

На правах рукописи

Низамова Альфия Маратовна

**ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В НАПИТКАХ,
СПЕЦИЯХ И ФАРМПРЕПАРАТАХ**

02.00.02- аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Казань-2012

Работа выполнена на кафедре аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова ФГАОУ ВПО "Казанский (Приволжский) федеральный университет"

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Будников Герман Константинович

Официальные оппоненты **Улахович Николай Алексеевич**
доктор химических наук, профессор, ФГАОУ ВПО
"Казанский (Приволжский) федеральный университет",
заведующий кафедрой неорганической химии

Гармонов Сергей Юрьевич
доктор химических наук, профессор, ФГБОУ ВПО
"Казанский национальный исследовательский
технологический университет", профессор кафедры
аналитической химии, сертификации и менеджмента
качества

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО "Национальный исследовательский
Томский политехнический университет"

Защита состоится « 24 » мая 2012 г. в 14.30 ч. на заседании диссертационного совета Д 212.081.03 при Казанском (Приволжском) федеральном университете по адресу: ул. Кремлевская, 18, К(П)ФУ, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского (Приволжского) федерального университета.

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

Автореферат разослан « » апреля 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного Совета

М.А. Казымова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Известно, что фенольные антиоксиданты (АО) природного происхождения, в том числе полифенолы, относятся к важнейшим компонентам широкого круга пищевых продуктов, лекарственных препаратов и биологически активных добавок. Соединения этой группы способны предотвращать развитие окислительного стресса, вызванного цепными радикальными реакциями в организме, и нивелировать его последствия. Эти соединения поглощают свободные радикалы и тем самым активно подавляют перекисное окисление липидов в биологических тканях и субклеточных структурах таких, как митохондрии, микросомы, липосомы и мембраны эритроцитов.

Поэтому, определение как индивидуальных фенольных АО, так и их суммарного содержания в продуктах питания и лекарственных формах является важным направлением исследований, поскольку оно имеет значение для технологии создания новых пищевых добавок и продуктов питания с заданными свойствами, а также лекарственных средств и контроля их качества. В свою очередь, эти практические задачи могут быть решены при наличии доступных и экспрессных способов надежного определения фенольных АО.

Следует отметить, что в последнее время заметное внимание уделяется способам определения антиоксидантной емкости (АОЕ). Ее рассматривают как общий показатель или характеристику объекта анализа при исследовании его антиоксидантных свойств. В целом, интенсивные исследования последних лет в этой области свидетельствуют о том, что проблема разработки новых, экспрессных, универсальных и доступных способов определения фенольных АО, остается актуальной.

Поскольку продукты питания имеют сложный состав, то большое значение приобретает взаимное влияние компонентов, приводящее к изменению свойств отдельных соединений, в том числе биологических. В случае полифенолов к таким соединениям относятся, главным образом, протеины. Поэтому оценка влияния протеинов на биологическую активность полифенолов представляет несомненный интерес.

Известно, что фенольные АО сравнительно легко вступают в реакции окисления, сопровождающиеся переносом электронов. Поэтому использование этих свойств, а, следовательно, и электрохимических методов, в частности, вольтамперометрии и кулонометрии, для разработки новых и совершенствования существующих способов определения этой группы соединений является перспективным.

Цель работы: разработка способов кулонометрического и вольтамперометрического определения фенольных антиоксидантов в напитках, специях и лекарственных формах, а также оценки общих показателей “антиоксидантная емкость” и “железозостванавливающая способность” (ЖВС), по которым можно сделать заключение об антиоксидантных свойствах изучаемых объектов.

В соответствии с целью исследования в работе поставлены следующие задачи:

- разработать способы определения индивидуальных фенольных антиоксидантов в модельных растворах, лекарственных формах и специях с применением гальваностатической кулонометрии с электрогенерированными гексацианоферрат(III) ионами и вольтамперометрии;

- разработать способ кулонометрической оценки ЖВС напитков и специй и выявить ее корреляцию с интегральной АОЕ;
- оценить влияние протеинов молока на активность индивидуальных полифенолов и ЖВС напитков (чая и кофе);
- разработать способ вольтамперометрической оценки АОЕ напитков с использованием модифицированного многослойными углеродными нанотрубками стеклоуглеродного электрода.

Научная новизна. Установлено, что реакции электрогенерированных $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов с природными полифенолами – рутином, кверцетином, дигидрокверцетином, танином, катехином, куркумином, лютеолином и галловой кислотой протекают стехиометрично.

На основе полученных данных электрогенерированные $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионы предложены в качестве реагента для определения ЖВС напитков (чая и кофе) и специй как одноэлектронные окислители, количественно реагирующие с аналитами.

Установлены корреляционные зависимости между ЖВС и интегральной АОЕ по бромю.

Показано, что протеины (казеин, бычий сывороточный альбумин и β -лактоглобулин) связывают рутин, кверцетин и дигидрокверцетин (от 5 до 76 %), переводя их в неактивную форму.

Найдены характеристики природных полифенолов (катехина, танина, кверцетина, рутина, дигидрокверцетина, галловой и гидроксикоричных кислот) на электродах, модифицированных многослойными углеродными нанотрубками в условиях циклической и дифференциально-импульсной вольтамперометрии. Предложены схемы реакций.

Установлено, что чай и кофе в условиях вольтамперометрии дают аналитический сигнал, который является мерой АОЕ. Определен круг полифенолов, которые вносят вклад в АОЕ в этом случае.

Практическая значимость. Разработаны способы кулонометрического и вольтамперометрического определения рутина, кверцетина и дигидрокверцетина в моно- и многокомпонентных лекарственных формах с величинами s_r от 0,013 до 0,068 и куркумина в специях с величиной $s_r \leq 0,022$.

Оценена ЖВС напитков и специй. Кулонометрически показано, что протеины молока значительно понижают ЖВС чая и кофе.

Предложен способ оценки АОЕ чая и кофе с применением циклической и дифференциально-импульсной вольтамперометрии, соответственно, основанный на окислении полифенолов напитков на стеклоуглеродном электроде, модифицированном многослойными углеродными нанотрубками.

Разработанные способы оценки АОЕ и ЖВС характеризуются точностью, хорошей воспроизводимостью и доступностью и могут быть рекомендованы для скрининга антиоксидантных свойств продуктов питания.

На защиту выносятся:

1. Способы определения фенольных антиоксидантов в модельных растворах, лекарственных формах и специях методами гальваностатической кулонометрии с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами и вольтамперометрии.
2. Результаты кулонометрического определения ЖВС напитков и специй и ее корреляция с интегральной АОЕ по бромю.
3. Результаты исследования влияния казеина, бычьего сывороточного альбумина и β -лактоглобулина на активность индивидуальных природных полифенолов, а также молока на ЖВС напитков по данным кулонометрии.
4. Вольтамперометрические способы оценки АОЕ чая и кофе, в том числе на модифицированных многослойными углеродными нанотрубками электродах.
5. Величины АОЕ чая и кофе для различных сортов и способов приготовления.

