

На правах рукописи

ЧЕРНЫШЕВА Наталия Николаевна

**ГАЛОГЕНЫ КАК КУЛОНОМЕТРИЧЕСКИЕ ТИТРАНТЫ:
ОТ АНАЛИТА К ОБОБЩЕННЫМ ПОКАЗАТЕЛЯМ**

02.00.02- аналитическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Казань-2003

Работа выполнена на кафедре аналитической химии химического института им. А.М. Бутлерова государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Казанского государственного университета им. В.И. Ульянова-Ленина"

Научный руководители: академик РАЕН и МАНВШ,
доктор химических наук,
профессор Будников Герман Константинович,
доктор химических наук,
профессор Абдуллин Ильдар Фартович

Официальные оппоненты доктор химических наук,
профессор Латыпова Венера Зиннатовна

кандидат химических наук,
доцент Гармонов Сергей Юрьевич

Ведущая организация: Уральский государственный
экономический университет

Защита состоится декабря 2003 г. в 14 ч. на заседании диссертационного Совета К 212.081.04 по химическим наукам Казанского государственного университета по адресу: ул. Кремлевская 18, КГУ, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского государственного университета.

Отзывы на автореферат просим направлять по адресу:
420008, г. Казань, ул. Кремлевская 18, КГУ, Научная часть.

Автореферат разослан ноября 2003 г.

Ученый секретарь Совета,

кандидат химических наук

А.Г. Зазыбин

Актуальность темы. Кулонометрия – один из старейших методов анализа. В начале прошлого века ее применили для аналитических целей, и с тех пор этот метод не теряет к себе внимание исследователей. Большой интерес среди кулонометрических методов представляет кулонометрическое титрование при постоянной силе тока (гальваностатическая кулонометрия), которое нашло применение в анализе органических соединений. Как правило, электрогенерированные титранты применяли для определения индивидуальных соединений. При этом были найдены условия генерации кулонометрических титрантов путем анодного растворения активных металлов, электроокисления или восстановления соответствующих солей металлов и соединений галогенов в водных и водно-органических средах. При анализе фармпрепаратов различной природы использовали способы кулонометрического определения, в основе которых лежат реакции кислотно-основного, окислительно-восстановительного взаимодействия и осаждения.

Однако в ряде случаев возникали задачи, в которых кроме отдельных компонентов необходимо было определять обобщенные показатели, отражающие свойства анализируемого объекта в целом. В аналитике такие задачи, т.е. оценка обобщенных показателей для характеристики различных объектов стали появляться особенно часто в последнее десятилетие. Порой они связаны с проблемами биологии и медицины, охраны окружающей среды и оценки качества пищевых продуктов. Применение кулонометрического метода для анализа различных объектов дает возможность определять индивидуальные соединения в сложной матрице, а также суммарное содержание ряда веществ с определенными свойствами, что позволяет оперативно контролировать интегральное содержание “полезных” или ”вредных” компонентов.

Среди различных ингредиентов пищевых продуктов, лекарств и промышленных полимеров антиоксиданты являются одними из важнейших, значительна и биохимическая роль веществ такого типа. Они защищают клеточные структуры от повреждения их окислителями, тем самым предохраняя живой организм от болезней. Оценка антиокислительной емкости веществ и определение их содержания в различных средах — задача актуальная. Существующие методы определения антиоксидантов не являются ни универсальными, ни достаточно удобными в большинстве существующих сфер их применения. Интенсивные исследования, проводимые в последние годы по созданию новых модельных систем и реагентов для оценки антиоксидантной емкости (АОЕ) различных объектов, свидетельствуют о том, что проблема разработки новых универсальных, экспрессных и недорогих способов для ее определения остается нерешенной. Основным свойством антиоксидантов является склонность к легкой отдаче электронов - к окислению. Поэтому одним из перспективных подходов к оценке антиоксидантной способности пищевых продуктов может оказаться использование электрогенерированных окислителей.

На кафедре аналитической химии КГУ ранее была показана возможность кулонометрического определения АОЕ различных объектов с помощью электрогенерированного брома. Выполненные работы были посвящены изучению поведения индивидуальных антиоксидантов в реакциях с электрогенерированным бромом и оценке величины бромной АОЕ на примере ряда пищевых продуктов, в частности, соков, чая и растительного сырья.

Цель работы: показать возможность применения электрогенерированных галогенов как универсальных кулонометрических титрантов для определения широкого круга индивидуальных биологически активных веществ различного строения в лекарственных формах и для оценки суммарного показателя АОЕ, по которому можно делать заключение о качестве анализируемого объекта.

В соответствии с целью исследования в работе поставлены следующие задачи:

- показать возможность применения электрогенерированных галогенов как кулонометрических титрантов для определения фармпрепаратов различной природы в модельных растворах и лекарственных формах;
- оценить электрохимические свойства синтетических антиоксидантов - производных 2,6-дитретбутил-4-метилфенола методами кулонометрии и вольтамперометрии;
- определить АОЕ экстрактов лекарственных растений и растительного сырья, применяемого в пивоварении, апельсиновых соков и нектаров и некоторых алкогольных напитков (пива и вин).

Научная новизна. Определены стехиометрические коэффициенты в реакциях 21 фармпрепарата с электрогенерированными галогенами и на основе экспериментальных и литературных данных предложены возможные схемы реакций. Методом кулонометрии выявлена роль аскорбиновой кислоты в процессе стабилизации растительных полифенолов в растворах. Установлены стехиометрические коэффициенты в реакциях с электрогенерированными окислителями и потенциалы окисления на стационарных электродах из платины, золота и стеклоуглерода новых синтетических антиоксидантов - водорастворимых производных 2,6-дитретбутил-4-метилфенола.

В работе применен подход к оценке интегральной АОЕ с помощью электрогенерированных титрантов. Выбор электрогенерированных соединений брома в качестве титранта 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. Проведено определение АОЕ нескольких сортов пива, вина, апельсиновых напитков различающихся исходным сырьем и технологией изготовления, прослежено изменение АОЕ пива на разных этапах технологической цепочки. Установлена взаимосвязь между величиной окислительно-восстановительного потенциала и $I_g(\text{АОЕ})$ пива и вин. Метод кулонометрического титрования электрогенерированным йодом применен для определения соединений S (IV) в винах; найдены основные метрологические характеристики определения.

Практическая значимость. Разработаны способы кулонометрического определения фармпрепаратов - аминопроизводных ароматического ряда (анестезина, новокаина, новокаинамида, парацетамола, стрептоцида, сульгина, альбуцида, этазола, сульфадимезина, норсульфазола и сульфаметоксазола) с помощью электрогенерированного брома в модельных растворах и в их лекарственных формах с величинами S_r от 0,01 до 0,05; салициловой и ацетилсалициловой, *n*-аминосалициловой кислот и месалазина в модельных растворах и лекарственных формах с применением электрогенерированных галогенов в диапазоне содержаний от 2,4 до 19,2 мкг/мл, с величиной S_r от 0,01 до 0,05; микрограммовых количеств кофеина, теofilлина и теобромона в модельных растворах, а также кофеина в

образцах чая и кофе, кофеина и теофиллина в некоторых фармацевтических препаратах с помощью электрогенерированного хлора.

Проведена оценка АОЕ растительного сырья, апельсиновых соков и нектаров, пива и вин. На основе экспериментальных данных величина АОЕ предлагается как показатель качества растительного сырья, применяемого в пивоварении и лечебных экстрактов из фитопрепаратов. Примененный подход и полученные результаты могут быть основой для разработки нового метода определения готовности пива, выявления фальсифицированной и недоброкачественной продукции.

Разработанный кулонометрический способ определения соединений S(IV) в вине характеризуется высокой точностью, хорошей воспроизводимостью, отличается простотой и экономичностью и может быть рекомендован для внедрения в аналитическую практику заводских лабораторий.

