

Применение интервальных оценок суммарного содержания антиоксидантов для анализа соковой продукции методом CUPRAC с использованием системы Cu(II) – Nc – ПММ

***А.А. Дамзина¹, Н.А. Гавриленко¹, Н.В. Саранчина², М.А. Гавриленко²**

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет
Российская Федерация, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

²Национальный исследовательский Томский политехнический университет
Российская Федерация, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

*Адрес для переписки: Дамзина Анна Андреевна, E-Mail: anna.damzina@yandex.ru

Поступила в редакцию 25 октября 2022 г., после доработки – 23 июня 2023 г.

Для спектрофотометрического определения суммарного содержания антиоксидантов - восстановителей (Σ_{AO}) в соковой продукции использовали индикаторную систему Cu(II) – неocupроин (метод CUPRAC, R. Арак). В качестве модельных соединений антиоксидантов - восстановителей (АО) использовали галловую и аскорбиновую кислоты, кверцетин, лютеолин, дигидрокверцетин, характерные для фруктовых и ягодных соков, а также тролокс как часто применяемый стандарт. Полиметакрилатную матрицу (ПММ) с иммобилизованными реагентами погружали в исследуемый раствор на 20 мин, затем фотометрировали при 450 нм. Целью работы было сопоставление двух способов оценки Σ_{AO} : **а)** в пересчете на содержание стандартного вещества (общепринятый способ); **б)** в виде интервала, вычисленного с учетом коэффициентов чувствительности при определении разных АО при выбранной длине волны (интервальная оценка по В.И. Вершинину).

Установлено, что аналитические сигналы модельных АО в диапазоне $1 \cdot 10^{-6}$ – $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л подчиняются закону Бугера – Ламберта – Бера, измеряются с относительным стандартным отклонением, не превышающим 10 %, а отклонения от аддитивности светопоглощения смесей АО статистически незначимы. Как и при фотометрировании растворов, коэффициенты чувствительности разных АО различны, причем различия уменьшаются при использовании молярных концентраций эквивалента. Относительная погрешность оценки Σ_{AO} в модельных смесях даже при использовании оптимальных стандартов (лютеолин) по модулю доходит до 17 %.

Показана возможность интервальной оценки Σ_{AO} по обобщенным аналитическим сигналам, измеренным методом CUPRAC с применением ПММ. Границы интервалов практически не зависят от того, какие именно стандарты использовали в ходе расчета. Для всех смесей действительные значения Σ_{AO} оказались в границах соответствующих интервалов. Результаты группового анализа фруктовых и ягодных соков до и после их разбавления подтверждают приблизительную правильность результатов, полученных как по способу (а), то есть в пересчете на лютеолин, так и по способу (б), то есть в интервальной форме. К сожалению, ширина интервалов, учитывающих внутригрупповую интенсивность сигналов, на порядок превышает ширину доверительных интервалов, вычисленных по результатам повторных измерений обобщенных сигналов (формула Стьюдента, $n = 3$, $P = 0,95$). Это указывает на необходимость нивелирования коэффициентов чувствительности разных АО.

Таким образом, для группового анализа соковой продукции пригодны оба способа расчета, но способ (б) приводит к более надежному, более корректному в метрологическом отношении, но менее однозначным оценкам суммарного содержания антиоксидантов.

Ключевые слова: суммарное содержание антиоксидантов, окислительно-восстановительная система Cu(II) – Nc, твердофазная спектрофотометрия, полиметакрилатная матрица, алгоритм интервальной оценки.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2023, vol. 27, no. 2, pp. 90-100

DOI:10.15826/analitika.2023.27.2.002

Application of interval estimations of the total content of antioxidants for the analysis of juice products by the CUPRAC method using the Cu(II) – NC–PMM system

A.A. Damzina^{1*}, N.A. Gavrilenko¹, N.V. Saranchina², M.A. Gavrilenko²

¹ Tomsk State University, Lenia Ave., 36, 634050, Tomsk, Russian Federation

² Tomsk Polytechnic University, Lenin Ave., 30, Tomsk, 634050, Russian Federation

*Corresponding author: Anna A. Damzina, E-mail: anna.damzina@yandex.ru

Submitted 25 October 2022, received in revised form 23 June 2023

Cu(II) – neocuproine indicator system (CUPRAC method, R. Apak) was used for spectrophotometric determination of the total content of antioxidant reductants (Σ_{AO}) in juice products. Gallic acid, ascorbic acid, quercetin, luteolin, dihydroquercetin, which are typical for fruit and berry juices, as well as trolox, as a frequently used standard, were used as model compounds of antioxidant-reducing agents (AO). The polymethacrylate matrix (PMM) with immobilized reagents was immersed in the test solution for 20 minutes, and then photometrically measured at 450 nm. The aim of the work was to compare two methods for estimating Σ_{AO} : **a)** in terms of the content of a standard substance (generally accepted method); **b)** in the form of an interval calculated taking into account the sensitivity coefficients when determining different AO at a selected wavelength (interval estimate according to V.I. Vershinin).

It was established that the analytical signals of the model AO obeyed the Beer-Lambert-Bouguer law in the range of 10^{-6} – $2 \cdot 10^{-5}$ mol/l, and were measured with a relative standard deviation not exceeding 10 %; deviations from the light absorption additivity of AO mixtures were statistically insignificant. As in the photometry of solutions, the sensitivity coefficients of different AO were different, and the differences decreased when using «normal» concentrations. The modulus of the relative error in estimating Σ_{AO} in model mixtures, even when using optimal standards (luteolin), reached 17%.

The possibility of interval estimation of Σ_{AO} from generalized analytical signals measured by the CUPRAC method using PMM matrices was shown. The boundaries of the intervals practically did not depend on the standards used during the calculation. For all mixtures the actual values of Σ_{AO} were within the boundaries of the corresponding intervals. The results of the group analysis of fruit and berry juices before and after their dilution confirmed the approximate correctness of the results obtained both by method (a), i.e. in terms of luteolin, and by method (b), i.e. in the interval form. Unfortunately, the width of the intervals that take into account the intragroup signal intensity was an order of magnitude larger than the width of the confidence intervals calculated from the results of repeated measurements of generalized signals (Student's test, $n = 3$, $P = 0.95$). This indicates the necessity of leveling the sensitivity coefficients for different AO.

Thus, both methods of calculation are suitable for the group analysis of juice products, but method (b) leads to more reliable, more metrological correct, but less unambiguous estimates of the total content of the antioxidants.

Keywords: total content of antioxidants, Cu(II) – Nc redox system, solid-phase spectrophotometry, polymethacrylate matrix, interval estimation algorithm.

