

УДК 612.12:577.16+612.661.5:577.16

## АМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ДЕТЕКТИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ МОДЕЛЬНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

А.А. Савина, О.А. Воронина, Н.В. Боголюбова, С.Ю. Зайцев\*

*(Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»; \*e-mail: s.y.zaitsev@mail.ru)*

Активные формы кислорода, образующиеся при многих метаболических процессах, способны окислять биологически активные соединения. Установлено суммарное количество водорастворимых антиоксидантов (СКВА) в модельных и биологических жидкостях амперометрическим методом (на приборе «ЦветЯуза 01-АА»). СКВА для биологически активной аскорбиновой кислоты составило 46,53 мг/г, для облепихи – 0,54 мг/г, для винограда белого – 0,28 мг/г, для аминокислот – около 4,00 мг/г (усредненное значение по их содержанию в крови). Для сыворотки крови от различных половозрастных групп крупного рогатого скота (КРС) при сравнимых экспериментальных условиях СКВА составило от 14,8 до 21,3 мг/г. Уровень СКВА у молодняка КРС (возраст 3 месяца) был заметно выше, чем у лактирующих животных, что обусловлено, вероятно, более высоким содержанием в сыворотке крови молодых особей ароматических аминокислот, обладающих хорошими антиоксидантными свойствами. Полученные данные имеют важное значение при оценке физиолого-биохимического статуса и состояния системы антиоксидантной защиты организма.

**Ключевые слова:** аналитическая биохимия, амперометрическое детектирование, антиоксидантная защита, аминокислоты, сыворотка крови.

Активные формы кислорода (АФК), образующиеся при многих метаболических процессах в клетках человека и животных, способны окислять биологически активные соединения (БАС), повреждать мембраны и клетки организма [1–4]. Система антиоксидантной защиты организма предназначена для поддержания баланса БАС (липидов, пептидов, витаминов и других соединений) в органах и тканях человека и животных, защищая их от АФК. [5–7]. Интерес к исследованию системы антиоксидантной защиты вызван сразу несколькими причинами, в первую очередь, поиском оптимальных продуктов в системе антиоксидантной «нутрициологии» человека и кормления животных [8]. Исследуемые показатели системы антиоксидантной защиты рассматриваются как критерии прогностической оценки состояния пациентов в ходе диагностики и лечения [7]. Антиоксидантная активность – ценный источник информации о состоянии здоровья и уровне стрессоустойчивости человека и продуктивных животных в производственных условиях [7, 8].

Такое внимание к изучению системы антиоксидантной защиты [5–9] привело к созданию большого числа методов исследования [5, 10–13]. Для регистрации антиоксидантной активности исполь-

зуют волнометрические [11, 14, 15], фотометрические, хемилюминесцентные, флуоресцентные, электрохимические и другие (более специфические) методы [16, 17]. В основе всех перечисленных методов лежит протекающая по радикальному механизму модельная реакция, чаще всего окисление какого-либо индивидуального соединения. Различаются эти подходы лишь способом регистрации сигнала реакции [5, 12, 13].

Для исследования нами был выбран электрохимический метод – амперометрическое детектирование сигнала реакции окисления. Амперометрическое детектирование широко применяется в качестве одного из надежных, доступных и простых в практическом применении методов определения антиоксидантов [5–7, 18]. Время нахождения молекул вещества на поверхности электрода составляет миллисекунды. Высокая чувствительность амперометрического детектора обусловлена малой величиной шумов (порядка  $10^{-12}$  А). Величина электрического тока зависит от природы анализируемого вещества, материала рабочего электрода и потенциала, приложенного к электроду. В модели выбранного нами прибора электрод выполнен из стеклоуглерода [18]. Это универсальный материал, применяемый для определения большинства

соединений с антиоксидантной способностью. Потенциал изменяется от 0 до 2 В, в то время как потенциалы ионизации фенольных соединений варьируют в пределах 100–1300 Мв.

Предел обнаружения амперометрического детектора полифенолов и флавоноидов составляет  $10^{-9}$ – $10^{-12}$  г [5, 18]. В случае таких малых концентраций уменьшается вероятность взаимного влияния разных антиоксидантов при их совместном присутствии, в частности, уменьшается вероятность проявления синергизма.

