

УДК 543.25:543.8

## ХРОНОАМПЕРОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЕМКОСТИ МИЦЕЛЛЯРНЫХ ЭКСТРАКТОВ СПЕЦИЙ

*Г.К. Зиятдинова, Э.Р. Зиганишина, Ф. Нгуен Конг, Г.К. Будников*

### Аннотация

Установлены потенциалы окисления мицеллярных экстрактов специй на стеклоуглеродном электроде, модифицированном наночастицами диоксида церия в мицеллярной среде Brij® 35, на фоне фосфатного буферного раствора рН 7.4. Разработан способ хроноамперометрической оценки антиоксидантной емкости (АОЕ) мицеллярных экстрактов специй, основанный на окислении их антиоксидантов в условиях потенциостатического электролиза при 1.1 В. Показано, что стационарное состояние электролиза достигается в течение 100 с. АОЕ выражали в эквивалентах галловой кислоты в пересчете на 1 г сухой специи. Диапазон определяемых содержаний галловой кислоты составляет 7.50–2500 мкМ с пределом обнаружения 2.27 мкМ и нижней границей определяемых содержаний 7.50 мкМ. Подход апробирован на экстрактах 20 специй. Показано, что их АОЕ варьируется в широких пределах (от  $109.0 \pm 0.2$  мг/г для гвоздики до  $1.9 \pm 0.1$  мг/г для тмина), что обусловлено составом и содержанием активных компонентов в растительном сырье. Установлены положительные корреляции антиоксидантной емкости экстрактов специй с их антиоксидантной активностью по реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом ( $r = 0.8990$  при  $r_{\text{крит}} = 0.497$ ) и железовосстанавливающей способностью ( $r = 0.9066$  при  $r_{\text{крит}} = 0.497$ ).

**Ключевые слова:** хроноамперометрия, химически модифицированные электроды, антиоксидантная емкость, специи, анализ продуктов питания.

### Введение

В настоящее время для объектов сложного состава все большее значение приобретают обобщенные или интегральные показатели, позволяющие охарактеризовать исследуемый образец в целом, не прибегая к покомпонентному анализу. С одной стороны, к таким показателям можно отнести величины, характеризующие суммарное содержание какого-либо элемента, находящегося в различных формах в образце (общее содержание серы, азота, ртути, углерода и т. п.). С другой стороны, обобщенные показатели могут качественно характеризовать тот или иной объект, например, отражая общее содержание белков, фенольных соединений и т. п. Такой подход позволяет значительно упростить и удешевить процедуру определения, поскольку снимается задача одновременного определения нескольких десятков, а то и сотен компонентов в исследуемом объекте, что весьма трудоемко, затратно с экономической точки зрения, а порой и не может быть реализовано из-за отсутствия соответствующих методик определения [1]. Кроме того, свойства объекта, например биологическая активность, напрямую связаны с взаимным влиянием компонентов в образце, учесть которое

можно лишь с помощью интегральных показателей, характеризующих объект как единое целое.

Растительное сырье, в том числе и специи, является важным объектом исследования и анализа в науках о жизни. Одной из причин такого внимания является его биологическая активность, обусловленная присутствием широкого круга биологически активных соединений различной природы, к числу которых относятся и антиоксиданты [2]. Поэтому оценка антиоксидантных свойств специй растительного происхождения представляет практический интерес.

Для интегральной оценки антиоксидантных свойств специй используют ряд общепринятых параметров, основанных на свойствах антиоксидантов окисляться и вступать в радикальные реакции.

Реакции окисления антиоксидантов под действием соединений Fe(III) лежат в основе такого параметра, как железовосстанавливающая способность (ЖВС). Его оценивают по реакции с 2,4,6-трипиридил-S-триазиновым комплексом Fe(III) со спектрофотометрической индикацией [3] либо по реакции с гексацианоферрат(III) ионами в условиях потенциометрии [4] или гальваностатической кулонометрии [5].

Реакции антиоксидантов с радикальными частицами позволяют оценить антиоксидантную активность образца (АОА). В качестве реакционных частиц при этом используют стабильные радикалы, например 2,2-дифенил-1-пикригидразил (ДФПГ•) [6] и катион-радикал 2,2-азинобис(3-этилбензотиазолина-6-сульфонат) (АБТС•<sup>+</sup>) [7], а также короткоживущие гидроксильный (•ОН), пероксильный (НО<sub>2</sub>•) радикалы [8] и супероксид анион-радикал (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) [9]. Определение основано на изменении интенсивности светопоглощения реагентов за счет реакции с антиоксидантами образца. Кроме того, гидроксильные радикалы можно регистрировать с помощью ЭПР [8, 10], а супероксид анион-радикал – вольтамперометрически [11, 12]. Мерой АОА при этом является концентрация радикала, оставшегося после реакции с антиоксидантами, или, зная степень ингибирования радикалов индивидуальными антиоксидантами, проводят пересчет в их эквиваленты, например, галловой кислоты или Тролокса (водорастворимого аналога α-токоферола).

Фенольные соединения являются важнейшими антиоксидантами растительного сырья. Поэтому для их количественной характеристики используют термин «общее содержание фенолов» (ОФ), который подразумевает все фенольные соединения, которые содержатся в объекте и вносят вклад в его антиоксидантные свойства. Для определения этого параметра используют реактив Фолина – Чокальтеу (смесь солей фосфомолибденовой и фосфовольфрамовой кислот), который в щелочной среде при взаимодействии с фенольными соединениями восстанавливается с образованием окрашенных в синий цвет комплексов, концентрацию которых оценивают спектрофотометрически при 760 нм. Оптическая плотность пропорциональна концентрации фенольных антиоксидантов. В качестве стандарта, как правило, используют галловую кислоту [13, 14]. К недостаткам метода относится мешающее влияние диоксида серы и аскорбиновой кислоты, а также высоких концентраций сахаров [14], которые вступают в реакцию с реагентом.