На защиту выносятся:

1. Разработанные способы определения фармацевтических препаратов различной природы в модельных растворах и лекарственных формах методом гальваностатической кулонометрии с помощью электрогенерированных галогенов.
2. Результаты исследования электрохимических свойств производных 2,6-дитретбутил-4-метилфенола методами кулонометрии и вольтамперометрии.
3. Результаты определения АОЕ экстрактов лекарственного растительного сырья с помощью электрогенерированных титрантов и обсуждение зависимости АОЕ экстрактов от способа приготовления и от содержания различных групп биологически активных соединений в различных частях растений.
4. Величины АОЕ апельсиновых напитков как показателя качества продукта и выявления фальсификации.
5. Значения АОЕ различных сортов пива, зависимость этого показателя от способа приготовления и влияния различных добавок на величину АОЕ.
6. Результаты определения АОЕ вин и обсуждение зависимости АОЕ от марки и качества вин.
7. Разработанный кулонометрический способ определения соединений S (IV) в вине с помощью электрогенерированного йода.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на III Всероссийской конференции молодых ученых "Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии" (Саратов, 2001 г.), IV Научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Республики Татарстан (Казань, 2001 г.), Поволжской конференции по аналитической химии (Казань 2001 г.), Всероссийской конференции "Актуальные проблемы аналитической химии" (Москва, 2002 г.), IX Международной конференции по электроанализу (ESEAC`2002) (Краков, 2002 г.), II Всероссийской конференции "Химия и технология растительных веществ" (Казань 2002 г.), Всероссийском семинаре: "Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья" (Барнаул 2002 г.), III Научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра КГУ "Материалы и технологии XXI века" (Казань 2003 г.), Международном Форуме "Аналитика и аналитики" (Воронеж 2003 г.), II Российской научно-практической конференции "Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными природными ресурсами и создания функциональных продуктов" (Москва 2003 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 статей в журналах и 4 в сборниках научных трудов, тезисы 10 докладов.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 140 страницах, содержит 30 таблиц, 14 рисунков и библиографию из 174 наименований. Работа состоит из введения, литературного обзора, четырех глав экспериментальной части, в которых описана постановка задачи, аппаратура, объекты и техника эксперимента и изложены результаты с их обсуждением, выводов, заключения и списка цитируемой литературы.

Во введении раскрыта актуальность темы, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы.

В литературном обзоре (глава 1) рассмотрены общие проблемы кулонометрического метода, его применение в различных областях химического анализа, в том числе, в фармацевтике. Дана характеристика общим показателям объектов анализа в сравнительном аспекте и обсуждены возможности кулонометрии при их определении.

Во второй главе представлены данные об объектах исследования, используемых методах и приборах, описаны условия эксперимента.

Главы 3-6 посвящены обсуждению полученных результатов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электрогенерацию галогенов осуществляли на потенциостате П-5827 М при постоянной силе тока 5,0 мА из водных 0,2 М растворов КСl и КBr в 0,1 М H₂SO₄ и KI на фоне виннокислого буферного раствора с pH=3,56. Ферроцианид-ионы получали при электролизе 0,1М раствора K₄Fe(CN)₆ в 2М растворе KOH. Конечную точку кулонометрического титрования определяли амперометрически с двумя поляризованными игольчатыми платиновыми электродами (E=300 мВ). Для автоматической регистрации вольтамперограмм использовали двухкоординатный регистрирующий прибор ПДА 1. Вольтамперограммы исследуемых растворов регистрировали на стационарных электродах с линейной разверткой потенциала со скоростью поляризации 20 мВ/с. Рабочие электроды из платины, золота готовили из соответствующего металла чистоты не ниже 99,9%, видимая площадь поверхности которых составляет 0,03-1 см². Вспомогательный электрод состоял из платиновой проволоки, свернутой спиралью. В качестве электрода сравнения использовали насыщенный каломельный электрод.

В работе использовали реактивы марок х.ч., ч.д.а и фармакопейной чистоты. Лекарственные растения собраны на территории Республики Татарстан в соответствии с рекомендуемыми сроками сбора. Водные и водно-спиртовые настои из лекарственного растительного сырья готовили по методике Государственной Фармакопеи. Водорастворимые производные 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола синтезированы на кафедре органической химии КГТУ. Структуру и чистоту синтезированных соединений устанавливали как по данным элементного анализа, так и с применением физических методов.

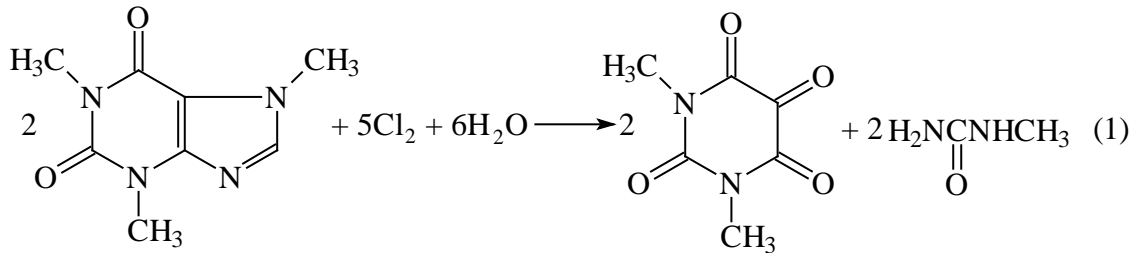
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Кулонометрическое определение индивидуальных биологически активных веществ с помощью электрогенерированных галогенов

В ходе эксперимента выбраны электрогенерированные титранты и найдены условия, в которых стехиометрические коэффициенты в реакциях титрантов с субстратами имеют целочисленные значения и хорошо воспроизводятся. Электрогенерированные галогены прежде всего применили для определения

индивидуальных биологически активных веществ в модельных растворах и лекарственных формах. Объектами анализа служили пуриновые алкалоиды, салициловая кислота и ее производные, а также фармпрепараты - аминопроизводные ароматического ряда, которые находят практическое применение.

Пуриновые алкалоиды. Установлено, что бром с пуриновыми алкалоидами реагирует во времени, а с хлором реакции протекают быстро и количественно в соотношении 2:5. В кислой среде пуриновые алкалоиды при окислении образуют аллоксан и мочевины, как, например, в случае кофеина:



Эти данные согласуются с литературными. Для подтверждения предлагаемых схемы реакций были сняты спектры поглощения кофеина, теофиллина и теобромина до и после окисления хлором. После окисления алкалоидов хлором наблюдается значительное уменьшение оптической плотности растворов при λ_{max} и сдвиг максимума поглощения в длинноволновую область, что объясняется разрушением пуриновой структуры.

Электрогенерированный хлор использовали для определения содержания кофеина в кофе, чае и таблетках кофеин-бензоата натрия, теофиллина в таблетках эуфиллина и в растворах для инъекций. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты кулонометрического определения пуриновых алкалоидов в пищевых и фармацевтических продуктах ($p=0,95$, $n=5$).

Объект анализа	Определяемое соединение	Найдено кулономет. %	S_r (кулономет.)	Найдено контрольным методом, %
Кофе в зернах CEREZO	Кофеин	1,19±0,04	0,03	1,19*±0,15
кофе растворимый MONTEREY	Кофеин	4,36±0,27	0,02	4,21*±0,37
чай IMPRA	Кофеин	2,45±0,16	0,03	2,37*±0,30
таблетки кофеин-бензоат натрия	Кофеин	29,34±0,32	0,01	28,95**±0,60
таблетки эуфиллина	Теофиллин	66,82±0,62	0,006	66,17**±0,24
раствор для инъекций эуфиллина	Теофиллин	17,20±0,50 (мг/мл)	0,02	17,00**±0,50 (мг/мл)

* ГОСТ Р51182-98 Фотометрический метод определения содержания кофеина;

** Государственная фармакопея СССР.

Для остальных изученных фармпрепаратов условия кулонометрического определения с помощью электрогенерированных галогенов приведены в таблице 2. Разработанные способы кулонометрического титрования отличаются простотой выполнения и экспрессностью и их можно использовать для оценки основного содержания в некоторых лекарственных формах.