После детектирования, прежде чем наступит новый цикл, поверхность электрода очищается при высоком положительном потенциале (50–200 мс), а затем восстанавливается при отрицательном потенциале (100–400 мс) [5, 18]. Таким методом в растительных материалах, пищевых продуктах и напитках регистрируются сигналы чаще всего от флавоноидов (флавоны, флавонолы, флаваноны, изофлавоны, антоцианидины и т.д.); производных бензойной кислоты (галловая, протокатехиновая, ванилиновая, сиреневая кислоты); производных коричной кислоты (феруловая, кофейная и т.д.); производных кумарина; фитоэстрогенов; витаминов; каротиноидов; Se, Zn и пр. [5, 12, 13].

В антиоксидантной системе животных высокой реакционной способностью отличаются функциональные сульфгидрильные группы тиоловых соединений [11]. Именно они подвергаются окислительно-восстановительным реакциям. Такие соединения присутствуют в организме в двух состояниях – восстановленном (–SH) и окисленном (–S–S–) (например, глутатион – одно из самых активных и распространенных соединений в клетке для поддержания восстановительной среды) [11]. Количественной характеристикой восстановленных и окисленных тиоловых соединений служит тиол/дисульфидный коэффициент (–SH/–SS–) [11].

Некоторые ферменты системы антиоксидантной защиты содержат в активном центре металл или кофермент, проявляющий окислительно-восстановительные способности [19, 20]. Супероксиддисмутазы представляют собой металлопротеины, содержащие в своем составе медь или цинк [20]. Глутатионпероксидазы – селеносодержащие тетрамерные белки, в которых замена серы цистеина на селен [21] обеспечивает более высокий восстановительный потенциал, каталаза содержит железо, а глутатионредуктаза – рибофлавин [7, 19, 20].

Такая активность перечисленных выше соединений улавливается на электроде амперо-

метрического детектора и регистрируется на экране монитора в виде дифференциальных кривых [5, 18].

Цель работы – определение амперометрическим методом суммарного количества водорастворимых антиоксидантов в модельных и биологических жидкостях.

### Методика

Для выявления суммарного количества водорастворимых антиоксидантов (СКВА) был использован амперометрический метод. Измерения выполнены на приборе «ЦветЯуза 01-АА» [5, 18, 22]. СКВА определяли по измерению силы электрического тока, возникающего в процессе окисления молекул на поверхности рабочего электрода при соответствующем потенциале. СКВА измеряли эквивалентно галловой кислоте [22]. Для этого из раствора галловой кислоты (100 мг/дм<sup>3</sup>) готовили «рабочие растворы» для градуировки с массовой концентрацией 0,2; 0,5; 1,0 и 4,0 мг/дм<sup>3</sup>. В качестве элюента использовали раствор ортофосфорной кислоты (0,0022 моль/дм<sup>3</sup>). Скорость подачи элюента перистальтическим насосом составляла 1,2 см<sup>3</sup>/мин. Массовую концентрацию антиоксидантов в образцах рассчитывали, используя градуировочный график (рис. 1). Полученный график описывается уравнением (расчет коэффициентов уравнения и величину достоверности аппроксимации ( $R^2$ ) проводили с помощью программы Microsoft excel 2013):

$$X = aY + b,$$

где:  $X$  – массовая концентрация галловой кислоты, мг/дм<sup>3</sup>,  $Y$  – сигнал галловой кислоты по площади пика, нА·С.

**Подготовка проб.** Делали навески (0,2 г) предварительно измельченных в гомогенизаторе экстрактов фруктов и ягод и помещали их в коническую колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, добавляли 35 см<sup>3</sup> этилового спирта (70%-го) и встряхивали 60 мин на шейкере. Затем проводили фильтрацию пробы и доводили объем фильтрата до 50 см<sup>3</sup>.

Точную навеску твердого образца биологически активной добавки аскорбиновой кислоты (0,5 г) помещали в коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, добавляли 70 см<sup>3</sup> бидистиллированной воды и встряхивали 60 мин на шейкере. Затем проводили фильтрацию пробы и доводили объем фильтрата до 100 см<sup>3</sup>. Фильтрат разбавляли в 50 раз бидистиллированной водой.

