислительно-восстановительных процессах, придавая яркую окраску цветкам, они привлекают насекомых которые способствуют их опылению [67].

На рис. 7 представлен график линейной зависимости содержания флавоноидов от АОА водно-спиртовых настоев (40 и 70 % об.) образцов лабазника вязалистного, он построен в порядке возрастания содержания флавоноидов: 1 точка – стебли в фазе цветения, настоей в 40% спирте этиловым, 2 – стебли в фазе плодоношения (70%), 3 – стебли в фазе бутонизации (40%), 4 - семена в фазе плодоношения (70%), 5 – листья в фазе плодоношения (70%), 6 – семена в фазе плодоношения (70%), 7 – листья в фазе бутонизации (40%), 8 – цветки в фазе цветения (40%), 9 – бутоны в фазе бутонизации (40%). Максимальное содержание

сухих вин – 171, красных полусухих – 17, красных полусладких – 28, красных специальных – 7, красных ароматизированных – 5, белых сухих вин – 18, белых полусладких – 20, белых специальных – 17, розовых полусухих вин – 1, розовых полусладких – 2, розовых специальных – 2.

## СУММАРНАЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИОКСИДАНТОВ В ВИНАХ РОССИИ

Качество и натуральность российских виноградных вин оценивают по ГОСТ 52523 [86]. Вина и виноматериалы должны соответствовать требованиям настоящего стандарта и должны производиться согласно технологическим инструкциям, утвержденным для конкретного наименования. Они должны быть розливостойкими, прозрачными (допускается опалесценция для молодых вин и виноматериалов), без осадка (кроме коллекционных вин) и посторонних включений. Цвет, вкус и аромат (букет) для каждого наименования вина должны соответствовать требованиям технологической инструкции [87].

За многие столетия производства вин человечество создало много разновидностей этого напитка. Существует множество классификаций вин: по региону происхождения, технологии изготовления, сорту винограда, выдержке и т.д. Кроме того, каждая страна-производитель имеет собственную законодательную систему законов о вине, а значит, собственную классификацию.

Международной организацией винограда и вина принята специальная классификация вин для международных дегустаций и конкурсов, по которой вина делятся на два основных класса: 1) «строгие натуральные» тихие (избыточное давление CO<sub>2</sub> до 50 кПа), жемчужные и искристые (50-250 кПа) и игристые (более 350 кПа); 2) вина тихие специальные и особые.

Тихие вина (не содержат CO<sub>2</sub>) по технологии изготовления делятся на столовые, специальные и ароматизированные.

Столовые вина производятся без добавления спирта и содержат только спирт, полученный в результате естественного брожения. В специальных винах допускают использование спирта-ректификата.

Ароматизированные вина производятся с использованием спирта-ректификата, сахарозы, а также настоев отдельных частей различных растений по специальной рецептуре. Ароматизированные вина готовили в Древней Греции и Риме, считая их целебными. В наши дни они производятся во многих странах.

Вина, содержащие углекислоту, делятся на следующие группы:

Насыщенные углекислотой естественным путем - брожением в герметических сосудах под давлением. К ним относятся шампанские вина, приготовленные по специальной технологии путем вторичного брожения обработанных виноматериалов, полученных из специальных белых и красных сортов винограда (Шардоне, Пино серый и др.).

Игристые - полученные путем вторичного брожения сухих или крепленых виноматериалов в герметически закрытых сосудах по технологии, утвержденной для каждого наименования вина.

Натуральные полусладкие игристые (искристые) - приготовленные

резвератрола в красных винах зависит от территории, где произведено вино, сорта винограда, агротехнологии и технологии виноделия. В молодых и очень старых винах содержание его минимально. Найдено, что виноград вырабатывает его в качестве защиты от болезней.

Белые вина, как и красные, пользуются огромным спросом населения, поэтому выяснение их реального потенциала для здоровья человека - насущная проблема мирового винодельческого бизнеса. Предпочтение врачи отдают красному вину, но белое кое в чем даже его превосходит. Например, если антиоксидантов в красном вине больше, то в белом они эффективнее, поскольку их молекулы меньше по размеру и легче проникают в ткани организма.

Хотя в древности и умели добиваться окрашивания вин при помощи сбраживания его с кожурой винограда, большинство производимых в Персии, Вавилоне и Израиле вин были белыми [73].

