

УДК 543.3

Исследование антиоксидантной активности питьевых и модифицированных вод кинетическим методом

Некрасова Л.П.

ФГБУ «НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (119992, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 1), e-mai:laranekrasova@gmail.coml

Исследовано окисление адреналина в питьевых и модифицированных водах. Бутилированные воды характеризуются близкими значениями скорости реакции окисления адреналина. В водопроводной воде наблюдается ускорение процесса. Резкие изменения окислительно-восстановительного потенциала при электрохимической активации не всегда влияют на скорость окисления адреналина. отождествление скорости реакции окисления адреналина в воде с ее антиоксидантной активностью носит дискуссионный характер.

Ключевые слова: вода, электрохимическая активация, окисление адреналина, антиоксидантная активность.

A STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY DRINKING AND MODIFIED WATERS BY KINETIC METHOD

Nekrasova L.P.

Federal State Organisation «A.N. Sysin Scientific Research Institute of Human Ecology and Environmental Healths», Ministry of Health of the Russian Federation. (Pogodinskaya str.10, Moscow, 119992, Russian Federation), e-mai:laranekrasova@gmail.coml

Oxidation of adrenaline in modified drinking waters have been researched . Bottled waters are characterized by similar values of the reaction rate of oxidation of adrenaline. Acceleration of the process is observed in tap water. Abrupt changes in the redox potential during in electrochemical activation don't always affect the rate of oxidation of adrenaline. The identification of the reaction rate of oxidation of adrenaline in the water with its antioxidant activity is a discussion.

Keywords: water, electrochemical activation, oxidation of adrenaline, antioxidant activity.

Введение. Под действием магнитных полей, электрохимической активации, кавитации и других физических воздействий изменяются окислительно-восстановительный потенциал, рН, электропроводимость водной среды [1, 2]. Отмечены также изменения коэффициента поверхностного натяжения, вязкости, диэлектрической проницаемости и др. параметров [3]. В работах последних лет показано, что под действием факторов низкой интенсивности, таких как видимый свет и умеренный нагрев (40° С) в воде и водных растворах происходит образование активных форм кислорода (АФК) [4], играющих важную роль в процессах жизнедеятельности. АФК, с одной стороны, являются фактором риска, вызывают поражения ДНК, ведут к преждевременному старению и развитию различных патологий, но, с другой стороны, необходимы для нормальной жизнедеятельности клетки [5]. Протекание свободно радикальных процессов в организме является нормальным физиологическим процессом. Однако нарушение баланса между процессами образования и расходования пероксидов является причиной нарушения антиоксидантного статуса организма и развития заболеваний. Отрицательное действие избытка свободных радикалов ведет к развитию окислительного стресса, предотвратить который можно с помощью регулирования потребления продуктов, обладающих антиоксидантной активностью. Поэтому определение антиоксидантов в продуктах и биологических жидкостях является важной аналитической задачей. Возрастающий оборот воды, подвергнутой технологической обработке различными физическими методами ставит вопрос об изучении физиологической ценности такой воды. В последнее время высказана точка зрения, что про/антиоксидантная активность воды является важным показателем ее качества [6].

Целью данной работы было сравнить процессы окисления адреналина в питьевых водах различных марок и оценить чувствительность скорости реакции к воздействию физических факторов.

Материалы и методы. рН и ОВП исследуемых образцов измеряли с помощью иономера «Экотест-120». Для измерения рН использовали ионселективный стеклянный электрод с твердым контактом «ЭКОМ-рН» (НПП «Эконикс». Окислительно-восстановительный потенциал измеряли при помощи платинового электрода ЭПВ-1ср. (РУП «Гомельский завод измерительных приборов», Беларусь). В качестве

электрода сравнения для потенциометрических измерений использовали хлорсеребряный электрод ЭВЛ-1М3.1 (РУП «Гомельский завод измерительных приборов», Беларусь). Измерения спектров поглощения и флуоресценции, а также регистрацию оптической плотности растворов в режиме «кинетика» проводили на спектрофлуориметре СМ 2203 (ЗАО «Солар», Беларусь) при температуре 22°С.