Сыворотку крови аккуратно, не вспенивая, перемешивали и отбирали 100 мкл. Поскольку сигнал от анализируемых образцов сыворотки

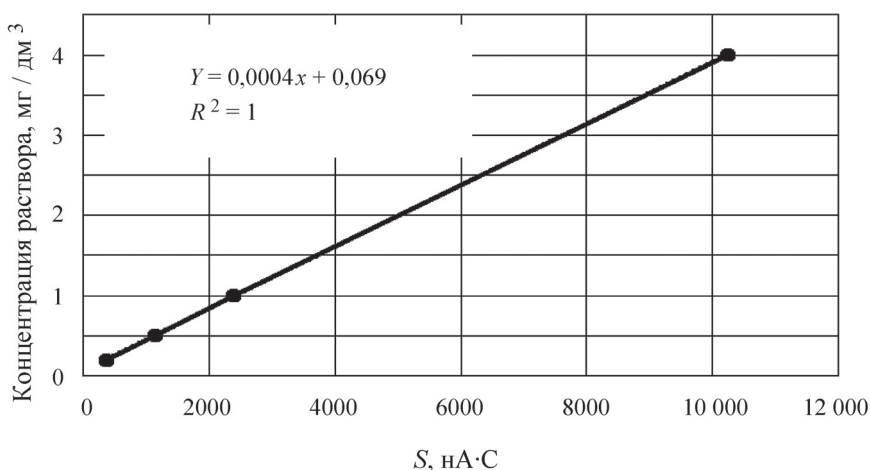


Рис. 1. Калибровочный график по галловой кислоте. Растворы стандарта приготовлены в концентрации, мг/дм<sup>3</sup>: 0,2; 0,5; 1,0 и 4,0. Каждая точка на графике получена в результате пяти последовательных измерений растворов для градуировки. В расчет взято среднее арифметическое значение площади пика (S, нА·С), среднее квадратичное отклонение < 5%

крови и молока превышал сигнал градуировочного раствора (4,0 мг/дм<sup>3</sup> галловой кислоты), образцы предварительно разводили (100 мкл образца + 1900 мкл бидистиллированной воды). При этом залогом достоверности и хорошей повторяемости результата остается чистота рабочей поверхности электрода и надежная калибровка в начале рабочего дня.

Для приготовления растворов аминокислот (100 мг/дм<sup>3</sup>) использовали набор реактивов («Sigma-aldrich») и бидистиллированную воду. Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови определяли методом ВЭЖХ.

**Расчет.** Расчет массовой концентрации антиоксидантов (X, мг/г) проводили эквивалентно галловой кислоте по градуировочному графику с учетом разведения (если оно проводилось) по формуле:

$$X = (X_T \cdot N \cdot V_n) / (m_n \cdot 1000),$$

где X<sub>T</sub> – массовая концентрация антиоксидантов, найденная по градуировочному графику, мг/л; N – кратность разбавления анализируемого образца; V<sub>n</sub> – объем раствора (экстракта) анализируемой пробы, мл; m<sub>n</sub> – навеска анализируемого вещества (г).

Результаты измерения общей антиоксидантной активности образцов статистически обрабатывали в программе Excel.

### Результаты и их обсуждение

В результате проделанной работы получен ряд данных для модельных систем (растворов аскорбиновой кислоты, разных аминокислот) и биологических объектов (сырья растительного происхождения, сыворотки крови телят и коров).

На первом этапе была отработана методика измерений СКВА для такого важного БАС, как аскорбиновая кислота (витамин С), данные по которой стали основой для дальнейшего изучения сырья растительного происхождения. В табл. 1 приведены данные по исследованию сырья растительного происхождения и аскорбиновой кислоты.

СКВА для аскорбиновой кислоты и облепихи составило соответственно 46,53 и 0,54 мг/г, что хорошо совпадает с известными литературными данными [1–3, 18, 22].

