

УДК 54.062, 57.045

ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ АНТИОКСИДАНТОВ В ПРОБАХ ХВОИ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА СОСНОВЫЕ

© *А.И. Фокина*, Т.А. Адамович, Л.В. Трефилова*

*Вятский государственный университет, ул. Московская, 36, Киров, 610000,
Россия, usr08614@vyatsu.ru*

Ведущей теорией, объясняющей негативное влияние различных факторов на состояние организма, в настоящее время считается теория окислительного стресса. Способом борьбы с данным явлением является использование антиоксидантов. В литературе описано много методов и подходов для определения антиоксидантов. Однако до сих пор нет общепринятого подхода к определению и оценке количества антиоксидантов в растительных объектах, так как растения – сложный по составу объект, в том числе по составу веществ – восстановителей. Поэтому обоснованно описывать в комплексе результаты анализа. В связи с этим целью исследования было применение нескольких методик определения антиоксидантов: спектрофотометрически с реактивом Фолина-Чокальтеу, кулонометрическое титрование иодом и инверсионно-вольтамперометрически в спиртовых вытяжках после кипячения и без, но с добавлением в экстрагирующий раствор соляной кислоты. В качестве объекта исследования использованы пробы хвои различных представителей семейства Сосновые. Апробирована и валидирована методика инверсионно-вольтамперометрического определения антиоксидантов в водно-спиртовых экстрактах хвои пихт в среде фосфатного буферного раствора с $pH = 6,8$ с добавлением пероксида водорода в качестве модели активной формы кислорода. Метод позволяет получать результаты, как в пересчете на какой-либо стандарт антиоксиданта, так и в эквивалентах объемов изучаемых экстрактов на массу инактивируемого пероксида водорода. Установлено, что образцы всех растений содержат значимое количество БАВ, при этом наибольшими антиоксидантными свойствами, содержанием полифенолов и аскорбиновой кислоты обладают экстракты псевдотсуги Мензиса. Отмечена тесная корреляционная взаимосвязь между суммой антиоксидантов и количеством полифенольных соединений в пробах.

Ключевые слова: антиоксиданты, хвойные растения, экстракты, инверсионная вольтамперометрия, кулонометрия, спектрофотометрия.

Для цитирования: Фокина А.И., Адамович Т.А., Трефилова Л.В. Подходы к определению антиоксидантов в пробах хвои различных представителей семейства Сосновые // Химия растительного сырья. 2026. №2. Online First. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20260217651>.

Введение

В настоящее время в научных исследованиях большая роль отводится изучению процессов окислительного стресса и, как следствие, методам определения его характеристик. Активные формы кислорода (АФК) вырабатываются живыми клетками в качестве побочного продукта клеточного метаболизма. В условиях чрезмерного стресса клетки вырабатывают большее, чем в норме, количество АФК. Молекулы АФК вызывают окислительный стресс в рамках механизма обратной связи, включающего множество биологических процессов, таких как апоптоз, некроз и аутофагия [1]. Все эти последствия могут находить отражение в состоянии организмов любой систематической принадлежности, в том числе растений и животных. Мерой состояния организмов [2], а также показателем потенциала растительного сырья как источника антиоксидантов (АО) может служить количество последних, так как именно эта группа веществ отвечает за борьбу с окислительным стрессом и поддержание окислительно-восстановительного баланса в целом [3, 4].

Методик определения АО много [5]. Приоритетными являются методы электрохимического анализа, способные определять содержание АО в условиях, моделирующих физиологическое состояние организма, обладают низкой себестоимостью, высокой чувствительностью, возможностью анализировать как водные, так и неводные, мутные и окрашенные среды [6, 7].

* Автор, с которым следует вести переписку.

В методе инверсионной вольтамперометрии (ИВА) возможно создать кислотность, близкую к физиологической, ввести вещества – модели АФК и получить аналитический сигнал, пропорциональный их концентрации. Поэтому данный метод определения был взят за ведущий в работе для нахождения суммы АО. Кроме того, в исследовании использовали методы: спектрофотометрии с реактивом Фолина-Чокальтеу, который зарекомендовал себя в качестве метода для определения полифенолов антиоксидантной природы [8] и метод иодометрического титрования, реализуемый кулонометрически в кислой среде. Результаты кулонометрического метода интерпретируются как количество аскорбиновой кислоты [9]. Кроме большого спектра методик определения АО существует достаточно большое разнообразие и способов извлечения экстрактивных веществ, от весьма простых до экзотических, трудо- и экономически затратных. Самые распространенные методики экстракции, доступные широкому количеству исследователей, основаны на экстракции водно-спиртовыми растворами этилового спирта, в том числе при нагревании и даже кипячении [10–12]. Доказано, что увеличение температуры при экстракции увеличивает выход веществ из сырья [13]. Однако такой распространенный АО, как, например, аскорбиновая кислота, разрушается при нагревании, поэтому в литературе, в том числе нормативных документах [14, 15], представлены способы экстракции без нагревания (при комнатной температуре) [16, 17].