Табл. 1

## Способы оценки антиоксидантных свойств специй

Специи	Параметр	Реакционная частица	Детектирование	Лит.	
10 специй	ЖВС	Fe(III)-2,4,6-трипи-ридил-S-триазин	$\lambda$ 593 нм	[19]	
17 специй				[20]	
14 специй	ЖВС	Электрогенерированные Fe(CN <sub>6</sub> ) <sup>3-</sup>	Биамперометрия	[5]	
16 специй				[21]	
Черный перец, мускатный орех, шиповник, корица и орегано	ОФ	Реагент Фолина-Чокальтеу	$\lambda$ 765 нм	[8]	
	АОА	АБТС• <sup>+</sup>	$\lambda$ 734 нм		
		ДФПГ•	$\lambda$ 517 нм		
		•ОН	ЭПР		
19 специй Китая	ОФ	Реагент Фолина – Чокальтеу	$\lambda$ 765 нм	[22]	
	АОА	АБТС• <sup>+</sup>	$\lambda$ 734 нм		
			ДФПГ•	$\lambda$ 517 нм	
Базилик	АОА	АБТС• <sup>+</sup>	$\lambda$ 734 нм	[23]	
Базилик, лавровый лист, петрушка, можжевельник, анис, фенхель, кумин, кардамон и имбирь	АОА	ДФПГ•	$\lambda$ 517 нм	[24]	
		•ОН	$\lambda$ 532 нм		
	ОФ	Реагент Фолина – Чокальтеу	$\lambda$ 765 нм		
Анис, базилик, кориандр, орегано, петрушка, майоран	АОА	•ОН по реакции Фентона	ЭПР	[10]	
11 специй	АОА	ДФПГ•	$\lambda$ 517 нм	[25]	
Экстракты розмарина	АОА	ДФПГ•	$\lambda$ 517 нм	[9]	
		•ОН	$\lambda$ 532 нм		
		O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	$\lambda$ 560 нм		
Экстракт гвоздики	ОФ	Реагент Фолина – Чокальтеу	$\lambda$ 725 нм	[26]	
	АОА	Общее содержание флавоноидов	NaNO <sub>2</sub> + AlCl <sub>3</sub> + NaOH		$\lambda$ 510 нм
		ДФПГ•	$\lambda$ 517 нм		
		АБТС• <sup>+</sup>	$\lambda$ 734 нм		
		•ОН	$\lambda$ 532 нм		
		O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	$\lambda$ 560 нм		
ЖВС	Fe(III)-2,4,6-трипи-ридил-S-триазин	$\lambda$ 595 нм			
16 специй из Кореи	АОА	ДФПГ•	$\lambda$ 517 нм	[27]	
		O <sub>2</sub> • <sup>-</sup>	$\lambda$ 560 нм		
	Способность поглощать H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	$\lambda$ 405 нм		
	ОФ	Реагент Фолина – Чокальтеу	$\lambda$ 725 нм		
	Общее содержание флавоноидов	NaNO <sub>2</sub> + AlCl <sub>3</sub> + NaOH	$\lambda$ 510 нм		

Основные принципы, достоинства и недостатки этих и других подходов для оценки антиоксидантных свойств обобщены в обзорных статьях [15–18]. Практически все эти методы применяются для оценки антиоксидантных свойств специй. Некоторые примеры представлены в табл. 1.

Для оценки интегральной антиоксидантной емкости (АОЕ) специй предложен метод кулонометрического титрования электрогенерированным бромом [28]. Подход апробирован на мицеллярных экстрактах 21 специи. Следует отметить

и способ оценки АОЕ специй, основанный на окислении их компонентов на поверхности стеклоглеродного электрода (СУЭ) в среде этанола в условиях циклической вольтамперометрии [29].

С учетом вышесказанного можно отметить, что антиоксидантные свойства специй и разработка новых простых и доступных способов их оценки представляют интерес, поскольку имеют значение для прогнозирования их биологической активности и возможного терапевтического эффекта на организм человека.

Цель настоящей работы – разработать способ хроноамперометрической оценки АОЕ мицеллярных экстрактов специй.

### 1. Экспериментальная часть

Для исследования использовали специи, приобретенные в сети розничной торговли и привезенные из Вьетнама.

**Экстракция 0.1 М Brij® 35.** Точную навеску ( $0.1000 \pm 0.0005$  г) специй помещали в колбу на 15.0 мл, добавляли от 2.0 до 10.0 мл 0.1 М раствора Brij® 35 (Aldrich, Германия) и помещали в ультразвуковую ванну (Sonogex Super RK 100H, КНР) на 10 мин. Экстракты отфильтровывали и использовали для оценки антиоксидантных свойств. Соотношение сырье/экстрагент было установлено кулонометрически по реакции с электрогенерированными  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -ионами [30] (табл. 2).

Табл. 2

Характеристики специй и их экстрактов

Специя	Торговая марка	Соотношение сырье : экстрагент
Гвоздика	“Appetita”	1 : 30
Корица	“Appetita”	1 : 30
Мускатный орех	“Interjarek”	1 : 70
Розмарин	“Appetita”	1 : 30
Анис	“Appetita”	1 : 30
Анис звездчатый	Вьетнам	1 : 60
Орегано	“Galeo”	1 : 60
Черный перец	“Magic tree”	1 : 60
Красный перец	“Galeo”	1 : 40
Белый перец	Вьетнам	1 : 120
Перец красный сладкий	“Magic tree”	1 : 110
Имбирь	“Magic tree”	1 : 100
Базилик	“Appetita”	1 : 40
Куркума желтая	M&S	1 : 60
Куркума черная	Вьетнам	1 : 30
Кардамон черный	Вьетнам	1 : 60
Тмин	“Magic tree”	1 : 20
Кориандр	“Appetita”	1 : 40
Кумин	“Магия востока”	1 : 40
Ягоды можжевельника	“Appetita”	1 : 40

**Модификация электрода.** Перед началом работы рабочую поверхность стеклоуглеродного электрода зачищали механически, полируя оксидом алюминия. Затем электрод ополаскивали ацетоном и дистиллированной водой. СУЭ модифицировали, формируя на рабочей поверхности электрода однородный слой гомогенной дисперсии наночастиц  $\text{CeO}_2$  (Aldrich, Германия) в 0.1 М Brij<sup>®</sup> 35 с концентрацией 1.0 мг/мл, методом капельного испарения 6 мкл их дисперсии.