Из полученных нами результатов (табл. 1) можно выделить вклад аскорбиновой кислоты в СКВА объектов растительного сырья. Например, содержание аскорбиновой кислоты в облепихе составляет от 59,2 до 282,5 мг на 100 г в зависимости от

Т а б л и ц а 1

### СКВА аскорбиновой кислоты и сырья растительного происхождения

Объект исследования	N	S, нА·с	СКВА, мг/г
Аскорбиновая кислота	5	5675,4±86,6	46,53±0,7
Облепиха	5	5239,7±67,6	0,54±0,01
Виноград белый	5	2677,0±63,3	0,28±0,01

сорта и региона выращивания растения [23, 24]. Используя эти данные и выбирая из табл. 1 значение СКВА аскорбиновой кислоты, можно получить СКВА облепихи от 0,028 до 0,131 мг/г, что составляет от 5 до 24% суммарного СКВА исходного сырья. Аналогичные данные получены для белого винограда (табл. 1), они близки к результатам, полученным разработчиками прибора и методики по определению СКВА в растительном сырье [18, 22, 23].

Следующим этапом работы было определение СКВА аминокислот в модельных растворах (рис. 2, табл. 2) для дальнейшего сравнения с их содержанием в сыворотке крови различных половых возрастных групп крупного рогатого скота (КРС).

Способность аминокислот к окислению активными формами кислорода определяется прежде всего боковыми цепями, особенно содержанием в них определенных функциональных групп [25]. В теории все аминокислоты потенциально окисляемы, но наиболее сильно окисляются аминокислоты с нуклеофильными серосодержащими боковыми цепями (цистеин и метионин) или с ароматическими боковыми цепями (триптофан, тирозин и фенилаланин) [26]. В случае таких аминокислот, как триптофан, тирозин и фенилаланин, указанная тенденция полностью согласуется с полученными нами данными. Как следует из табл. 2, антиоксидантная активность модельных жидкостей, содержащих триптофан, в 2,7 раза превышает таковую для тирозина, и почти в

3,6 раза для фенилаланина. Это можно объяснить как наличием гетероатома (азот) в ароматическом цикле триптофана, так и увеличением размера гетероцикла (замещенного индола) по сравнению с фенилом (в случае тирозина и фенилаланина). Эти особенности приводят к значительно более высокой реакционной способности триптофана, по сравнению с фенилсодержащими соединениями (в том числе, способности к окислению сначала в индоксил, а затем в его димер, называемый индиго). При окислении в жестких условиях пиррольное кольцо триптофана разрывается с образованием 2-формаимидобензальдегида. Более высокая антиоксидантная активность модельных жидкостей, содержащих тирозин (почти в 1,3 раза превышающая таковую для фенилаланина), может быть связана с наличием ОН-группы в ароматическом кольце. Например, фенол окисляется значительно легче, чем бензол, при этом в зависимости от условий реакции окисления могут образовываться как двухатомный фенол – пирокатехин, так и хинон.

Согласно некоторым литературным данным [26, 27], цистеин, гистидин и лизин оказывают наиболее сильное воздействие на электрохимическое восстановление кислорода, поэтому считается, что они проявляют наибольший среди растворимых аминокислот антиоксидантный эффект [26, 27]. Однако эти данные были получены на основании циклических вольтамперограмм [26, 27], что существенно осложняет сравнение с нашими данными и их интерпретацию. Тем не менее, ло-

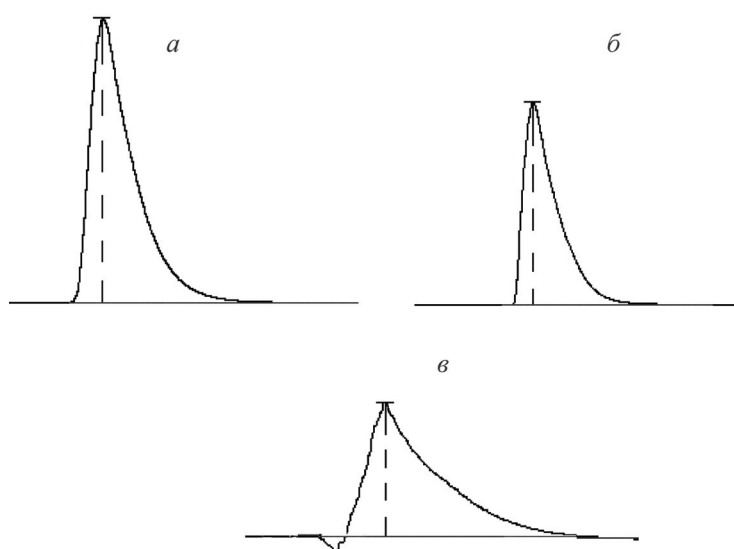


Рис. 2. СКВА растворов аминокислот (*a* – Триптофан (Trp), *б* – Тирозин (Tyr), *в* – Валин (Val)) относительно галловой кислоты как стандарта