В качестве объектов исследования перспективно использовать хвойные растения, так как большинство из них являются вечнозелеными и могут служить источником БАВ круглый год. При этом интерес представляют растения как аборигенной флоры, так и интродуцированные. Так, пихта корейская (*Abies koreana*) – среднее по размеру вечнозеленое хвойное растение, произрастающее в Корее в высокогорных районах, таких как горы Халла и Пихта сибирская (*Abies sibirica*) – хвойное вечнозеленое дерево, высотой до 30 м и продолжительностью жизни до 200 лет. *A. sibirica* имеет большую зону распространения, включая северо-восток Европейской части России, Урал и большую часть Сибирской лесной зоны. Она является одним из основных лесобразующих пород темнохвойной тайги, но вид редко растет один, обычно пихта произрастает в смешанных насаждениях. Псевдотсуга Мензиса (*Pseudotsuga menziesii*) – автохтонное хвойное дерево Северной Америки, где оно занимает примерно 14.4 млн. га в США и 4.5 млн га в Канаде. *P. menziesii* завезена в Европу в 1827 г. и с тех пор широко распространена, больше, чем любое другое хвойное дерево Северной Америки. Хвойные растения, относящиеся к семейству Сосновые, содержат большое количество БАВ, обладающих фармакологической активностью, что позволяет использовать их в медицинских целях, а также для озеленения [18, 19].

Однако отсутствуют данные об использовании метода ИВА с применением пероксида водорода в качестве модели АФК при pH = 6.8 для определения суммы АО в различных экстрактах растений, в том числе хвои. Цель работы – адаптировать и валидировать методику вольтамперометрического определения содержания антиоксидантов в экстрактах хвойных растений, произрастающих на территории Кировской области, и сопоставить результаты с данными других методов анализа.

Объекты и методы

Для данного исследования в качестве объектов выбраны пихта сибирская, пихта корейская, псевдотсуга Мензиса. Так как в литературе встречаются сведения о том, что именно в зимние месяцы в хвое некоторых хвойных деревьев накапливается наибольшее, по сравнению с другими сезонами, количество АО, в том числе аскорбиновой кислоты, эфирных масел с антиоксидантными свойствами, полифенольных соединений для защиты пигментного комплекса в период короткого светового дня и нехватки солнечного света [20, 21]. В связи с этим пробы хвои были отобраны в конце января 2025 года на территории деревни Сергеево Кировской области. Внешний вид хвои соответствовал здоровым растениям (рис.).

Отсутствовали признаки угнетения. Растения используются для декоративных целей.

Исследование проведено без предварительного высушивания биоматериала. Пересчет на сухое вещество проведен с учетом данных о влажности. Использовали два способа пробоподготовки проб хвои: согласно ОФС.1.5.3.0006 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах – однократная экстракция» и в тех же соотношениях сырье : экстрагент, но вытяжку готовили при комнатной температуре с предварительным подкислением экстрагента соляной кислотой до pH ~1.0. Экстрагентом служил 70% водно-спиртовой раствор.



Пихта сибирская
(*A. sibirica*)



Пихта корейская
(*A. koreana*)



Псевдотсуга Мензиса
(*P. menziesii*)