**Вольтамперометрические и хроноамперометрические измерения** проводили на потенциостате/гальваностате  $\mu\text{Autolab}$  type III (Eco Chemie B.V., Нидерланды), оснащенной программой GPES, version 4.9.005 (Eco Chemie B.V., Нидерланды). В электрохимическую ячейку объемом 5.0 мл вводили 4.0 мл фонового электролита (фосфатного буферного раствора pH 7.4) и аликвоту экстракта специи (0.25 или 1.0 мл). Долю 0.1 М Brij<sup>®</sup> 35 доводили до 20%. Объем раствора в ячейке составлял 5.0 мл. Опускали рабочий СУЭ, модифицированный наночастицами диоксида церия ( $\text{CeO}_2$ -Brij<sup>®</sup> 35/СУЭ), вспомогательный (платиновый) и насыщенный хлоридсеребряный электроды и регистрировали вольтамперограммы от 0 до 1.2 В в дифференциально-импульсном режиме при амплитуде импульса 50 мВ, времени импульса 50 мс и скорости изменения потенциала 10 мВ/с. Хроноамперограммы регистрировали в аналогичной ячейке в течение 100 с при потенциале 1.1 В.

Для количественной оценки антиоксидантных свойств специй брали разность токов образца и фонового электролита, устанавливающихся через 100 с после начала измерения.

**Фотометрические измерения** проводили на спектрофотометре ПЭ-5300 ВИ (Экрос, Россия). АОА оценивали по реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ) [6]. Стандартный 100 мкМ раствор ДФПГ (Aldrich, Германия) готовили по точной навеске, которую растворяли в метаноле (х.ч.). Для оценки АОА в пробирку помещали 3.0 мл раствора ДФПГ, 5 мкл экстракта, тщательно перемешивали и инкубировали в темном месте при комнатной температуре в течение 20 мин, после чего измеряли оптическую плотность раствора при 517 нм в кюветках с  $l = 1$  см. В качестве раствора сравнения использовали метанол (3.0 мл) с добавкой 5 мкл экстракта. АОА выражали как соотношение интенсивностей поглощения ДФПГ до и после реакции с антиоксидантами экстракта.

**Кулонометрические определения** проводили на анализаторе «Эксперт-006» (ООО «Эконикс-Эксперт», Россия). ЖВС образцов оценивали кулонометрически по реакции с электрогенерированными  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -ионами и рассчитывали как количество электричества (Кл), затраченное на титрование в пересчете на 1 г сухой специи [21].

**Статистическую обработку результатов** проводили для 5 или 3 измерений при доверительной вероятности 0.95. Результаты представляли как  $X \pm \Delta X$ , где  $X$  – среднее значение и  $\Delta X$  – доверительный интервал.

## 2. Результаты и их обсуждение

Установлено, что компоненты мицеллярных экстрактов специй электрохимически активны на  $\text{CeO}_2$ -Brij<sup>®</sup> 35/СУЭ в условиях дифференциально-импульсной вольтамперометрии. При этом на вольтамперограммах наблюдаются ступени