Т а б л и ц а 2

**Антиоксидантная активность и pH модельных жидкостей, содержащих аминокислоты в концентрации 100 мг/л**

Аминокислота	$S_{\text{пика}}^*$ , нА·с	СКВА*, мг/г	pH исследуемого раствора
TRP	11645	358,9	5,47
TYR	10661	131,8	5,50
MET	3958	25,7	5,60
VAL	327	3,9	5,40
CYS	224	2,0	5,30
SER	97	0,063	6,06
GLN	86,3	0,058	5,50
ASN	74,8	0,05	5,50
PHE	72	0,048	5,60
GLY	1,5	<0,01	5,40
ALA	29,6	0,02	5,40
LEI	8,0	<0,01	5,40
ILE	1,5	<0,01	5,70
GLU	20,2	0,013	3,70
ASP	1,4	<0,01	3,47
TRE	20	0,013	5,59
PRO	47,3	0,032	5,94
HIS	25,7	0,017	4,80
LYS	10	0,007	6,05
ARG	4,5	<0,01	5,83

\*Средние значения с ошибкой менее 5%.

гично предположить высокие антиоксидантное воздействие ароматических, катионных и серосодержащих аминокислот. В случае амперометрического детектирования (табл. 2) высокая СКВА метионина связана с окислением серосодержащей группы этой аминокислоты. Теоретически величина СКВА цистеина должна быть аналогична таковой для метионина, но из-за низкой растворимости цистеина и, соответственно, его низкой концентрации в растворе, измеренная в опытах величина СКВА цистеина невысока (табл. 2). Показано, что добавка метионина в безбелковый рацион мышей способствовала снижению уровня СКВА, увеличению концентрации глутатиона, снижению уровня окисления белка, тем самым восстанавливая антиоксидантную защиту печени.

Необычный факт высокого СКВА валина (табл. 2) по сравнению с другими алифатическими аминокислотами связан, по нашему мнению, с разветвлением в радикале вблизи «хирального»

атома углерода. Окисление такого *изо*-радикала протекает значительно легче, чем окисление изолейцина и тем более линейных радикалов в аланине и лейцине (табл. 2). Пролин способен окисляться несколько лучше аланина и лейцина (табл. 2), поскольку содержит вторичный азот в алифатическом цикле и представляет собой иминокислоту. Имидазольная боковая цепь гистидина также легко окисляется. Аминокислоты, пептиды и белки в организме могут присутствовать в высокой концентрации, действуя как антиоксиданты, поэтому вносят вклад в общую активность по удалению АФК [28].

Установлено, что некоторые аминокислоты также обладают антиоксидантными свойствами. Предварительная обработка стимулированных перекисью водорода клеток кишечника человека показала, что аминокислоты, такие как цистеин, валин, изолейцин, лейцин, гистидин, лизин и аланин, значительно ингибируют секрецию



Т а б л и ц а 3

**Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови различных половозрастных групп крупного рогатого скота (мкМ/л) (*n* = 10)**

Половозрастная группа КРС	Телята (3 месяца)	Коровы (2 месяца после отела)
Аминокислота (АК)		
Треонин (THR)	6,74±1,33	6,99±0,60
Серин (SER)	19,84±4,10	13,27±0,67
Глицин (GLY)	83,69±13,99	56,31±4,39
Аланин (ALA)	34,62±4,22	–
Валин (VAL)	58,56±8,15	39,72±4,66
Метионин (MET)	3,87±0,54	4,49±0,38
Изолейцин (ILE)	21,73±3,40	14,40±1,72
Лейцин (LEU)	27,05±4,30	–
Тирозин (TYR)	6,03±1,48	–
Фенилаланин (PHE)	9,15±1,45	4,71±0,30
Карнозин (CARN)	14,29±3,10	5,94±0,46
Лизин (LYS)	12,46±2,21	5,68±0,60
Аргинин (ARG)	53,24±7,49	17,63±1,33
Общее количество АК	336,98	163,20
Ароматические АК	15,18	4,71
Отношение ароматических АК к общему количеству АК	0,045	0,029