Внешний вид образцов исследуемых растений

Сумму АО определяли методом инверсионной вольтамперометрии на приборе марки анализатор «Экотест-ВА» с модулем ЕМ-04 («ООО «Эконикс-Эксперт», Россия). Принцип определения основан на определении площади пика электровосстановления пероксида водорода в фосфатном буферном растворе (рН = 6.8) при $E = \text{минус } 1200\text{--}1400 \text{ мВ}$. Снимали вольтамперограмму с раствора пероксида водорода ($C = 0.017 \text{ мг/мл}$) и с раствора пероксида водорода после добавления аликвоты экстракта. Рассчитывали величину снижения пика за счет введения экстракта хвойных растений. В качестве стандарта использовали галловую кислоту. Раствор пероксида водорода предварительно стандартизован методом перманганатометрии. Предварительно методика ИВА была валидирована по параметрам линейность, правильность и повторяемость согласно ОФС.1.1.0012 [22]. О наличии линейности результатов судили по величине коэффициента корреляции (R), который должен быть не менее 0.99. Для расчета повторяемости использовали пять уровней ($n = 3$) концентрации БАВ экстракта хвойных растений (брали различные объемы экстракта, за 100% принимали – 0.4 мл экстракта при объеме ячейки, равном 25.0 мл). Для оценки правильности получаемых результатов вводили раствор стандарта (галловая кислота, $C = 1 \text{ мг/мл}$) и сопоставляли с доверительным интервалом получаемых значений ($n = 3$).

Полифенольные соединения в экстрактах определяли методом спектрофотометрии с реактивом Фолина-Чокальтеу [23] при длине волны 765 нм. В качестве стандарта использовали галловую кислоту.

Аскорбиновую кислоту определяли в экстрактах, не подвергавшихся кипячению, на кулонометрическом анализаторе «Эксперт-006» («ООО «Эконикс-Эксперт», Россия) методом иодометрии с бипотенциометрической индикацией [9].

Влажность определяли гравиметрически с помощью анализатора влажности AND ML-50 (Япония).

Статистическую обработку результатов всех измерений проводили согласно ГОСТ Р 8.736-2011 [24]. Статистическую значимость различий между средними значениями устанавливали при $P < 0.05$. Повторность эксперимента двукратная.

Результаты и обсуждение

В результате валидации методики определения количества АО методом ИВА установлено, что RSD не превышает 4.0%; коэффициент корреляции между величиной занижения площади пика электровосстановления пероксида водорода и количеством введенного экстракта составляет 0.99; количество введенной галловой кислоты входит в интервал найденного значения (введено 1 мг/мл, найдено $0.99 \pm 0.04 \text{ мг/мл}$). Данные указывают на валидность методики.

Результаты определения содержания суммы АО, полифенолов и аскорбиновой кислоты в пробах растений представлены в таблице 1.

Использование спиртовой вытяжки, приготовленной при нагревании, позволяет обнаружить большее количество суммы АО и полифенолов, чем без нагревания, при этом количество аскорбиновой кислоты становится менее предела обнаружения кулонометра, что не позволяет представить результаты. Снижение концентрации суммы АО и полифенолов в экстрактах без нагревания по сравнению с экстрактами из тех же образцов, но с нагреванием неодинаково для всех видов растений: для пихты корейской различие

несущественное, для пихты сибирской концентрации в вытяжках без нагревания снижаются в 1.4 и 1.6 раза соответственно, а у псевдотсуги Мензиса – снижаются в 1.4 раза оба показателя. Данное явление связано с влиянием температуры на растворимость соединений, что подтверждается литературными данными [16]. В частности, известно, что некоторые вещества полифенольной природы лучше экстрагируются при нагревании [25, 26].

Так как полифенольные соединения носят, как правило, восстановительный характер, то величины содержания суммы АО и полифенолов взаимосвязаны. Данный факт подтверждается величинами коэффициентов корреляции (табл. 2) между данными показателями. Следует отметить, что многие исследователи связывают процесс определения АО методом ИВА как раз с АО фенольной природы за счет окисления гидроксильных групп [27]. При этом суммарное количество АО и содержание аскорбиновой кислоты не имеют строгой корреляционной взаимосвязи.

Наличие АО, в том числе полифенольных соединений и аскорбиновой кислоты, указывает на потенциал изученных растений в качестве источников БАВ. Согласно литературным данным, пихтовые экстракты с равным и даже с несколько меньшим количеством исследуемых групп соединений обладают антибактериальной активностью. Кроме того, в литературе, описывающей состав вытяжек из проб хвои представителей семейства Сосновые, отмечен их такой биоактивный потенциал, как антиканцерогенный, антиоксидантный, антинейрогенеративный и другие эффекты за счет веществ фенольной природы [18, 28].

