

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ВЕЩЕСТВ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КОМПЛЕКСА ЖЕЛЕЗА (III)
С 2,2'-ДИПИРИДИНОМ**

И.П. Блинова, Т.Е. Нужных, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, Ань Ван Нгуен

Ирина Петровна Блинова (ORCID 0000-00002-4525-4536)*, Татьяна Евгеньевна Нужных (ORCID 0009-0004-8966-2066), Виктор Иванович Дейнека (ORCID 0000-0002-3971-2246), Людмила Александровна Дейнека (ORCID 0000-0002-4101-2468)

Кафедра общей химии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, ул. Победы, 85, Белгород, Российская Федерация, 308015
E-mail: blinova@bsuedu.ru*

Ань Ван Нгуен

Хошиминский Университет промышленности и торговли, Ли Тхыонг Киет, 268, округ 10, Хошимин

Показано, что для получения надежных результатов при определении антиоксидантных свойств с использованием железо-восстанавливающей методики в образцах для измерения оптической плотности необходимо выдерживать соотношение молярных концентраций ионов железа (III) и дипиридина в пределах 1 : 6,4. Это связано с низкой скоростью обмена лигандов для внутриорбитальных низкоспиновых октаэдрических комплексов с конфигурациями $(t_{2g})^5$ и $(t_{2g})^6$, для исходного комплекса железа (III) и конечного продукта восстановления, поскольку при восстановлении образуется катион железа (II), координирующий три молекулы дипиридина вместо одной или двух в случае исходного комплекса железа (III). Экспериментально установлено, что передача этого лиганда от исходной частицы в продукт восстановления $([Fe(dipy)_3]^{2+})$ происходит медленно. Простая градуировка системы окислитель-антиоксидант в этом случае позволяет пересчитывать антиоксидантное свойство на число моль электронов, теряемых одним моль антиоксиданта. Это позволяет оценить глубину превращения - число последовательных стадий окисления, т.е. антиоксидантную емкость исходного антиоксиданта. Выполнен анализ антиоксидантной емкости некоторых веществ, принимаемых для выражения антиоксидантных свойств в качестве веществ сравнения. Установлено, что один моль аскорбиновой кислоты в данном варианте определения антиоксидантных свойств быстро теряет два моль электронов, и реакция при этом практически заканчивается. Кофейная кислота существенно медленнее теряет также два электрона, но процесс продолжается и по второй стадии. При этом пара-кумаровая кислота окисляется заметно медленнее по сравнению кофейной кислотой. Добавление метокси-группы в орто-положение от гидроксильной группы кумаровой кислоты (при переходе к феруловой кислоте) ускоряет окисление. При добавлении двух метокси-групп в оба орто-положения (при переходе к синаповой кислоте) происходит даже более быстрое окисление по сравнению с кофейной кислотой. В таком случае феруловая, кофейная и синаповая кислоты могут быть использованы в качестве веществ сравнения антиоксидантных свойств медленно окисляющихся (после начального быстрого периода) смеси веществ в реальных экстрактах. При использовании кофейной кислоты в качестве образца сравнения при определении антиоксидантных свойств кофе (напитка) получают результаты, мало зависящие от времени выдержки реакционных смесей даже при постоянно изменяющейся оптической плотности.

Ключевые слова: антиоксидантные свойства, железо-восстанавливающая методика, 2,2'-дипиридин, оптимальное соотношение реагентов

DETERMINATION OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF SUBSTANCES USING REDUCTION OF IRON (III) COMPLEX WITH 2,2'-DIPYRIDINE

I.P. Blinova, T.E. Nuzhnykh, V.I. Deineka, L.A. Denyeka, Anh Van Nguyen

Irina P. Blinova (ORCID 0000-00002-4525-4536)*, Tatiana E. Nuzhnykh (ORCID 0009-0004-8966-2066), Victor I. Deineka (ORCID 0000-0002-3971-2246), Ludmila A. Deineka (ORCID 0000-0002-4101-2468)

Department of General Chemistry, Belgorod State National Research University, Pobedy st., 85, Belgorod, 308015, Russia

E-mail: blinova@bsuedu.ru*

Anh Van Nguyen

Ho Chi Minh City University of Industry and Trade, Ly Thuong Kiet, 268, District 10, Ho Chi Minh City

It has been shown that to obtain reliable results when determining antioxidant properties using the iron-reducing technique in samples for measuring optical density, it is necessary to create a ratio of the molar concentrations of iron (III) ions to the concentration of dipyridine in a molar ratio of about 1: 6.4. This is due to the low rate of ligand exchange for intraorbital low-spin octahedral complexes with configurations $(t_{2g})^5$ and $(t_{2g})^6$, for the initial iron (III) complex and the final reduction product, since product of reduction coordinates three dipyridine molecules instead of one or two in the case of the original complex. It has been experimentally established that the transfer of this ligand from the initial particle to the reduction product ($[Fe(dipy)_3]^{2+}$) occurs slowly. A simple calibration of the oxidant-antioxidant system in this case allows one to recalculate the antioxidant property by the number of moles of electrons lost by one mole of antioxidant. This in turn allows us to estimate the depth of transformation - the number of successive oxidation stages, i.e. antioxidant capacity of the original antioxidant. An analysis of the antioxidant capacity of some substances taken to express antioxidant properties as reference substances was performed. It has been established that one mole of ascorbic acid in this version of determining antioxidant properties quickly loses two moles of electrons, and the reaction practically ends. Caffeic acid also loses two electrons but much more slowly, and the process continues through the second stage. In this case, para-coumaric acid oxidizes extremely slowly compared to caffeic acid. The addition of the ortho position from the hydroxyl group of coumaric acid the methoxy group accelerates oxidation, and the addition of two methoxy groups at both ortho positions results in oxidation activity even greater than that of caffeic acid. In this case, ferulic, caffeic and sinapic acids can be used as substances to compare the antioxidant properties of slowly oxidizing (after an initial rapid period) mixture of substances in real extracts. When using caffeic acid as a comparison sample when determining the antioxidant properties of coffee (drink), obtained results are only slightly dependent on the exposure time of the reaction mixtures, even with constantly changing optical density.