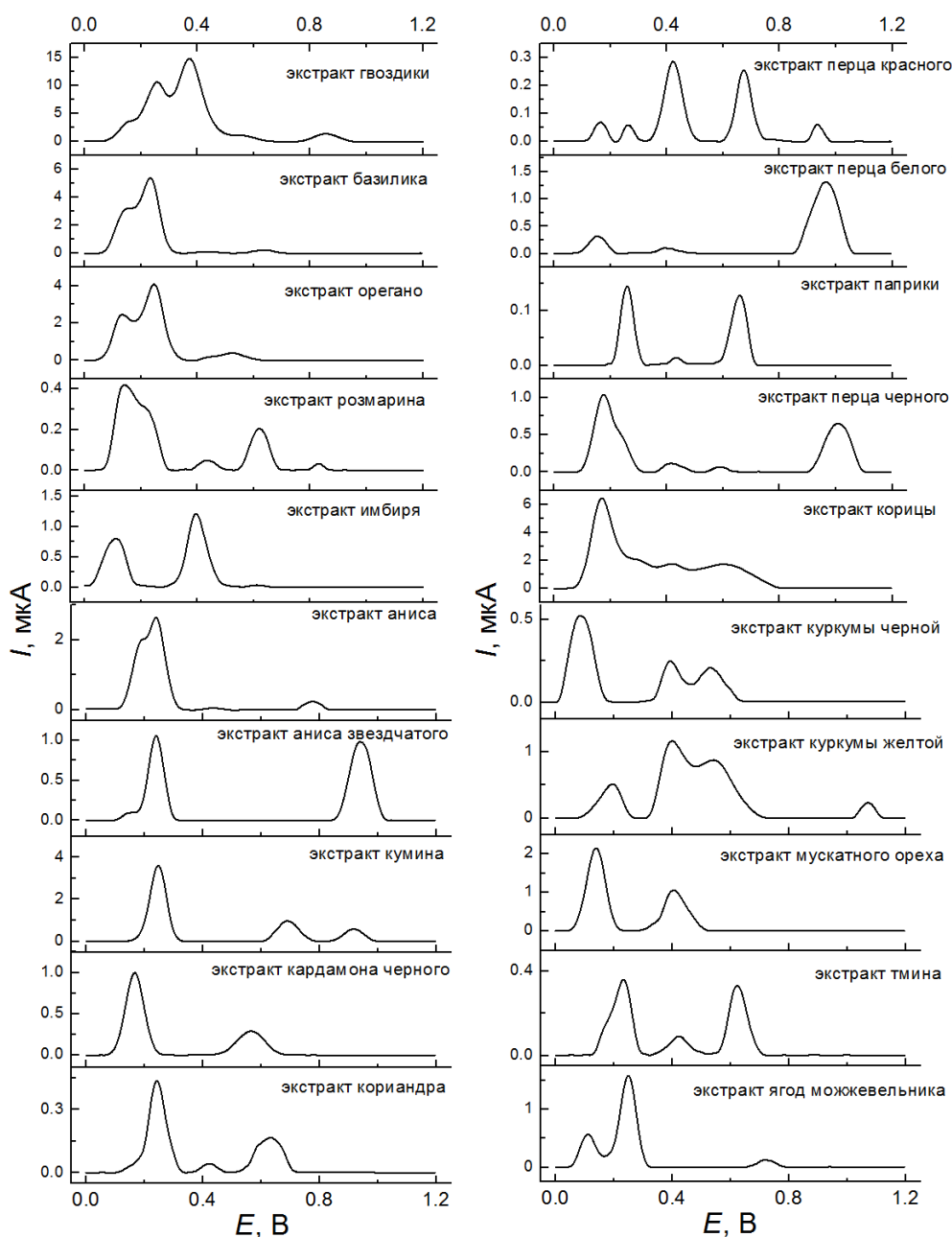


Рис. 1. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы 1.0 мл мицеллярных экстрактов специй на  $\text{CeO}_2\text{-Vrij}^{\text{®}} 35/\text{CVЭ}$  в 0.02 М  $\text{Vrij}^{\text{®}} 35$  на фоне фосфатного буферного раствора pH 7.4. Амплитуда импульса – 50 мВ, время импульса – 50 мс. Скорость изменения потенциала – 10 мВ/с

окисления, потенциалы и токи которых зависят от вида специи (рис. 1). При этом для ряда специй наблюдается перекрывание пиков. Учитывая сложность состава образцов, можно считать, что наблюдаемые ступени окисления носят интегральный характер, что хорошо согласуется с литературными данными [29].

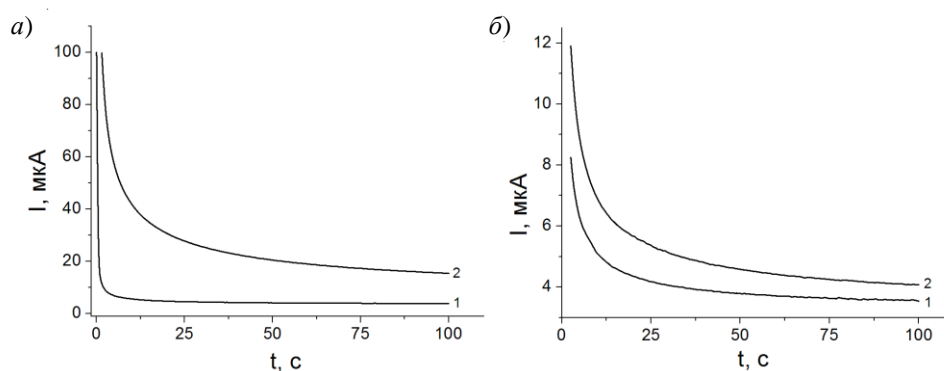


Рис. 2. Хроноамперометрические кривые мицеллярных экстрактов гвоздики (а, кривая 2) и тмина (б, кривая 2) на  $\text{CeO}_2\text{-Brij}^{\text{®}} 35/\text{СУЭ}$  в  $0.02 \text{ M Brij}^{\text{®}} 35$  на фоне фосфатного буферного раствора pH 7.4 (кривая 1)

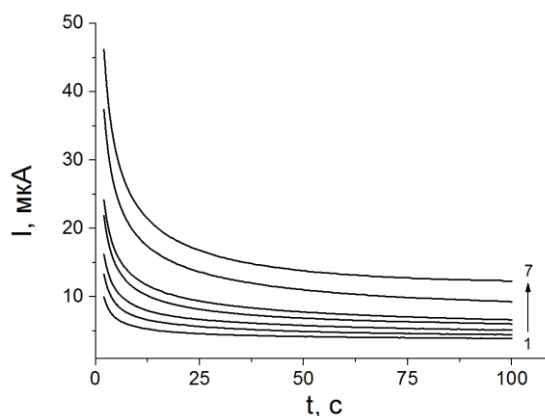


Рис. 3. Хроноамперометрические кривые галловой кислоты различной концентрации на  $\text{CeO}_2\text{-Brij}^{\text{®}} 35/\text{СУЭ}$  в  $0.02 \text{ M Brij}^{\text{®}} 35$  на фоне фосфатного буферного раствора pH 7.4: 1 – 0; 2 – 10; 3 – 50; 4 – 100; 5 – 250; 6 – 500; 7 – 750 мкМ

Для оценки АОЕ экстрактов можно использовать хроноамперометрию. Как видно из рис. 1, максимальный потенциал окисления для экстрактов соответствует  $1.07 \text{ В}$ , поэтому для учета вклада всех электрохимически активных соединений следует проводить определение при более положительном потенциале. В этом случае хроноамперометрический сигнал обусловлен окислением всех антиоксидантов, содержащихся в образце, в том числе и недостаточно четко проявляющих себя на вольтамперограммах. Токи окисления экстрактов при заданном потенциале являются количественной мерой концентрации.