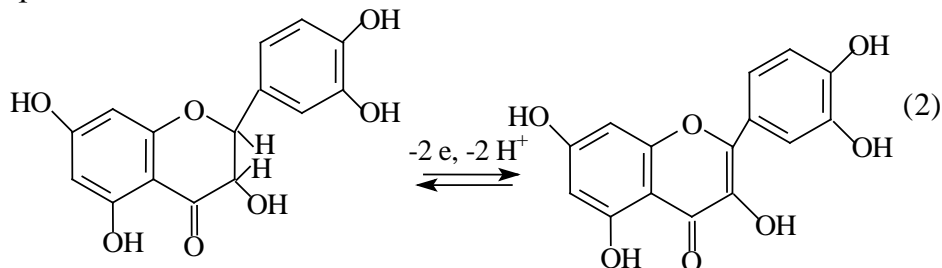
Таблица 2. Условия кулонометрического определения некоторых фармпрепаратов с помощью электрогенерированных галогенов.

Определяемое соединение	Титрант	n_e	Объект анализа	Найдено кулонометр.	S_r	Найдено контр. методом
Парацетамол	Br_2	2	Таблетки	$0,216 \pm 0,006$ г	0,02	$0,201 \pm 0,08$ г
Анестезин	Br_2	4	Таблетки	$0,305 \pm 0,006$ г	0,02	$0,31 \pm 0,01$ г
Новокаин	Br_2	4	Р-р для инъекций	$5,0 \pm 0,4$ мг/мл	0,03	$4,86 \pm 0,2$ мг/мл
Новокаинамид	Br_2	4	Р-р для инъекций	$0,10 \pm 0,01$ г/мл	0,01	$0,101 \pm 0,008$ г/мл
Стрептоцид	Br_2	4	Таблетки	$0,494 \pm 0,007$ г	0,01	$0,48 \pm 0,06$ г
Сульгин	Br_2	4	Таблетки	$0,51 \pm 0,02$ г	0,02	$0,49 \pm 0,02$ г
Альбуцид	Br_2	4	Глаз. капли сульфацил-натрий 20%	$0,191 \pm 0,007$ г/мл	0,04	$0,20 \pm 0,01$ г/мл
Этазол	Br_2	4	Модельные растворы	532 ± 13 мкг	0,02	528 мкг
Сульфадимезин	Br_2	4	Таблетки	$0,519 \pm 0,002$ г	0,02	$0,498 \pm 0,046$ г
Норсульфазол	Br_2	6	Таблетки	$0,499 \pm 0,024$ г	0,05	$0,510 \pm 0,001$ г
Сульфа-метаксазол	Br_2	4	Таблетки "Бисептол 480"	$0,41 \pm 0,01$ г	0,02	$0,425 \pm 0,004$ г
Салициловая Кислота	Br_2 Cl_2 при $t \geq 30^\circ C$	2 6	1% спирт. р-р салициловой к-ты	$1,15 \pm 0,07$ г/100мл	0,05	$1,01 \pm 0,05$ г/100мл
Ацетил-салициловая кислота	Br_2 после щелоч. гидролиза	2	Таблетки аспирина	$0,50 \pm 0,02$ г	0,02	$0,50 \pm 0,03$ г
ПАСК	Br_2	8	Модельные Растворы	85 ± 1 мкг $47,0 \pm 0,6$ мкг	0,01 0,01	84 мкг 48 мкг

Месалазин	Br ₂ Cl ₂	8	Модельные Растворы	98±4 мкг	0,04	95 мкг
-----------	------------------------------------	---	-----------------------	----------	------	--------

Растительные полифенолы и аскорбиновая кислота. Установлено, что аскорбиновая кислота реагирует с электрогенерированным йодом и бромом в соотношении 1 : 1 с образованием дегидроаскорбиновой кислоты. Рутин, кверцетин и дигидрокверцетин в реакцию с электрогенерированным йодом не вступают, а с бромом реагируют быстро и количественно. Стехиометрические коэффициенты реакций растительных полифенолов с электрогенерированным бромом, равны 1:2 для рутина и кверцетина; 1:3 для дигидрокверцетина.

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.



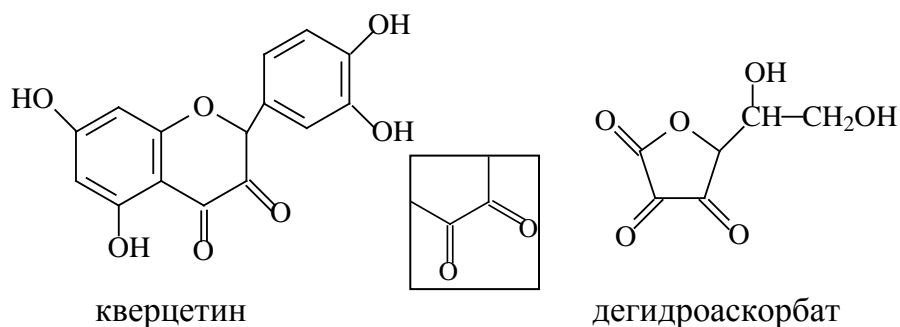
Этот процесс является обратимым и протекает в клетках живого организма. На основании экспериментальных данных можно сделать вывод, что дигидрокверцетин является более сильным восстановителем, а для эффективного действия рутина и кверцетина необходима аскорбиновая кислота.

Различие в реакционной способности аскорбиновой кислоты и растительных полифенолов с галогенами дает возможность разработать способы кулонометрического определения их в смесях. Результаты определения представлены в таблице 3.

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

Смесь	Введено, мг	Найдено, мг	S _r
Аскорбиновая кислота	53,83	60±7,1	0,05
Рутин	57,83	53±11,2	0,09
Аскорбиновая кислота	23,91	24±2,3	0,08
Кверцетин	10,00	12,2±0,9	0,03
Аскорбиновая кислота	63,10	63±3	0,02
Дигидрокверцетин	53,78	47±5	0,04

В водных растворах рутин, кверцетин и дигидрокверцетин неустойчивы 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 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 объектах.

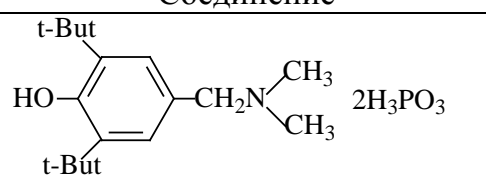
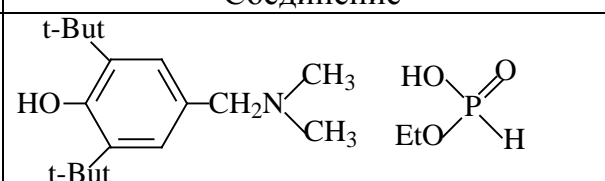
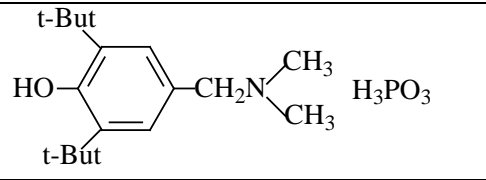
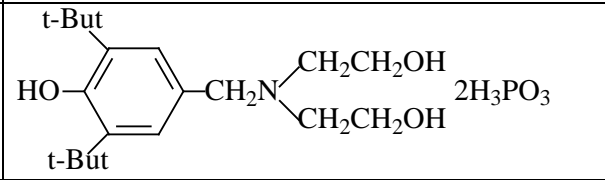
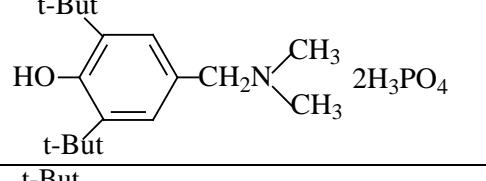
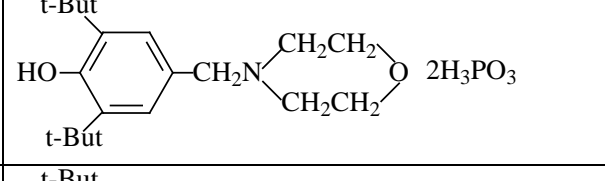
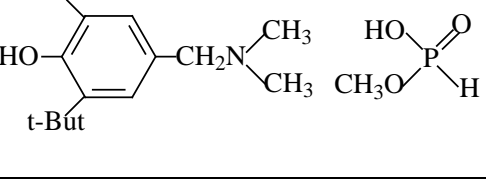
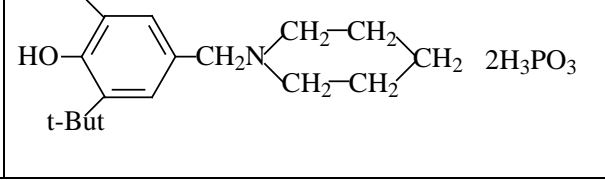
2. Электрохимические свойства производных 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола

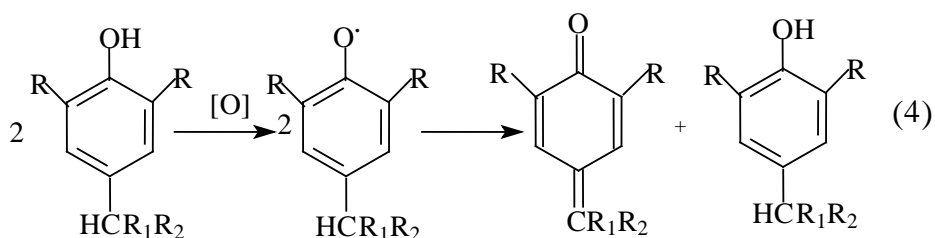
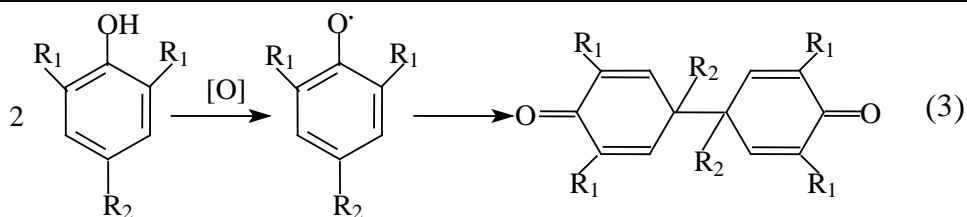
Среди синтетических антиоксидантов фенольной природы можно выделить 2,6-дитретбутил-4-метилфенол (ионол) и его производные, которые широко используются в ведущих странах Европы и Америки в качестве пищевых, косметических добавок и фармпрепаратов. Ионол практически не растворим в воде, поэтому существуют недостатки его медицинского применения, связанные с использованием больших разовых доз. Поэтому поиск новых эффективных АО для использования в медицинской практике, а также изучение их антиоксидантных свойств является актуальной задачей. Большой интерес представляют соединения, сочетающие в своей структуре фрагменты пространственно-затрудненных фенолов (ПЗФ) и амина, которые активно ингибируют процессы пероксидации липидов, проявляют противовоспалительные, антиревматические, противоаллергические и другие свойства.

Кулонометрические исследования. Объектами исследований служили водорастворимые производные 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола, структурные формулы которых представлены в таблице 4. В качестве кулонометрических титрантов-окислителей использовали электрогенерированные хлор, бром и ферроцианид-ионы.

Известно, что окислительные процессы с участием ПЗФ протекают с образованием феноксильного радикала. Существует несколько вариантов механизмов гибели классических феноксильных радикалов. Реальное значение имеют лишь два – рекомбинация (димеризация) (схема 3) и диспропорционирование (схема 4).

Таблица 4. Производные 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола.

№	Соединение	№	Соединение
I		V	
II		VI	
III		VII	
IV		VIII	



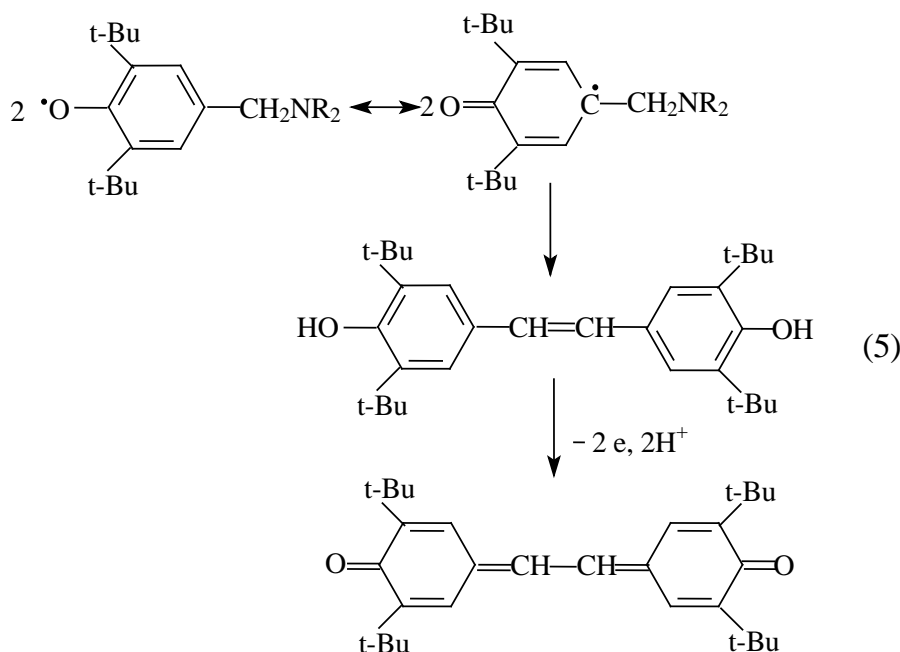
2,4,6-Тризамещенные феноксины, как правило, не образуют устойчивых димеров, поэтому взаимодействие изученных соединений с электрогенерированными ферроцианид-ионами протекает, вероятнее всего, по схеме 4 с образованием метилхинона и регенерацией молекулы исходного фенола. Стехиометрические коэффициенты, определенные методом кулонометрического титрования, равны 1:1. В результате реакции образуются окрашенные продукты, в спектрах поглощения которых наблюдаются полосы при $\lambda_{\text{max}} = 405\text{нм}, 430\text{нм}$.

Установлено, что взаимодействие с электрогенерированным бромом протекает во времени. Исключение составляет соединение VII, для которого реакция протекает быстро и количественно в соотношении 1:2. Такой результат можно объяснить тем, что введение морфолинового цикла обуславливает образование молекулярного комплекса с бромом. Реакции с электрогенерированным хлором протекают быстро и количественно, значения стехиометрических коэффициентов по данным кулонометрии равны 1:2 для I-IV, 1:3 для VII и VIII соединений. Можно

предположить, что в данном случае возможно отщепление трет-бутильных групп, которые могут достаточно легко замещаться при нитровании, сульфировании и хлорировании замещенных алкилфенолов.

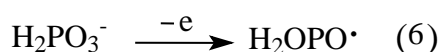
Среди нежелательных побочных процессов, снижающих антиоксидантную активность фенольных соединений, особое место занимают реакции прямого окисления молекулярным кислородом, которые приводят к расходованию антиоксиданта и дополнительной генерации активных радикалов в системе. Исследуемые соединения были растворены в спиртовом растворе КОН и изучены их реакции с электрогенерированными окислителями. В щелочной среде происходит окисление ПЗФ кислородом воздуха. Характер продуктов реакции ПЗФ с кислородом в присутствии щелочей зависит от структуры фенола, растворителя, количества поглощенного кислорода и продолжительности реакции. Неоднозначность результатов полученных при окислении кислородом в щелочной среде объясняется неустойчивостью образующихся из них гидроперекисей, которые склонны к процессам изомеризации и легко разлагаются в условиях реакции.