Keywords: antioxidant properties, FRAP, 2,2'-dipyridine, optimal ratio of reagents

Для цитирования:

Блинова И.П., Нужных Т.Е., Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Ань Ван Нгуен Определение антиоксидантных свойств веществ с использованием восстановления комплекса железа (III) с 2,2'-дипиридином. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2025. Т. 68. Вып. 6. С. 6–14. DOI: 10.6060/ivkkt.20256806.7182.

For citation:

Blinova I.P., Nuzhnykh T.E., Deineka V.I., Denyeka L.A., Anh Van Nguyen Determination of antioxidant properties of substances using reduction of iron (III) complex with 2,2'-dipyridine. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2025. V. 68. N 6. P. 6–14. DOI: 10.6060/ivkkt.20256806.7182.

ВВЕДЕНИЕ

Поиск веществ, обладающих антиоксидантными свойствами как в растениях [1], так и в других живых организмах [2], является важной за-

дачей в современной химии. Соответственно, представляют интерес и методы определения таких свойств, включающих варианты определения антирадикальной активности [1-3], железо-восстанавливающие способы [2, 4] и многие другие [5-7].

FRAP (Ferric ion reducing antioxidant power – железо восстанавливающие методики определения антиоксидантных свойств) широко используются при исследовании различных антиоксидантов [8–13]. Методика предполагает восстановление соединений Fe^{3+} до Fe^{2+} под действием антиоксидантов. При этом добавлением специальных лигандов благодаря различию электронных спектров поглощения координационных соединений Fe^{3+} и Fe^{2+} , например, 2,2'-дипиридина, (bipy), обеспечивается не только спектрофотометрический контроль течения процесса, но и рост электродного потенциала окислителя [11].

По литературным данным, при смешивании растворов FeCl_3 с bipy в 0,1 М растворе HCl образуется координационное соединение $[\text{Fe}(\text{bipy})\text{Cl}_4][\text{bipy} \cdot \text{H}]$ [8]; в этом соединении молярное соотношение ионов железа к bipy 1:1, если учитывать только внутреннюю сферу комплекса, и 1:2 при учете противоиона во внешней координационной сфере. В координационном соединении железа (II) с bipy установлен состав $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$ с иным молярным соотношением (1:3) [9]. В цитируемой работе также отмечается, что его окисленная форма подвергается димеризации с образованием координационного катиона $\mu\text{-O-}[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{bipy})_2(\text{H}_2\text{O})]_2^{4+}$, в котором указанное выше соотношение изменяется до 1:2.

В работе, опубликованной в 2002 г. [10], комплексы железа (III) с bipy использовали в спектрофотометрическом проточно-инжекционном методе определения аскорбиновой кислоты. В работе использовали раствор с большим избытком дипиридина (молярное соотношение порядка 1:22), подкисленный серной кислотой до 0,05 М.

В [11] при определении антиоксидантной активности пищевых продуктов использовали реакционную смесь Fe^{3+} и bipy в молярном соотношении 1:14,3 при концентрации ионов железа III в конечном растворе около $1 \cdot 10^{-3}$ М. Смесь выдерживали в течение 60 мин и оптическую плотность при $\lambda = 490$ нм измеряли после добавления стоп-реагента (раствора фторида натрия), так как для многих индивидуальных антиоксидантов изменение оптической плотности продолжалось далее.

В работе [12] использовали растворы комплекса $\{\text{Fe}^{3+} \cdot \text{bipy}\}$ в 0,3 М ацетатном буфере (pH = 4). Молярное $\text{Fe}^{3+}:\text{bipy}$ соотношение составляло 1 : 0,64 при концентрации ионов железа (III) в реакционной смеси 10^{-3} М. Измерения оптической плотности проводили при $\lambda = 535$ нм. Реакционную смесь выдерживали в течение 10 мин при комнатной температуре перед измерением оптической плотности смеси. Максимум интенсивности окраски был

достигнут при pH 4, и абсорбция несколько уменьшалась как при росте, так и при уменьшении pH.

В работе [13] в реакционной смеси молярное соотношение $\text{Fe}^{3+}:\text{bipy}$ составило 1 : 1,65 при концентрации ионов железа (III) в реакционной смеси также 10^{-3} М в ацетатном буфере (pH 4,6). О времени выдержки смеси перед спектрофотометрированием нет информации, но отмечается быстрое (за несколько мин) восстановление аскорбиновой кислотой.