Большее количество соединений содержали пробы псевдотсуга Мензиса. Литературные данные [29] указывают на аналогичный порядок величин содержания АО и полифенольных соединений в пробах хвои хвойных растений. При этом ближе к литературным значениям те варианты нашего эксперимента, где экстрагирование происходило при нагревании.

Результаты исследования подтверждают литературные данные о том, что определить аскорбиновую кислоту и полифенольные соединения из одной пробы затруднительно из-за различия их химических и физических свойств.

Применение пероксида водорода в ИВА позволяет не только рассчитать количество суммы АО в определенной массе исследуемого образца, но и количество пероксида водорода эквивалентное какому-либо количеству экстракта и даже образца растения. Так, в таблице 3 представлены результаты, показывающие, какую массу пероксида водорода (мг) может инактивировать одним миллилитром полученного экстракта.

Таблица 1. Содержание суммы антиоксидантов, полифенольных соединений и аскорбиновой кислоты в пробах хвойных, мг/г (пересчет на абсолютно-сухое вещество)

Образец	Влажность, %	Антиоксиданты		Полифенолы		Аскорбиновая кислота 70% спиртовая (без кипяч, pH ~1.0)
		70% спиртовая (кипяч.)	70% спиртовая (без кипяч., pH ~1.0)	70% спиртовая (кипяч.)	70% спиртовая (без кипяч, pH ~1.0)	
Пихта сибирская (<i>A. sibirica</i>)	50.8	76.0±1.0	53±5	43.14±0.21	26.9±1.1	4.32±0.12
Пихта корейская (<i>A. koreana</i>)	56.7	98±7	91.0±3.0	43.82±0.14	38.6±0.8	1.92±0.06
Псевдотсуга Мензиса (<i>P. menziesii</i>)	66.4	284±12	202±31	93.1±1.7	66.7±0.8	5.54±0.16

Таблица 2. Значения коэффициентов корреляции между величинами сумм АО и отдельных групп веществ

Показатель	Полифенолы	Аскорбиновая кислота
АО (кипячение)	0.99	–
АО (без кипячения, pH ~1.0)	0.99	0.57

Примечание: – в вытяжке после кипячения аскорбиновая кислота не обнаружена.

Таблица 3. Количество пероксида (мг), инактивируемое АО, содержащимися в 1 мл экстракта

Образец	Количество пероксида, мг	
	70% спиртовая (кипяч.)	70% спиртовая (без кипяч., pH ~1.0)
Пихта сибирская (<i>A. sibirica</i>)	0.0600±0.0008	0.0557±0.0004
Пихта корейская (<i>A. koreana</i>)	0.080±0.006	0.049±0.015
Псевдотсуга Мензиса (<i>P. menziesii</i>)	0.166±0.005	0.148±0.011

Таким образом, можно сравнивать активность экстрактов по отношению к такому АФК, как пероксид водорода. Например, для инактивации 1 мг пероксида водорода требуется в три (по сравнению с экстрактом из пихты сибирской) и в два раза (по сравнению с экстрактом из пихты корейской) меньше экстракта псевдотсуги Мензиса.