Апробация работы. Основные результаты работы представлены в устных и стендовых докладах на Всероссийской конференции “Химический анализ” (Москва, 2008), III Всероссийской конференции с международным участием “Аналитика России” (Краснодар, 2009), I Всероссийской конференции “Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции” (Москва, 2009), IX и X Научных конференциях молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра КГУ “Материалы и технологии XXI века” (Казань, 2009, 2011), Съезде аналитиков России и Школе молодых ученых “Аналитическая химия – новые методы и возможности” (Москва, 2010), Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием “Аналитика РБ - 2010” (Минск, 2010), XXX International Seminar on Modern Electrochemical Methods (Jelřichovice, Czech Republic, 2010) Симпозиуме с международным участием “Теория и практика электроаналитической химии” (Томск, 2010), International Congress on Organic Chemistry (Kazan, 2011), III Всероссийском симпозиуме “Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии” (Краснодар, 2011), ISE Satellite Student Regional Symposium on Electrochemistry – First Student Meeting in Kazan (Kazan, 2011) и Итоговой научной конференции Казанского (Приволжского) федерального университета (Казань, 2012).

По материалам диссертации опубликовано 8 статей и тезисы 13 докладов.

Диссертация выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-03-00309-а “Новые электрохимические сенсоры и биосенсоры на основе медиаторных систем для обобщенной оценки объектов сложного состава”.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 131 страницах, содержит 29 таблиц, 26 рисунков и библиографию из 246 наименований. Работа состоит из введения, литературного обзора, трех глав экспериментальной части, в которых описана постановка задачи, аппаратура, объекты и техника эксперимента и изложены результаты с их обсуждением, выводов 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 вопросы классификации и строения природных фенольных АО, в частности, полифенолов, их биологической активности в

присутствии протеинов, а также способы электрохимического определения полифенолов в реальных объектах. Особое внимание уделено химически модифицированным электродам и амперометрическим биосенсорам. Кроме того, описаны существующие способы электрохимической оценки антиоксидантных свойств напитков.

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

Главы 3 и 4 посвящены обсуждению полученных результатов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электрогенерацию $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов проводили на потенциостате П-5827 М из 0,1 М $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ в 0,5 М NaOH , брома – из 0,2 М раствора KBr в 0,1 М H_2SO_4 , иода - из 0,1 М раствора KI в ацетатном буферном растворе (рН 3,86) на платиновом электроде при постоянной силе тока 5,0 мА. Конечную точку титрования определяли амперометрически с двумя поляризованными платиновыми электродами ($\Delta E=200$ мВ).

Вольтамперометрические измерения проводили на анализаторе “Экотест-ВА” и потенциостате/гальваностате $\mu\text{Autolab}$ Type III. Стеклоуглеродный электрод (СУЭ) и модифицированный многослойными углеродными нанотрубками СУЭ (УНТ-СУЭ) использовали в качестве рабочих. Все измерения проводили относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода.

Объектами исследования служили следующие фенольные АО: 95 % рутин тригидрат (Fluka, Germany), 90 % дигидрокверцетин гидрат (Sigma, Germany), 98 % кверцетин дигидрат (Sigma, Germany), 98 % катехин гидрат (Sigma, Germany), танин фармакопейной чистоты (Fluka, Germany), галловая (Sigma, Germany), 98 % кофеиновая (Sigma, Germany), 95 % хлорогеновая (Aldrich, Germany), 98 % *n*-кумаровая (Sigma, Germany) и 99 % феруловая (Aldrich, Germany) кислоты, 70 % куркумин из *Curcuma longa* (Sigma, Germany) и 98 % лютеолин (Sigma, Germany). β -казеин из коровьего молока (Fluka, Germany), бычий сывороточный альбумин (БСА) (Fluka, Germany) и β -лактоглобулин (Sigma, Germany) использовали для оценки влияния протеинов. Остальные реактивы были марки х.ч. и этанол-ректификат.

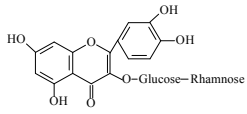
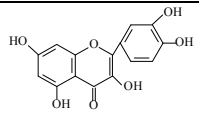
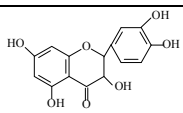
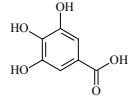
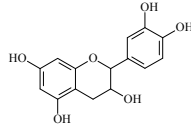
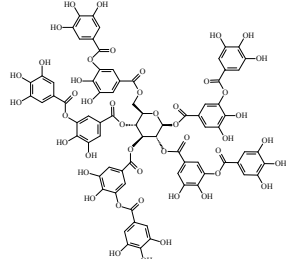
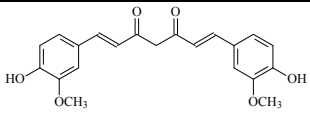
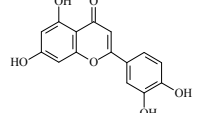
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

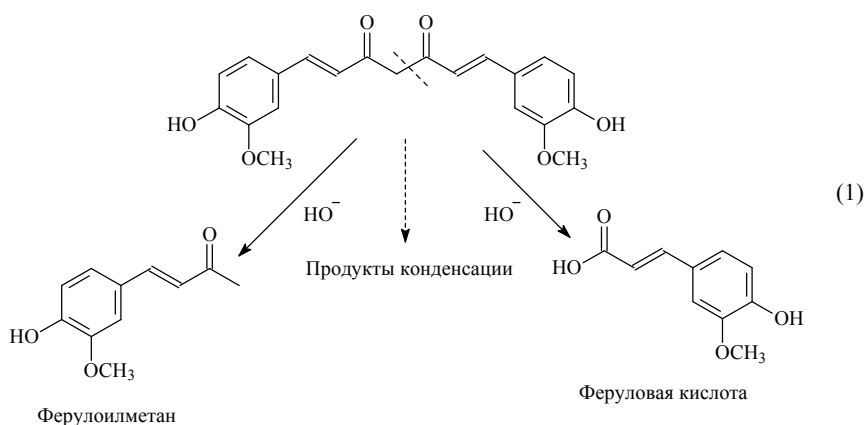
Реакции фенольных АО с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами

Гальваностатическая кулонометрия с электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами в качестве титранта открывает новые возможности в изучении реакций фенольных АО с одноэлектронным переносчиком.

Установлено, что все фенольные АО реагируют с титрантом быстро и количественно. Число электронов, участвующих в реакциях представлено в таблице 1. Это число совпадает с числом ОН-групп в молекуле полифенола за исключением катехина и куркумина. В случае куркумина следует отметить, что в щелочной среде он частично разрушается с образованием феруловой кислоты и ферулоилметана согласно схеме 1, но эти процессы идут во времени.

Таблица 1. Число электронов, участвующих в реакциях фенольных антиоксидантов с электрогенерированными $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ -ионами по результатам кулонометрического титрования.

Соединение	Структурная формула	Число электронов, участвующих в реакции
Рутин		4
Кверцетин		5
Дигидрокверцетин		5
Галловая кислота		3
Катехин		4
Танин		25
Куркумин		5
Лютеолин		4



На основе полученных результатов электрогенерированный $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ион предложен как реагент для определения ЖВС объектов, обусловленной присутствием в них низкомолекулярных АО, главным образом, фенольных.

Оценка железобосстановляющей способности напитков и специй

Чай и кофе являются одними из основных источников полифенолов в рационе питания человека и оценка их содержания представляет несомненный практический интерес.

Установлено, что ЖВС зеленого и черного чая сопоставима (табл. 2). Это, вероятно, объясняется присутствием в чае белков (от 16 до 25 %), которые способны связывать полифенолы, содержащиеся в нем. Кроме того, следует отметить и различную ценовую категорию исследуемых торговых марок.

Таблица 2. Железобосстановляющая способность чая (n=5, P=0,95).