Электрохимически активированную воду получали на промышленно выпускаемых активаторах: АП-1 (ЧНПУП «Акваприбор», Беларусь), «Здрава 3.3» (Дальприбор, Владивосток) и фильтра электрохимической очистки «Изумруд» (НИЦ «Икар», Ижевск). В качестве ФПУ-генератора использовали прибор «Бон-Эко» (ЗАО «Красное Знамя – системы безопасности», Рязань)

Реактивы Na_2CO_3 (х.ч.), NaOH (х.ч.), NaHCO_3 (ч.д.а.) использовали без предварительной очистки, адреналина гидрохлорид (аптечная форма, ФГУП «Московский эндокринный завод»).

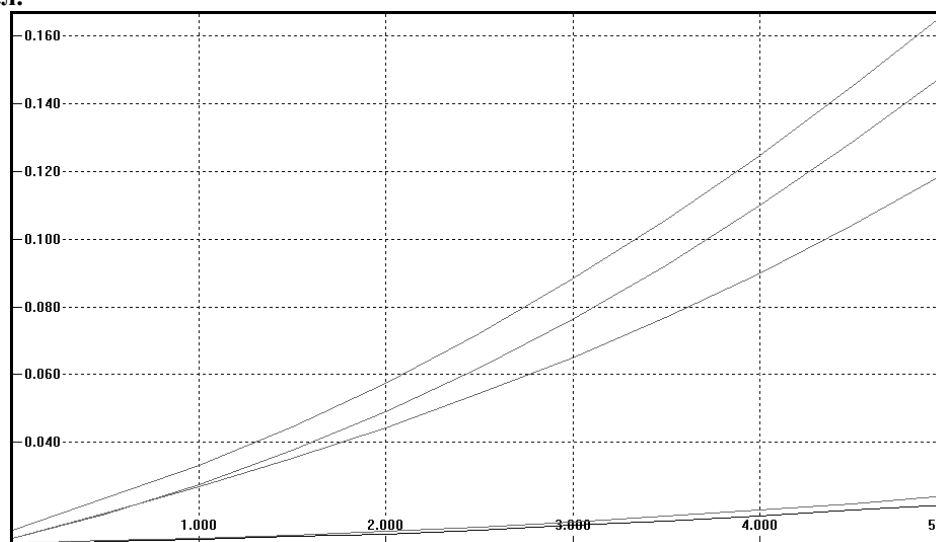
Определение АОА воды проводили в соответствии с [6]: в одноразовую кювету из полистирола помещали 1 мл исследуемого образца, добавляли 1 мл карбонатного буфера (рН 10,7), перемешивали, добавляли 0,1 мл раствора адреналина, еще раз перемешивали и измеряли оптическую плотность при 347 нм относительно холостой пробы в течение 4 – 6 минут. Скорость реакции окисления адреналина рассчитывали по формуле: $V = (D_t - D_0)/\Delta t \times 100$,

где D_0 – оптическая плотность сразу после внесения адреналина (оптическая плотность раствора, не содержащего адреналин), D_t – оптическая плотность через промежуток времени Δt ($\Delta t = 4 - 6$). Полагали, что скорость реакции является мерой анти/прооксидантной активности исследуемых образцов.

Результаты и обсуждение. Определение антиоксидантов в продуктах питания является важной и актуальной задачей. Для определения АОА предложено много различных методов, основанных на различных принципах и физических явлениях. Для оценки антиоксидантной активности воды предложен кинетический метод, основанный на регистрации скорости накопления продукта аутоокисления адреналина [6]. Взаимодействие адреналина со следами металлов переменной валентности в щелочной среде приводит к образованию супероксидного радикала и инициированию цепной реакции. Мерой оценки интенсивности аутоокисления адреналина служит количество образующегося аденохрома [7], оцениваемого по поглощению при 480 - 490 нм или промежуточного продукта реакции, предшествующего образованию аденохрома, интенсивно поглощающего при 347 нм [6]. Введение в систему соединений, способных конкурировать за супероксидрадикал приводит к снижению скорости образования продуктов реакции.

Кинетические кривые для различных вод имеют различный вид. В ряде случаев в бутилированных водах скорость окисления адреналина увеличивается с течением времени. В водопроводной воде, воде природных источников, а также некоторых бутилированных водах реакция с течением времени замедляется, что позволяет предположить различные механизмы реакций в исследованных образцах. Если говорить о механизме процесса, то характер зависимости D от времени позволяет отметить, что аутоокисление реализуется для образцов, представленных на рисунке 1, в то время как окисление адреналина в водопроводной воде протекает по иному механизму. Характер зависимости обусловлен, вероятно, присутствием в воде примесей различной природы.