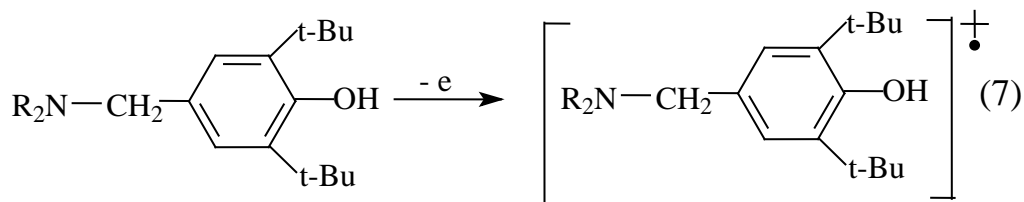
При растворении соединений в 1М спиртовом растворе КОН образуются окрашенные растворы. Это, очевидно, связано с возрастанием доли хиноидной структуры в основном состоянии ионизированной формы фенола (схема 5).



В связи со сложностью процессов, протекающих в щелочном растворе, строгая схема реакции с электрогенерированными титрантами не установлена. Необходимо дополнительное исследование с применением методов спектроскопии.

Вольтамперометрические исследования. При электрохимическом окислении изучаемых соединений на твердых стационарных электродах возможно протекание двух процессов (схемы 6, 7). Установлено, что фосфористая кислота в условиях эксперимента не окисляется на электродах из платины, золота и стеклоуглерода. Следовательно, наиболее вероятно протекание реакции по схеме 9, с образованием промежуточного феноксил-радикала.





Потенциалы окисления ПЗФ на стационарных электродах их платины, золота и стеклоуглерода представлены в таблице 5. Растворы ПЗФ в 1М спиртовом КОН окисляются на стационарных электродах из платины при более высоких значения потенциалов. Следует отметить, что в отличие от водных растворов указанные соединения электроактивны и на золотом электроде.

Таблица 5. Потенциалы окисления ПЗФ на стационарных электродах на фоне 0,5М СН₃СООNa.

№	Водные растворы			Растворы в 1М спиртовом КОН		
	Pt	Au	СУ	Pt	Au	СУ
I	+0,48	-	+0,82	+0,91	+1,30	+1,88
II	+0,68	-	+1,10	+1,8	+0,12 +1,26	+0,56
III	+0,6	-	+1,00	+1,0	+0,12 +1,1	+0,42
IV	+0,48	-	+0,66	+1,14	+0,4	-
V	+0,40	-	+0,50	+0,84	+0,2 +1,2	+0,18
VI	+0,50	-	+0,46	+1,14	+1,28	+1,92
VII	+0,50	-	+0,63	+1,08	+1,28	+1,90
VIII	+0,76	-	+0,4	+1,0	+0,14 +1,18	+0,42

Как уже отмечалось выше, в щелочной среде с ПЗФ происходят превращений под действием кислорода воздуха и, вероятнее всего образуются несколько промежуточных продуктов, которые и окисляются на электродах.

3. Прикладные аспекты гальваностатической кулонометрии.

Не меньший интерес представляет использование гальваностатической кулонометрии для определения суммарного содержания АО в различных объектах. Был применен разработанный ранее кулонометрический способ определения интегральной антиоксидантной емкости (АОЕ в Кл на 100 мл или г продукта) с помощью электрогенерированного брома.

АОЕ лекарственного растительного сырья. В таблице 6 и на рис. 1, 2 представлены результаты кулонометрического определения АОЕ водных и водно-спиртовых вытяжек некоторых растений. Этот эксперимент проводился с целью изучения динамики извлечения биологически активных веществ из лекарственно растительного сырья.

Таблица 6.

Результаты определения АОЕ водных настоев и водно-спиртовых экстрактов лекарственного растительного сырья (n=5; P=0,95).

Лек. растит. Сырье	АОЕ вод. настоя кКл/100 г	S _r	АОЕ водно-спиртовых экстрактов, кКл/100 г									
			1 неделя	S _r	2 неделя	S _r	3 неделя	S _r	4 неделя	S _r	5 неделя	S _r
Цветы таволги вязолистной	43±2	0,03	33±4	0,07	50±1	0,01	54±4	0,03	39±1	0,02	44±1	0,02
трава горца птичьего	10,0±0,5	0,03	6,3±0,5	0,03	5,4±0,6	0,07	4,2±0,6	0,09	3,8±0,3	0,04	4,2±0,2	0,03
Козлятник	7,9±0,7	0,03	5,9±0,1	0,01	6,6±0,4	0,02	6,6±0,1	0,01	3,0±0,1	0,03	3,7±0,1	0,02
Сабельник	10,9±0,5	0,03	5,1±0,4	0,05	9,7±0,5	0,03	7,1±0,4	0,03	9,00±0,6	0,03	7,3±0,4	0,03

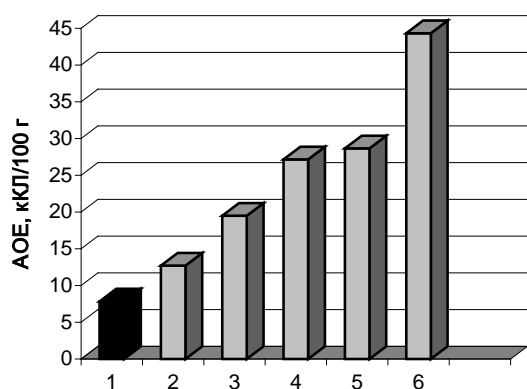


Рис. 1. Бромная АОЕ шиповника: 1- вод. вытяжка; 2- спирт. вытяжка (1-ая неделя); 3- 2-ая неделя; 4- 3-я неделя; 5- 4-ая неделя; 6- 5-ая неделя.

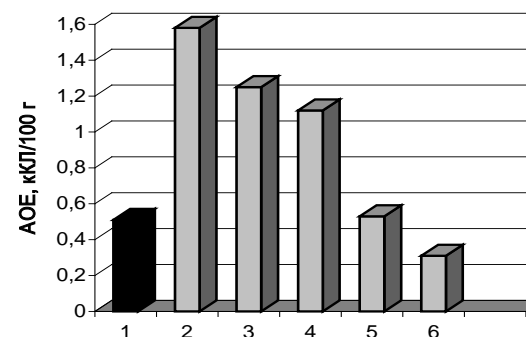


Рис.2. АОЕ по йоду плодов шиповника: 1 - водная вытяжка; 2 - водно-спиртовая вытяжка (1-ая неделя); 3 - 2-ая неделя; 4 - 3-я неделя; 5 - 4-ая неделя; 6 - 5-ая неделя.

Разработанный способ позволяет также количественно оценивать суммарное содержание антиоксидантов, находящихся в различных частях растения. В качестве примера была определена величина АОЕ различных частей топинамбура (рис. 3). Выбор этого растения неслучаен, поскольку в последние годы во многих странах топинамбур стали рассматривать как ценнейшее агротехническое растение, при переработке которого получают набор различной продукции: соки, сиропы, конфеты, квас, пиво, вино. Наибольшее количество биологически активных веществ (витаминов группы В, С, β -каротин, аминокислоты) содержится в наземной части топинамбура, а клубнях топинамбура содержится большое количество углеводов (до 80%), которые не вступают в реакцию с электрогенерированным бромом и не вносят вклад в величину АОЕ.