Объект анализа	Тип фасовки	ЖВС, Кл/250 мл	s _r
“Greenfield”, Delicate Keemun	пакетики	224±3	0,012
“Ahmad”, English Tea № 1		405±14	0,028
Принцесса “Нури” с бергамотом		273±3	0,009
“Ahmad”, Earl Grey		339±3	0,008
Принцесса “Ява”, Эрл Грей	листовой	277±5	0,013
“Greenfield”, Green Mellissa	пакетики	250±5	0,018
“Hyleys”, English Green Tea		299±2	0,006
“Ahmad”, Jasmine Green Tea	листовой	374±9	0,018

Найдена ЖВС кофе (табл. 3).

Таблица 3. Железобосстановляющая способность кофе (n=5, P=0,95).

Объект анализа	Форма обработки	ЖВС, Кл/125 мл	s _r
Арабика “Традиция”	зерна	241±3	0,009
“Vending Espresso Paulig”		283±7	0,019
“Dallmayr Promodo”	молотый	259±4	0,013
“Жокей” традиционный		331±5	0,013
“Grandos Exclusive”	растворимый сублимированный	441±10	0,019
“Grandos Egoiste Noir”		488±16	0,026
“Nescafe Cap Colombie”		335±7	0,017
“Carte Noire”		337±6	0,013
“Vipcafe Black Label”		344±8	0,018
“Жокей Триумф”		344±8	0,018
“Jacobs Monarch”		455±7	0,011
“Tchibo Exclusive”		291±4	0,011
“Ambassador Adora”		336±3	0,008
“Moccona Excellent”		растворимый гранулированный	331±4
“Maxwell House”	294±3		0,008
“Nescafe Classic”	311±2		0,006
“Dancafe”	334±10		0,025

Установлено, что для растворимого кофе ЖВС незначительно зависит от марки производителя. Однако сублимированный растворимый кофе содержит больше фенольных АО, чем гранулированный, что объясняется способом обработки зерен для получения этих форм кофе. Кофе в зернах значительно уступает растворимому кофе по ЖВС. Вероятно, это связано со способом обработки зерен при получении растворимого кофе, в частности дегидратацией, что приводит к концентрированию определяемых компонентов. Кроме того, нельзя исключать возможность добавления кофеина и других компонентов, обладающих антиоксидантными свойствами, в процессе получения растворимого кофе.

Основными полифенолами, вносящими вклад в ЖВС напитков, являются катехины (эпигаллокатехингалат и эпикатехингаллат, эпикатехин и эпигаллокатехин) для чая и фенольные кислоты (хлорогеновая, кофеиновая, феруловая, *n*-кумаровая и их эфиры) для кофе.

Установлено, что ЖВС напитков хорошо коррелирует с их интегральной антиоксидантной емкостью по реакции с электрогенерированным бромом (табл. 4).

Таблица 4. Параметры корреляционных зависимостей между железовосстанавливающей способностью и интегральной антиоксидантной емкостью напитков.

Объект анализа	Уравнение регрессии $y=a+bx$		R^2
	a	b	
Чай	128±28	0,21±0,04	0,9446
Кофе	115±26	0,56±0,06	0,9138

Специи растительного происхождения содержат большое число компонентов, в том числе и полифенолов. Для оценки ЖВС специй использовали предварительную экстракцию этанолом. Установлено, что максимальное извлечение достигается при однократной экстракции в течение 10 минут. Соотношение сырье/экстрагент устанавливали для каждой специи индивидуально. Результаты определения ЖВС специй представлены в таблице 5.

Наибольшая ЖВС характерна для корицы и гвоздики, что хорошо согласуется с литературными данными по антиоксидантной активности этих специй. Высокие значения связаны с большим содержанием в корице гироксикоричной кислоты и эвгенола и галловой кислоты и эвгенола в гвоздике. Розмарин, занимающий промежуточное положение в рассматриваемом ряду, содержит карнозол, розманол и ряд родственных соединений, которые вносят вклад в ЖВС. Кумин, орегано и имбирь содержат фенольные монотерпеноиды, которые экстрагируются спиртом и вступают в реакцию с титрантом. Наименьшая величина ЖВС получена для базилика и кориандра, что объясняется высоким содержанием в них ненасыщенных липофильных соединений, которые плохо экстрагируются спиртом и не вступают в реакцию с титрантом. Остальные специи содержат небольшие количества полифенолов, что отражается в полученных результатах.

Таблица 5. Железовосстанавливающая способность специй (n=5, P=0,95).

Специя	Торговая марка	Объем экстрагента на 1 г специи, мл	ЖВС, Кл/1 г	s_f
Корица	“Appetita”	4	42,3±0,2	0,004
Гвоздика	“Appetita”	2	13,3±0,2	0,013
Розмарин	“Appetita”	6	7,44±0,08	0,009
Кумин	“Магия востока”	2	4,5±0,2	0,032
Орегано	“Galeo”	6	3,69±0,08	0,017
Имбирь	“Волшебное дерево”	2	2,80±0,09	0,025
Ягоды можжевельника	“Appetita”	2	1,68±0,04	0,014
Перец красный	“Galeo”	6	1,55±0,03	0,017
Мускатный орех	“Interjarek”	6	1,40±0,06	0,032
Перец красный сладкий	“Волшебное дерево”	2	0,94±0,01	0,012
Перец черный	“Galeo”	2	0,94±0,07	0,065
Базилик	“Appetita”	6	0,79±0,04	0,036
Кориандр	“Appetita”	4	0,54±0,03	0,044

Вольтамперометрическое определение куркумина в специях

На циклических вольтамперограммах куркумина на СУЭ на фоне 0,1 М LiClO₄ в этаноле наблюдается практически необратимый пик окисления при потенциале 0,74 В и слабо выраженная ступень при потенциале 0,95 В (рис. 1). При потенциале первой ступени происходит окисление фенольных гидроксильных групп. Реакция протекает через образование феноксильного радикала, который затем превращается в хинон. Вторая ступень, вероятно, связана с окислением енольной гидроксильной группы, хотя ее вклад очень мал, что и отражается на циклических вольтамперограммах. Ток окисления куркумина линейно связан с концентрацией в диапазоне $9,09 \times 10^{-6} \div 1,07 \times 10^{-4}$ М, а предел обнаружения составляет 4,1 мкМ.

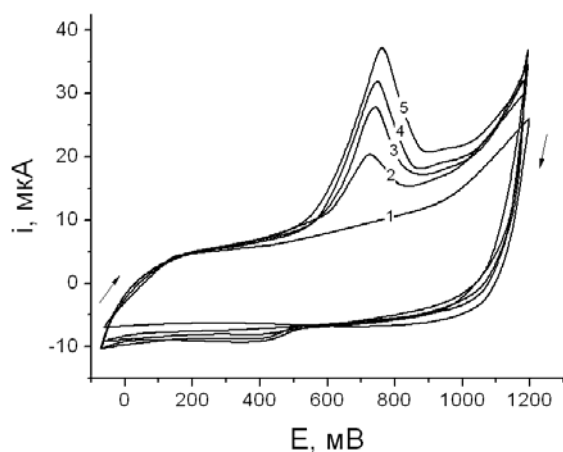


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы куркумина различной концентрации на СУЭ на фоне 0,1 М LiClO₄ в этаноле. С (М): 1 – 0; 2 – $4,8 \times 10^{-5}$; 3 – $6,5 \times 10^{-5}$; 4 – $9,1 \times 10^{-5}$; 5 – $1,3 \times 10^{-4}$. Скорость изменения потенциала 100 мВ/с.