Основная проблема состоит в том, что по опубликованным работам не понятно, какое соотношение концентраций Fe^{3+} и bipy в исходной смеси следует применять в данном методе. Поэтому основная задача настоящей работы – определение оптимального молярного соотношения ионов Fe^{3+} и bipy.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе использовали 2,2'-дипиридин (ACROS ORGANIC, 99%, Бельгия), аскорбиновую кислоту (ЗАО «ФП Мелиген»), кофейную кислоту (Alfa Aesar), *пара*-кумаровую, феруловую и синаповую кислоты (Alfa Aesar), железоаммонийные квасцы $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (ХПС, чда, ТУ 6-0905359-88), соль Мора $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ХПС, хч, ГОСТ 4208-72), этанол (ООО «Гиппократ», 95%), дистиллированную воду.

Приготовление растворов: 1 г дипиридина растворили в 100 мл этанола; 0,01 М раствор железоаммонийных квасцов готовили с добавлением 1 об. % концентрированной серной кислоты; 0,01 М раствор соли Мора также готовили с добавлением 1 об. % концентрированной серной кислоты; 0,0022 М раствор кофейной кислоты готовили в воде с добавлением 5 об. % этилового спирта; 0,002 М раствор аскорбиновой кислоты готовили в дистиллированной воде и использовали только в свежеприготовленном виде.

Методика I [14]. В мерные колбы объемом 10 мл добавили 5 мл дистиллированной воды, 0,5 мл 0,01 М раствора железоаммонийных квасцов, 0,1 мл 1% раствора 2,2'-дипиридина и аликвоту антиоксиданта. Через необходимые интервалы времени определили оптическую плотность растворов при 522 нм, используя спектрофотометр Shimadzu UV1550 и кюветы с длиной оптического пути 1 см.

Методика II. В мерные колбы объемом 10 мл добавили 5 мл дистиллированной воды, 0,5 мл 0,01 М раствора железоаммонийных квасцов, 0,5 мл 1% раствора 2,2'-дипиридина и аликвоту антиоксиданта. Через необходимые интервалы времени определили

оптическую плотность растворов при 522 нм, используя спектрофотометр Shimadzu UV1550 и кюветы с длиной оптического пути 1 см.

Приготовление напитка кофе. Навеску растворимого кофе («Monarch» Tropical selection, 100% натуральный кофе) массой 2 г заварили в 200 мл горячей дистиллированной воды, через 10 мин отфильтровали через бумажный фильтр. Полученный раствор использовали сразу после приготовления.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Электронный спектр поглощения продукта восстановления комплекса железа (III) кофейной кислотой представлен на рис. 1.

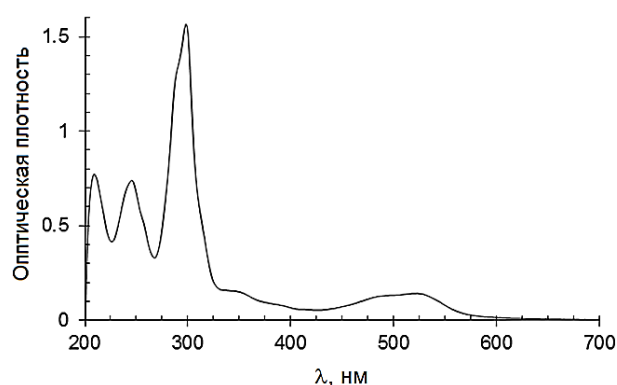


Рис. 1. Спектр продукта восстановления комплекса железа (III) с 2,2'-дипиридином кофейной кислотой
Fig. 1. Spectrum of the reduction product of iron(III) complex with 2,2'-dipyridine caffeic acid

В спектре обнаруживается четыре максимума абсорбции: при 209, 246, 298 и 520 нм. Но использование первых трех полос поглощения не имеет смысла вследствие близости спектров дипиридина и его координационных соединений с ионами Fe^{2+} и Fe^{3+} в этом диапазоне длин волн.

Исследование окисления кофейной кислоты в условиях методики I показало, что процесс протекает довольно медленно: для основной опорной полосы абсорбции, возникающей при появлении комплекса *bipy* с Fe^{2+} при 520 нм, оптическая плотность со второй минуты до семидесятой постепенно возрастает более чем на 200%, рис. 2. Более того, оптическая плотность в растворе, оставленном на 44 и на 120 ч, выросла на 400 и 410%, соответственно.

При оценке скорости процесса необходимо учитывать, что координационные соединения ионов железа (III) и (II) с дипиридином являются внутриорбитальными низкоспиновыми комплексами с электронной конфигурацией $(t_{2g})^5$ и $(t_{2g})^6$, соответ-

ственно, и, следовательно, характеризуются кинетически затрудненным обменом лигандов. Поэтому замедление процесса может быть связано с одной стороны с низкой скоростью окисления антиоксиданта и восстановления ионов железа (III). Причиной этого эффекта может быть замедление протекания процесса освобождения необходимого места во внутренней координационной сфере иона Fe^{3+} , чему не будет способствовать рост концентрации *bipy*. Медленное развитие окраски может быть связанным с медленным процессом замены лигандов во внутренней координационной сфере образовавшегося иона Fe^{2+} для формирования конечного координационного катиона $[\text{Fe}(\text{bipy})_3]^{2+}$. Этому процессу, наоборот, рост концентрации *bipy* благоприятствует.