ВВЕДЕНИЕ

Неблагоприятная экологическая обстановка, переутомление и чрезмерные физические нагрузки приводят к уменьшению защитной способности организма, и как следствие к окислительному стрессу. Формирование активных форм кислорода – свободных радикалов (СР) представляет главную опасность окислительного стресса. Наличие СР в организме вызывает разрушения сосудов головного мозга и сердца, что способствует сердечно-сосудистым заболеваниям и некоторым видам рака [1]. Одним из способов ингибирования цепных реакций образования СР является прием антиоксидантов (биоантиоксидантов). Антиоксиданты – природные вещества (витамины, фенольные соединения, ферменты и другие соединения), нейтрализующие окисли-

тельное действие СР путем их восстановления до безвредных форм, что приводит к регулированию метаболических процессов в организме. Наибольшее количество антиоксидантов поступает в организм вместе с пищей [2]. Употребление свежих овощей, фруктов и ягод, а также приготовленных из них соков способствует корректровке антиоксидантного статуса человека, замедляя старение организма и развитие некоторых заболеваний [3 - 5].

На сегодняшний день известны различные методы определения Σ_{AO} в пищевой продукции и растительном сырье [6, 7], наиболее используемыми из них являются методы, основанные на взаимодействии АО со свободными радикалами или на способности АО восстанавливать металлы переменной валентности. Первые из них не оперативны, требуют применения дорогостоящих

реактивов и оборудования, поэтому широко используемым направлением для определения $\Sigma_{\text{АО}}$ является применение окислительно-восстановительных систем, основанных на восстановлении металлов переменной валентности (Fe(III), Cu(II) и др.) различными АО в присутствии вспомогательных компонентов - лигандов. Методы, основанные на восстановлении Fe(III) до Fe(II) и Cu(II) до Cu(I), получили название FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay) и CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) соответственно. В работе [8] отмечено, что метод CUPRAC (Cu(II) в сочетании со вспомогательным компонентом - лигандом – неокупроином (Nc)) обладает рядом преимуществ: быстрое протекание окислительно-восстановительной реакции между Cu(II) – Nc и АО благодаря внешнесферному переносу электрона, стабильность и избирательность реагентов, что позволяет проводить определение АО различного типа (липофильного и гидрофильного). При этом образуется Cu(I), которая связывается с неокупроином в интенсивно окрашенное комплексное соединение желтого цвета [9].

Стоит отметить, что для оценки $\Sigma_{\text{АО}}$ используют систему CUPRAC (Cu(II) – Nc), иммобилизованную на различных твердых носителях: нафионовой мембране [10] и каррагинане [11]. Ранее нами была показана возможность использования индикаторной системы CUPRAC (Cu(II) – Nc), иммобилизованной в полиметакрилатной матрице, для определения суммарного содержания антиоксидантов в лекарственных настойках [12]. Проведение окислительно-восстановительных реакций в твердой фазе, в отличие от раствора, позволяет повысить чувствительность используемой методики, а также сделать ее более удобной и недорогой для массового применения за счет экономии аналитических реагентов и миниатюризации процесса. Достоинствами использования ПММ в качестве твердой фазы является измерение аналитического сигнала исследуемых образцов с высокой точностью ввиду способности ПММ к иммобилизации реагентов без потери прозрачности и дальнейшему протеканию аналитической реакции между реагентами и определяемыми компонентами в твердой фазе, что актуально для анализа окрашенных продуктов питания и напитков. Расчет $\Sigma_{\text{АО}}$ с использованием методов, представленных выше, чаще всего проводят по градуировочной зависимости для вещества-стандарта ($X_{\text{ст}}$) и выражают в виде количества $X_{\text{ст}}$, производящего антиоксидантный эффект [13, 14]. Такая процедура расчета приводит к появлению систематической погрешности, полученное содержание АО в объекте может отличаться от реального значения вследствие разной чувствительности определения $X_{\text{ст}}$ и АО, присутствующих в пробе [15, 16].

В.И. Вершинин с коллегами предложили новый подход для расчета суммарного содержания аналитов [17] – алгоритм интервальных оценок (ИО), который позволяет учесть разную чувствительность определения однотипных аналитов. Данный алгоритм

основан на формировании «веера» градуировок для группы аналитов с близкими структурными и химико-аналитическими свойствами для расчета интервала, в котором находится суммарное содержание искомого аналита, и успешно применен в ряде работ [18, 19].

В настоящей работе представлены результаты твердофазного спектрофотометрического определения $\Sigma_{\text{АО}}$ в соковой продукции с использованием индикаторной системы Cu(II) – Nc – ПММ методом CUPRAC в пересчете на стандартное вещество и с применением алгоритма ИО.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растворы, реагенты. Все применяемые реактивы соответствовали необходимому классу чистоты (ч.д.а.), антиоксиданты (Acros Organics, США), сульфат меди, хлороводородная кислота, гидроксид натрия, лимонная кислота, цитрат натрия, этиловый спирт (Sigma-Aldrich, США), неокупроин (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd, Япония) и метакриловые мономеры (Merck KGaA, Германия) использовали без дополнительной очистки. Растворы АО готовили в день проведения эксперимента растворением точной навески в бидистиллированной воде или этиловом спирте. Для приготовления растворов 1.0 мг/мл аскорбиновой кислоты (АК), галловой кислоты (ГК) использовали бидистиллированную воду. Для приготовления растворов 0.1 мг/мл кверцетина (КВ), дигидрокверцетина (ДКВ), лютеолина (Л) и тролокса (ТР) использовали этиловый спирт. Рабочие растворы АО готовили разбавлением их исходных растворов в день эксперимента. Для приготовления 1 % спиртового раствора Nc точную навеску реагента растворяли в этиловом спирте. Раствор ионов меди (II) с концентрацией 1 мг/мл получали растворением навески сульфата меди в бидистиллированной воде [20].

Для достижения необходимой кислотности анализируемых растворов использовали хлороводородную кислоту и гидроксид натрия. Создание среды (pH ≈ 4) осуществляли буферным раствором на основе лимонной кислоты и цитрата натрия.

Аппаратура. Измерение оптических характеристик растворов и полиметакрилатных матриц проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Shimadzu Corporation, Япония). Перемешивание растворов с ПММ выполняли на мульти-ротаторе MultiBio RS-24 (Biosan, Латвия). Контроль pH среды растворов осуществляли с использованием Ионмера И-160 (Измерительная техника НПО, Россия).

Получение полиметакрилатной матрицы. ПММ получали радикальной блочной полимеризацией метакриловых мономеров в виде прозрачных пластин толщиной порядка (0.60 ± 0.04) мм. Готовые образцы разрезали на пластины размером 6.0 · 8.0 мм и массой около 0.05 г для дальнейшей работы.