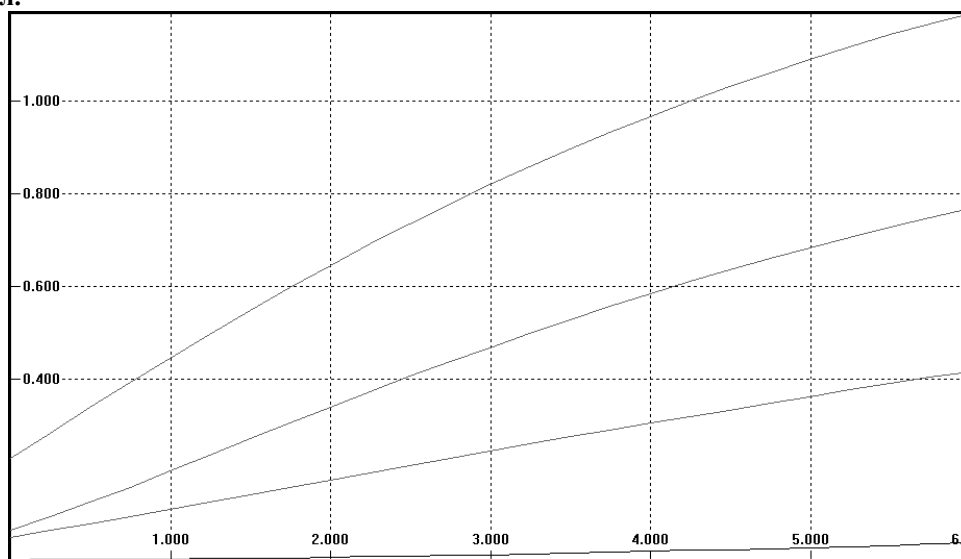
D, бел.



Время, мин.

Рисунок 1. Зависимость оптической плотности ($\lambda=347$ нм) от времени. Бутилированные воды в порядке увеличения D: Шишкин лес, Святой источник, Архыз, БиоВита, Evian, БонАква

D, бел.



Время, мин.

Рисунок 2. Зависимость оптической плотности ($\lambda=347$ нм) от времени в порядке увеличения оптической плотности: дистиллированная вода, анолит водопроводной воды, католит водопроводной воды, водопроводная вода.

В таблице 1 представлены результаты определения АОО бутилированных вод. В качестве дополнительных характеристик приведены электропроводимость и оптическая плотность при 254 нм, значение которой соотносится с содержанием общего углерода в пробе. Как видно из представленных данных корреляция между выбранными параметрами отсутствует. Для воды «Шишкин лес» характерно предельно низкое значение скорости реакции окисления адреналина, в то время как это – самая минерализованная вода из исследованных. В этом случае не наблюдается также прооксидантное действие ионов кальция [6]. Предложено ингибирование реакции расценивать как антиоксидантную активность, а активирование – как прооксидантную [6]. При этом точкой отсчета был выбран бидистиллят, в котором скорость аутоокисления адреналина минимальна. Однако известно, что дистиллированная вода не является физиологически полноценной, длительное употребление которой приводит к нарушениям функций различных систем организма [8]. Также такая классификация не учитывает двойственную функцию АФК в организме. Следует отметить, что ни в одном из исследованных образцов воды не была зафиксирована меньшая скорость реакции, чем для бидистиллята. Т.е. любые воды по значению АОО уступают очищенной воде, с чем трудно согласиться. С большой вероятностью, наиболее физиологически ценная вода должна иметь некие средние значения антиоксидантной активности, как это справедливо в отношении таких показателей, как рН, ОВП, общая минерализация воды. Поэтому, вопрос о границах благоприятного диапазона антиоксидантной активности воды (полученных из данных кинетического метода) в настоящее время остается открытым.

Таблица 1.

Физико-химические свойства бутилированных вод.