биомаркеров окислительного стресса интеролейкина 8 [29]. Аминокислоты с разветвленными цепями, такие, как валин, изолейцины лейцин, усиливают активность глутатионпероксидазы и каталазы, в то время как триптофан, гистидин и лизин увеличивают активность глутатионпероксидазы. Цистин, гистидин, глутамин и треонин совместно способствуют защите астроцитов мышцы от цинк-индуцированного окислительного стресса [30]. Кроме того, добавление метионина к безбелковому рациону защищают печень мышей от увеличения АФК и окисленного белка, а также от снижения уровня глутатиона, связанного с дефицитом аминокислот в рационе [31].

Следующим этапом работы было определение содержания свободных аминокислот в сыворотке крови различных половозрастных групп крупного рогатого скота (табл. 3).

Полученные результаты по содержанию аминокислот (табл. 3) коррелируют с приведенными выше данными их СКВА (табл. 2) только по относительному содержанию ароматических ами-

нокислот. Поэтому мы рассчитывали вклад аминокислот крови по усредненным показателям по всем аминокислотам. Общее СКВА всех 20 аминокислот по сумме данных, приведенных в табл. 2, составляет 523 мг/г, т.е. на 1 аминокислоту приходится порядка 26 мг/г. Усредненное содержание АК в сыворотке крови коров составляет около 100 мкМ (пересчитано по данным [32, 33]). Вклад усредненной АК в сыворотке крови коров равен ~4 мг/г. Эта величина составляет существенную часть СКВА сыворотки крови различных видов животных. Из полученных данных (табл. 4) видно, что СКВА в сыворотке крови 3-месячных телят значительно превышает этот показатель для коров дойного стада. Суммарная антиоксидантная активность сыворотки крови контрольной группы телят (на стандартном рационе) составила 21,3±1,9 мг/г в пересчете на стандарт галловой кислоты.

Из данных табл. 4 следует, что существуют статистически значимые различия значений антиоксидантной активности в сыворотке крови молодых (21,1±1,9) и взрослых животных

Т а б л и ц а 4

Суммарное количество антиоксидантов в сыворотке крови телят и коров, рассчитанных по стандарту галловой кислоты ( $S$  – среднестатистическая площадь пика;  $\sigma$  – концентрация антиоксидантов, рассчитанная по калибровочной кривой)

СКВА сыворотки крови телят и коров								
телята (3 месяца)			коровы (1 месяц после отела)			коровы (2 месяца после отела)		
номер	$S_{\text{пика}}$	мг/г	номер	$S_{\text{пика}}$	мг/г	номер	$S_{\text{пика}}$	мг/г
1	2522±98	21,5±0,84	1	1369±62	11,5±0,52	1	2019±87	16,7±0,72
2	2682±99	22,8±0,86	2	1502±72	12,6±0,60	2	2267±99	18,7±0,94
3	2509±87	21,4±0,74	3	1547±71	12,9±0,59	3	2063±41	17,1±0,34
4	2207±75	19,0±0,65	4	1869±74	15,5±0,62	4	2356±56	19,4±0,46
5	2860±96	24,2±0,81	5	1516±65	12,7±0,54	5	2742±87	22,5±0,71
6	2573±91	20,6±0,73	6	1902±83	15,8±0,69	6	-*	-*
7	2120±57	18,3±0,49	7	2209±91	18,2±0,75	7	-*	-*
среднее	2496	21,1	среднее	1702	14,2	среднее	2289	18,9
$\sigma$	238	1,9	$\sigma$	276	2,2	$\sigma$	289	2,3

\*Пробы от этих коров взять не удалось.