Израильские ученые разработали метод изготовления белых вин, приносящих особую пользу здоровью. Эта технология позволяет обогащать вина естественными антиоксидантами, которые, как принято считать, способствуют предотвращению сердечно-сосудистых заболеваний. И цвет, и букет такого вина полностью соответствуют принятым стандартам, однако содержание сахара несколько повышено [74].

Наряду с природными антиоксидантами в вина попадают и синтетические, так как при приготовлении виноматериалов мезгу сульфитуют сернистым ангидридом или метабисульфитом калия, которые предохраняют их от перекисления и предупреждают развитие микроорганизмов. В качестве консерванта, для биологической стабилизации полусухих и полусладких вин, применяется сорбиновая кислота (оптимальная доза 200 мг/дм<sup>3</sup>) в сочетании с сернистой кислотой.

В винах содержится малое количество витаминов группы В и полностью отсутствует витамин С, хотя в винограде он имеется.

В странах СНГ разрешено применять аскорбиновую кислоту в качестве антиоксиданта в количестве до 150 мг/дм<sup>3</sup> вина непосредственно перед его розливом. В сусле и винах аскорбиновая кислота окисляется хинонами, образующимися в результате ферментативного окисления полифенолов. При неферментативном окислении аскорбиновой кислоты образуется перекись водорода Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>, способная вызвать окисление антоцианов и других компонентов вина, не окисляемых кислородом воздуха. Поэтому одновременно с аскорбиновой кислотой в вино вводится сернистый ангидрид, устраняющий негативное действие перекиси водорода.

Для подтверждения этого ниже приведен опубликованный нами научный материал по практическому использованию конкретной методики на основе кулонометрического метода (МВИ 01-44538054-07) определения антиоксидантной активности вин разных стран и производителей [10, 75-85]. Объектами исследования служили произведенные в России и за рубежом образцы вин, приобретенные нами в крупных розничных магазинах разных городов: красных

флавоноидов и АО в стеблях и листьях лабазника вязолистного наблюдается в фазу бутонизации. В бутонах содержится больше АО и флавоноидов чем в цветах, содержание АО в пересчете на рутин несколько больше, чем флавоноидов, это вероятно связано с накоплением в образцах лабазника других спирторастворимых соединений антиоксидантов.

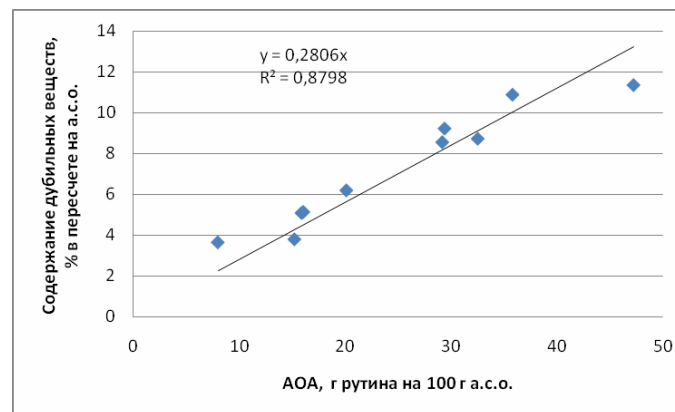


Рис. 6 Зависимость содержания дубильных веществ от суммарной антиоксидантной активности водно-спиртовых настоев образцов лабазника вязолистного

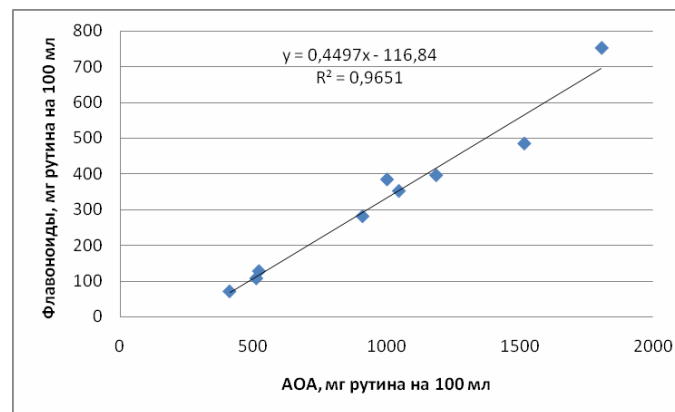


Рис. 7 Зависимость содержания флавоноидов от суммарной антиоксидантной активности водно-спиртовых настоев образцов лабазника вязолистного