В целом по результатам исследования следует отметить положительный опыт апробации и валидации методики инверсионно-вольтамперометрического определения АО в водно-спиртовых экстрактах хвой пихт в среде фосфатного буферного раствора с $\text{pH} = 6.8$ с добавлением пероксида водорода в качестве модели активной формы кислорода. В качестве аналитической характеристики использована величина снижения площади пика электровосстановления пероксида водорода на вольтамперограмме. Метод позволяет получать результаты определения АО с хорошей повторяемостью (RSD не превышает 4%) и тесной взаимосвязью между аналитическим сигналом и количеством АО в вытяжке ($R = 0.99$) для растворов, хорошо смешивающихся с водой, и представлять результаты как в пересчете на какой-либо стандарт АО, так и в эквивалентах объемов изучаемых экстрактов на массу инактивируемого пероксида водорода. Установлено, что образцы всех растений содержат значимое количество БАВ, при этом наибольшими антиоксидантными свойствами, содержанием полифенолов и аскорбиновой кислоты обладают экстракты псевдотсуги Мензиса, что может быть связано как с особенностями интродукции, так и индивидуальными особенностями данного вида. Отмечена тесная корреляционная взаимосвязь между суммой АО и количеством полифенольных соединений, которая сохраняется даже в различных условиях пробоподготовки. Подтверждена необходимость раздельной пробоподготовки для определения аскорбиновой кислоты и остальных БАВ. При этом кипячение позволяет экстрагировать большее количество веществ.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Вятского государственного университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Long H., Ting H., Shabnam F., Linbao J., Tianyi L., Xi M. Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species // *Cell Physiol Biochem*. 2017. Vol. 44(2). Pp. 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>.
2. Гаврилов А.Б., Горяинов С.И., Мариничев А.А., Гесслер Н.Н., Кляйн О.И., Исакова Е.П., Дерябина Ю.И. Состав полифенолов в биоматериалах российских хвойных пород // *Химия растительного сырья*. 2019. №2. С. 51–58. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019024260>.
3. Яшин А.Я., Черноусова Н.И. Определение содержания природных антиоксидантов в пищевых продуктах и БАДах // *Пищевая промышленность*. 2007. №5. С. 28–30.
4. Golovko T.K., Silina E.V., Lashmanova E.A., Kozlovskaya A.V. Reactive oxygen species and antioxidants in living systems: an integrated overview // *Theoretical and Applied Ecology*. 2022. Vol. 1. Pp. 17–26. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-1-017-026>.
5. Яшин А.Я. Методология определения антиоксидантной активности пищевых продуктов и биологических жидкостей // *Аналитика*. 2021. Т. 11, №5. С. 370–384. <https://doi.org/10.22184/2227-572X.2021.11.5.370.384>.
6. Semenova V.A., Petrenko E.M. Identification and comparative analysis of alkaloids by inversion voltammetry method // *Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Серия Естественные науки*. 2019. №6 (87). С. 113–121. <https://doi.org/10.18698/1812-3368-2019-6-113-121>.
7. Иванова А.В., Герасимова Е.Л., Газизуллина Е.Р., Тимина Д.С., Герасимова Н.Л., Собина А.В., Шалыгина Ж.В., Крашенинина Н.П. Определение антиоксидантной емкости объектов фармации потенциометрическим методом. Показатели точности измерений // *Журнал аналитической химии*. 2020. Т. 75, №3. С. 259–265. <https://doi.org/10.31857/S004445022003007X>.
8. Вершинин В.И., Белова Е.В. Определение суммарного содержания фенольных антиоксидантов в модельных смесях по методу Фолина-Чокальтеу и по методу FRAP // *Аналитика и контроль*. 2019. Т. 23, №3. С. 314–322. <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.3.008>.