На основе полученных данных разработан способ вольтамперометрического определения куркумина в специях (табл. 6), основанный на его предварительной экстракции этанолом течение 5 мин. Поскольку состав специй достаточно сложен, куркумин определяли

методом добавок, что позволяет учесть влияние матрицы. Предложенный способ вольтамперометрического определения куркумина в специях экономичен и надежен, что позволяет рекомендовать его в качестве альтернативного метода.

Таблица 6. Результаты вольтамперометрического определения куркумина в специях (n=5, P=0,95).

Объект анализа	Содержание куркумина, г/100г	s _r
Куркума M&S	3,08±0,04	0,012
Куркума	2,47±0,04	0,016
Свежемолотый корень куркумы	4,11±0,07	0,015
Молотый корень куркумы (после 1мес хранения)	2,28±0,04	0,016
Приправа для риса и макарон	0,68±0,02	0,022
Приправа 15 специй	< C _{min}	

Влияние протеинов молока на активность полифенолов и железовосстанавливающую способность напитков

Как уже упоминалось выше, продукты питания содержат широкий круг биологически активных веществ, что приводит к взаимному влиянию компонентов и изменению свойств отдельных соединений. При этом большое влияние на реакционную способность полифенолов оказывают протеины матрицы. Представляет интерес оценка влияния протеинов на флавонолы и флавонололы, поэтому изучены системы, содержащие полифенол и протеин. В качестве модельных соединений были выбраны рутин, кверцетин, дигидрокверцетин и протеины – казеин, БСА и β-лактоглобулин.

Установлено, что все исследуемые протеины связывают полифенолы по мере увеличения доли протеина в смеси (рис. 2). β-Лактоглобулин взаимодействует с полифенолами в меньшей степени, чем казеин и БСА, хотя различие статистически незначимо. Следует отметить, что кверцетин и дигидрокверцетин связываются в большей степени, чем рутин, что, вероятно, связано с присутствием гликозидного остатка в структуре рутина, который осложняет взаимодействие.

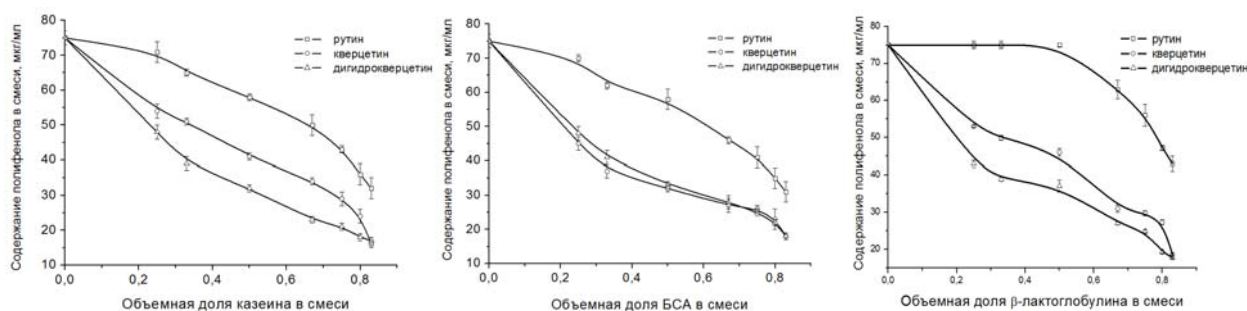


Рис. 2. Содержание свободного полифенола в зависимости от доли протеина в смеси.

В зависимости от структуры протеина, возможны различные механизмы взаимодействий с полифенолами: образование водородных связей (между карбонильной

группой пептидной связи и гидроксильными группами полифенолов), гидрофобные взаимодействия алифатических и ароматических фрагментов протеина с ароматическими кольцами молекул полифенолов. Возможно также и электростатическое взаимодействие. В зависимости от структуры полифенола и природы протеина вклад каждого из типов взаимодействий может меняться.

Оценено влияние молока на ЖВС чая и кофе. Для этого готовили смеси чая и кофе с пастеризованным молоком (2,5 % жирности), содержащие 5, 20, 50 и 70 % молока. Молоко обладает собственной ЖВС, поэтому ее предварительно определяли и учитывали при расчете ЖВС напитков.

Установлено, что ЖВС чая значительно уменьшается в присутствии молока (рис. 3). Наблюдаемый эффект от присутствия молока не зависит от сорта чая и процент уменьшения его ЖВС при переходе от одного вида чая к другому практически не изменяется. Кроме того, при небольшой доле молока в смеси изменение ЖВС не значительно.

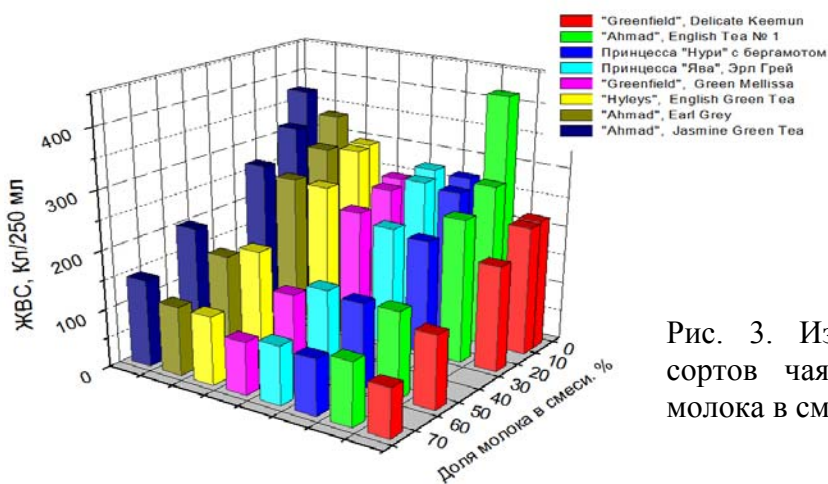


Рис. 3. Изменение ЖВС различных сортов чая в зависимости от доли молока в смеси.

Для растворимого кофе наблюдается сходная закономерность (Рис. 4а). Показано, что ЖВС кофе в зернах в присутствии молока практически не изменяется при увеличении доли молока в смеси до 20 %, а затем уменьшается почти в 2 раза (рис. 4б).

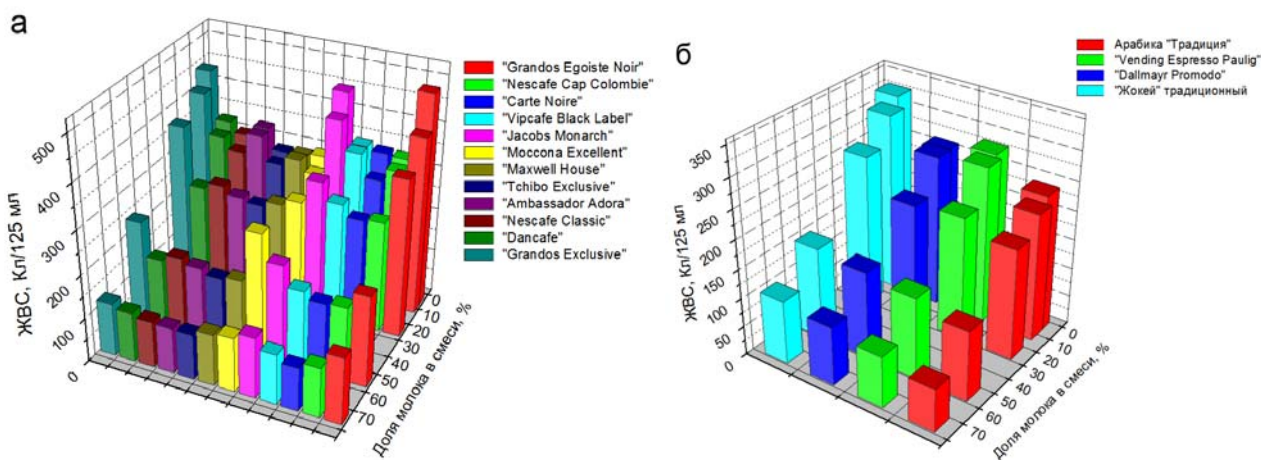


Рис. 4. Изменение ЖВС различных сортов кофе в зависимости от доли молока в смеси: а – растворимый кофе; б – кофе в зернах.