Нами впервые был применен для определения суммарной АОА пектинов кулонометрический метод на приборе «Эксперт-006» с использованием электрогенерированных радикалов брома [34], Борисенков М.Ф. продолжил эти исследования, введя параллельно методику по их реакции со стабильным DPPH-радикалом, при этом активность выражалась в % от активности тролокса [68]. С

использованием этих двух методических подходов было показано, что пектины обладают разной АОА. Расположение значений отдельных образцов пектинов в ряду АОА не совпадало, что, по-видимому, связано с некоторыми различиями в принципах оценки активности препаратов, положенных в основу двух методов. Тем не менее, корреляционный анализ показал достаточно высокую степень совпадения результатов анализа АОА пектинов, полученных двумя методами ( $R=0.426$ ,  $P<0.05$ ).

Нами проведен анализ по суммарной АОА спиртовых настоев спелых плодов различных сортообразцов смородины черной амперометрическим методом [63,6] во Всероссийском НИИ садоводства им. И.В. Мичурина на приборе «Цвет-Яуза-01-АА» и кулонометрическим методом [68] на приборе «Эксперт-006» в лаборатории ООО Концерн «Отечественные инновационные технологии» с использованием электрогенерированных радикалов брома. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Антиокислительная активность спиртовых настоев смородины

№ п/п	Название образца	АОА*, мг кверц./мл	АОА**, мг кверц./мл	S <sub>x</sub>
1	Маленький принц	0.760	1.010±0.107	0.04
2	Созвездие	0.503	0.608±0.006	0.03
3	Зелёная дымка	0.630	0.977±0.002	0.01
4	23-2-93	0.750	0.707±0.005	0.03
5	23-4-16	0.382	0.452±0.004	0.03
6	23-2-72	0.410	0.533±0.003	0.02
7	21-11-7+21-11-3	0.130	0.354±0.006	0.01

Примечание: \*значения определены амперометрическим методом, \*\* значения определены кулонометрическим методом

Корреляционный анализ показал достаточно высокую степень совпадения результатов анализов спиртовых настоев смородины, полученных двумя методами ( $R^2=0.737$ ,  $P=0.05$ ) в конкретных вариантах их реализации, имеющих аттестованную Госстандартом РФ методическую часть измерений.

#### МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ВИН КУЛОНОМЕТРИЧЕСКИМ ТИТРОВАНИЕМ

Одним из основных требований, предъявляемых к производству вин, является предохранение их от окисления кислородом воздуха и обеспечение высокого уровня антиоксидантной активности на всех стадиях технологических процессов.

В этой связи возникает необходимость оценки не только суммарной АОА вин, но и их значения в сырье, виноматериалах как при переработке, так и при

правом может считаться самым здоровым и самым гигиеничным напитком". Вина считались целебными средствами с давних времен, но их свойства многие столетия не находили научного подтверждения. Научные исследования последних десятилетий дают немало подтверждений того, что все достоинства вина, в которые верили древние, оказались вполне обоснованными.

Вина представляют собой сложные, весьма неустойчивые физико-химические системы. На сегодняшний день определены и измерены около 800 их составляющих. Эти химические соединения присутствуют в вине в ничтожно малых количествах, но играют важную роль в создании вкусовых и ароматических качеств вина и определяют его свойства. Вина не являются простыми спиртовыми растворами и содержат большое количество летучих и нелетучих веществ, пропорции которых различны в зависимости от разнообразия почв, сортов винограда, количества дождей, солнца, года и т.д.

Существует два способа приготовления вин: белый и красный. Вина, приготовленные по красному способу, содержат больше важнейших флавоноидов, чем по белому, это связано с сортами винограда и технологией приготовления белых вин, при которой богатую флавоноидами кожицу винограда удаляют в самом начале или после начала сбраживания для улучшения показателя прозрачности вин.