9. Лира О.А., Абдуллина С.Г. Кулонометрическое определение аскорбиновой кислоты // Образовательный вестник «Сознание». 2010. №9. С. 431–432.
10. Biswas A., Dey S., Xiao A., Deng Y., Birhanie Z.M., Roy R., Akhter D., Liu L., Li D. Ultrasound-assisted extraction (UAE) of antioxidant phenolics from *Corchorus olitorius* leaves: a response surface optimization // Chemical and Biological Technologies in Agriculture. 2023. Vol. 10, no. 64. P. 1–18. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00443-2>.
11. Раимова К.В., Абдулладжанова Н.Г., Матчанов А.Д. Химическая структура полифенольного состава листьев боярышника понтийского *Crataegus Pontica* // Химия растительного сырья. 2023. №4. С. 147–154. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230412529>.
12. ОФС.1.5.3.0006. Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах.
13. Базыкина Н.И., Николаевский А.Н., Филиппенко Т.А., Калоерова В.Г. Оптимизация условий экстрагирования природных антиоксидантов из растительного сырья // Химико-фармацевтический журнал. 2002. Т. 36, №2. С. 46–49. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2002-36-2-46-49>.
14. ГОСТ 24556-89. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С. М., 1989. 11 с.
15. ГОСТ Р 54037-2010. Национальный стандарт Российской Федерации продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках Foodstuffs. М., 2010. 8 с.
16. Еремеева Н.Б., Макарова Н.В. Влияние технологии экстракции на антиоксидантную активность экстрактов черноплодной рябины // Вестник МГТУ. 2017. Т. 20, №3. С. 600–608. <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2017-20-3-600-608>.
17. Rabiepour A., Babakhan A., Rahimabadi E.Z. Effect of extraction methods on the antioxidant properties of water hyacinth, *Eichhornia crassipes* // Caspian Journal of Environmental Sciences. 2024. Vol. 23, no. 1. Pp. 97–115. <https://doi.org/10.22124/CJES.2024.8015>.
18. Буркова В.Н., Сергун В.П., Иванов А.А. Химический состав и фармакологическая активность водной экстракта пихты сибирской (*Abies Sibirica* L.) // Химия растительного сырья. 2022. №2. С. 19–34. <https://doi.org/10.14258/jcpim.20220210469>.
19. Ferreira J.P., Miranda I., Gominho J., Pereira H. Selective fractioning of *Pseudotsuga menziesii* bark and chemical characterization in view of an integrated valorization // Industrial Crops and Products. 2015. Vol. 74. Pp. 998–1007. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.065>.
20. Боголицын К.Г., Гусакова М.А., Красикова А.А., Хвиюзов С.С., Самсонова Н.А., Селиванова Н.В., Пустынная М.А. Динамика процессов образования и накопления фенольных и пигментных комплексов в хвое сосны *Pinus sylvestris* // Физиология растений. 2024. Т. 29 (2). С. 385–394. <https://doi.org/10.1007/s40502-024-00795-3>.
21. Kim E., Yang S., Jeon B.B., Song E., Lee H. Terpene compound composition and antioxidant activity of essential oils from needles of *Pinus densiflora*, *Pinus koraiensis*, *Abies holophylla*, and *Juniperus chinensis* by harvest period // Forests. 2024. Vol. 15, no. 3. 566. <https://doi.org/10.3390/f15030566>.
22. ОФС.1.1.0012. Валидация аналитических методик.
23. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.
24. ГОСТ Р 8.736-2011. Государственная система обеспечения единства измерений. Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения. М., 2011.
25. Мирзорохимов К.К. Выделение и идентификация полифенольных соединений из некоторых дикорастущих растений флоры Таджикистана // Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение физико-математических, химических, геологических и технических наук. 2014. №4. С. 56–63.
26. Абашкин И.А., Елеев Ю.А., Глухан Е.Н., Кучинский Е.В., Афанасьев В.В. Методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья (обзор) // Химия и технология органических веществ. 2021. №2. С. 43–59.
27. Pisoschi A.M., Pop A., Iordache F., Stanca L., Bilteanu L., Serban A.I. Antioxidant determination with the use of carbon-based electrodes // Chemosensors. 2021. Vol. 9, no. 4. 72. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9040072>.
28. Popescu D.I., Frum A., Dobrea C.M., Cristea R., Gligor F.G., Vicas L.G., Georgescu C. Comparative antioxidant and antimicrobial activities of several conifer needles and bark extracts // Pharmaceutics. 2023. Vol. 16, no. 1. 52. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010052>.
29. Geana E.I., Ciucure C.T., Tamaian R., Marinas I.C., Gaboreanu D.M., Stan M., Chitescu C.L. Antioxidant and wound healing bioactive potential of extracts obtained from bark and needles of softwood species // Antioxidants. 2023. Vol. 12, no. 7. 1383. <https://doi.org/10.3390/antiox12071383>.

Поступила в редакцию 16 июля 2025 г.

После переработки 31 августа 2025 г.

Принята к публикации 7 октября 2025 г.

Fokina A.I.*, Adamovich T.A., Trefilova L.V. APPROACHES TO DETERMINING ANTIOXIDANTS IN SAMPLES OF NEEDLES OF VARIOUS REPRESENTATIVES OF THE PINE FAMILY

Vyatka State University, st. Moskovskaya, 36, Kirov, 610000, Russia, usr08614@vyatsu.ru

The leading theory explaining the negative impact of various factors on the body is currently considered to be the theory of oxidative stress. A way to combat this phenomenon is the use of antioxidants. Numerous methods and approaches for determining antioxidants have been described in the literature. However, there is still no generally accepted approach to determining and assessing the amount of antioxidants in plant samples, as plants are complex in composition, including the composition of reducing substances. Therefore, it is reasonable to describe the analytical results comprehensively. Therefore, the aim of this study was to employ several methods for determining antioxidants: spectrophotometry with the Folin-Ciocalteu reagent, coulometric titration with iodine, and stripping voltammetry in alcohol extracts after and without boiling, but with the addition of hydrochloric acid to the extracting solution. Samples of needles from various representatives of the Pinaceae family were used as the object of study. A stripping voltammetric method for the determination of antioxidants in aqueous-alcoholic extracts of fir needles in a phosphate buffer solution at pH 6.8 with the addition of hydrogen peroxide as a model reactive oxygen species was tested and validated. The method allows for obtaining results both in terms of an antioxidant standard and as equivalent volumes of the studied extracts per mass of inactivated hydrogen peroxide. All plant samples were found to contain significant amounts of biologically active substances, with extracts from Hemlock (*Pseudotsuga menziesii*) exhibiting the highest antioxidant properties, polyphenol content, and ascorbic acid content. A close correlation was observed between the total antioxidant content and the amount of polyphenolic compounds in the samples.