Таким образом, протеины молока связывают полифенолы, содержащиеся в напитках, значительно снижая их активность, что хорошо согласуется с литературными данными. Основным связывающим протеином является казеин, доля которого в молоке составляет 76-86 % от общего содержания протеинов.

Вольтамперометрия природных фенольных антиоксидантов на СУЭ, модифицированном многослойными углеродными нанотрубками

В настоящее время широкое применение в качестве модификатора поверхности электродов находят углеродные нанотрубки благодаря их уникальному строению, физико-химическим свойствам и совместимости с биологическими молекулами. Установлено, что исследуемые полифенолы легко окисляются на СУЭ и УНТ-СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора pH 7,4 (табл. 7). Использование модифицированного электрода позволяет увеличить токи окисления полифенолов (в 2-4 раза) за счет увеличения площади поверхности электрода и ее сродства к молекулам аналитов, содержащих в структуре ароматические ядра.

Таблица 7. Вольтамперные характеристики полифенолов на фоне фосфатного буферного раствора pH 7,4.

Соединение	Потенциал окисления, В		I _{мод} /I
	СУЭ	УНТ-СУЭ	
Катехин	+0,23; 0,57	+0,21; 0,56	3,5
Галловая кислота	+0,32; 0,66	+0,26; 0,63	3,5
Танин	+0,24; +0,37	+0,22; +0,34	4,0
Рутин	+0,26 ; 0,86	+0,26 ; 0,86	3,0
Кверцетин	+0,23; 0,80	+0,23; +0,80	3,0
Дигидрокверцетин	+0,22; 0,80	+0,22; 0,80	2,0

Окисление полифенолов на УНТ-СУЭ по первой ступени протекает обратимо за исключением танина (рис. 5).

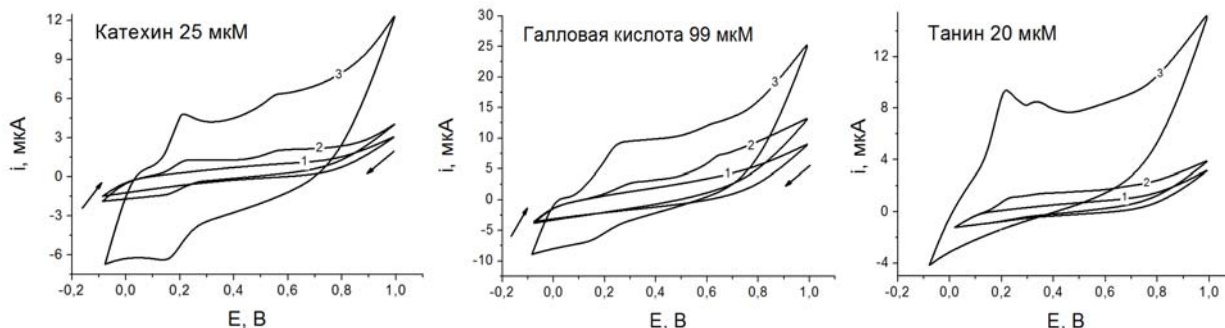
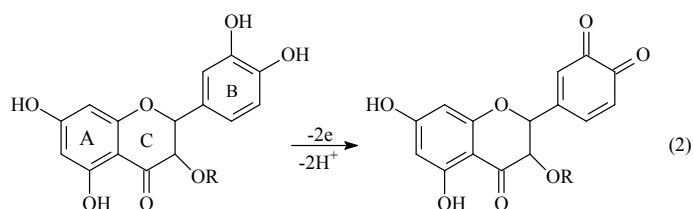
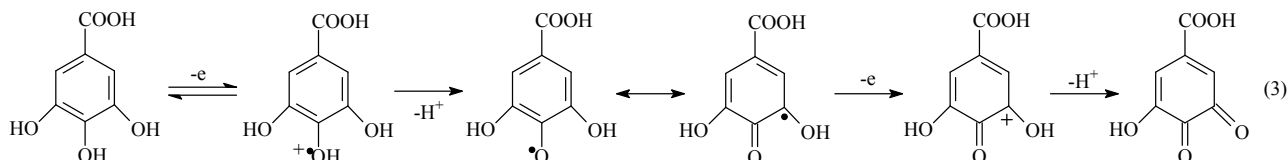


Рис. 5. Циклические вольтамперограммы полифенолов на СУЭ (кривая 2) и УНТ-СУЭ (кривая 3) на фоне фосфатного буферного раствора pH 7,4 (кривая 1). Скорость изменения потенциала 100 мВ/с.

Как известно, окисление полифенолов протекает с участием гидроксильных групп кольца В с образованием соответствующих хиноидных производных согласно схеме 2.



Окисление галловой кислоты протекает с участием пирогаллольной группы согласно схеме 3 с образованием *o*-хинона.



Для всех рассматриваемых полифенолов наблюдается линейная зависимость токов окисления от концентрации аналита в растворе. Использование модифицированного электрода позволяет понизить пределы обнаружения и расширить диапазоны определяемых содержаний полифенолов.

На основе полученных результатов по вольтамперометрии полифенолов на УНТ-СУЭ, предложен вольтамперометрический способ оценки антиоксидантной емкости чая, основанный на окислении его полифенольных соединений.

Установлено, что на вольтамперограммах чая наблюдаются четко выраженные ступени окисления, потенциалы и площадь которых зависят от сорта чая (рис. 8).

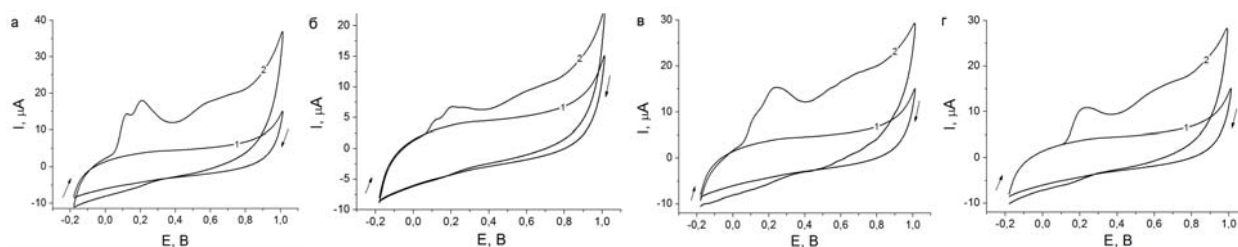


Рис. 6. Циклические вольтамперограммы чая (кривая 2) на УНТ-СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора рН 7,4 (кривая 1): а – зеленый; б – полуферментированный; в – белый; г – черный чай. Скорость изменения потенциала 100 мВ/с.