(14,8±1,5). Это связано с тем, что уровень водорастворимых антиоксидантов сыворотки крови меняется с возрастом, причем у молодняка он незначительно выше, чем у взрослых животных. Кроме того, показатель антиоксидантного статуса взрослых животных зависит от времени, прошедшего после отела. Так, в начале опыта СВКА контрольной группы коров составляло 14,8±1,5, а в конце – 18,9±2,3.

Таким образом, антиоксидантная активность модельных жидкостей, содержащих аминокислоты, существенно зависит от их радикала. Так, сильно окисляются ароматические аминокислоты (триптофан, тирозин и фенилаланин), серосодержащие аминокислоты (метионин и цистеин), а также несколько аминокислот с разветвленными

радикалами (боковыми цепями), о чем сказано выше. Эти данные дополняют известные теоретические модели и могут быть использованы для более детального анализа сложных биологических жидкостей человека и животных (плазма и сыворотка крови, молоко и т.п.), которые содержат как свободные аминокислоты, так и белки.

Авторы благодарны А.А. Волнину за помощь в проведении ряда экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке фундаментальных научных исследований Минобрнауки России, номер государственного учета НИОКТР АААА-А18-118021590136-7.

Конфликта интересов нет.

Дополнительной информации нет.

Дополнительных материалов нет.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Владимиров Ю.А. // Вестн. РАМН. 1993. Т. 58. № 7. С. 43.
2. Free Radicals in Biology and Medicine. Fifth Edition. By Barry Halliwell and John M.C. Gutteridge. Oxford University Press, 2015.
3. Sena Cristina M., Seïça Raquel, Perry George // Frontiers in Physiology. 2019 Vol. 10, article 788.
4. Torsten Bohn // Antioxidants. 2019. Vol. 8. N 6, article 179.
5. Яшин Я.И., Рыжнев В.Ю., Яшин А.Я., Черноусова Н.И. Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и влияние их на здоровье и старение человека. М., 2009. 212 с.
6. Воронина О.А., Савина А.А., Боголюбова Н.В., Зайцев С.Ю. // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2019. № 12. С. 75.
7. Парфёнов Э.А. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2015. Т. 13. № 4. С. 42.
8. Фомичев Ю.П., Никанова Л.А., Дорожкин В.И., Ториков А.А., Романенко А.А., Еськов Е.К., Семенова А.А., Гоноцкий В.А., Дунаев А.В., Ярошевич Г.С., Лашин С.А., Стольная Н.И. Дигидрохверцетин и арабиногалактан – природные биорегуляторы в жизнедеятельности человека и животных, применение в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: монография. М., 2017.