Для оценки АОЕ экстрактов фиксировали изменение анодных токов во времени при потенциале  $1.1 \text{ В}$ . На примере гвоздики и тмина (специй с высоким и низким содержанием антиоксидантов соответственно) показано, что  $100 \text{ с}$  – достаточное время электролиза, позволяющее достичь стационарного состояния (рис. 2).

Так как в качестве стандарта для растительных материалов чаще всего используют галловую кислоту, то предварительно была построена ее градуировочная зависимость на  $\text{CeO}_2\text{-Brij}^{\text{®}} 35/\text{СУЭ}$  (рис. 3).

Табл. 3

Результаты хроноамперометрического определения галловой кислоты в модельных растворах на  $\text{CeO}_2$ -Brij® 35/СУЭ в 0.02 М Brij® 35 на фоне фосфатного буферного раствора pH 7.4 ( $n = 5$ ;  $P = 0.95$ )

Введено, мкг	Найдено, мкг	$s_r$
6.35	$6.4 \pm 0.2$	0.024
63.5	$64 \pm 1$	0.013
635	$634 \pm 5$	0.0065
847	$847 \pm 5$	0.0047
2118	$2120 \pm 12$	0.0045

Установлено, что хроноамперометрический отклик галловой кислоты линейно связан с ее концентрацией согласно уравнению

$$I [\text{мкА}] = (0.0 \pm 0.1) + (10.8 \pm 0.1) \cdot 10^3 \cdot c_{\text{ГК}} [\text{М}], \quad R^2 = 0.9992.$$

Диапазон определяемых содержаний галловой кислоты составляет 7.5–2500 мкМ с пределом обнаружения 2.27 мкМ и нижней границей определяемых содержаний 7.5 мкМ.

Проведено хроноамперометрическое определение галловой кислоты в модельных растворах (табл. 3). Правильность результатов оценена по методу «введено – найдено». Величина относительного стандартного отклонения не превышает 2.5 %.

Для количественной оценки АОЕ экстрактов специй использовали разность токов для образца и фонового электролита, устанавливаемых через 100 с после начала измерения. АОЕ выражали в эквивалентах галловой кислоты в пересчете на 1 г специи согласно формуле

$$\text{АОЕ} = \frac{(I - I_0 - a) \cdot V_{\text{яч}} \cdot M_{\text{ГК}} \cdot V_{\text{экстр}} \cdot 1}{b \cdot V_{\text{ал}} \cdot m_{\text{нав}}},$$

где  $I$  – ток окисления экстрактов специй при 100 с, мкА;  $I_0$  – ток окисления фонового электролита при 100 с, мкА;  $a$  – отрезок, отсекаемый на оси ординат градуировочным графиком галловой кислоты, (0.0) мкА;  $b$  – тангенс угла наклона градуировочного графика галловой кислоты, ( $10.8 \cdot 10^3$ ) мкА/М;  $V_{\text{яч}}$  – объем раствора в ячейке, (5.0) мл;  $V_{\text{ал}}$  – объем аликвоты экстракта специй, (1) мл;  $V_{\text{экстр}}$  – объем экстракта специи, л;  $M_{\text{ГК}}$  – молярная масса галловой кислоты, (170.12) г/моль; 1 – масса специи, на которую ведется пересчет, г.

Результаты определения АОЕ специй представлены в табл. 4. Наивысшее значение АОЕ получено для экстракта гвоздики, что хорошо согласуется с литературными данными [20]. Для всех остальных специй величины АОЕ в 8–57 раз меньше, что объясняется составом специй и природой их активных компонентов. Так, тмин и кориандр богаты ненасыщенными липофильными соединениями [31, 32], которые плохо экстрагируются мицеллярной средой Brij® 35.

Кроме того, следует отметить, что существенное влияние на содержание антиоксидантов в специях, а следовательно, и их качество оказывают географическое место (климатическая зона, почвенные характеристики и т. д.) и время сбора растительного сырья, а также условия их хранения [33].



Табл. 4

АОЕ мицеллярных экстрактов специй по данным хроноамперометрии ( $n = 5, P = 0.95$ )

Специя	АОЕ, мг галловой кислоты/г	$s_r$
Гвоздика	109.0 ± 0.2	0.0014
Орегано	13.5 ± 0.4	0.023
Перец белый	12.3 ± 0.5	0.034
Куркума желтая	10.0 ± 0.5	0.040
Перец черный	9.05 ± 0.09	0.0077
Бasilik	8.6 ± 0.2	0.018
Перец красный	8.1 ± 0.3	0.025
Имбирь	8.1 ± 0.6	0.061
Анис звездчатый	6.5 ± 0.1	0.011
Мускатный орех	6.1 ± 0.4	0.059
Корица	5.7 ± 0.3	0.053
Кумин	4.6 ± 0.3	0.058
Куркума черная	4.6 ± 0.4	0.071
Перец красный сладкий	4.5 ± 0.3	0.047
Ягоды можжевельника	4.3 ± 0.4	0.070
Анис	4.1 ± 0.1	0.017
Кардамон черный	3.7 ± 0.1	0.027
Кориандр	3.6 ± 0.2	0.035
Розмарин	2.4 ± 0.1	0.030
Тмин	1.9 ± 0.1	0.0053

Данные хроноамперометрической оценки АОЕ мицеллярных экстрактов специй сопоставлены с другими интегральными антиоксидантными параметрами – ЖВС по реакции с электрогенерированными гексацианоферрат(III) ионами и АOA по реакции с ДФПГ. Установлены положительные корреляции АОЕ с ЖВС и АOA ( $r = 0.9066$  и  $0.8990$  соответственно при  $r_{\text{крит}} = 0.497$ ). Полученные коэффициенты корреляции позволяют считать разработанный подход адекватно отражающим антиоксидантные свойства специй и использовать его как альтернативный метод, характеризующийся простотой, доступностью и надежностью получаемых результатов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 14-03-31173-мол\_а).