Так, для зеленого, полуферментированного и белого чая характерны двухступенчатая волна при 0,13-0,17 и 0,2-0,25 В и ступень окисления при 0,6 В (рис.6 а-в). Двухступенчатая волна по потенциалам соответствует окислению основного полифенола чая эпигаллокатехингаллата и структурно родственных соединений, причем первый пик обусловлен окислением пирогаллольной группы кольца В в структуре полифенолов, а второй – окислением галлатного и катехольного фрагментов. Следует отметить, что токи окисления полуферментированного чая значительно ниже, чем зеленого при сохранении общего вида кривой. Это обусловлено частичным окислением полифенолов в ходе технологического процесса получения чая.

Черный чай дает волну окисления в форме пика или ступени в зависимости от торговой марки при 0,2-0,26 В и вторую слабо выраженную ступень при 0,6 В (рис. 6 г). Исчезновение ступени в области 0,15 В объясняется окислением пирогаллольной группы катехинов и их конденсацией под действием полифенолоксидазы в процессе ферментации. Потенциал второй ступени окисления при 0,6 В для всех видов чая совпадает с потенциалами вторых ступеней окисления катехина и галловой кислоты.

В качестве параметра, характеризующего антиоксидантные свойства, выбрана площадь под кривой первой волны окисления чая. Так как основными полифенолами чая являются катехины, то АОЕ чая выражали в эквивалентах катехина в пересчете на 100 мл чая (табл. 8).

Таблица 8. Антиоксидантная емкость чая по данным циклической вольтамперометрии на УНТ-СУЭ в среде фосфатного буферного раствора рН 7,4 (n=5; P=0,95).

Вид	Образец	АОЕ, мг катехина/100 мл	S _r
Черный чай	Ahmad, Ceylon tea F.B.O.P.F.	96±4	0,032
	Hyleys, English Aristocratic tea	55±4	0,054
	Jumbo Brand tea, Ceylon tea	60±4	0,054
	Lipton, Yellow label	43±2	0,040
	Золотая чаша, с листьями черной смородины	20,0±0,8	0,030
	Dilmah, Premium Ceylon	42±2	0,046
	Ahmad, English breakfast	69±2	0,024
Зеленый чай	Greenfield, Spring melody	46±3	0,044
	Ahmad, Jasmine green tea	360±9	0,021
	Monkey King, Jasmine tea	270±20	0,028
	Краснодарский чай, “Уникальный” TGFOP	303±7	0,019
	Greenfield, Green melissa	252±7	0,025
Полуферментированный чай	Беседа, с листьями черной смородины	263±9	0,028
	Черный дракон, Женьшеневый улун	69±2	0,029
	Сань Мин Хуа, Оолонг с ванилью	76±3	0,027
	Чайная коллекция, Тегуаньинь	72±4	0,039
	Greenfield, Highland oolong	72±1	0,016
Белый чай	Chinese famous tea, Tie Guan Yin Oolong tea	62±1	0,015
	Greenfield, Mango delight	264±5	0,014
	Lipton, White tea Rose violet	247±1	0,003
	Lipton, White tea Pomegranate	241±1	0,004
	Greenfield, White bloom	255±5	0,016
Травяной чай	Nordqvist, White tea grapeberry	267±1	0,004
	Tess, Light	53±2	0,032
	Каркаде	18±2	0,062
	Tess, Daisy	3,8±0,2	0,037
	Greenfield, Rich Camomile	4,4±0,3	0,049

Установлено, что АОЕ зеленого чая на 81 % выше чем, у черного, что согласуется с интегральной АОЕ по бромю для черного и зеленого чая. АОЕ полуферментированного чая значительно меньше, чем у зеленого (в среднем на 75 %) и статистически незначимо выше, чем у черного чая. АОЕ белого чая и зеленого чая сопоставимы. Это объясняется незначительным окислением полифенолов (на 5-10 %) под действием кислорода воздуха на стадиях завяливания и высушивания чайного листа в процессе получения этого вида чая.

Для травяного чая наблюдаются сильно различающиеся значения АОЕ в зависимости от компонентов, входящих в состав. Однако для чая с одинаковыми базовыми компонентами величины АОЕ хорошо согласуются, как например, в случае ромашкового чая. Высокое значение АОЕ для чая Tess Light объясняется присутствием в его составе листьев падуба парагвайского и ройбуша, содержащих значительные количества полифенолов.

Гидроксикоричные кислоты (следующий тип аналитов) дают анодные ступени на циклических вольтамперограммах на УНТ-СУЭ. Для феруловой, *n*-кумаровой и кофеиновой кислот аналитический сигнал имеет растянутую форму, особенно в области средних и высоких концентраций аналитов. Поэтому использовали дифференциально-импульсный режим поляризации.

На дифференциально-импульсных вольтамперограммах наблюдаются четко выраженные пики окисления гидроксикоричных кислот (рис. 7) при 0,19, 0,20 и 0,52 В для хлорогеновой, кофеиновой и *n*-кумаровой кислот, соответственно. Для феруловой кислоты наблюдаются две ступени при 0,37 и 0,44 В, вырождающиеся в один пик при увеличении концентрации аналита (рис. 7 г).

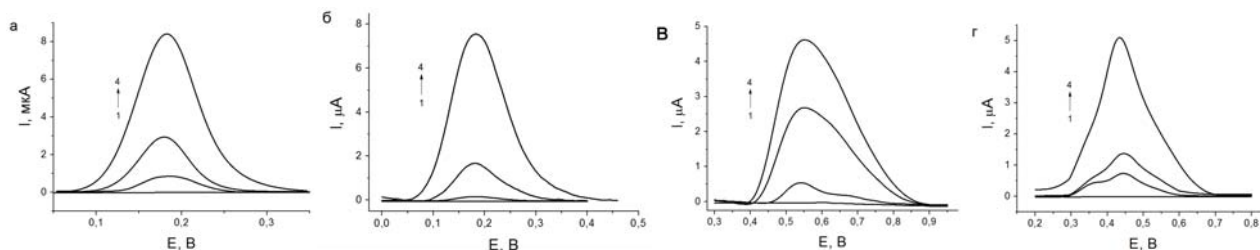


Рис. 7. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы гидроксикоричных кислот различной концентрации на УНТ-СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора pH 7,4. а) 1 – 0; 2 – 53; 3 – 106; 4 – 530 мкМ хлорогеновой кислоты. б) 1 – 0; 2 – 9,25; 3 – 92,5; 4 – 925 мкМ кофеиновой кислоты. в) 1 – 0; 2 – 100; 3 – 500; 4 – 1000 мкМ *n*-кумаровой кислоты. г) 1 – 0; 2 – 53; 3 – 106; 4 – 530 мкМ феруловой кислоты. Скорость изменения потенциала 10 мВ/с.

Окисление хлорогеновой, кофеиновой и феруловой кислот протекает с участием гидроксильных групп пирокатехинового фрагмента с образованием соответствующих хинонов. *n*-Кумаровая кислота окисляется с образованием феноксильного радикала с последующей димеризацией и полимеризацией

Для рассматриваемых кислот наблюдается линейная зависимость токов окисления от концентрации аналита в растворе (табл. 9).

Таблица 9. Аналитические характеристики определения гидроксикоричных кислот методом дифференциально-импульсной вольтамперометрии на УНТ-СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора рН 7,4.