9. Быков И.М., Попов К.А., Мелконян К.И., Сторожук П.Г. // Астраханский медицинский журнал. 2015. Т. 10. № 3. С. 45.
10. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. // Вопросы медицинской химии. 1990. Т. 36. Вып. 2. С. 88.
11. Шайдарова Л.Г., Гедмина А.В., Жалдак Э.Р., Челнокова И.А., Будников Г.К. // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 1. С. 85.
12. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Мальцева Е.В. // Химия растительного сырья. 2004. № 3. С. 63.
13. Наумова Н.Л. // Вестн. Южно-Уральского государственного университета. Сер. Пищевые и биотехнологии. 2014. Т. 2. № 1. С. 5.
14. Шайдарова Л.Г., Будников Г.К. // Журн. аналит. химии. 2008. Т. 63. № 10. С. 1014.
15. Короткова Е.И., Аврамчик О.А., Юсубов М.С., Белоусов М.В., Андреева Т.И. // Хим.-фарм. журн. 2003. № 9. С. 55.
16. Магин Д.В., Измайлов Д.Ю., Попов И.Н., Левин Г., Владимиров Ю.А. // Вопросы медицинской химии. 2000. Т. 4. С. 65.
17. Цюпко Т.Г., Петракова И.С., Бриленок Н.С., Николаева Н.А., Чупрынина Д.А., Темердашев З.А., Вершинин В.И. // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15. № 3. С. 287.
18. Яшин А.Я., Яшин Я.И. // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2002. Т. XLVI. № 4. С. 109.
19. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. // Усп. биологической химии. 2014. Т. 54. С. 316.
20. Бахтюков А.А., Галкина О.В., Ещенко Н.Д. // Нейрохимия. 2016. Т. 33. № 3. С. 215.
21. Tujebajeva R.M., Harney J.W., Berry M.J. // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. С. 6288.
22. Методика выполнения измерений содержания антиоксидантов в напитках и пищевых продуктах, экстрактах лекарственных растений амперометрическим методом. М., 2007.
23. Яшин А.Я. // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). 2008. Т. LII. № 2. С. 130.
24. Макаркина М.А., Богомолова Н.И., Соколова С.Е. // Современное садоводство. Электронный журнал. 2011. № 1. С. 1.
25. Davies M.J., Dean R.T. Radical Mediated Protein Oxidation: From Chemistry to Medicine. Oxford; N.Y., 1997. Vol. XII.
26. Elias R.J., Kellerby S.S., Decker E.A. // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2008. Vol. 48. P. 430.
26. Меньшикова Е.Б., Зевков Н.К., Шергин С.Н. Биохимия окислительного стресса: оксиданты и антиоксиданты. Новосибирск, 1994.
27. Арутюнянц А.А., Лохов Р.Е., Саламова Н.А. // Башкирский химический журнал. 2012. Т. 19. № 1. С. 169.
28. Droge W. // Physiological Reviews. 2002. Vol. 82. P. 47.
29. Katayama S., Ishikawa S., Fan M.Z., Mine Y. // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2007. Vol. 55. N 8. P. 2829.
30. Ralph D.M., Robinson S.R., Campbell M.S., Bishop G.M. // Free Radical Biology & Medicine. 2010. Vol. 49. N 4. P. 649.
31. Ronchi V.P., Giudici A.M., Mendieta J.R., Caballero V.J., Chisari A.N., Sanilorenti P.M., Conde R.D. // J. Physiology and Biochemistry. 2010. Vol. 66. N 2. P. 93.
32. Зайцев С.Ю. Тензиометрический и биохимический анализ крови животных: фундаментальные и прикладные аспекты. Монография. М.: Издательство «Сельскохозяйственные технологии», 2016. 192 с.
33. Pechova A., Illek J., Liska I., Halouzka R., Pavlata L. // Acta Vet. Brno 2000, 69: 93–99.

Поступила в редакцию 10.01.2020  
 Получена после доработки 12.01.2020  
 Принята к публикации 20.01.2020

## AMPEROMETRIC DETECTION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MODEL AND BIOLOGICAL LIQUIDS

A.A. Savina, O.A. Voronina, N.V. Bogolyubova, S.Yu. Zaitsev\*

(Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst;  
 \*e-mail: s.y.zaitsev@mail.ru)

Active forms of oxygen formed during many metabolic processes are able to oxidize biologically active compounds. The aim of the work was to study the total amount of water-soluble antioxidants (TAWSA) in model and biological liquids by the amperometric method (using the “TsvetYauza 01-AA” instrument). TAWSA for biologically active ascorbic acid was 46.53 mg/g, for sea buckthorn 0.54 mg/g, for white grapes 0.28 mg/g, for amino acids – about 4 mg/g (average value at their content in the blood), for cattle blood serum from various sex and age animal groups (at comparable experimental conditions) from 14.8 mg/g to 21.3 mg/g. The level of TAWSA for young cattle (age 3 months) was significantly higher than those for lactating animals, which may be due to a higher content of aromatic amino acids (with high antioxidant effects) in the blood serum of young individuals. The data obtained are important in assessing the physiological-biochemical status and state of the body antioxidant defense system.

**Key words:** analytical biochemistry, amperometric detection, antioxidant protection, amino acids, blood serum.



**Сведения об авторах:** *Савина Анастасия Анатольевна* – мл. науч. сотр. отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста (kirablackfire@mail.ru); *Воронина Оксана Александровна* – ветеринарный врач, ст. науч. сотр. отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, канд. биол. наук (voroninaok-senia@inbox.ru); *Боголюбова Надежда Владимировна* – зав. отд. физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, канд. биол. наук (652202@mail.ru); *Зайцев Сергей Юрьевич* – вед. науч. сотр. отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, докт. биол. наук, докт. хим. наук, профессор (s.y.zaitsev@mail.ru).