Keywords: antioxidants, conifers, extracts, stripping voltammetry, coulometry, spectrophotometry.

For citing: Fokina A.I., Adamovich T.A., Trefilova L.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2026, no. 2, Online First. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20260217651>.

References

1. Long H., Ting H., Shabnam F., Linbao J., Tianyi L., Xi M. *Cell Physiol Biochem.*, 2017, vol. 44(2), pp. 532–553. <https://doi.org/10.1159/000485089>.
2. Gavrillov A.B., Goryainov S.I., Marinichev A.A., Gessler N.N., Klyayn O.I., Isakova Ye.P., Deryabina Yu.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 2, pp. 51–58. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019024260>. (in Russ.).
3. Yashin A.Ya., Chernousova N.I. *Pishchevaya promyshlennost'*, 2007, no. 5, pp. 28–30. (in Russ.).
4. Golovko T.K., Silina E.V., Lashmanova E.A., Kozlovskaya A.V. *Theoretical and Applied Ecology*, 2022, vol. 1, pp. 17–26. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-1-017-026>.
5. Yashin A.Ya. *Analitika*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 370–384. <https://doi.org/10.22184/2227-572X.2021.11.5.370.384>. (in Russ.).
6. Semenova V.A., Petrenko E.M. *Vestnik MGTU im. N.E. Baumana. Seriya Yestestvennyye nauki*, 2019, no. 6 (87), pp. 113–121. <https://doi.org/10.18698/1812-3368-2019-6-113-121>.
7. Ivanova A.V., Gerasimova Ye.L., Gazizullina Ye.R., Timina D.S., Gerasimova N.L., Sobina A.V., Shalygina Zh.V., Krasheninina N.P. *Zhurnal analiticheskoy khimii*, 2020, vol. 75, no. 3, pp. 259–265. <https://doi.org/10.31857/S004445022003007X>. (in Russ.).
8. Vershinin V.I., Belova Ye.V. *Analitika i kontrol'*, 2019, vol. 23, no. 3, pp. 314–322. <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.3.008>. (in Russ.).
9. Lira O.A., Abdullina S.G. *Obrazovatel'nyy vestnik «Soznaniye»*, 2010, no. 9, pp. 431–432. (in Russ.).
10. Biswas A., Dey S., Xiao A., Deng Y., Birhanie Z.M., Roy R., Akhter D., Liu L., Li D. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2023, vol. 10, no. 64, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00443-2>.
11. Raimova K.V., Abdulladzhanova N.G., Matchanov A.D. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* 2023, no. 4, pp. 147–154. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20230412529>. (in Russ.).
12. *OFS.1.5.3.0006. Opredeleniye sodержaniya ekstraktivnykh veshchestv v lekarstvennom rastitel'nom syr'ye i lekarstvennykh rastitel'nykh preparatakh*. [OFS.1.5.3.0006. Determination of the content of extractive substances in medicinal plant materials and medicinal herbal preparations]. (in Russ.).
13. Bazykina N.I., Nikolayevskiy A.N., Filippenko T.A., Kaloyerova V.G. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*, 2002, vol. 36, no. 2, pp. 46–49. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2002-36-2-46-49>. (in Russ.).
14. *GOST 24556-89. Produkty pererabotki plodov i ovoshchey. Metody opredeleniya vitamina C*. [GOST 24556-89. Processed fruit and vegetable products. Methods for determination of vitamin C]. Moscow, 1989, 11 p. (in Russ.).
15. *GOST R 54037-2010. Natsional'nyy standart Rossiyskoy Federatsii produkty pishchevyye. Opredeleniye so-derzhaniya vodorastvorimyykh antioksidantov amperometricheskim metodom v ovoshchakh, fruktakh, produktakh ikh pererabotki, alkohol'nykh i bezalkogol'nykh napitkakh Foodstuffs*. [GOST R 54037-2010. National standard of the Russian Federation for food products. Determination of water-soluble antioxidant content by the amperometric method in vegetables, fruits, their processed products, alcoholic and non-alcoholic beverages Foodstuffs]. Moscow, 2010, 8 p. (in Russ.).
16. Yeremeyeva N.B., Makarova N.V. *Vestnik MGTU*, 2017, vol. 20, no. 3, pp. 600–608. <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2017-20-3-600-608>. (in Russ.).
17. Rabiepour A., Babakhani A., Rahimabadi E.Z. *Kaspian Journal of Environmental Sciences*, 2024, vol. 23, no. 1, pp. 97–115. <https://doi.org/10.22124/CJES.2024.8015>.