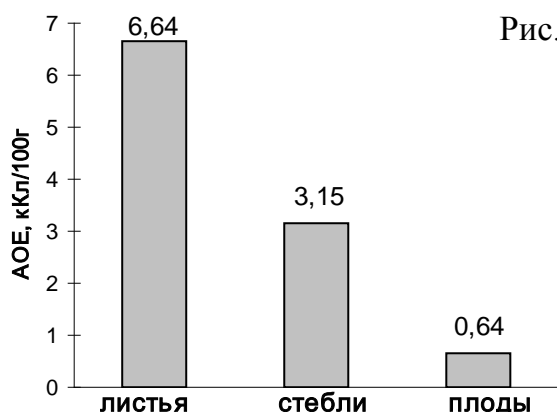


Рис. 3. Величина АОЕ различных частей топинамбура.

АОЕ апельсиновых напитков. Для определения антиоксидантных свойств апельсиновых напитков и оценки их качества применяли электрогенерированные йод и бром. Как видно из таблицы 7 АОЕ по йоду в 1,6-5 раза меньше АОЕ по бром.

Таблица 8. Результаты кулонометрического определения АОЕ апельсиновых соков, полученных из свежих плодов ($n=5$, $p=0,95$).

АОЕ по йоду, Кл/100 мл	S_r	АОЕ по бром, Кл/100 мл	S_r
76±7	0,04	309±26	0,03
50±1	0,01	261±3	0,01
56±2	0,02	292±3	0,01
67±2	0,02	279±6	0,01
74±2	0,01	204±16	0,03
88±5	0,02	241±9	0,02
84±9	0,04	263±53	0,06

Основной вклад в АОЕ по йоду вносит аскорбиновая кислота, которая в значительных количествах содержится в апельсинах, и высокая концентрация ее в соках препятствует взаимодействию йода с другими восстановителями, например, с глюкозой, фруктозой, амилозой и др. Содержание аскорбиновой кислоты, рассчитанное по результатам кулонометрического титрования электрогенерированным йодом, колеблется в пределах от 46 до 80 мг на 100 мл сока.

В таблице 8 представлены результаты кулонометрического определения АОЕ коммерческих соков и нектаров различных производителей. АОЕ коммерческих соков значительно ниже аналогичной величины для соков, полученных из свежих апельсинов. Это связано с потерей биологически активных веществ в процессе производства и возможным разбавлением готовой продукции. Как видно из таблице 8, бромная АОЕ апельсиновых нектаров в некоторых случаях больше значений бромной АОЕ коммерческих соков, хотя следовало бы ожидать уменьшение АОЕ, так как в нектарах содержится около 50% апельсинового сока. Этот факт можно объяснить введением синтетических добавок, которые увеличивают величину бромной АОЕ.

Таблица 8. АОЕ апельсиновых соков и нектаров по результатам кулонометрического титрования электрогенерированным бромом ($p=0,95$, $n=5$)

Название напитка	АОЕ по бром, Кл/100мл	S_f
“Я” (100% сок с мякотью)	188±29	0,06
“Nico” (100% сок)	100±10	0,04
“Тонус” (100% сок)	99±3	0,01
“Gold Premium” (100% сок)	90±10	0,04
“Депсона” (100% сок)	68±5	0,03
“Добрый” (нектар)	167±6	0,02
“Фруктовый сад” (нектар)	113±25 78±6	0,09 0,03
“Дары лета” (нектар)	53±2	0,01
“Любимый сад” (нектар)	18±1	0,03

АОЕ пива. Установлено, что АОЕ “живого” пива значительно превышает аналогичный показатель для фильтрованных и пастеризованных сортов пива (рис. 4).

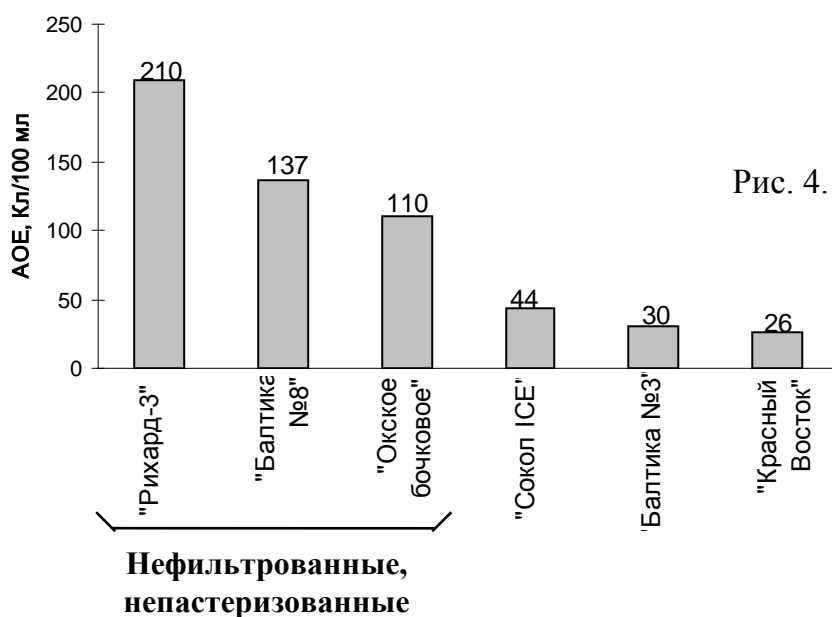


Рис. 4. АОЕ некоторых светлых сортов пива.

Изучали динамику АОЕ пива в процессе его приготовления. Для улучшения профилактических свойств и сокращения сроков брожения в пиво добавляли пектин. АОЕ непастеризованного пива изменяется во времени и достигает своего максимального значения в конце процессов брожения и дображивания (рис. 5). Этот

факт согласуется с технологией получения пива. Увеличение АОЕ в конце брожения приводит к гибели дрожжевых клеток, а максимум АОЕ в конце дображивания может быть связан с максимальным образованием в пиве фенольных кислот.

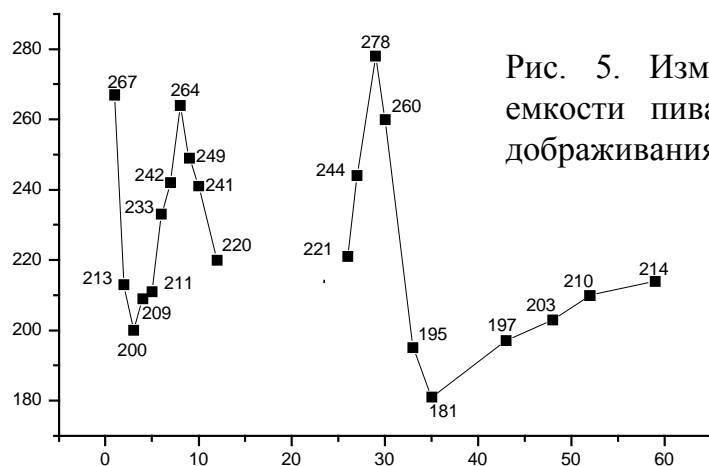


Рис. 5. Изменение антиоксидантной емкости пива на стадиях брожения, дображивания и хранения.

Не менее интересной является оценка влияния растительных добавок на вкусовые и антиоксидантные свойства пива. Использовали показатель бромная АОЕ образцов (табл.9). Следует отметить, что внесение растительных добавок приводит к увеличению пеностойкости напитка, но не приводит к заметным изменениям АО свойств напитка.

Таблица 9. АОЕ пива с растительными добавками по результатам кулонометрического титрования ($n = 5$, $p = 0,95$).