Аналит	Предел обнаружения, мкМ	Диапазон концентраций, мкМ	Уравнение регрессии $I_p = a + b \times C$		R
			$a \times 10^7, A$	$b \times 10^2, A \times л/моль$	
Хлорогеновая кислота	0,80	1÷1060	2±2	1,45±0,03	0,9991
Кофеиновая кислота	0,005	0,0093÷5030	7±4	1,20±0,02	0,9972
<i>n</i> -Кумаровая кислота	2,50	5÷1000	1±1	0,48±0,02	0,9975
Феруловая кислота	2,65	5,3÷530	1±1	95±5	0,9907

Поскольку одним из основных источников гидроксикоричных кислот является кофе, то разработанный подход можно использовать для оценки его антиоксидантной емкости.

На дифференциально-импульсных вольтамперограммах кофе наблюдается четко выраженный пик окисления при потенциале 0,2 В, что соответствует потенциалам окисления хлорогеновой и кофеиновой кислот (рис. 8). Следует отметить, что на вольтамперограммах молотого кофе присутствует слабовыраженный пик при потенциале 0,43 В, обусловленный присутствием феруловой кислоты.

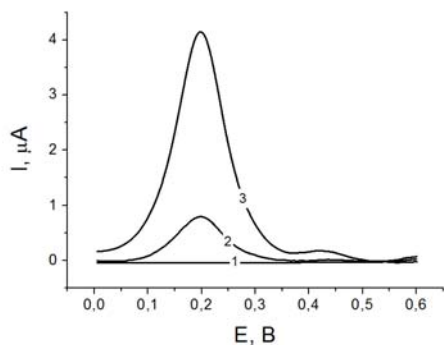


Рис. 10. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы растворимого (кривая 2) и молотого (кривая 3) кофе на УНТ-СУЭ в среде фосфатного буферного раствора рН 7,4 (кривая 1). Скорость изменения потенциала 10 мВ/с.

Оценена АОЕ кофе, выраженная в эквивалентах хлорогеновой кислоты (табл. 10). АОЕ растворимого кофе статистически недостоверно ниже, чем АОЕ молотого кофе. Необходимо отметить, что для растворимого кофе различных торговых марок величины АОЕ изменяются в очень широких пределах. Для молотого кофе результаты более близкие по значениям. В целом полученные значения хорошо согласуются с литературными данными по общему содержанию гидроксикоричных кислот, за исключением торговой марки “Nescafe”, для которой наблюдаются завышенные результаты. Это, вероятно, объясняется добавлением кофеиновой кислоты в процессе производства.

Таблица 10. Антиоксидантная емкость кофе по данным дифференциально-импульсной вольтамперометрии на УНТ-СУЭ в среде фосфатного буферного раствора pH 7,4 (n=5; P=0,95).

Вид	Образец	АОЕ, мг хлорогеновой кислоты/100 мл	s_f
Кофе молотый	Starbucks, Guatemala Casl Cielo	162±9	0,047
	Starbucks, Tribute Blend	215±2	0,007
	Carte Noire, Arabica Exclusif	166±3	0,019
	Melitta Aroma	199±6	0,024
	Melitta Excellent	282±9	0,026
	Grandos, Double Espresso	148±20	0,108
	Sunny, Brazilian Coffee	269±12	0,036
	Dallmayr Prodomo	176±4	0,017
	Auchan, Tradition café	128±7	0,042
Кофе растворимый	Grandos, Cafe Gold Super	45±5	0,091
	Moccona, Premium Selection	53±6	0,084
	Vipcafe, Espresso	161±6	0,029
	Carte Noire	77±4	0,044
	Jacobs Monarch	162±9	0,045
	Nescafe Classic	338±21	0,050
	Nescafe Gold	201±10	0,042

Разработаны способы вольтамперометрического определения флавоноидов (рутина, кверцетин и дигидрокверцетин) в лекарственных формах на УНТ-СУЭ и методом кулонометрического титрования электрогенерированными $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами. Результаты представлены в таблице 11. Величина относительного стандартного отклонения не превышает 7 %. Во всех случаях найденное содержание действующего вещества соответствует указанному производителем.

Полученные результаты хорошо согласуются с данными кулонометрического определения. Для “Антистакса” и “Окулиста ТМ” провести кулонометрическое определение индивидуальных веществ невозможно. Это связано с тем, что препараты содержат экстракты из красных листьев винограда и черники, которые, в свою очередь, имеют многокомпонентный состав по полифенолам, вступающим в реакции с титрантом. Варьирование титрантов (электрогенерированных $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов и иода) позволяет определять флавонолы в присутствии аскорбиновой кислоты.

Найденные значения критерия Фишера меньше табличного значения ($F_{кр4;4;0,95}=6,4$), что позволяет сделать вывод об однородности дисперсий двух совокупностей, а, следовательно, о равнозначности методов вольтамперометрии и кулонометрии.

Таблица 11. Результаты определения рутина, кверцетина и дигидрокверцетина в лекарственных формах (n=5, P=0,95).

Объект анализа	Аналит	Содержание, мг	Найдено вольтамперометрически, мг	s_r	Найдено кулонометрически, мг	s_r	$F_{кр}$
Таблетки рутина	Рутин	20	20±1	0,052	20±2	0,068	5,5
Таблетки “Аскорутин”	Рутин	50	50±1* 50,8±0,8**	0,021 0,013	50±3* 51±2**	0,049 0,024	5,6 3,5
	Аскорбиновая кислота	50	- -	- -	51±1* 49,3±0,8**	0,017 0,013	- -
Таблетки кверцетина	Кверцетин	20	18,6±0,9	0,048	16,6±0,4	0,025	1,3
Капсулы “Антистакс”	Кверцетин	-	10,6±0,6	0,055	-	-	-
Таблетки “Капилар”	Дигидрокверцетин	10	10,0±0,4	0,038	9,7±0,4	0,034	2,6
Капсулы “Окулист ТМ”	Дигидрокверцетин	15	14,7±0,8	0,051	-	-	-

* - ЗАО “Алтайвитамины”, г. Бийск

** - ОАО “Марбиофарм”, г. Йошкар-Ола

ВЫВОДЫ

1. Разработаны способы кулонометрического и вольтамперометрического определения рутина, кверцетина и дигидрокверцетина в моно- и многокомпонентных лекарственных формах с величинами s_r от 0,013 до 0,068 и куркумина в специях с величиной $s_r \leq 0,022$. Варьирование титрантов (электрогенерированных $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов и иода) позволяет определять флавонолы в присутствии аскорбиновой кислоты.
2. Электрогенерированные $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионы предложены в качестве реагента для оценки железовосстанавливающей способности (ЖВС) напитков и специй. Показано, что ЖВС черного и зеленого чая сопоставимы. Сублимированный растворимый кофе обладает большей ЖВС, чем гранулированный. ЖВС кофе в зернах достоверно ниже, чем растворимого кофе. ЖВС специй уменьшается в следующем ряду: корица > гвоздика > розмарин > кумин > орегано > имбирь > ягоды можжевельника > перец красный > мускатный орех > куркума > перец черный = перец красный сладкий > базилик > кориандр.