В настоящее время имеется большое количество публикаций, подтверждающих пищевую ценность и лечебные свойства красного вина [70]. АОА (по галловой кислоте) лучших образцов исследованных авторами красных сухих и полусладких вин значительно (в 6-8 раз) превышает данный показатель лучших образцов белых сухих вин [11]. В пределах однородной группы вин корреляция показателей АОА и суммарное содержание фенольных соединений не отмечена, это связано со структурными отличиями в фенольном комплексе вин и различным содержанием их окисленных форм, не обладающих биологической активностью. Диапазон колебаний АОА в пределах группы вин достаточно широк, поэтому физиологическое действие их на организм будет различно. Большое содержание фенольных соединений в вине еще не гарантирует его высокое качество, только их неокисленные формы в сочетании с другими антиоксидантами, о количестве которых косвенно свидетельствует показатель АОА, отражают их истинную ценность.

Красные вина сбраживаются из цельных ягод, они содержат более 200 известных производных фенолов, которые обладают антиаллергическими, антиканцерогенными, антивирусными и противовоспалительными и свойствами, их вкус более резкий и терпкий. Концентрация полифенолов достигает от 0,2 г/л в белых и до 3 г/л - в красных винах. Изначально они содержатся в кожице винограда, в косточках и гребнях виноградных кистей, и только спирт, образующийся в результате брожения, позволяет им перейти в вино. Полифенолы защищают витамины от раннего окисления и позволяют им выполнять свои функции [71-72].

В красных винах содержится биофлавоноид – резвератрол [51-58], который под названием «кодзо-кон» используется в народной китайской и японской медицине для лечения многих заболеваний, включая атеросклероз. Содержание

превышения указанного норматива  $d$  выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и устраняют их.

Полученные результаты подвергаются статистической обработке.

Статистическая обработка результатов анализа проводится при  $n$  –  $n$  повторных анализов однородного материала, где:

- $N$  – число измерений;
- $x_i$  – данные отдельных определений;
- $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$  – среднее значение из  $n$  определений;
- $f = n - 1$  – число степеней свободы;
- $S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{f}}$  – средняя квадратичная ошибка отдельного определения (выборочное стандартное отклонение);
- $S_x = \frac{S}{\sqrt{n}}$  – средняя квадратичная ошибка среднего арифметического или стандартное отклонение среднего результата;
- $P$  – коэффициент надежности (доверительная вероятность);
- $T(p, f)$  – критерий Стьюдента, зависящий от надежности и числа определений;
- $\Delta x = t(p, f) \cdot S_x$  – абсолютная ошибка среднего арифметического;
- $E_{отн} = \frac{\Delta x \cdot 100}{x}$  – относительная ошибка, %.

Результат количественного анализа в документах предусматривающих его использование, представляют в виде: результат анализа в г рутина на  $100 \text{ см}^3$  жидкой пробы, характеристика погрешности  $\delta$  (%),  $P = 0,95$  или  $\bar{X} \pm \Delta$ , Кл/100  $\text{см}^3$ , где:  $\Delta = \delta C/100$ , или при анализе твердой пробы в г рутина/100 г образца.

Результаты измерений оформляют записью в журнале в табличной форме

№ пробы	Результат определения, X	Расхождение между параллельными определениями		Результат анализа
		Фактическое	Допускаемое, d	
1.				
2.				
резервная.				
Среднее				

Результаты, полученные по приведенной выше методике можно использовать не только в научных публикациях, но и включать в НТД на сырье и продукты растительного происхождения.

### ПРИМЕРЫ ПРИМЕНЕНИЯ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКОГО СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ВИН

Трудно найти другой продукт, вызывающий столь же противоречивые суждения о его вреде и пользе. Великий Луи Пастер утверждал, что "вино с полным

хранении. В предыдущих разделах мы дали краткий обзор существующих методов и подходов к определению антиоксидантной емкости (активности) биологических образцов. Для решения вопросов по биологической ценности как сырья так и продуктов виноделия актуальным является решение вопросов стандартизации методик измерения, что связано с требованиями законодательства РФ при проверке качества продукции в соответствии с нормативно-технической документацией.

На рынке пищевых продукции и напитков как в России, так и за рубежом в последние годы активно используются в рекламных целях термин «антиоксиданты» и их присутствие в рекламируемых продуктах. Однако, как правило, разработчики продукции и производители не ставят вопросов о количественной мере содержания антиоксидантов в продукции и не закладывают этот показатель в технические условия. Это связано с отсутствием нормативной базы по этому показателю, как в России так и за рубежом.