#### Литература

1. Чернышева Н.Н., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Обобщенные показатели объектов анализа и возможности электрохимических методов // Вестн. ТО РЭА. – 2004. – № 1. – С. 54–61.
2. Suhaj M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: A review // J. Food Compos. Anal. – 2006. – V. 19, No 6–7. – P. 531–537.
3. Benzie I.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay // Anal. Biochem. – 1996. – V. 239, No 1. – P. 70–76.
4. Brainina Kh.Z., Ivanova A.V., Sharafutdinova E.N., Lozovskaya E.L., Shkarina E.I. Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation // Talanta. – 2007. – V. 71, No 1. – P. 13–18.

5. Зиятдинова Г.К., Низамова А.М., Будников Г.К. Кулонометрическая оценка железозостванавливающей способности некоторых продуктов питания // Бутлеровские сообщения. – 2011. – Т. 24, № 4. – С. 72–79.
6. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity // LWT – Food Sci. Technol. – 1995. – V. 28, No 1. – P. 25–30.
7. Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays // J. Nutr. – 2003. – V. 133, No 9. – P. 2812–2819.
8. Su L., Yin J.J., Charles D., Zhou K., Moore J., Yu L. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf // Food Chem. – 2007. – V. 100, No 3. – P. 990–997.
9. Dilas S., Knez Z., Četojević-Simin D., Tumbas V., Škerget M., Čanadanović-Brunet J., Četković G. In vitro antioxidant and antiproliferative activity of three rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract formulations // J. Food Sci. Technol. – 2012. – V. 47, No 10. – P. 2052–2062.
10. Caillet S., Yu H., Lessard S., Lamoureux G., Ajdukovic D., Lacroix M. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants // Food Chem. – 2007. – V. 100, No 2. – P. 542–552.
11. Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C., Pogorel'tzev V.I. Electrochemical determination of total antioxidant capacity of human plasma // Anal. Bioanal. Chem. – 2005. – V. 381, No 8. – P. 1546–1551.
12. Зиятдинова Г.К., Захарова С.П., Будников Г.К. Реакции фенольных антиоксидантов с электрогенерированным супероксид анион-радикалом и их аналитическое применение // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2015. – Т. 157, кн. 2. – С. 129–142.
13. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents // Am. J. Enol. Vitic. – 1965. – V. 16, No 3. – P. 144–158.
14. Waterhouse A.L. Determination of total phenolics // Current protocols in food analytical chemistry / Ed. by R.E. Wrolstad. – N. Y.: John Wiley & Sons, 2002. – P. 11.1.1–11.1.8.
15. Karadag A., Ozcelik B., Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities // Food Anal. Meth. – 2009. – V. 2, No 1. – P. 41–60.
16. MacDonald-Wicks L.K., Wood L.G., Garg M.L. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: A review // J. Sci. Food Agric. – 2006. – V. 86, No 13. – P. 2046–2056.
17. Magalhães L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J.L. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties // Anal. Chim. Acta. – 2008. – V. 613, No 1. – P. 1–19.
18. Gülçin İ. Antioxidant activity of food constituents: An overview // Arch. Toxicol. – 2012. – V. 86, No 3. – P. 345–391.
19. Halvorsen B.L., Carlsen M.H., Phillips K.M., Bohn S.K., Holte K., Jacobs D.R. Jr., Blomhoff R. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States // Am. J. Clin. Nutr. – 2006. – V. 84, No 1. – P. 95–135.
20. Carlsen M.H., Halvorsen B.L., Holte K., Bohn S.K., Dragland S., Sampson L., Willey C., Senoo H., Umezono Y., Sanada C., Barikmo I., Berhe N., Willett W.C., Phillips K.M., Jacobs D.R., Blomhoff R. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide // Nutr. J. – 2010. – V. 9, No 3. – P. 6–11.
21. Зиятдинова Г.К., Нгуен Конг Ф., Будников Г.К. Оценка антиоксидантных свойств мицеллярных экстрактов специй методом гальваностатической кулонометрии с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами // Журн. аналит. химии. – 2015. – Т. 70, № 8. – С. 854–862.
22. Lu M., Yuan B., Zeng M. Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China // Food Res. Intern. – 2011. – V. 44, No 2. – P. 530–536.
23. Juliani H.R., Simon J.E. Antioxidant activity of basil // Trends in new crops and new uses / Eds. J. Janick, A. Whipkey. – Alexandria: ASHS Press, 2002. – P. 575–579.