Образец	Растительная добавка, г/100мл	АОЕ, Кл/100мл	S_r
Контрольный 1	-	212±3	0,01
Стебли топинамбура	0,1	201±3	0,01
Листья топинамбура	0,1	188±8	0,04
Козлятник	0,1	207±6	0,03
Горец птичий	0,1	206±7	0,03
Таволга	0,1	222±6	0,01
Контрольный 2	-	191±18	0,04
Клевер	0,1	193±47	0,09
Люцерна	0,1	168±13	0,05
Лядвенец	0,1	174±14	0,03
Стевия	0,3	221±34	0,06
	0,9	375±4	0,01

АОЕ вин. Известно, что основными компонентами красных вин, отвечающими за его АОЕ, являются полифенолы, флавоноиды, танин, катехин, эпикатехин, дубильные вещества, антоциановые пигменты и витамины. Наряду с природными антиоксидантами в вина попадают и синтетические, такие как сернистый ангидрид. В

таблице 10 представлены результаты кулонометрического определения АОЕ вин типа "Кагор". Большой диапазон значений АОЕ вин обусловлен технологиями их получения, различными сортами винограда и условиями его созревания.

Таблица 10. АОЕ красных вин типа "Кагор" по результатам кулонометрического титрования ($n=5$, $p=0,95$).

Образцы вин	АОЕ по бромиду, Кл/100 мл	S_r	АОЕ по йоду, Кл/100 мл	S_r
Вино виноградное десертное "Кагор", Россия, Ставропольский край, Буденовский р-н, ОАО Агрофирма "Жемчужина Ставрополя"	666±40	0,02	451±3	0,01
Вино виноградное красное десертное "Кагор 32", г. Анапа, СПК им. В.И. Ленина	502±12	0,02	366±16	0,02
"Кагор Дивеевский", Нижегородская обл., г. Саров, ООО "Империал-С"	463±27	0,02	309±9	0,02
"Кагор особый" Кишинев, Молдова, ООО "Николь", розлив г. Москва	373±14	0,02	257±5	0,02
Вино десертное "Кагор32", Краснодар ДООО "Экстра-Прим"	348±7	0,01	107±9	0,04
Виноградное десертное вино "Кагор отборный", Россия, г. Дигора, СП ЗАО "Берд-Лавера", ГОСТ 7208-93	79±3 158±5	0,02 0,01	52±6	0,05
Красное десертное вино "Кагор", Россия, Моск. обл., г. Реутов, винзавод ООО "Росарм"	23,7±0,5	0,01	-	-

Таблица 11. Бромная АОЕ итальянских вин по результатам кулонометрического титрования ($n=5$, $p=0,95$).

Марка вина	АОЕ, Кл/100 мл	S_r
Красные вина		
Nero D`Avola, 2000 г.	538±15	0,02
Rosso Conero, 1999 г.	537±3	0,01
Primitivo Puglia, 2000 г	530±12	0,02
Merrot Trentino, 2000 г.	432±13	0,02
Chianti, 2000 г.	373±13	0,03
Белые вина		
Galestro, 2001 г	53±2	0,02
EST! EST!! EST!!!	41±1	0,02
Prosecco Voneto	40±1	0,03
Orvieto, 2000 г	37±1	0,03
Chardonnay, 2000 г	34±1	0,02

В таблице 11 представлены результаты определения АОЕ красных и белых итальянских вин. Как и следовало ожидать, АОЕ красных вин на порядок больше аналогичной величины для белых вин. Это связано с низким содержанием полифенолов в белых винах (от 0,2 до 0,3 г/л).

АОЕ и окислительно-восстановительный потенциал пива и вин. Установлено, что существует обратно пропорциональная зависимость окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) от $\lg(\text{АОЕ})$ пива и вин (рис. 7, 8).

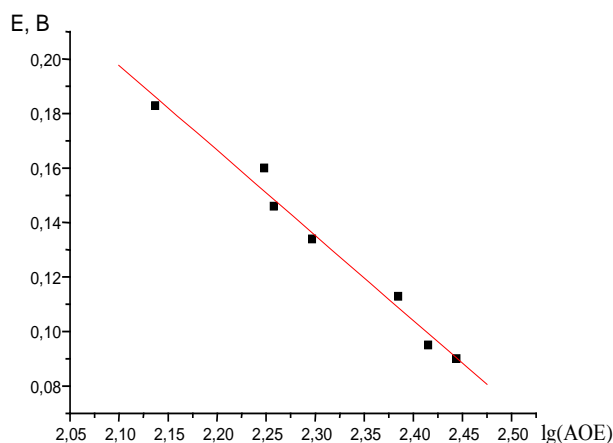


Рис. 6. Зависимость окислительно-восстановительного потенциала пива от $\lg(\text{АОЕ})$.

$$(Y = (0,85 \pm 0,04) - (0,31 \pm 0,02)\lg X, R = 0,9908)$$

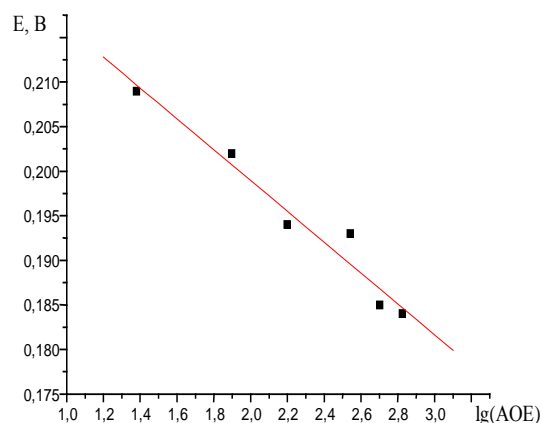


Рис. 7. Зависимость окислительно-восстановительного потенциала виноградных вин типа "Кагор" от $\lg(\text{АОЕ})$

$$(Y = (0,233 \pm 0,004) - (0,017 \pm 0,002)\lg X, R = 0,9786)$$

Однако величина ОВП не является количественной оценкой противooksидлительных свойств, а отражает отношение концентраций окисленных и восстановленных форм биологически активных компонентов в образце. Обратно пропорциональная зависимость ОВП от $\lg(\text{АОЕ})$ наблюдается только в пределах данной группы исследуемых объектов. Поэтому, сравнение различных сортов вин и напитков по величине ОВП не дает объективной информации о качестве. Кулонометрическое титрование, как показали наши исследования, дает ответ на вопрос об абсолютном содержании антиоксидантов, т.е. о качестве продукта.

Кулонометрическое определение соединений серы в вине. Известно, что в виноделии на всех этапах технологического процесса применяют еще один из антиоксидантов – диоксид серы, который может образовываться некоторыми расами дрожжей при брожении, а также вносится искусственно в сусло и вино. Концентрация SO_2 в готовом вине рассматривается как показатель качества сырья и уровня технологии. Для определения SO_2 в винах применяли метод обратного кулонометрического титрования электрогенерированным йодом, результаты представлены в таблице 12.

Таблица 12. Результаты определения свободного диоксида серы в образцах вин SO₂ (n=3, p=0,95).

Образец	Кулонометрическое определение, мг/л	S _r	*Станд. м-ка, общ./своб., мг/л
"Анапа"	10±2	0,09	150/6
"Херес"	4±1	0,15	200/20
"Шардоне"	31±2	0,03	154,0/23,0
"Кагор"	15±2	0,03	48,0/8,0
"Изабелла"	10±1	0,03	86,0/6,0

*результаты определения, предоставленные лабораторией филиала ГУП РТ "ПО Татспиртпром" "Казанского ЛВЗ".

Таким образом, идея применять электрогенерированные галогены в качестве кулонометрических титрантов для определения микрограммовых количеств индивидуальных биологически активных веществ в модельных растворах и лекарственных формах, получившее дальнейшее развитие в настоящем исследовании оказалось перспективной. Нельзя не отметить при этом, что определение индивидуальных соединений в сложной матрице без предварительного их разделения можно встретить трудности. Однако этот недостаток метода может сыграть положительную роль, если использовать недорогой, экспрессный и надежный кулонометрический способ для оценки суммарного содержания антиоксидантов в 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.