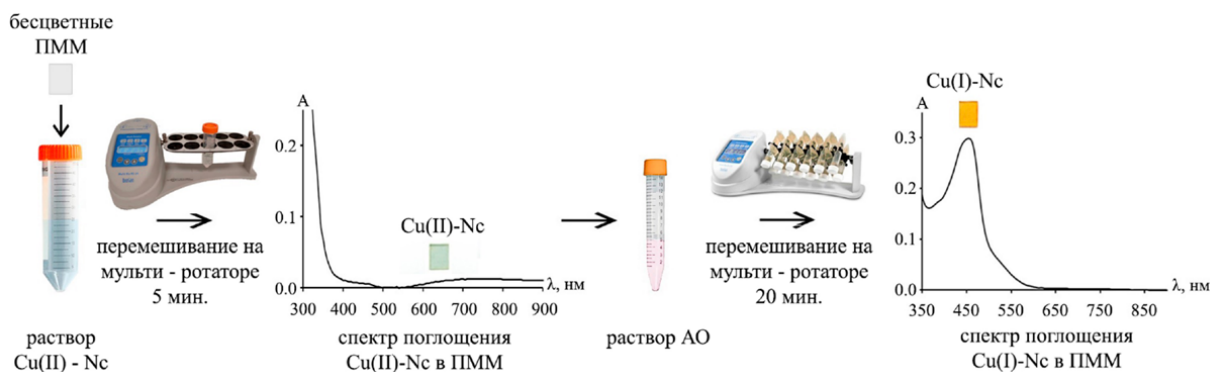


Рис. 1. Схема процессов иммобилизации Cu(II) – Nc в ПММ и твердофазно-спектрофотометрического определения $\Sigma_{АО}$ с использованием индикаторной системы Cu(II) – Nc – ПММ методом CUPRAC

Fig. 1. Scheme of Cu(II) – Nc immobilization in PMM and solid-phase spectrophotometric determination of $\Sigma_{АО}$ using the Cu(II) – Nc – PMM indicator system by the CUPRAC method

Получение колориметрического сенсора и твердофазное спектрофотометрическое определение $\Sigma_{АО}$ методом CUPRAC (Cu(II) – Nc – ПММ).

Раствор индикаторной системы Cu(II) – Nc готовили путем смешивания 0.5 мл 1 % спиртового раствора Nc ($4.8 \cdot 10^{-2}$ M), 2.0 мл раствора ионов Cu(II) 1 мг/мл ($1.6 \cdot 10^{-2}$ M) и 22.5 мл 6 % раствора этилового спирта.

Иммобилизацию индикаторной системы Cu(II) – Nc в ПММ проводили путем перемешивания матриц с раствором индикаторной системы в течение 5 мин.

Приготовление растворов для построения градуировочных зависимостей с целью определения АО твердофазно-спектрофотометрическим методом осуществляли следующим образом: в пробирки помещали 0.5 мл буферного раствора, добавляли от 0 до 0.2 мл рабочего раствора АО и доводили объем до 5 мл бидистиллированной водой. В растворы помещали ПММ с иммобилизованной индикаторной системой Cu(II) – Nc, перемешивали в течение 20 мин, затем пластинки вынимали, подсушивали между листами фильтровальной бумаги и регистрировали спектры поглощения в диапазоне длин волн 300 – 900 нм или измеряли оптическую плотность при $\lambda = 450$ нм, соответствующей максимуму поглощения комплексного соединения Cu(I) – Nc, образованного в ПММ после контакта матриц с раствором АО. Схема процессов иммобилизации индикаторной системы Cu(II) – Nc в ПММ и определения $\Sigma_{АО}$ методом CUPRAC представлена на рис. 1.

В аналогичных условиях проводили определение $\Sigma_{АО}$ в соковой продукции. Все образцы сока предварительно разбавляли в 10 раз, затем аликвоты полученных растворов объемом 0.04 – 2.00 мл вносили в градуированные пробирки и разбавляли до 5 мл бидистиллированной водой. Наличие интенсивной окраски соковой продукции не мешало определению $\Sigma_{АО}$, что обусловлено особенностями использования ПММ в качестве твердой фазы.

Обработка результатов твердофазного спектрофотометрического определения $\Sigma_{АО}$ методом CUPRAC (Cu(II) – Nc – ПММ).

Расчет $\Sigma_{АО}$ в соковой продукции в пересчете на вещество-стандарт проводили по формуле:

$$\Sigma C_{АО}^{ХСТ} = \frac{\Sigma A}{K_{СТ}}, \quad (1)$$

где $\Sigma C_{АО}^{ХСТ}$ – суммарное содержание антиоксидантов в пересчете на вещество-стандарт; ΣA – обобщенный аналитический сигнал, представляющий собой разность оптических плотностей полиметакрилатных матриц с иммобилизованной Cu(II) – Nc после контакта с раствором, содержащим и не содержащим АО при длине волны 450 нм (ΔA_{450}); $K_{СТ}$ – коэффициент чувствительности градуировочной зависимости для вещества-стандарта.

Интервал суммарного содержания АО с применением алгоритма интервальной оценки получали по формуле (2) [17]:

$$\frac{\Sigma A}{K_{\max}} \leq \Sigma C_{АО} \leq \frac{\Sigma A}{K_{\min}}, \quad (2)$$

где $\Sigma C_{АО}$ – суммарное содержание антиоксидантов; K_{\max} и K_{\min} – максимальный и минимальный коэффициенты чувствительности в «веере» градуировок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Реализацию алгоритма интервальной оценки осуществляли через формирование «веера» градуировочных зависимостей для определения АО, содержащихся в фруктовых и ягодных соках (ГК, АК, КВ, Л, ДКВ) [21], а также ТР как часто применяемого стандарта [10, 13].

Для нивелирования коэффициентов чувствительности и оптимизации параметра внутригрупповой селективности ($T = \frac{K_{\max}}{K_{\min}}$) выбранной группы анализов

Таблица 1

Параметры градуировочных зависимостей для определения антиоксидантов до и после учета количества электронов, принимающих участие в окислительно-восстановительной реакции (в расчете на 1 молекулу АО)

Table 1

Parameters of calibration dependences for determining antioxidants before and after taking into account the number of electrons involved in the redox reaction (per 1 AO molecule)