24. *Hinneburg I., Dorman H.J., Hiltunen D.R.* Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices // *Food Chem.* – 2006. – V. 97, No 1. – P. 122–129.
25. *Szabo M.R., Radu D., Gavrilas S., Chambre D., Iditoiu C.* Antioxidant and antimicrobial properties of selected spice extracts // *Int. J. Food Prop.* – 2010. – V. 13, No 3. – P. 535–545.
26. *Suantawee T., Wesarachanon K., Anantsuphasak K., Daenphetploy T., Thien-Ngern S., Thilavech T., Pasukamonset P., Ngamukote S., Adisakwattana S.* Protein glycation inhibitory activity and antioxidant capacity of clove extract // *J. Food Sci. Technol.* – 2015. – V. 52, No 6. – P. 3843–3850.
27. *Ko E.-Y., Kim D., Roh S.W., Yoon W.-J., Jeon Y.-J., Ahn G., Kim K.-N.* Evaluation on antioxidant properties of sixteen plant species from Jeju Island in Korea // *Excel J.* – 2015. – V. 14. – P.133–145.
28. *Зиятдинова Э.Р., Зиятдинова Г.К., Нгуен Конг Ф., Будников Г.К.* Интегральная антиоксидантная емкость мицеллярных экстрактов специй по данным гальваностатической кулонометрии // *Бутлеровские сообщения.* – 2015. – Т. 42, № 5. – С. 56–63.
29. *Зиятдинова Г.К., Будников Г.К.* Оценка антиоксидантных свойств специй по данным циклической вольтамперометрии // *Журн. аналит. химии.* – 2014. – Т.69, № 10. – С. 1086–1093.
30. *Зиятдинова Г.К., Зиятдинова Э.Р., Нгуен Конг Ф., Будников Г.К.* Ультразвуковая мицеллярная экстракция антиоксидантов из специй // *Тез. докл. IV Всерос. симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии».* – Краснодар, 2014. – С. 179.
31. *Malhotra S.K.* Caraway // *Handbook of herbs and spices / Ed. by K.V. Peter.* – Philadelphia: Woodhead Publ., 2012. – V. 2. – P. 225–248.
32. *Parthasarathy V.A., Zachariah T.J.* Coriander // *Chemistry of spices / Eds. V.A. Parthasarathy, B. Chempakam, T.J. Zachariah.* – CABI, 2008. – P. 190–210.
33. *Raghavan S.* Handbook of spices, seasonings, and flavorings. – Boca Raton: CRC Press, 2007. – 330 p.

Поступила в редакцию  
25.06.15

---

**Зиятдинова Гузель Камилевна** – кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: [Ziyatdinovag@mail.ru](mailto:Ziyatdinovag@mail.ru)

**Зиганшина Эндже Ришатовна** – кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: [Endzhe.Ziganshina@kpfu.ru](mailto:Endzhe.Ziganshina@kpfu.ru)

**Нгуен Конг Фук** – аспирант кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

**Будников Герман Константинович** – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: [Herman.Budnikov@kpfu.ru](mailto:Herman.Budnikov@kpfu.ru)

\* \* \*

## CHRONOAMPEROMETRIC EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF MICELLAR SPICE EXTRACTS

G.K. Ziyatdinova, E.R. Ziganshina, Ph. Nguyen Cong, H.C. Budnikov

### Abstract

The oxidation potentials of micellar spice extracts on a glassy carbon electrode modified with cerium dioxide nanoparticles in the Brij<sup>®</sup> 35 micellar medium in phosphate buffer solution have been found. A chronoamperometric approach for evaluation of the antioxidant capacity (AOC) of micellar spice extracts based on the oxidation of their antioxidants under the conditions of potentiostatic electrolysis at 1.1 V has been developed. It has been shown that steady-state electrolysis is attained in 100 s. The AOC has been expressed in gallic acid equivalents recalculated per 1 g of dry spices. The dynamic analytical range of gallic acid was 7.50–2500  $\mu\text{M}$  with the limits of detection and quantification of 2.27 and 7.50  $\mu\text{M}$ , respectively. The approach has been tested on the extracts of 20 spices. Their AOC varied in a wide range (from  $109.0 \pm 0.2$  mg/g for clove to  $1.9 \pm 0.1$  mg/g for caraway) owing to the composition and contents of active components in raw plant materials. Positive correlations have been found between the AOC of spices and their antioxidant activity based on the reaction with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ( $r = 0.8990$  at  $r_{\text{crit}} = 0.497$ ) and ferric reducing power ( $r = 0.9066$  at  $r_{\text{crit}} = 0.497$ ).

**Keywords:** chronoamperometry, chemically modified electrodes, antioxidant capacity, spices, food analysis.

### References

1. Chernysheva N.N., Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C. Integrated parameters of samples and electrochemical methods capabilities. *Vestn. TO REA*, 2004, no. 1, pp. 54–61. (In Russian)
2. Suhaj M. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: A review. *J. Food Compos. Anal.*, 2006, vol. 19, no. 6–7, pp. 531–537.
3. Benzie I.F. Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 1996, vol. 239, no. 1, pp. 70–76.
4. Brainina Kh.Z., Ivanova A.V., Sharafutdinova E.N., Lozovskaya E.L., Shkarina E.I. Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation. *Talanta*, 2007, vol. 71, no. 1, pp. 13–18.
5. Ziyatdinova G.K., Nizamova A.M., Budnikov H.C. Coulometric evaluation of ferric reducing antioxidant power of some foodstuff. *Butlerov Communications*, 2011, vol. 24, no. 4, pp. 72–79. (In Russian)
6. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Sci. Technol.*, 1995, vol. 28, no. 1, pp. 25–30.
7. Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr.*, 2003, vol. 133, no. 9, pp. 2812–2819.
8. Su L., Yin J.J., Charles D., Zhou K., Moore J., Yu L. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chem.*, 2007, vol. 100, no. 3, pp. 990–997.
9. Dilas S., Knez Z., Četojević-Simin D., Tumbas V., Škerget M., Čanadanović-Brunet J., Četković G. In vitro antioxidant and antiproliferative activity of three rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract formulations. *J. Food Sci. Technol.*, 2012, vol. 47, no. 10, pp. 2052–2062.
10. Caillet S., Yu H., Lessard S., Lamoureux G., Ajdukovic D., Lacroix M. Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. *Food Chem.*, 2007, vol. 100, no. 2, pp. 542–552.
11. Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C., Pogorel'tzev V.I. Electrochemical determination of total antioxidant capacity of human plasma. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, vol. 381, no. 8, pp. 1546–1551.
12. Ziyatdinova G.K., Zakharova S.P., Budnikov H.C. Reactions of phenolic antioxidants with electro-generated superoxide anion radical and their analytical application. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2015, vol. 157, no. 2, pp. 129–142. (In Russian)
13. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1965, vol. 16, no. 3, pp. 144–158.
14. Waterhouse A.L. Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. Wrolstad R.E. (Ed.). New York, John Wiley & Sons, 2002, pp. I1.1.1–I1.1.8.
15. Karadag A., Ozcelik B., Saner S. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food Anal. Meth.*, 2009, vol. 2, no. 1, pp. 41–60.