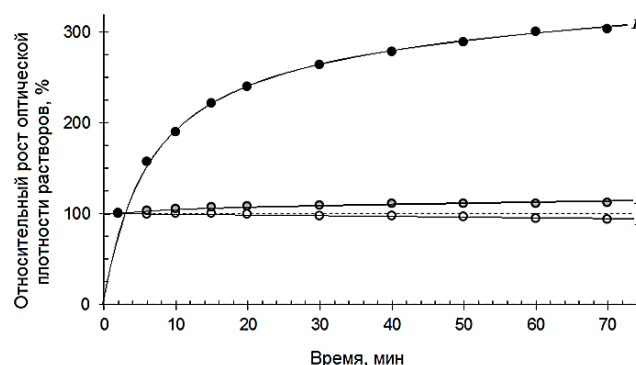


Рис. 2. Относительный рост оптической плотности раствора в условиях методики I при выдерживании раствора при трех длинах волн: 1 – 520 нм, 2 – 298 нм, 3 – 243 нм
Fig. 2. Optical density relative increase in the solution under the conditions of method I vs the time delay of the solution for three wavelengths, 1 – 520 nm, 2 – 298 nm, 3 – 243 nm

На рис. 3 представлены результаты развития окраски образцов с одинаковыми концентрациями кофейной кислоты и ионов Fe^{3+} , но различной концентрацией дипиридина: от мольного соотношения $\text{Fe}^{3+} : \text{bipy}$ 1:1,3 (кривая 1 на рис. 3), до 1:2,6 (кривая 2), до 1:3,9 (кривая 3), и до 1:6,4 (кривая 4). При повышении этого соотношения оптические плотности уменьшаются, вероятно, вследствие затруднения входа восстановителя в координационную сферу комплекса.

Из представленных данных следует, что существует конкуренция между ионами Fe^{3+} и Fe^{2+} за лиганды для заполнения внутренней координационной сферы. Поэтому скорость развития окраски существенно возрастает с ростом мольного соотношения $\text{Fe}^{3+} : \text{bipy}$ до 1:3,9. В первые 1 – 2 мин происходит быстрый рост оптической плотности, а в дальнейшем наблюдается практически линейный

рост с относительно невысоким наклоном. Отметим также и то, что кривая 2 при больших временах выдержки растворов достигает уровня развития окраски для кривых 3 и 4. Расположение линии 4 немногим ниже линии 3 подтверждает высказанное выше предположение о замедлении процесса восстановления ионов Fe^{3+} избытком лиганда.

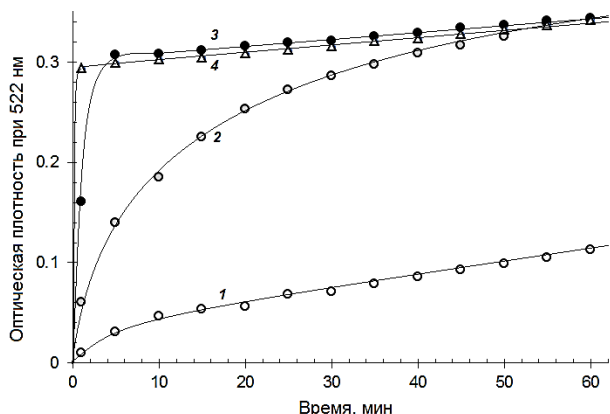
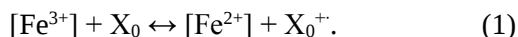


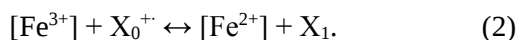
Рис. 3. Изменения оптической плотности растворов кофейной кислоты в смесях окислителя с мольным соотношением Fe^{3+} : бипу; Мольные соотношения Fe^{3+} : бипу - 1:1.3 (1), 1:2.6 (2), 1:3.9 (3), 1:6.4 (4)

Fig. 3. Changes in the optical density of caffeic acid solutions in oxidizing agent mixtures with different molar ratios of Fe^{3+} : bipy; molar ratio Fe^{3+} : bipy - 1:1.3 (1), 1:2.6 (2), 1:3.9 (3), 1:6.4 (4)

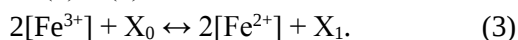
Полученные данные можно интерпретировать как многостадийный процесс. Реакция между окислителем, $[\text{Fe}^{3+}]$, и восстановителем (антиоксидантом), X_0 , вначале должна быть одноэлектронной:



Что происходит далее не известно, но обычно ситуация выглядит так, как если образующийся высоко активный катион-радикал быстро теряет еще один электрон, превращаясь в первый продукт окисления, X_1 :



Тогда первую стадию можно описать суммой реакций (1) и (2):



Скорость этой реакции определяет *антиоксидантную активность* X_0 . Но X_1 , как и последующие продукты окисления исходного антиоксиданта, также могут вступать в реакцию с окислителем:



Поэтому суммарный расход окислителя определяется *антиоксидантной емкостью* и зависит от числа стадий, вовлеченных в процесс за

некоторое время, выбираемое создателем соответствующей методики.

Для количественной оценки антиоксидантных свойств исследуемых объектов принято сопоставлять их свойства с аналогичными свойствами некоторых веществ сравнения [15]: аскорбиновой или галловой кислот, тролокса, катехина, мочевой кислоты [16] и др. Такой подход интуитивно понятен, но в химическом отношении не совсем оправдан. Дело в том, что антиоксиданты могут различаться по типу взаимодействий с оксидантом как по скорости реакций, так и по количеству последовательных реакций по схемам (1) – (3).