Антиоксидант	Уравнения градуировочной зависимости	R^2	S_y	ДОС, 10^{-6}	ПО, 10^{-6}	$S_r, \%$	T	Кол-во \bar{e} [22, 23]
без учета количества \bar{e} (единицы измерения – моль/л)								
Кверцетин	$\Delta A_{450} = 6.3 \cdot 10^4 C_{КВ}$	0.996	0.014	0.7 – 3.3	0.2	4	4.2	-
Лютеолин	$\Delta A_{450} = 4.0 \cdot 10^4 C_{Л}$	0.997	0.004	0.7 – 2.8	0.3	8		
Дигидрокверцетин	$\Delta A_{450} = 3.2 \cdot 10^4 C_{ДКВ}$	0.996	0.017	0.7 – 3.3	0.3	8		
Аскорбиновая кислота	$\Delta A_{450} = 2.2 \cdot 10^4 C_{АК}$	0.997	0.004	1.7 – 8.5	0.9	8		
Тролокс	$\Delta A_{450} = 2.1 \cdot 10^4 C_{ТР}$	0.998	0.006	0.8 – 8.0	0.2	10		
Галловая кислота	$\Delta A_{450} = 1.5 \cdot 10^4 C_{ГК}$	0.996	0.009	5.9 – 23.5	1.3	10		
с учетом количества \bar{e} (единицы измерения – моль-эquiv/л)								
Кверцетин	$\Delta A_{450} = 1.3 \cdot 10^4 C_{КВ}$	0.996	0.014	3.3 – 16.5	0.8	4	2.6	5
Лютеолин	$\Delta A_{450} = 1.0 \cdot 10^4 C_{Л}$	0.997	0.004	2.8 – 11.2	1.2	8		4
Дигидрокверцетин	$\Delta A_{450} = 0.6 \cdot 10^4 C_{ДКВ}$	0.996	0.017	3.2 – 16.4	1.5	8		5
Аскорбиновая кислота	$\Delta A_{450} = 1.1 \cdot 10^4 C_{АК}$	0.997	0.004	3.4 – 17.0	1.8	8		2
Тролокс	$\Delta A_{450} = 1.05 \cdot 10^4 C_{ТР}$	0.998	0.061	1.6 – 16.0	0.4	10		2
Галловая кислота	$\Delta A_{450} = 0.5 \cdot 10^4 C_{ГК}$	0.996	0.009	17.6 – 70.5	3.8	10		3

* – расчет относительного среднего квадратического отклонения аналитического сигнала ΔA_{450} проводили для АО с концентрациями, $C_{АО} \cdot 10^{-6}$ моль-эquiv/л: $C_{КВ} = 9.9$; $C_{Л} = 8.3$; $C_{ДКВ} = 9.9$; $C_{АК} = 10.0$; $C_{ТР} = 8.0$; $C_{ГК} = 35.0$.

применяли один из наиболее распространенных подходов [17] – учет количества электронов, которые отдает молекула антиоксиданта при взаимодействии с окислителем, т.е. представление суммарного содержания АО в виде молярной концентрации эквивалента. Оценку сходимости повторных измерений оптической плотности одной и той же окрашенной ПММ проводили путем расчета относительного стандартного отклонения ($S_r, \%$) ($S_r = \frac{S \cdot 100}{\Delta \hat{A}_{450}}$, где S – среднее квадратическое отклонение разности поглощений ПММ с иммобилизованной $Cu(II) - Nc$ после контакта с раствором, содержащим и не содержащим АО при длине волны 450 нм (ΔA_{450}); $\Delta \hat{A}_{450}$ – усредненный аналитический сигнал). В табл. 1 приведены параметры градуировочных зависимостей для определения антиоксидантов, входящих в «веер», до и после учета количества электронов (\bar{e}) [22, 23], а также диапазон определяемых содержаний (ДОС) и предел обнаружения (ПО). Видно, что для всех градуировочных зависимостей АО наблюдается небольшая остаточная сумма отклонений ($S_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\Delta A_i - \Delta \hat{A}_{450})^2}{m-2}}$, где $\Delta A_i, \Delta \hat{A}_{450}$ – значения аналитического сигнала, полученные экспериментально и теоретически соответственно; $m-2$ – число степеней свободы, m – общее число данных, использованных при построении градуировочных кривых), рассчитанная с использованием пакета регрессионного анализа [24], а S_r не превышает 10%. «Веер» градуировочных зависимостей для определения суммарного содержания АО с использованием системы $Cu(II) - Nc$, иммобилизованной в ПММ после нивелирования

коэффициентов чувствительности данных аналитов, представлен на рис. 2. Представление суммарного содержания АО в виде молярной концентрации эквивалента приводит к снижению внутригрупповой селективности – уменьшению параметра T с 4.2 до 2.6 и, как следствие, к более точному определению суммарного содержания искомых аналитов. Результаты нивелирования коэффициентов чувствительности и оптимизации параметра T в твердой фазе аналогичны результатам, полученным в растворе [25].

Результаты определения $\Sigma_{АО}$ в пересчете на вещество-стандарт и методом ИО в смесях АО различного состава представлены в табл. 2.

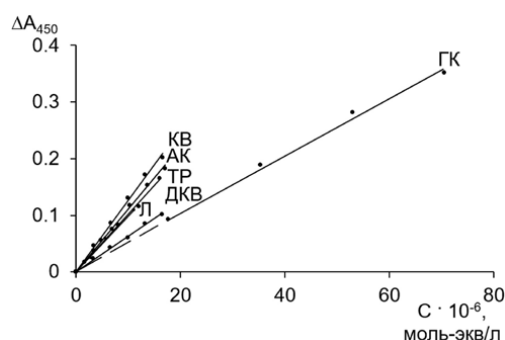


Рис. 2. Градуировочные зависимости для определения суммарного содержания АО с использованием индикаторной системы $Cu(II) - Nc$, иммобилизованной в ПММ

Fig. 2. Calibration dependences for determining the total content of AO using $Cu(II) - Nc$ system immobilized in PMM

Таблица 2
Table 2

Результаты оценки суммарного содержания антиоксидантов в модельных смесях с использованием алгоритма интервальных оценок и в пересчете на вещество-стандарт
The results of the evaluation of the total content of antioxidants in the model mixtures using the interval estimation algorithm and in terms of the substance-standard

№	Состав смеси, 10^{-6} моль-эквл	Суммарное содержание АО, 10^{-6} моль-эквл									
		в пересчете на $X_{ст}$									
1	КВ – 1.3 ТР – 0.96 ГК – 3.5 АК – 1.1 $\Sigma C_{смеси}$ – 6.86	$X_{ст}$	ГК	Л	ТР	АК	КВ				
		$\Sigma C_{АО}^{X_{ст}}$	11.4	7.2	6.1	6.4	4.9				
		$\delta C, \%$	-66	-5	+11	+7	+29				
		Интервал $\Sigma C_{АО}^*$	5.2 – 12.6	4.7 – 12.1	4.9 – 12.6	4.6 – 12.0	4.8 – 11.9				
		Ширина интервала возможных значений $\Sigma C_{АО}$	7.4	7.4	7.7	7.4	7.1				
2	ТР – 0.64 ГК – 2.1 АК – 2.3 $\Sigma C_{смеси}$ – 5.04	алгоритм ИО									
		в пересчете на $X_{ст}$									
		$\Sigma C_{АО}^{X_{ст}}$	8.0	6.4	4.2	4.0	4.1				
		$\delta C, \%$	-59	-27	+17	+21	+19				
		Интервал $\Sigma C_{АО}^*$	3.5 – 8.7	3.4 – 8.7	3.1 – 8.1	3.1 – 8.1	3.1 – 8.1	3.1 – 8.0			
3	КВ – 1.7 ГК – 1.8 АК – 1.1 $\Sigma C_{смеси}$ – 4.6	алгоритм ИО									
		в пересчете на $X_{ст}$									
		$\Sigma C_{АО}^{X_{ст}}$	8.0	6.1	4.3	4.04	4.1				
		$\delta C, \%$	-74	-33	+7	+12	+11				
		Интервал $\Sigma C_{АО}^*$	3.5 – 8.7	3.5 – 8.7	3.2 – 8.2	3.1 – 8.1	3.1 – 8.1	3.1 – 8.1			
4	ТР – 1.6 ГК – 3.5 АК – 2.3 $\Sigma C_{смеси}$ – 7.4	алгоритм ИО									
		в пересчете на $X_{ст}$									
		$\Sigma C_{АО}^{X_{ст}}$	10.2	7.8	5.4	5.3	3.9				
		$\delta C, \%$	-38	-5	+27	+28	+47				
		Интервал $\Sigma C_{АО}^*$	4.6 – 11.0	4.4 – 11.0	4.1 – 10.6	4.1 – 10.5	4.0 – 10.4	4.0 – 10.4			
Ширина интервала возможных значений $\Sigma C_{АО}$		6.4	6.6	6.6	6.4	6.4					