Нами впервые разработана и сертифицирована методика по определению суммарной антиоксидантной активности как МВИ на кулонометрическом анализаторе [70]. Методика предназначена для количественного химического анализа суммарной антиоксидантной активности в лабораторных условиях в пересчете на стандартный образец пищевых продуктов: овощных и фруктовых соках, сушеных овощах и фруктах, чаях байховых и купажированных растительными или плодово-ягодными добавками, зерне, муке, лекарственном и эфиромасличном растительном сырье, винах, бальзамах, коньяках, настойках и полупродуктах их производства: виноматериалах, настоях растительного и ароматического сырья, а также в биологических жидкостях человека и животных, молоке и молочных продуктах, биологически активных добавках, кормовых добавках для сельскохозяйственных животных и птицы, сырье растительного и животного происхождения, почве и водах кулонометрическим титрованием электрогенерированными галогенами и в присутствии активных форм кислорода. Методика разработана в соответствии с ГОСТ.

Диапазон измеряемых величин по данной МВИ, в пересчете на ГСО рутин  $0.005 \dots 2 \text{ г}$  на  $100 \text{ см}^3$  жидкого или на  $100 \text{ г}$  твердого образца.

Электрогенерацию брома или хлора осуществляют при постоянной силе тока  $50.0 \text{ мА}$  или  $5.0 \text{ мА}$  из водных  $0.2 \text{ М}$  растворов калия бромистого или калия хлористого в  $0.1 \text{ М}$  растворе серной кислоты с определением конца титрования вольтметрической индикацией с двумя поляризованными электродами из инертного металла ( $\Delta E \leq 1000 \text{ мВ}$ ). Рабочий и вспомогательный электроды углеситалловые, стеклоуглеродные стержни диаметром  $3 - 4 \text{ мм}$  или сделаны из инертного металла, впрессованные в тефлоновые шлифы № 14.5 и снабженные соединительным кабелем. Вспомогательный электрод – катод, отделен полупроницаемой перегородкой от анодного пространства ячейки.

Кулонометрическое определение проводят следующим образом. В ячейку объемом  $50 \text{ см}^3$  вводят  $20.0 \text{ см}^3$  фонового раствора, опускают электроды и включают генераторную цепь. По достижении определенного значения индикаторного тока в ячейку вносят аликвоту жидкого исследуемого образца ( $0.020 - 2.0$ )  $\text{см}^3$  или твердого измельченного образца ( $0.020 - 0.200$ ) г. Конечную точку титрования фиксируют по достижению первоначального значения



индикаторного потенциала. При этом прибор показывает время определения в секундах (с) в объеме аликвоты исследуемого образца  $V_{\text{аликвоты}}$  или в навеске исследуемого образца  $m$ , введенной в измерительную ячейку.

Точка эквивалентности определяется потенциометрически.

По методике анализируют не менее трех проб.

Нажимают на лицевой панели кулонометра клавишу «ИЗМ».

На дисплее появляется сообщение «установка в начало» (при нахождении потенциала в границах допуска уровня измерений установка в начало не проводится). Прибор начнет пропускать ток.

На экране прибора появляется сообщение «Введите пробу». В анодную камеру кулонометрической ячейки вносится аликвота калибровочного раствора государственного стандартного образца рутина в спирте этиловом ректифицированном, затем исследуемый жидкий или твердый измельченный образец (овощной или фруктовый соки, раствор, настой или экстракт образца) (0.020-2.0 см<sup>3</sup> или 0.020-0.200 г). В течение времени выдержки все вещества, обладающие антиоксидантными свойствами, прореагирует с избытком брома или хлора (при добавлении в фоновый электролит перекиси водорода – и активными формами кислорода). Время должно быть значительным и составлять (10-100) с, чтобы все антиоксиданты успели прореагировать с бромом или хлором (при добавлении в фоновый электролит перекиси водорода – и активными формами кислорода).

После завершения времени перемешивания прибор автоматически оттитрует избыток брома или хлора (при добавлении в фоновый электролит перекиси водорода – и активными формами кислорода), численно равный количеству внесенных в пробе антиоксидантных веществ. Конечную точку титрования прибор фиксирует по достижению первоначального значения индикаторного потенциала. При этом на экране прибора и в таблице компьютера он показывает время анализа в секундах (с).