В случае железо-восстанавливающих методов существует альтернативный способ градуировки - по искусственной контролируемой замене ионов железа (III) на ионы железа (II), имитирующей процесс реакции. Введение в методе (II) вместо антиоксиданта известного количества ионов Fe^{2+} позволяет определить количественную взаимосвязь между конечной оптической плотностью и числом моль Fe^{2+} , которая оказалась линейной с нулевым интерсептом:

$$A(n) = 424700 \cdot n(\text{Fe}^{2+}). R^2 = 0,998, \quad (4)$$

где $A(n)$ – оптическая плотность раствора, содержащего n моль ионов Fe^{2+} .

Это позволяет ввести градуировочный коэффициент, $k(\bar{e})$, позволяющий пересчитать экспериментально наблюдаемую оптическую плотность раствора на число моль введенных ионов Fe^{2+} , что эквивалентно числу моль электронов:

$$k(\bar{e}) = c(\text{Fe}^{2+}) \cdot V_a / A, \quad (5)$$

где $c(\text{Fe}^{2+})$ – молярная концентрации раствора соли железа (II), V_a – объем введенной в реакционную смесь этого раствора, л, A – оптическая плотность раствора при установлении равновесия.

При этом возможно принципиально иное выражение антиоксидантных свойств соединений – по числу моль электронов, теряемых антиоксидантом по предлагаемой методике, на единицу массы исследуемого образца или на 1 моль образца в виде индивидуального соединения. Более того, возможно сопоставление характера протекающих процессов. Для этого оптическую плотность, найденную при определении антиоксидантных свойств вещества А, следует умножить на градуировочный коэффициент (4), определяемый по добавлению ионов Fe^{2+} , и результат разделить на число моль веществ А (если анализируется индивидуальное вещество сравнения), использованных в эксперименте:

$$n(\bar{e}/\text{моль})_i = A_i(i) \cdot k(\bar{e}) / (c(i) \cdot V_a(i)), \quad (6)$$

где $n(\bar{e}/\text{моль})_i$ – число моль электронов, теряемых 1 моль антиоксиданта; $A_t(i)$ – оптическая плотность исследуемого раствора, $c(i)$ – молярная концентрация антиоксиданта i в исходном растворе и $V_a(i)$ – объем аликвоты этого раствора, добавленный в реакционную смесь.

Результаты, полученные для двух потенциальных веществ сравнения (аскорбиновой кислоты и кофейной кислоты), представлены на рис. 4.

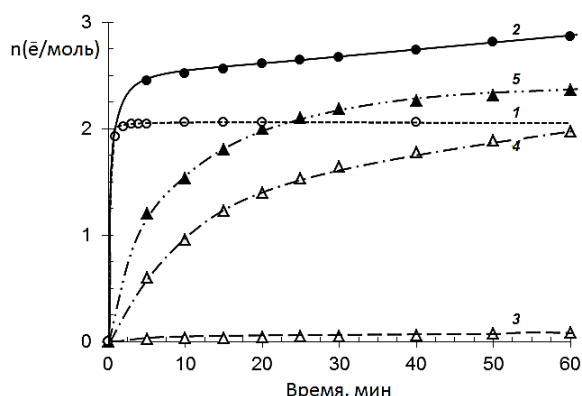


Рис. 4. Глубина окисления по методике (II) аскорбиновой (1), кофейной (2), пара-кумаровой (3), феруловой (4) и синаповой (5) кислот

Fig. 4. Depth of oxidation according to method (II) of ascorbic (1), caffeic (2), para-coumaric (3), ferulic (4) and sinapic (5) acids

Приведенные на этом рисунке результаты свидетельствуют о том, что аскорбиновая кислота быстро теряет два электрона и на этом процесс окисления практически заканчивается. Кофейная кислота, также содержащая две гидроксильные группы у соседних sp^2 -гибридных атомов углерода бензольного кольца, также быстро теряет два электрона, но окисляется и по второй стадии, хотя и с существенно меньшей скоростью.

Предложенный подход позволяет также определить влияние введения в структуру не только гидроксигрупп, но и метокси-групп на изменение антиоксидантных свойств производных коричной кислоты от пара-кумаровой до феруловой и синаповой кислот (схема).

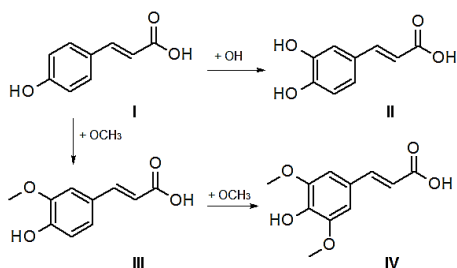


Схема. Строение замещенных коричных кислот пара-кумаровой (I), кофейной (II), феруловой (III) и синаповой (IV)
Scheme. Structure of substituted cinnamic acids: p-coumaric (I), cinnamic (II), ferulic (III) and sinapic (IV)

Как следует из представленных на рис. 4 данных, пара-кумаровая кислота, содержащая только одну ОН-группу в пара-положении к карбоксильной группе окисляется крайне медленно. Но скорость окисления (и антиоксидантная активность) кислот резко возрастает при добавлении метокси-группы в орто-положение к существующей ОН-группе в случае феруловой кислоты и даже несколько быстрее при наличии двух метокси-групп в орто-положениях к гидроксильной группе в синаповой кислоте. При этом антиоксидантная емкость для феруловой и синаповой кислот постепенно приближается к двум электронам на моль с тенденцией к дальнейшему более медленному росту.