* – диапазон рассчитан с использованием формулы (2)

Таблица 3

Результаты определения суммарного содержания антиоксидантов в образцах соковой продукции с использованием алгоритма интервальных оценок и в пересчете на вещество-стандарт (n = 6, P = 0.95)

Table 3

The results of determining the total content of antioxidants in juice product samples using the interval estimation algorithm and in terms of substance-standard (n = 6, P = 0.95)

Объект исследования	Оценка ΣC_{AO} , 10^{-3} моль-экв/л		Определение $\Sigma C_{AO}^{X_{ct}}$, 10^{-3} моль-экв/л		
	форма записи в виде интервала	ширина интервала	АК	ТР	Л
Прямого отжима					
Морс облепиховый	5.8 – 14.6	8.8	6.51 ± 0.19	6.95 ± 0.21	7.38 ± 0.22
Морс чернично-голубичный	4.7 – 12.0	7.3	5.4 ± 0.3	5.7 ± 0.3	6.1 ± 0.3
Сок гранатовый	4.1 – 10.4	6.3	4.63 ± 0.11	4.95 ± 0.12	5.25 ± 0.13
Морс брусничный	2.4 – 6.1	3.7	2.71 ± 0.25	2.90 ± 0.26	3.08 ± 0.28
Морс клюквенный	2.1 – 5.3	3.2	2.37 ± 0.17	2.53 ± 0.18	2.68 ± 0.19
Восстановленные					
Сок ягодный	1.4 – 3.4	2.0	1.53 ± 0.05	1.63 ± 0.04	1.73 ± 0.05
Сок черничный	1.2 – 2.9	1.7	1.31 ± 0.04	1.40 ± 0.04	1.49 ± 0.04
Нектар ежевичный	0.8 – 2.0	1.2	0.881 ± 0.020	0.938 ± 0.022	0.999 ± 0.023
Ягодно-хвойный коктейль	0.7 – 1.9	1.2	0.842 ± 0.022	0.900 ± 0.023	0.954 ± 0.024
Сок гранатовый	0.12 – 0.30	0.18	0.136 ± 0.004	0.145 ± 0.004	0.154 ± 0.005

* – диапазон рассчитан с использованием формулы (2)

Видно, что при использовании алгоритма интервальных оценок интервал суммарного содержания антиоксидантов практически не зависит от выбора вещества - стандарта, в отличие от традиционного способа выражения Σ_{AO} в виде X_{ct} . При переходе к разным веществам-стандартам интервал действительного суммарного содержания АО, как и его ширина практически не изменяются и находятся в пределах случайных погрешностей. В то же время

определение $\Sigma C_{AO}^{X_{ct}}$ в пересчете на разные X_{ct} приводит к статистически значимым погрешностям (δC) от -74 до +47 %, что ведет к заниженным или завышенным результатам определения Σ_{AO} . При этом аддитивность аналитических сигналов модельных смесей проверяли по 3S – критерию, сравнивая $|\Delta A|$ с утроенным значением его среднего квадратического отклонения, где $|\Delta A|$ является разностью между аналитическими сигналами смеси и отдельных восстановителей при $\lambda = 450$ нм. Для всех смесей $|\Delta A| < 3S$, что говорит о статистически незначимом отклонении от аддитивности. В качестве примера на рис. 3 представлены спектры поглощения индикаторной системы Cu(II) – Nc, иммобилизованной в ПММ, после контакта матрицы с раствором модельной смеси № 4, приведенной в табл. 2, с растворами индивидуальных восстановителей, входящих в эту смесь, и раствором, не содержащим АО (контрольный опыт). Для смеси №4 $|\Delta A|$ при $\lambda = 450$ нм меньше утроенного значения его среднего квадратического отклонения ($0.013 < 0.023$), что подтверждает аддитивности аналитических сигналов

полученные при использовании алгоритма ИО для определения суммарного содержания АО в модельных смесях методом CUPRAC (Cu(II) – Nc – ПММ), аналогичны результатам применения алгоритма ИО без иммобилизации индикаторных систем в твердой фазе [17], что показывает универсальность применения алгоритма интервальных оценок.

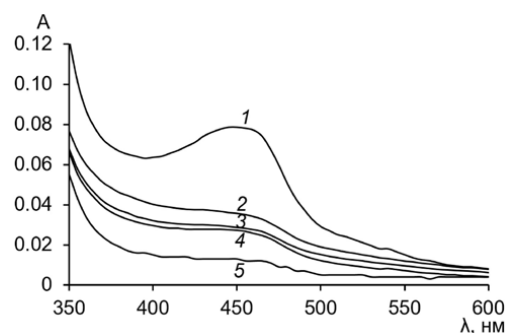


Рис. 3. Спектры поглощения индикаторной системы Cu(II) – Nc, иммобилизованной в ПММ, после контакта матрицы с раствором модельной смеси № 4 (1); с растворами восстановителей, входящих в эту смесь с концентрациями, $C_{AO} \cdot 10^{-6}$ моль-экв/л: $C_{AK} = 2.3$ (2), $C_{ГК} = 3.5$ (3), $C_{ТР} = 1.6$ (4); и раствором, не содержащим АО (контрольный опыт) (5)

Fig. 3. Absorption spectra of Cu(II) – Nc indicator system immobilized in PMM after contact of the matrix with a solution of model mixture No. 4 (1); with solutions of the reducing agents included in this mixture with concentrations, $C_{AO} \cdot 10^{-6}$ mol-eq/l: $C_{AA} = 2.3$ (2), $C_{GA} = 3.5$ (3), $C_{TR} = 1.6$ (4); and a solution not subjected to AO (control experiment) (5)

Таблица 4

Результаты оценки суммарного содержания антиоксидантов в образцах соковой продукции с использованием алгоритма интервальных оценок и в пересчете на вещество-стандарт (Л) методом варьирования навески ($n = 3$, $P = 0.95$, $t_{\text{табл}} = 4.3$)

Table 4

The results of the assessment of the total content of antioxidants in juice product samples using the interval estimation algorithm and in terms of substance-standard (L) by the method of weight variation ($n = 3$, $P = 0.95$, $t_{\text{табл}} = 4.3$)