Вычисление суммарной антиоксидантной активности в анализируемой пробе в количестве электричества – кулонах, затрачиваемое на 100 см<sup>3</sup> жидкой пробы вычисляют по формуле:  $Q = (100It) / V_{\text{аликвоты}}$ ,

где:  $I$  – сила тока 5 или 50 мА (в зависимости от диапазона измерений);

$t$  – время достижения конечной точки титрования, с;

$V_{\text{аликвоты}}$  – объем аликвоты, см<sup>3</sup>.

Вычисление суммарной антиоксидантной активности в анализируемой пробе в количестве электричества – кулонах, затрачиваемое на 100 г твердой пробы вычисляют по формуле:  $Q = (100It) / m$ ,

где:  $I$  – сила тока (в зависимости от диапазона измерений);

$t$  – время достижения конечной точки титрования, с;

$m$  – масса твердой пробы, г.

Суммарную антиоксидантную активность в пересчете на г рутина на 100 см<sup>3</sup> жидкой пробы вычисляют по формуле:

$$X = KQ$$

где:  $Q$  – суммарная антиоксидантная активность анализируемой пробы в количестве электричества – кулонах.

$K$  – коэффициент пересчета, определяемый при калибровке электролитической ячейки кулонометра (в г рутина на 1 кулон) вычисляют по формуле:

$$K = C/Q_2$$

где:  $C$  – концентрация рутина в стандартном растворе в г на 100 см<sup>3</sup> раствора;

$Q_2$  – суммарная антиоксидантная активность стандартного раствора рутина в кулонах на 100 см<sup>3</sup> раствора, вычисленная по приведенной в данном разделе формуле для определения  $Q$ .

За результат анализа  $X$  принимают среднее арифметическое результатов  $n$  параллельных определений  $\bar{X} = (X'_1 + X'_2 + X'_3 + \dots + X'_n)/n$ , расхождение между которыми не превосходит значений норматива сходимости  $d$ :  $|X'_1 - X'_n| \leq d$ , при вероятности  $P = 0,95$ .

Оперативный контроль сходимости результатов измерений антиоксидантной емкости проводят при получении каждого результата измерения, предусматривающего проведение параллельных определений. Оперативный контроль сходимости проводят сравнением расхождения  $n$  результатов параллельных определений  $d_k$  при измерении пробы с нормативом оперативного контроля сходимости  $d$ . Сходимость результатов параллельных определений признают удовлетворительной, если:

$$d_k = (X_{\text{max}} - X_{\text{min}}) \leq d,$$

где  $X_{\text{max}}$  – максимальный результат из  $n$  параллельных определений;

$X_{\text{min}}$  – минимальный результат из  $n$  параллельных определений;

$d$  – норматив оперативного контроля сходимости (допускаемое расхождение между результатами параллельных определений).

Норматив оперативного контроля сходимости рассчитывают по формуле:

$$d = Q'(P, n) S_{\text{сх}} (\Delta)^{\circ},$$

где:  $Q'(P, n) = 2,77$  при  $n = 2$ ,  $P = 0,95$ ;

$Q'(P, n) = 3,31$  при  $n = 3$ ,  $P = 0,95$ ;

$Q'(P, n) = 3,63$  при  $n = 4$ ,  $P = 0,95$ ;

$Q'(P, n) = 3,86$  при  $n = 5$ ,  $P = 0,95$ ;

$S_{\text{сх}} (\Delta)^{\circ}$  – среднеквадратическое отклонение результатов параллельных определений, установленное для методики выполнения измерений (характеристика составляющей случайной погрешности измерений).

Коэффициент  $Q'(P, n)$  рассчитан при допущении, что реальная функция плотности распределения составляющей случайной погрешности подчиняется нормальному закону.

Если  $d_k \leq d$ , то сходимость результатов параллельных определений признают удовлетворительной и результат измерения содержания антиоксидантов в рабочей пробе или результат контрольного измерения вычисляют как среднеарифметическое результатов параллельных определений.

При превышении норматива сходимости следует повторить измерения, используя резервные пробы. Среднее арифметическое значение концентрации рассчитывают по последним результатам определений. В случае повторного