В работе [14] было показано, что для многостадийных процессов антиоксидантные свойства смеси нескольких соединений в исследуемом растворе в условиях продолжающейся цепи превращений не аддитивны, что может привести к ложной констатации синергизма действия их смеси. Для исключения ошибочных выводов следует убедиться в независимости получаемых результатов от концентрации антиоксидантов в пробе по предлагаемой методике.

Результаты определения оптических плотностей проб, полученных по методикам I и II для объемов вводимых проб, различающихся в 2 раза, представлены в табл. 1.

Из приведенных данных следует, что методика I приводит к зависящим от объема и от времени измерения оптической плотности результатам со средним значением 0,635 вместо 0,500 со стандартным отклонением, превышающим 10%.

Результаты, полученные по методике II, оказались существенно лучше: среднее соотношение между оптическими плотностями двух опытов оказалось очень близким к предполагаемому (0,495 против 0,500) со стандартным отклонением меньше 2% вне зависимости от времени измерения.

Таким образом, методика II должна обеспечить получение надежного значения и по традиционной схеме в пересчете на кофейную кислоту, поскольку основные антиоксиданты кофе являются производными кофейной кислоты – дикофеоилхинные и монокофеоилхинные кислоты [17-20].

При определении антиоксидантных свойств напитка кофе относительно кофейной кислоты по методике I и II получены также существенно различающиеся результаты. Для расчета, табл. 2, использовали формулу:

$$OAC_i(i) = A_t(i) \cdot V_a(CA) \cdot c(CA) / (A_t(CA) \cdot V_a(i)), \text{ моль/л, (7)}$$

где $OAC_i(i)$ – относительное антиоксидантное свойство образца напитка кофе i , $A_t(i)$ и $A_t(CA)$ –

оптические плотности i -го образца и раствора кофейной кислоты с исходной концентрацией $c(\text{CA})$ при выдержке раствора в течение времени t , соответственно; $V_a(\text{CA})$ и $V_a(i)$ объемы аликвот раст-

вора кофейной кислоты и исследуемого образца. Умножение на молярную массу кофейной кислоты (180 г/моль) позволяет перевести ОАС в г/моль кофейной кислоты.

Таблица 1

Зависимость оптических плотностей и их соотношения от объема вводимой пробы раствора кофейной кислоты по методике I (№ 1 и №2) и по методике II (№3 и №4)

Table 1. Dependence of optical density and their ratio on the volume of the injected sample of caffeic acid solution according to method I (No. 1 and No. 2) and according to method II (No. 3 and No. 4)

Номера опытов	1	2		3	4	
V(bipy), мл	0,10	0,10		0,50	0,50	
V(соли Fe^{3+}), мл	0,50	0,50		0,50	0,50	
V(кофейной кислоты), мл	0,30	0,15		0,30	0,15	
Время выдержки проб, мин	A(1)	A(2)	A(2):A(1)	A(3)	A(4)	A(4):A(3)
20	0,162	0,120	0,741	0,653	0,332	0,508
30	0,249	0,165	0,663	0,702	0,349	0,497
40	0,314	0,192	0,611	0,740	0,364	0,492
50	0,359	0,211	0,588	0,778	0,381	0,490
60	0,392	0,224	0,571	0,818	0,401	0,49
СтО*			0,069			0,008
Среднее значение			0,635			0,495

Примечание: * - стандартное отклонение

Note: * - standard deviation

Таблица 2

Определение антиоксидантных свойств напитка кофе по методике I и по методике II в пересчете на кофейную кислоту

Table 2. Determination of the antioxidant properties of the coffee drink using method I and method II as caffeic acid equivalent

Время выдержки, мин	Методика II			Методика I		
	A	c, моль/л	c*, г/л	A	c*, моль/л	c*, г/л
20	0,597	0,00603	1,09	0,160	0,00652	1,17
30	0,661	0,00622	1,12	0,191	0,00506	0,91
40	0,698	0,00623	1,12	0,218	0,00458	0,83
50	0,715	0,00607	1,09	0,224	0,00412	0,74
60	0,744	0,00600	1,08	0,231	0,00389	0,70
σ		0,00010	0,0188	-	0,001	0,188
Среднее значение		0,00611	1,10	-	0,00483	0,871

По представленным данным антиоксидантная способность кофейного напитка по методике II составляет 1,100 г кофейной кислоты на литр напитка и не зависит от времени выдержки пробы перед записью спектра. По методике I результат оказывается крайне нестабильным – имеет более высокое значение (1,17 г/л) при выдержке пробы в течение 20 мин, а затем достаточно быстро снижается до 0,701 г/л при записи спектра через 60 мин.