Объект исследования	Оценка $\Sigma C_{\text{АО}}$, 10^{-3} моль-экв/л				Определение $\Sigma C_{\text{АО}}^{\text{Хст}}$, 10^{-3} моль-экв/л				$t_{\text{эксп}}^{**}$
	форма записи в виде интервала				лютеолин				
	без разбавления	S	с разбавлением $\eta = 2$	S	без разбавления	S	с разбавлением $\eta = 2$	S	
Прямого отжима									
Морс облепиховый	5.6 – 14.2	0.19	5.9 – 14.9	0.19	7.2 ± 0.3	0.14	7.6 ± 0.3	0.13	3.2
Морс чернично-голубичный	4.5 – 11.4	0.18	5.0 – 12.5	0.4	5.8 ± 0.3	0.13	6.3 ± 0.6	0.25	3.3
Сок гранатовый	4.1 – 10.3	0.12	4.1 – 10.4	0.09	5.23 ± 0.22	0.09	5.26 ± 0.18	0.07	0.5
Морс брусничный	2.4 – 6.0	0.3	2.5 – 6.2	0.14	3.0 ± 0.6	0.22	3.1 ± 0.3	0.10	0.7
Морс клюквенный	2.1 – 5.3	0.23	2.1 – 5.3	0.27	2.69 ± 0.05	0.020	2.7 ± 0.4	0.17	0.1
Восстановленные									
Сок ягодный	1.3 – 3.4	0.04	1.4 – 3.5	0.05	1.80 ± 0.10	0.04	1.70 ± 0.10	0.03	2.2
Сок черничный	1.1 – 2.9	0.05	1.2 – 3.0	0.03	1.46 ± 0.05	0.018	1.51 ± 0.08	0.03	2.3
Нектар ежевичный	0.8 – 2.0	0.018	0.8 – 2.0	0.022	1.0 ± 0.3	0.013	1.0 ± 0.4	0.016	0.2
Ягодно-хвойный коктейль	0.8 – 1.9	0.03	0.7 – 1.9	0.013	0.964 ± 0.024	0.010	0.94 ± 0.05	0.019	1.5
Сок гранатовый	0.12 – 0.30	0.004	0.12 – 0.30	0.004	0.154 ± 0.007	0.0029	0.154 ± 0.007	0.0029	0.0

* – диапазон рассчитан с использованием формулы (2);

** – экспериментальное значение критерия Стьюдента, полученное для алгоритма интервальных оценок и в пересчете на вещество-стандарт

Результаты оценки $\Sigma_{\text{АО}}$ в соковой продукции с использованием алгоритма интервальной оценки и в пересчете на $X_{\text{ст}}$ приведены в табл. 3. Выбор оптимальных стандартных веществ для выражения $\Sigma_{\text{АО}}$ в виде $X_{\text{ст}}$ был сделан на основании работы [15]. Коэффициенты чувствительности градуировочных зависимостей для веществ-стандартов должны быть близки к оптимальному коэффициенту чувствительности ($K_{\text{опт}}$), рассчитанному по формуле:

$$K_{\text{опт}} = \frac{K_{\text{max}} + K_{\text{min}}}{2} = \frac{1.3 \cdot 10^4 + 0.5 \cdot 10^4}{2} = 0.9 \cdot 10^4.$$
 Значение $K_{\text{опт}}$ отражает среднюю чувствительность «веера» градуировочных зависимостей выбранной группы анализов (табл. 1). Согласно табл. 1, коэффициенты чувствительности АК ($1.1 \cdot 10^4$), ТР ($1.05 \cdot 10^4$) и Л ($1.0 \cdot 10^4$) наиболее приближены к расчетному оптимальному коэффициенту чувствительности «веера» градуировок антиоксидантов ($0.9 \cdot 10^4$), что позволяет использовать данные стандартные вещества для определения $\Sigma_{\text{АО}}$ в соках. Исходя из табл. 3, можно сделать вывод о том, что результаты определения суммарного содержания АО в соковой продукции в пересчете на АК, ТР и Л различны ввиду неодинаковой чувствительности определения данных анализов, в отличие от интервала действительного

$\Sigma_{\text{АО}}$, рассчитанного с применением алгоритма ИО. Результаты суммарного содержания антиоксидантов в пересчете на вещество-стандарт лютеолин наиболее приближены к середине диапазона интервала алгоритма ИО, что позволяет использовать метод ИО для выбора оптимального вещества-стандарта. В то же время ширина интервалов, полученных с применением алгоритма ИО, на порядок превышает ширину доверительных интервалов в виде случайной составляющей погрешности, что указывает на необходимость использования других подходов для нивелирования коэффициентов чувствительности АО, например, оптимизация условий реакции [17].

Проверку правильности определения суммарного содержания АО в реальных образцах сока проводили методом разбавления с применением алгоритма интервальной оценки и в пересчете на стандартное вещество лютеолин. Для этого рассчитывали критерий Стьюдента ($t_{\text{эксп}}$) и среднее квадратическое отклонение для каждого из подходов, используя среднее значение диапазона алгоритма ИО и среднее значение, выраженное на $X_{\text{ст}}$ каждого из образцов. Также осуществляли сопоставление $t_{\text{эксп}}$ и $t_{\text{табл}}$ для каждого из подходов и расчет доверительного интервала в виде случайной составляющей

погрешности для суммарного содержания АО в пересчете на лютеолин [26]. Расчет доверительного интервала в виде случайной составляющей погрешности проводили по формуле:

$$\Delta = \frac{S \cdot t(P; f)}{\sqrt{n}}, \quad (3)$$

где $t(P; f)$ – коэффициент Стьюдента для заданной вероятности и числа степеней свободы соответственно; n – количество повторяющихся опытов.

Из табл. 4 видно, что для всех образцов соковой продукции $t_{\text{экс}} < t_{\text{табл}}$, следовательно, смещение незначимо на фоне случайного разброса, что подтверждает правильность оценки $\Sigma_{\text{АО}}$ в соках с применением алгоритма ИО и в пересчете на вещество-стандарт. Суммарное содержание АО в образцах сока прямого отжима выше, чем в восстановленных, вероятно, это связано с деструкцией антиоксидантов в процессе получения сокового концентрата, который необходим для приготовления восстановленной соковой продукции. Результаты и выводы, полученные при анализе образцов сока прямого отжима и восстановленных, согласуются с результатами определения $\Sigma_{\text{АО}}$ в соковой продукции другими авторами [27 - 29].