* Corresponding author.

18. Burkova V.N., Sergun V.P., Ivanov A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2022, no. 2, pp. 19–34. <https://doi.org/10.14258/jcpim.20220210469>. (in Russ.).
19. Ferreira J.P., Miranda I., Gominho J., Pereira H. *Industrial Crops and Products*, 2015, vol. 74, pp. 998–1007. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.065>.
20. Bogolitsyn K.G., Gusakova M.A., Krasikova A.A., Khviyuzov S.S., Samsonova N.A., Selivanova N.V., Pustynnaya M.A. *Fiziologiya rasteniy*, 2024, vol. 29 (2), pp. 385–394. <https://doi.org/10.1007/s40502-024-00795-3>. (in Russ.).
21. Kim E., Yang S., Jeon B.B., Song E., Lee H. *Forests*, 2024, vol. 15, no. 3, 566. <https://doi.org/10.3390/f15030566>.
22. *OFS.1.1.0012. Validatsiya analiticheskikh metodik*. [OFS.1.1.0012. Validation of analytical methods]. (in Russ.).
23. *Rukovodstvo po metodam kontrolya kachestva i bezopasnosti biologicheskii aktivnykh dobavok k pishche*. [Guidelines for quality control and safety of dietary supplements]. Moscow, 2004. (in Russ.).
24. *GOST R 8.736-2011. Gosudarstvennaya sistema obespecheniya yedinstva izmereniy. Izmereniya pryamyie mnogo-kratnyie. Metody obrabotki rezul'tatov izmereniy. Osnovnyie polozheniya*. [GOST R 8.736-2011. State system for ensuring the uniformity of measurements. Direct multiple measurements. Methods for processing measurement results. Basic provisions]. Moscow, 2011. (in Russ.).
25. Mirzorakhimov K.K. *Izvestiya Akademii nauk Respubliki Tadjikistan. Otdeleniye fiziko-matematicheskikh, khimicheskikh, geologicheskikh i tekhnicheskikh nauk*, 2014, no. 4, pp. 56–63. (in Russ.).
26. Abashkin I.A., Yeleyev Yu.A., Glukhan Ye.N., Kuchinskiy Ye.V., Afanas'yev V.V. *Khimiya i tekhnologiya organicheskikh veshchestv*, 2021, no. 2, pp. 43–59. (in Russ.).
27. Pisoschi A.M., Pop A., Iordache F., Stanca L., Bilteanu L., Serban A.I. *Chemosensors*, 2021, vol. 9, no. 4, 72. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9040072>.
28. Popescu D.I., Frum A., Dobrea C.M., Cristea R., Gligor F.G., Vicas L.G., Georgescu C. *Pharmaceutics*, 2023, vol. 16, no. 1, 52. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010052>.
29. Geana E.I., Ciucure C.T., Tamaian R., Marinas I.C., Gaboreanu D.M., Stan M., Chitescu C.L. *Antioxidants*, 2023, vol. 12, no. 7, 1383. <https://doi.org/10.3390/antiox12071383>.

Received July 16, 2025

Revised August 31, 2025

Accepted October 7, 2025

Сведения об авторах

Фокина Анна Ивановна – кандидат биологических наук, доцент, annushka-fokina@mail.ru

Адамович Татьяна Анатольевна – кандидат географических наук, доцент, tjnadamvich@rambler.ru

Трефилова Людмила Васильевна – кандидат биологических наук, доцент, nodularia@mail.ru

Information about authors

Fokina Anna Ivanovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, annushka-fokina@mail.ru

Adamovich Tatyana Anatolyevna – Candidate of Geographical Sciences, Associate Professor, tjnadamvich@rambler.ru

Trefilova Lyudmila Vasilyevna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, nodularia@mail.ru