ВЫВОДЫ

Для получения надежных данных при использовании железо-восстанавливающей методики с применением дипиридина следует использовать молярное соотношение концентраций ионов

железа (III) к концентрации дипиридина около 1 : 6,4. Предложен способ определения глубины окисления антиоксиданта. Для процессов, протекающих длительное время, в качестве вещества сравнения можно выбрать вещество, окисляющееся также длительное время (по нескольким стадиям). Например, для определения антиоксидантных свойств напитка кофе можно использовать в качестве вещества сравнения кофейную кислоту.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The authors declare the absence of a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грехнева Е.В., Перькова Л.А. Сравнительная характеристика антиоксидантной активности пептидного комплекса, выделенного из эпидермального секрета африканского сома различными методами. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2023. Т. 66. Вып. 8. С. 46-53. DOI: 10.6060/ivkkt.20236608.6773.
2. Кошелев В.Н., Примерова О.В., Герман А.П., Гладких А.А. Синтез и антиокислительная активность производных тиадиазинов с фенольными фрагментами. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2024. Т. 67. Вып. 2. С. 74-80. DOI: 10.6060/ivkkt.20246702.6901.
3. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity amplying an improved ABTS radical cation decoloration assay. *Free Radical Biol. Med.* 1999. V. 26(9/10). P. 1231–1237. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
4. Benzie I.F.F., Strain J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analyt. Biochem.* 1996. V. 329. P. 70–76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.
5. Pisoschi A.M., Negulescu G.P. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochem. Anal. Biochem.* 2011. V. 1. 106. DOI: 10.4172/2161-1009.1000106.
6. Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyt.* 2002. V. 127. P. 183–198. DOI: 10.1039/b009171p.
7. Karadag A., Ozcelik B., Saner S. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Anal. Methods*. 2009. V. 2. P. 41–60. DOI: 10.1007/s12161-008-9067-7.
8. Amani V., Safari N., Khavasi H.R. Synthesis, characterization and crystal structure determination of iron(III) hetero-ligand complexes containing 2,2'-bipyridine, 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridine and chloride, [Fe(bipy)Cl₄][bipy·H] and [Fe(dmbipy)₂Cl₂][FeCl₄]. *Polyhedron*. 2007. V. 26. P. 4257–4262. DOI: 10.1016/j.poly.2007.05.050.
9. Holubowitch N.E., Nguyen G. Dimerization of [FeIII(bipy)₃]³⁺ in Aqueous Solutions: Elucidating a Mechanism Based on Historical Proposals, Electrochemical Data, and Computational Free Energy Analysis. *Inorg. Chem.* 2022. V. 61. P. 9541–9556. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.2c00640.
10. Kleszczewsky T., Kleszczewska E. Flow injection spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in biological matters. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2002. V. 29. P. 755–759. DOI: 10.1016/S0731-7085(02)00127-9.
11. Темердашев З.А., Храпко Н.В., Цюпко Т.Г., Воронова О.Б., Балаба А.Н. Определение антиоксидантной активности пищевых продуктов с использованием индикаторной системы Fe (III)/Fe (II) – органический реагент. *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2006. Т. 72. № 11. С. 15–19.
12. Naji K.M., Thamer F.H., Numan A., Dauqan E.M., Al-shaibi Y.M., D'souza M.R. Ferric-bipyridine assay: A novel spectrophotometric method for measurement of antioxidant capacity. *Heliyon*. 2020. V. 6. P. e03162. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03162.
13. Sacchi R.L., Santana W.E.L., Nunez C.V., Moya H.D. A Procedure for Assessment of the Reducing Capacity of Plants-Derived Beverages Based on the Formation of the FeII/2,2'-Bipyridine Complex. *J. Braz. Chem. Soc.* 2019. V. 30. P. 1293–1301. DOI: 10.21577/0103-5053.20190025.
14. Анисимович И.П., Дейнека В.И., Дейнека Л.А., Фролов П.А., Мясникова П.А. Параметры антиоксидантной

REFERENCES

1. Grekhneva E.V., Perkova L.A. Comparative characteristics of the antioxidant activity of a peptide complex isolated from the epidermal secretion of African catfish by various methods. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2023. V. 66. N 8. P. 45–53 (in Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20236608.6773.
2. Koshelev V.N., Primerova O.V., German A.P., Gladkikh A.A. Synthesis and antioxidant activity of thiadiazine derivatives with phenolic fragments. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2024. V. 67. N 2. P. 74–80. DOI: 10.6060/ivkkt.20246702.6901.
3. Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity amplying an improved ABTS radical cation decoloration assay. *Free Radical Biol. Med.* 1999. V. 26(9/10). P. 1231–1237. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
4. Benzie I.F.F., Strain J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analyt. Biochem.* 1996. V. 329. P. 70–76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.
5. Pisoschi A.M., Negulescu G.P. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochem. Anal. Biochem.* 2011. V. 1. P. 106. DOI: 10.4172/2161-1009.1000106.
6. Antolovich M., Prenzler P.D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyt.* 2002. V. 127. P. 183–198. DOI: 10.1039/b009171p.
7. Karadag A., Ozcelik B., Saner S. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Anal. Methods*. 2009. V. 2. P. 41–60. DOI: 10.1007/s12161-008-9067-7.
8. Amani V., Safari N., Khavasi H.R. Synthesis, characterization and crystal structure determination of iron(III) hetero-ligand complexes containing 2,2'-bipyridine, 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridine and chloride, [Fe(bipy)Cl₄][bipy·H] and [Fe(dmbipy)₂Cl₂][FeCl₄]. *Polyhedron*. 2007. V. 26. P. 4257–4262. DOI: 10.1016/j.poly.2007.05.050.
9. Holubowitch N.E., Nguyen G. Dimerization of [FeIII(bipy)₃]³⁺ in Aqueous Solutions: Elucidating a Mechanism Based on Historical Proposals, Electrochemical Data, and Computational Free Energy Analysis. *Inorg. Chem.* 2022. V. 61. P. 9541–9556. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.2c00640.
10. Kleszczewsky T., Kleszczewska E. Flow injection spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in biological matters. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2002. V. 29. P. 755–759. DOI: 10.1016/S0731-7085(02)00127-9.
11. Temerdashev Z.A., Hrapko N.V., Cyupko T.G., Voronova O.B., Balaba A.N. Determination of antioxidant activity of food products using the Fe (III)/Fe (II) indicator system – organic reagent. *Zavodskaya Laboratoriya. Diagnostika materialov*. 2006. V. 72. N 11. P. 15–19 (in Russian).
12. Naji K.M., Thamer F.H., Numan A., Dauqan E.M., Al-shaibi Y.M., D'souza M.R. Ferric-bipyridine assay: A novel spectrophotometric method for measurement of antioxidant capacity. *Heliyon*. 2020. V. 6. P. e03162. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03162.
13. Sacchi R.L., Santana W.E.L., Nunez C.V., Moya H.D. A Procedure for Assessment of the Reducing Capacity of Plants-Derived Beverages Based on the Formation of the FeII/2,2'-Bipyridine Complex. *J. Braz. Chem. Soc.* 2019. V. 30. P. 1293–1301. DOI: 10.21577/0103-5053.20190025.
14. Anisimovich I.P., Dejneka V.I., Dejneka L.A., Frolov P.A., Myasninkova P.A. Parameters of antioxidant activity of compounds: Relative antioxidant activity of tea. *Nauch. Vedom. BelGU. Ser. Estestv. Nauki*. 2010. N 9(80). 11. P. 104–110 (in Russia).