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало возможность определения суммарного содержания антиоксидантов методом CUPRAC с использованием индикаторной системы Cu(II) – неocupроин, иммобилизованной в полиметакрилатной матрице, с применением алгоритма интервальной оценки. Данный алгоритм позволяет определить содержание антиоксидантов в образцах соковой продукции в виде интервала, диапазон значений которого не зависит от выбора вещества-стандарта, а также подобрать оптимальное стандартное вещество для способа выражения $\Sigma_{\text{АО}}$ в пересчете на $X_{\text{ст}}$. При этом для нивелирования коэффициентов чувствительности разных АО и как следствие уменьшения ширины диапазона алгоритма ИО необходимо не только представление $\Sigma_{\text{АО}}$ в виде молярной концентрации эквивалента, но и учет других способов уменьшения внутригрупповой селективности АО и оптимизации параметра T (изменение условий реакции).

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование проведено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант 22-23-00590).

ACKNOWLEDGMENTS

The study was supported by the Russian Science Foundation (grant 22-23-00590).

ЛИТЕРАТУРА

- Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C. Free Radicals, antioxidants in disease and health // *Int. J. Biomed. Sci.* 2008. V. 4. P. 89-96.
- Oroian M., Escriche I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis // *Food Res. Int.* 2015. V. 74. P. 10-36.
- Free Radicals, antioxidants and functional Foods: Impact on human health / V. Lobo [et al.] // *Phcog. Rev.* 2010. V. 4. P. 118-126.
- Teas, dietary supplements and fruit juices: A comparative study regarding antioxidant activity and bioactive compounds / A.S.G. Costa [et al.] // *LWT - Food Sci. Technol.* 2012. V. 49. P. 324-328.
- Kaur C., Kapoor H.C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health // *Int. J. Food Sci. Technol.* 2001. V. 36. P. 703-725.
- Shahidi F., Zhong Y. Measurement of antioxidant activity // *J. Funct. Foods.* 2015. V. 18. P. 757-781.
- Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity / R. Apak [et al.] // *Pure Appl. Chem.* 2013. V. 85. P. 957-998.
- Özyürek M., Güçlü K., Apak R. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement // *TrAC, Trends Anal. Chem.* 2011. V. 30. P. 652-664.
- CUPRAC colorimetric and electroanalytical methods determining antioxidant activity based on prevention of oxidative DNA damage / S. Uzunboy [et al.] // *Anal. Biochem.* 2017. V. 518. P. 69-77.
- Novel Optical Fiber Reflectometric CUPRAC Sensor for Total Antioxidant Capacity Measurement of Food Extracts and Biological Samples / M. Bener [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* 2013. V. 61. P. 8381-8388.
- Carrageenan-based colorimetric sensor for total antioxidant capacity measurement / M. Bener [et al.] // *Sens. Actuators B: Chem.* 2018. V. 283. P. 439-447.
- Determination of antioxidant capacity of medicinal tinctures using cuprac method involving Cu(II) neocuproine immobilized into polymethacrylate matrix / N.V. Saranchina [et al.] // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2020. V. 240. P. 1-6.
- Development of a low-cost optical sensor for cupric reducing antioxidant capacity measurement of food extracts / M. Bener [et al.] // *J. Anal. Chem.* 2010. V. 82. P. 4252-4258.
- Direct measurement of total antioxidant capacity of cereals: QUENCHER-CUPRAC method / A.N. Tufan [et al.] // *Talanta.* 2013. V. 108. P. 136-142.
- Вершинин В.И. Методологические аспекты группового анализа органических веществ // *Ж. аналит. химии.* 2023. Т. 78, № 2. С. 129-143.
- Vershinin V.I. Total indices as a tool to estimate sum content of similar analytes. Review // *Talanta.* 2015. V. 131. P. 292-300.
- Вершинин В.И. Определение суммарного содержания однотипных веществ (теория интегральных показателей). Омск: Изд-во Ом. гос. ун-та, 2016. 288 с.
- Вершинин В.И., Исаченко Н.А., Бриленок Н.С. Методология анализа неразделенных смесей. Интервальные оценки суммарного содержания однотипных аналитов // *Ж. аналит. химии.* 2016. Т. 71, № 4. С. 369-376.
- Вершинин В.И., Бриленок Н.С., Цюпко Т.Г. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Погрешность оценки суммарного содержания аналитов с учетом их коэффициентов

чувствительности // Ж. аналит. химии. 2012. Т. 67, № 7. С. 715-720.

20. ГОСТ 4212 – 2016. Реактивы. Методы приготовления растворов для колориметрического и нефелометрического анализа. М., 2019. 25с.

21. Antioxidant capacities and total phenol contents of 62 fruits/ Li Fu [et al.] // *Food Chem.* 2011. V. 129. P. 345-350.

22. Зиятдинова Г.К., Низамова А.М., Будников Г.К. Гальваностатическая кулонометрия в анализе природных полифенолов и ее применение в фармации // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65, № 11. С. 1202-1206.

23. Шарафутдинова Е.Н. Потенциометрия в исследовании антиоксидантной активности объектов растительного происхождения: автореф. дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02. Екатеринбург, 2007. 24 с.

24. Представление результатов химического анализа. (Рекомендации IUPAC 1994 г.) // Ж. аналит. химии. 1998. Т. 53, № 9. С. 999-008.

25. Определение суммарного содержания антиоксидантов методом FRAP / Т.Г. Цюпко [и др.] // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15, № 3. С. 287-298.

26. ГОСТ Р 8.736 – 2011. Государственная система обеспечения единства измерений. Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. М., 2013. 18 с.

27. Определение антиоксидантной активности пищевых продуктов с использованием индикаторной системы Fe(III)/Fe(II) – органический реагент / З.А. Темердашев [и др.] // Зав. лаб. Диагностика материалов. 2006. Т. 72, № 11. С. 15-19.

28. Bartoszek M., Polak J. A comparison of antioxidative capacities of fruit juices, drinks and nectars, as determined by EPR and UV-vis spectroscopies // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2016. V. 153. P. 546-549.

29. Processing and Impaction Antioxidants in Beverages / R. Apak [et al.] // *The CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement for Beverages.* Academic Press. 2014. P. 235-44.