ВЫВОДЫ

1. Предложены электрогенерированные кулонометрические титранты и найдены условия определения фармпрепаратов - аминопроизводных ароматического ряда (анестезина, новокаина, новокаинамида, парацетамола, стрептоцида, сульгина, альбуцида, этазола, сульфадимезина, норсульфазола и сульфаметоксазола); салициловой, ацетилсалициловой, *n*-аминосалициловой кислот и месалазина; алкалоидов пуринового ряда (кофеина, теофиллина и теобромина) в модельных растворах и лекарственных формах, а также кофеина в образцах чая и кофе в диапазоне содержаний от 2 до 15 мкг/мл, с величиной S_r не более 0,05. Установлены стехиометрические коэффициенты реакций указанных соединений с электрогенерированными галогенами и обсуждены возможные схемы их протекания.
2. Определена роль аскорбиновой кислоты в стабилизации водных растворов растительных полифенолов. Установлено, что стабильность в водных растворах возрастает в ряду рутин<дегидрокверцетин<кверцетин. При введении аскорбиновой кислоты в растворы окисление растительных полифенолов значительно замедляется в ряду кверцетин>дигидрокверцетин>рутин, при этом содержание аскорбиновой кислоты заметно уменьшается.
3. Обсуждены возможные схемы протекания реакций производных 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола в нейтральных и щелочных растворах с электрогенерированными окислителями. Определены вольтамперометрические

характеристики пространственно затрудненных фенолов на стационарных твердых электродах из платины, золота и стеклоуглерода.

4. Определена антиоксидантная емкость экстрактов лекарственного растительного сырья, апельсиновых напитков, пива и различных сортов вин с помощью электрогенерированных титрантов. Установлена зависимость антиоксидантной емкости продуктов от их качества, технологии приготовления и хранения, влияние различных добавок на этот показатель.
5. Разработан кулонометрический способ определения соединений S (IV) в вине с помощью электрогенерированного йода на уровне 4-10 мг/л с величиной S_T 0,10-0,03. Предложенная методика характеризуется высокой точностью, хорошей воспроизводимостью и простотой.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Чернышева Н.Н. Кулонометрическое определение салициловой кислоты и некоторых ее производных / Н.Н. Чернышева, И.Ф. Абдуллин // III Всероссийская конф. молодых ученых "Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии" (3-5 сентября 2001г.) Саратов, 2001. Тез. докл. - С. 184.
2. Абдуллин И.Ф. Кулонометрическое и вольтамперометрическое определение антиоксидантов в растительных материалах / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, Г.К. Будников, Е.Н. Турова // Всероссийская конф. "Актуальные проблемы аналитической химии". (11-15 марта 2002 г.) Москва, 2002. Тез. докл. Т. 2. - С.139.
3. Чернышева Н.Н. Кулонометрическое определение алкалоидов пуринового ряда с помощью электрогенерированного хлора. // IV Научно-практическая конф. молодых ученых и специалистов Республики Татарстан (11-12 декабря 2001 г.) Казань, 2001. Тез. докл. - С. 64.
4. Турова Е.Н. Электрохимическая оценка антиоксидантной способности некоторых фитопрепаратов / Е.Н. Турова, И.Ф. Абдуллин, Г.Х. Гайсина, Н.Н. Чернышева, Г.К. Будников // Поволжская конф. по аналитической химии (20-22 ноября 20001 г.) Казань, 2001. Тез. докл. -С. 136.
5. Чернышева Н.Н. Кулонометрическое определение фармпрепаратов-аминопроизводных ароматического ряда электрогенерированным бромом / Н.Н. Чернышева, И.Ф. Абдуллин, Г.К. Будников // Поволжская конференция по аналитической химии (20-22 ноября 20001 г.) Казань, 2001. Тез. докл. - С. 139.
6. Abdullin I. F. The use coulometry and voltammetry for evaluation of antioxidant capacity of the plant extracts / I. F. Abdullin, H. S. Budnikov, E. N. Turova, N. N. Chernyshova // 9th International Conf. on Electroanalysis (ESEAC`2002) (9-13 June 2002) Krakow. Poland, 2002. Book Abstr. - P. 124.
7. Абдуллин И.Ф. Экспрессная оценка антиоксидантной активности растительного сырья / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, Е.Н. Турова, Е.Н. Офицеров, Г.К. Будников, Р.Ш. Хазиев // II Всероссийская конф. "Химия и технология растительных веществ" (24-27 июня 2002г.) Казань, 2002. Тез. докл. - С. 77-78.
8. Чернышева Н.Н. Разработка аналитического метода определения антиоксидантной активности при приготовлении пива с профилактическими свойствами / Н.Н. Чернышева, И.Ф. Абдуллин, А.А. Лапин // Сборник научных

- трудов "Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты" Вып. № 6. Москва, 2002. - С.237-238.
9. Абдуллин И.Ф. Кулонометрическая оценка антиоксидантной способности лекарственного растительного сырья / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, Е.Н. Турова, Е.Н. Офицеров, Г.К. Будников, Р.Ш. Хазиев // *Материалы Всероссийского семинара: "Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья"* (28-29 марта 2002 г.) Барнаул, 2002. - С. 120-123.
 10. Чернышева Н.Н. Изучение окислительно-восстановительных свойств 2,6-дигрет-бутил-4-метилфенола и его производных электрохимическими методами / Н.Н. Чернышева, Г.К. Будников, Е.Н. Офицеров // *III Научная конференция молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра КГУ "Материалы и технологии XXI века"* (14-15 февраля 2003 г.) Казань, 2003. Тез. докл. - С. 93.
 11. Абдуллин И.Ф. Кверцетин, дегидрокверцетин, рутин, аскорбиновая кислота, как антиоксиданты – аналиты / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, Н.Н. Золина, Г.К. Будников // *Вестник Татарского отделения Российской экологической академии*. 2003. - № 1.- С. 47-51.
 12. Чернышева Н.Н. Использование растительного сырья в пивоварении / Н.Н.Чернышева, А.А. Лапин, О.Н. Рябый // *Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сборник научных трудов*. Вып. 8. Москва, 2003.- С. 172-182.
 13. Лапин А.Н. 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. Москва, 2003. - С. 182-188.
 14. Абдуллин И.Ф. Определение антиоксидантной емкости пива с профилактическими свойствами / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, А.А. Лапин, О.Н. Рябый // *Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сборник научных трудов*. Вып. 9. Москва, 2003. - С. 243-251.
 15. Абдуллин И.Ф. Кулонометрия в фармацевтическом анализе: от аналита к обобщенным показателям / И.Ф. Абдуллин, Г.К. Будников, Н.Н. Чернышева, Г.К. Зиятдинова // *Международный Форум "Аналитика и аналитики"* (2-6 июня 2003) Воронеж, 2003. Т. 2. Каталог рефератов и статей. - С. 380.
 16. Чернышева Н.Н. Кулонометрическое определение алкалоидов пуринового ряда с помощью электрогенерированного хлора / Н.Н. Чернышева, И.Ф. Абдуллин, Г.К. Будников // *Журнал аналит. химии*. 2001. - Т. 56. - № 7. - С. 745-747.
 17. Абдуллин И.Ф. Определение фармпрепаратов - аминопроизводных ароматического ряда методом гальваностатической кулонометрии с помощью электрогенерированного брома / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, Г.К. Будников // *Журнал аналит. химии*. 2002. - Т. 57. - № 7. - С. 750-752.
 18. Абдуллин И.Ф. Гальваностатическое кулонометрическое определение салициловой кислоты и некоторых ее производных с помощью электрогенерированных галогенов / И.Ф. Абдуллин, Н.Н. Чернышева, Г.К. Будников // *Журнал аналит. химии*. 2002. - Т. 57. - № 8. - С. 856-858.

19. Абдуллин И.Ф. Экспрессная оценка антиоксидантной активности растительного сырья / И. Ф. Абдуллин, Н. Н. Чернышева, Е. Н. Турова, Е. Н. Офицеров, Г.К. Будников, Р.Ш. Хазиев // Сырье и упаковка. 2002. - № 9. - С. 24-26.

Соискатель

Н. Н. Чернышева