3. Оценена интегральная АОЕ чая и кофе по реакции с электрогенерированным бромом и установлена ее корреляция с ЖВС напитков ($R^2=0,94455$ и $0,91382$ для чая и кофе, соответственно).
4. Установлено, что протеины (казеин, бычий сывороточный альбумин и β -лактоглобулин) связывают рутин, кверцетин и дигидрокверцетин (от 5 до 76 %). Молоко значительно снижает ЖВС чая и кофе. Протеины молока активно связывают полифенолы напитков, переводя их в неактивную форму.
5. Установлено, что природные полифенолы (катехин, танин, кверцетин, рутин, дигидрокверцетин, галловая и гидроксикоричные кислоты) окисляются в условиях вольтамперометрии на электродах, модифицированных многослойными углеродными нанотрубками. Модифицирование поверхности электродов позволило улучшить аналитические характеристики их определения.
6. Разработаны способы оценки АОЕ чая и кофе с использованием циклической и дифференциально-импульсной вольтамперометрии, соответственно. Получены данные для 27 образцов чая и 16 образцов кофе. Установлено, что АОЕ зеленого чая почти на 80 % выше, чем для черного. АОЕ полуферментированного чая значительно меньше, чем у зеленого и статистически незначимо выше, чем у черного чая. АОЕ белого чая сопоставима с АОЕ зеленого чая. Показано, что АОЕ растворимого кофе статистически недостоверно ниже, чем АОЕ молотого кофе.

Автор выражает благодарность к.х.н. Зиятдиновой Г.К. за внимание к работе, помощь и консультации.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Зиятдинова Г.К. Электрогенерированные гексацианоферрат(III)-ионы в кулонометрическом анализе / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, А.И. Самигуллин, Г.К. Будников // Ученые записки Казанского государственного университета. Естественные науки. 2009.- Т.151, кн. 1.- С.32-36.
2. Ziyatdinova G. Electrogenenerated hexacyanoferrate(III) ions as reagent for evaluation of polyphenols bioavailability / G. Ziyatdinova, A. Nizamova, H. Budnikov // XXX International Seminar on Modern Electrochemical Methods (May, 24-28, 2010). Jetřichovice, 2010.- Proc.- P.202-206.
3. Зиятдинова Г.К. Гальваностатическая кулонометрия в анализе природных полифенолов и ее применение в фармации / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. 2010.- Т.65, № 11.- С.1202-1206.
4. Низамова А.М. Электрогенерированный бром – кулонометрический реагент для оценки биодоступности полифенолов / А.М. Низамова, Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. 2011.- Т.66, № 3.- С.308-316.

5. Зиятдинова Г.К. Кулонометрическая оценка железовосстанавливающей способности некоторых продуктов питания / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // Бутлеровские сообщения. 2011.- Т.24, № 4.- С.72-79.
6. Ziyatdinova G. Novel coulometric approach to evaluation of total free polyphenols in tea and coffee beverages in presence of milk proteins / G. Ziyatdinova, A. Nizamova, H. Budnikov // Food Analytical Methods. 2011.- V.4, № 3.- P.334-340.
7. Ziyatdinova G. Cyclic voltammetry of natural flavonoids on MWNT-modified electrode and their determination in pharmaceuticals / G. Ziyatdinova, I. Aytuganova, A. Nizamova, M. Morozov, H. Budnikov // Collect. Czech. Chem. Commun. 2011.- V.76, № 12.- P.1619-1631.
8. Зиятдинова Г.К. Вольтамперометрическое определение куркумина в специях / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. 2012.- Т.67, № 6.- С.651-655.
9. Зиятдинова Г.К. Определение природных полифенолов по реакции с гексацианоферрат (III)-ионами в условиях гальваностатической кулонометрии / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, А.И. Самигуллин, Г.К. Будников // Всероссийская конференция “Химический анализ” (21-25 апреля 2008 г.). Москва-Клязьма, 2008.- Тез. докл.- С.47-49.
10. Зиятдинова Г.К. Анодная вольтамперометрия антиоксидантов на электродах из углеродистых материалов / Г.К. Зиятдинова, А.А. Гайнетдинова, А.М. Низамова, М.В. Морозов, Г.К. Будников // III Всероссийская конференция с межд. участием “Аналитика России” (27 сентября – 3 октября 2009 г.). Краснодар, 2009.- Тез. докл.- С.286.
11. Зиятдинова Г.К. Кулонометрическая оценка биодоступности полифенолов в присутствии протеинов / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // III Всероссийская конференция с межд. участием “Аналитика России” (27 сентября – 3 октября 2009 г.). Краснодар, 2009.- Тез. докл.- С.287.
12. Зиятдинова Г.К. Гальваностатическая кулонометрия в анализе фармпрепаратов с антиоксидантными свойствами / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // I Всероссийская конференция “Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции” (1-4 декабря 2009 г.). – Москва, 2009.- Тез. докл.- С.68-69.
13. Низамова А.М. Электрогенерированные гексацианоферрат(III)-ионы как реагенты для оценки антиоксидантных свойств напитков / А.М. Низамова, Г.К. Зиятдинова // IX Научная конференция молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра КГУ “Материалы и технологии XXI века” (7-8 декабря 2009 г.). Казань, 2009.- Тез. докл.- С.65.
14. Зиятдинова Г.К. Оценка биодоступности полифенолов по данным гальваностатической кулонометрии / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // Съезд аналитиков России и Школа молодых ученых "Аналитическая химия – новые методы и возможности" (26-30 апреля 2010 г.). Москва, 2010.- Тез. докл.- С.122-123.
15. Зиятдинова Г.К. Электрогенерированные титранты в аналитической химии биоантиоксидантов / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, А.А. Гайнетдинова, Г.К. Будников // Республиканская научная конференция по аналитической химии с международным участием "Аналитика РБ - 2010" (14-15 мая 2010 г.). Минск, 2010.- Тез. докл.- С.29.

16. Зиятдинова Г.К. Реакции электроокисления куркумина и их аналитическое применение / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // Симпозиум с международным участием “Теория и практика электроаналитической химии” (13-17 сентября 2010 г.). Томск, 2010.- Сб. трудов.- С.106-107.
17. Низамова А.М. Вольтамперометрия природных полифенолов на электродах, модифицированных углеродными нанотрубками / А.М. Низамова, И.И. Айтуганова, М.В. Морозов, Г.К. Зиятдинова // X Научная конференция молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра КФУ “Материалы и технологии XXI века” (28-29 марта 2011 г.). Казань, 2011.- Тез. докл.- С.72.
18. Ziyatdinova G.K. Reactivity of natural polyphenols towards electrogenerated oxidants / G.K. Ziyatdinova, A.M. Nizamova, H.C. Budnikov // International Congress on Organic Chemistry (September, 18-23, 2011). Kazan, Russia, 2011.- Book of Abstr.- P.390.
19. Зиятдинова Г.К. Экстракционно-электрохимическое определение фенольных антиоксидантов в специях / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Э.Р. Гиниятова, Г.К. Будников // III Всероссийский симпозиум “Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии” (2-8 октября 2011г.). Краснодар, 2011.- Тез. докл.- С.245.
20. Nizamova A.M. Constant-current coulometric evaluation of beverages and spices antioxidant capacity / A.M. Nizamova, G.K. Ziyatdinova, H.C. Budnikov // ISE Satellite Student Regional Symposium on Electrochemistry – First Student Meeting in Kazan (November, 17-18, 2011). Kazan, 2011.- Book of Abstr.- P.4-5.
21. Aytuganova I.I. Cyclic voltammetry of polyphenols on MWNT-modified electrode and its application in pharmaceutical analysis / I.I. Aytuganova, A.M. Nizamova, G.K. Ziyatdinova, H.C. Budnikov // ISE Satellite Student Regional Symposium on Electrochemistry – First Student Meeting in Kazan (November, 17-18, 2011). Kazan, 2011.- Book of Abstr.- P.10-11.