REFERENCES

- Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C. Free Radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci.*, 2008, vol. 4, pp. 89–96.
- Oroian M., Escriche I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res. Int.*, 2015, vol. 74, pp. 10-36. doi: 10.1016/j.foodres.2015.04.018.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N Free Radicals, antioxidants and functional Foods: Impact on human health. *Phcog. Rev.*, 2010, vol. 4, pp. 118-126. doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- Costa A.S.G., Nunes M.A., Almeida M.C., Carvalho M.R., Barroso M.F., Alves R.C., Oliveira M.B.P.P. Teas, dietary supplements and fruit juices: A comparative study regarding antioxidant activity and bioactive compounds. *LWT - Food Sci. Technol.*, 2012, vol. 49, pp. 324-328. doi:10.1016/j.lwt.2012.02.030.
- Kaur C., Kapoor H.C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2001, vol. 36, pp. 703-725. doi: 10.1046/j.1365-2621.2001.00513.x
- Shahidi F., Zhong Y. Measurement of antioxidant activity. *J. Funct. Foods*, 2015, vol. 18, pp. 757-81. doi:10.1016/j.jff.2015.01.047.
- Apak R., Gorinstein S., Böhm V., Schaich K., Özyürek M., Güçlü K. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity / activity. *Pure Appl. Chem.*, 2013, vol. 85, pp. 957-998. doi: 10.1351/PAC-REP-12-07-15.
- Özyürek M., Güçlü K., Apak R. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2011, vol. 30, pp. 652-664. doi:10.1016/j.trac.2010.11.016.
- Uzunboy S., Çekiç S.D., Eksin E., Erdem A., Apak R. CUPRAC colorimetric and electroanalytical methods determining antioxidant activity based on prevention of oxidative DNA damage. *Anal. Biochem.*, 2017, vol. 518, pp. 69-77. doi: 10.1016/j.ab.2016.10.028.
- Bener M., Özyürek M., Güçlü K., Apak R. Novel optical fiber reflectometric CUPRAC sensor for total antioxidant capacity measurement of food extracts and biological samples. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, vol. 61, pp. 8381-8388. doi: 10.1021/jf402327x.
- Bener M., Şen F.B., Kaşgöz A., Apak R., Carrageenan-based colorimetric sensor for total antioxidant capacity measurement. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2018, vol. 283, pp. 439-447. doi: 10.1016/j.snb.2018.06.061.
- Saranchina N.V., Damzina A.A., Ermolaev Y.E., Urazov E.V., Gavrilenko N.A., Gavrilenko M.A. Determination of antioxidant capacity of medicinal tinctures using cuprac method involving Cu (II) neocuproine immobilized into polymethacrylate matrix. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2020, vol. 240, pp. 1-6. doi: 10.1016/j.saa.2020.118581.
- Bener M., Özyürek M., Güçlü K., Apak R. Development of a low-cost optical sensor for cupric reducing antioxidant capacity measurement of food extracts. *J. Anal. Chem.*, 2010, vol. 82, pp. 4252-4258. doi: 10.1021/ac100646k.
- Tufan A.N., Celik S.E., Özyürek M., Güçlü K., Apak R. Direct measurement of total antioxidant capacity of cereals: QUENCHER-CUPRAC method. *Talanta*, 2013, vol. 108, pp. 136-142. doi: 10.1016/j.talanta.2013.02.061.
- Vershinin V.I. [Methodological aspects of group analysis of organic substances]. *Zh. analiti. khimii [J. Analyti. Chem.]*, 2023, vol. 78, no. 2, pp. 129-143 (in Russian).
- Vershinin V.I. Total indices as a tool to estimate sum content of similar analytes. Review. *Talanta*, 2015, vol. 131, pp. 292-300. doi: 10.1016/j.talanta.2014.07.102.
- Vershinin V.I. *Opredelenie summarnogo soderzhaniia odnotipnykh veshchestv (teoriia integral'nykh pokazatelei) [Determination of the total content of the same type of substances (the theory of integral indicators)]* Omsk: Publishing house of Om. gos. university, 2016. 288 p. (in Russian).
- Vershinin V.I., Isachenko N.A., Brilenok N. S. [Methodology for the Analysis of Unseparated Mixtures. Interval estimates of the total content of similar analytes]. *ZZh. analiti. khimii [J. Analyti. Chem.]*, 2016, vol. 71, no. 4, pp. 369-376 (in Russian). doi:10.7868/S0044450216040083.
- Vershinin V.I., Brilenok N.S., Tsypko T.G. [Methodology for Spectrophotometric Analysis of Mixtures of Organic Compounds. Error in estimating the total content of analytes, taking into account their sensitivity coefficients]. *Zh. analiti. khimii [J. Analyti. Chem.]*, 2012, vol. 67, no. 7, pp. 715-20 (in Russian).
- GOST 4212 – 2016. *Reaktivy. Metody prigotovleniia ras-tvorov dlia kolorimetriceskogo i nefelometriceskogo analiza. [State Standard 4212 – 2016. Reagents. Methods for preparing solutions for colorimetric and nephelometric analysis]*. Moscow, Standartinform Publ., 2019. 25 p. (in Russian).
- Fu L., Xu B.T., Xu X.R., Gan R.Y., Zhang Y., Xia E.Q., Li H.B. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem.*, 2011, vol. 129, pp. 345-350. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.04.079.
- Ziyatdinova G.K., Nizamova A.M., Budnikova G.K. [Galvanostatic coulometry in the analysis of natural polyphenols and its application in pharmacy]. *Zh. analiti. khimii [J. Analyti. Chem.]*, 2010, vol. 65, no. 11, pp. 1202-1206 (in Russian).

23. Sharafutdinova E.N. *Potentsiometriia v issledovanii antioksidantnoi aktivnosti ob"ektov rastitel'nogo proiskhozhdeniia: Avtoref. diss. kand. khim. nauk [Potentiometry in the study of the antioxidant activity of objects of plant origin. Ph.D. chemistry sci. abstract diss]*. Yekaterinburg, 2007. 24 p. (in Russian).
24. [Presentation of the results of chemical analysis. (IUPAC recommendations 1994)]. *Zh. analiti. khimii [J. Analyti. Chem.]* 1998, vol. 53, no. 9, pp. 999-1008 (in Russian).
25. Tsyupko T.G., Petrakova I.S., Brilenok N.S., Nikolaeva N.A., Chuprynina D.A., Temerdashev Z.A., Vershinin V.I. [Determination of the total content of antioxidants by the FRAP method]. *Analitika i kontrol' [Analytics and control]*, 2011, vol. 15, no. 3, pp. 287-298 (in Russian).
26. GOST R 8.736 – 2011. *Gosudarstvennaia sistema obespecheniia edinstvaizmerenii. Izmereniia priamyie mnogokratnye. Metody obrabotki rezul'tato vizmerenii. Osnovnyie polozeniia. [State Standard P 8.736 – 2011. State system for ensuring the uniformity of measurements. Multiple direct measurements. Methods for processing measurement results. Basic provisions]*. Moscow, Standartinform Publ., 2013. 18 p. (in Russian).
27. Tsyupko T.G., Chuprynina D.A., Nikolaeva N.A., Voronova O.B., Temerdashev Z.A. [Determination of the antioxidant activity of food products using the indicator system Fe(III)/Fe(II) - organic reagent]. *Zavodskaiia laboratoria. Diagnostika materialov [Factory laboratory. Material diagnostics]*, 2006, vol. 72, no. 11, pp. 15-19 (in Russian).
28. Bartoszek M., Polak J. A comparison of antioxidative capacities of fruit juices, drinks and nectars, as determined by EPR and UV-vis spectroscopies. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2016, vol. 153, pp. 546-49. doi: 10.1016/j.saa.2015.09.022.
29. Apak R., Özyürek M., Güçlü K., Bekdeşer B., Bener M. Processing and Impact on Antioxidants in Beverages. The CUPRAC Methods of Antioxidant Measurement for Beverages. *Academic Press*, 2014, pp. 235-244. doi: 10.1016/B978-0-12-404738-9.00024-6.