- активности соединений: Относительная антиоксидантная активность чая. *Науч. вестн. БелГУ. Сер. Естеств. науки*. 2010. № 9(80). Вып. 11. С. 104-110.
15. **Hwang S.-J., Lee J.-H.** Comparison of antioxidant activities expressed as equivalents of standard antioxidant. *Food Sci. Technol., Campinas*. 2023. V. 43. P. e121522. DOI: 10.1590/fst.121522.
 16. **Olszowy Tomczyk M.** How to express the antioxidant properties of substances properly? *Chem. Papers*. 2021. V. 75. P. 6157–6167. DOI: 10.1007/s11696-021-01799-1.
 17. **Олейниц Е.Ю., Дейнека В.И., Блинова И.П., Дейнека Л.А.** Контроль селективности разделения дикофеилхинных кислот в обращенно-фазовой ВЭЖХ с β -циклодекстрином в подвижной фазе. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2022. Т. 65. Вып. 7. С. 54-60. DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6599.
 18. **Блинова И.П., Олейниц Е.Ю., Саласина Я.Ю., Дейнека В.И., Ву Т.Н.А., Нгуен В.А.** Одновременное определение хлорогеновых кислот и кофеина в кофе методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2023. Т. 66. Вып. 2. С. 45-52. DOI: 10.6060/ivkkt.20236602.6711.
 19. **Тищенко Е.А., Цюпко Т.Г., Милевская В.В., Темердасhev А.З.** Идентификация и хроматографическое определение биоактивных компонентов в образцах растворимого кофе. *Аналитика и контроль*. 2017. Т. 21. № 3. С. 251-261. DOI: 10.15826/analitika.2017.21.3.008.
 20. **Bajaj D., Ballal S.** A Review on Antioxidant Activity of Coffee and Its Additives. *J. Pharm. Res. Int.* 2021. V. 33(25B). P. 77-85. DOI: 10.9734/jpri/2021/v33i25B31464.
 15. **Hwang S.-J., Lee J.-H.** Comparison of antioxidant activities expressed as equivalents of standard antioxidant. *Food Sci. Technol., Campinas*. 2023. V. 43. P. e121522. DOI: 10.1590/fst.121522.
 16. **Olszowy Tomczyk M.** How to express the antioxidant properties of substances properly? *Chem. Papers*. 2021. V. 75. P. 6157–6167. DOI: 10.1007/s11696-021-01799-1.
 17. **Oleinits E.Yu., Deineka V.I., Blinova I.P., Deineka L.A.** Selectivity control of dicaffeoylquinic acids separation in reversed-phase HPLC with β -cyclodextrine in a mobile phase. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2022. V. 65. N 7. P. 54-60. DOI: 10.6060/ivkkt.20226507.6599.
 18. **Blinova I.P., Oleinits E.Yu., Salasina Ya.Yu., Deineka V.I., Vu Thi Ngoc Anh, Nguyen Van Anh** Simultaneous determination of chlorogenic acids and caffeine by reversed-phase HPLC. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2023. V. 66. N 2. P. 45-52. (in Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20236602.6711.
 19. **Tishchenko E.A., Tsiupko T.G., Milevskaia V.V., Temerdashev A.Z.** Identification and chromatographic determination of bioactive components in the instant coffee samples. *Anal. Kontrol.* 2017. V. 21. N 3. P. 251-261 (in Russian). DOI: 10.15826/analitika.2017.21.3.008.
 20. **Bajaj D., Ballal S.** A Review on Antioxidant Activity of Coffee and Its Additives. *J. Pharm. Res. Int.* 2021. V. 33(25B). P. 77-85. DOI: 10.9734/jpri/2021/v33i25B31464.

Поступила в редакцию 06.12.2024

Принята к опубликованию 13.02.2025

Received 06.12.2024

Accepted 13.02.2025