16. MacDonald-Wicks L.K., Wood L.G., Garg M.L. Methodology for the determination of biological antioxidant capacity *in vitro*: A review. *J. Sci. Food Agric.*, 2006, vol. 86, no. 13, pp. 2046–2056.
17. Magalhães L.M., Segundo M.A., Reis S., Lima J.L. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties. *Anal. Chim. Acta*, 2008, vol. 613, no. 1, pp. 1–19.
18. Gülçin İ. Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Arch. Toxicol.*, 2012, vol. 86, no. 3, pp. 345–391.
19. Halvorsen B.L., Carlsen M.H., Phillips K.M., Bohn S.K., Holte K., Jacobs D.R. Jr., Blomhoff R. Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2006, vol. 84, no. 1, pp. 95–135.
20. Carlsen M.H., Halvorsen B.L., Holte K., Bøhn S.K., Dragland S., Sampson L., Willey C., Senoo H., Umezono Y., Sanada C., Barikmo I., Berhe N., Willett W.C., Phillips K.M., Jacobs D.R., Blomhoff R. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. *Nutr. J.*, 2010, vol. 9, no. 3, pp. 6–11.
21. Ziyatdinova G.K., Nguen Cong F., Budnikov H.C. Assessment of the antioxidant properties of micellar spice extracts by galvanostatic coulometry with electrogenerated hexacyanoferrate(III) ions. *J. Anal. Chem.*, 2015, vol.70, no. 8, pp. 974–982.
22. Lu M., Yuan B., Zeng M. Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Res. Intern.*, 2011, vol. 44, no. 2, pp. 530–536.
23. Juliani H.R., Simon J.E. Antioxidant activity of basil. *Trends in New Crops and New Uses*. J. Janick, A. Whipkey (Eds). Alexandria, ASHS Press, 2002, pp. 575–579.
24. Hinneburg I., Dorman H.J., Hiltunen D.R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem.*, 2006, vol. 97, no. 1, pp. 122–129.
25. Szabo M.R., Radu D., Gavrilas S., Chambre D., Idoiou C. Antioxidant and antimicrobial properties of selected spice extracts. *Int. J. Food Prop.*, 2010, vol. 13, no. 3, pp. 535–545.
26. Suantawee T., Wesarachanon K., Anantsuphasak K., Daenphetploy T., Thien-Ngern S., Thilavech T., Pasukamonset P., Ngamukote S., Adisakwattana S. Protein glycation inhibitory activity and antioxidant capacity of clove extract. *J. Food Sci. Technol.*, 2015, vol. 52, no. 6, pp. 3843–3850.
27. Ko E.-Y., Kim D., Roh S.W., Yoon W.-J., Jeon Y.-J., Ahn G., Kim K.-N. Evaluation on antioxidant properties of sixteen plant species from Jeju Island in Korea. *Excel J.*, 2015, vol.14, pp.133–145.
28. Ziganshina E.R., Ziyatdinova G.K., Nguyen Cong Ph., Budnikov H.C. Total antioxidant capacity of spices micellar extracts based on constant-current coulometry data. *Butlerov Communications*, 2015, vol. 42, no. 5, pp. 56–63. (In Russian)
29. Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C. Evaluation of the antioxidant properties of spices by cyclic voltammetry. *J. Anal. Chem.*, 2014, vol. 69, no. 10, pp. 990–997.
30. Ziyatdinova G.K., Ziganshina E.R., Nguyen Cong Ph., Budnikov H.C. Ultrasound micellar extraction of antioxidants from spices. *Tez. dokl. IV Vseros. simpoziuma "Razdelenie i kontsentrirovanie v analiticheskoi khimii i radiokhimii"* [Proc. IV Natl. Symp. "Separation and Concentration in Analytical Chemistry and Radiochemistry"]. Krasnodar, 2014, pp. 179.
31. Malhotra S.K. Caraway. *Handbook of Herbs and Spices*. Peter K.V. (Ed.). Philadelphia, Woodhead Publishing, 2012, vol. 2, pp. 225–248.
32. Parthasarathy V.A., Zachariah T.J. Coriander. *Chemistry of Spices*. Parthasarathy V.A., Chempakam B., Zachariah T.J. (Eds.). CABI, 2008, pp. 190–210.
33. Raghavan S. Handbook of spices, seasonings, and flavorings. Boca Raton, CRC Press, 2007. 330 p.

Received  
June 25, 2015

---

**Ziyatdinova Guzel' Kamilevna** – PhD in Chemistry, Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Institute of Chemistry, Kazan Federal University, Kazan, Russia.  
E-mail: [Ziyatdinovag@mail.ru](mailto:Ziyatdinovag@mail.ru)

**Ziganshina Endzhe Rishatovna** – PhD in Chemistry, Research Fellow, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Institute of Chemistry, Kazan Federal University, Kazan, Russia.  
E-mail: [Endzhe.Ziganshina@kpfu.ru](mailto:Endzhe.Ziganshina@kpfu.ru)

**Nguyen Cong Phuc** – PhD Student, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Institute of Chemistry, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

**Budnikov Herman Constantinovich** – Doctor of Chemistry, Professor, Department of Analytical Chemistry, A.M. Butlerov Institute of Chemistry, Kazan Federal University, Kazan, Russia.  
E-mail: [Herman.Budnikov@kpfu.ru](mailto:Herman.Budnikov@kpfu.ru)