Образец	Электропроводимость, мкСм	Оптическая плотность 254 нм, бел.	Оптическая плотность 220 нм, бел	Скорость образования продукта усл.ед.
Бутилированные воды				
Архыз	283,7	0,001	0,050	2,52 ± 0,21
Святой источник	313,5	0,008	0,022	2,33 ± 0,14
БонАква	445,0	0,011	0,135	3,45 ± 0,26
Evian	593,0	0,001	0,233	2,94 ± 0,16
Биовита	749,0	0,024	0,638	2,78 ± 0,37
Шишкин лес	758,0	0,014	0,340	0,25 ± 0,05
Малышка	521,0	0,003	0,069	1,87 ± 0,09
Природные воды источников				
Тихонова пустынь	492	0,017	0,301	2,58 ± 0,013

Курганы	486	0,008	1,474	1,95 ± 0,011
---------	-----	-------	-------	--------------

Значительное место среди способов обработки воды принадлежит электрохимической активации. Поэтому особый интерес представляло исследование процессов окисления адреналина в электрохимически активированной воде. Для контроля эффективности электрохимической активации используют значение окислительно-восстановительного потенциала, полученное путем прямого измерения на платиновом электроде. Вода из катодного пространства при таких измерениях имеет отрицательный окислительно-восстановительный потенциал, что сформировало у части исследователей мнение о мощном антиоксидантном действии католита. Однако целый ряд экспериментальных данных не подтверждают это предположение. Так католит дистиллированной воды не восстанавливает феррицианид калия и 5,5'-дитиобис-(2-нитробензойную кислоту) [9], активированные растворы бихромата калия приобретают отрицательный ОВП без потери окислительных свойств [10]. Показано, что отрицательные значения ОВП на платиновом электроде не отражают окислительно-восстановительных свойств активированных растворов [11]. В настоящее время причина отрицательных значений ОВП неизвестна [3]. Также остается открытым вопрос об антиоксидантных свойствах электрохимически активированной воды.

Были исследованы водопроводная и дистиллированная воды, активированные в электролизерах различного типа. Скорость окисления адреналина в католите дистиллированной воды, полученного в электролизере АП-1 с керамической перегородкой возрастает по сравнению с исходным значением более, чем в 4 раза (табл.2). При этом электропроводимость католита по сравнению с дистиллированной водой увеличивается в 40 раз, что обусловлено «вымыванием» катионов из пористой перегородки. Скорость реакции в католите водопроводной воды, наоборот, меньше скорости в водопроводной воде примерно на 38%. Вопреки сложившемуся мнению, что анолит обладает свойствами проксиданта, оказалось, что анолит водопроводной воды ингибирует реакцию окисления адреналина почти в 2 раза эффективнее, чем католит, что указывает на более выраженную прооксидантную активность католита. Обращает на себя внимание отсутствие зависимости между измеренными значениями ОВП и скорости окисления адреналина. Не обнаружено изменения скорости реакции при бесконтактной активации и при электрохимической очистке водопроводной воды в фильтре «Изумруд». Фактически, в ряде случаев, при огромных изменениях электрохимических параметров воды при электрохимической обработке не выявлено влияния этих изменений на процессы окисления адреналина.

Противоположный эффект наблюдается в случае обработки бутилированной воды ФПУ-генератором, работающем на эффекте Ферми – Паста-Улофа. При минимальных изменениях электрохимических параметров наблюдается выраженное изменение скорости окисления адреналина.

Таблица 2.

Физико-химические характеристики вод, обработанных электромагнитными полями (модифицированных).

Объект исследования	Электропроводимость, мкСм	pH	ОВП, мВ	Скорость реакции V, у,е
Дистиллированная вода	5,5	5,66	348	2,10±0,39
Дистиллированная вода, бесконтактно активированная	5,6	5,83	-230	2,05±0,15
Католит дистиллированной воды	176	10,85	-360	8,86±0,98
Водопроводная вода 1	528	7,64	324	19,64±0,38
Католит водопроводной воды 1	433	10,39	-302	12,57±0,49
Анолит водопроводной воды 1	889	3,0	889	6,88±0,1
Водопроводная вода 2	-	7,49	332	16,30±0,68
Водопроводная вода 2, очищенная фильтром электрохимической очистки «Изумруд»	-	7,85	- 156	16,20±0,55
Бутилированная вода	-	7,98	292	7,04±0,19
Бутилированная вода, обработанная ФУП-генератором	-	8,19	282	8,66±0,18

Были проведены исследования влияния некоторых веществ на процесс окисления адреналина в щелочной среде. Аскорбат натрия ингибировал процесс, в то время как гидрохинон и зеленый чай его активировали. Не оказывали влияния на окисление адреналина бычий сывороточный альбумин и краситель

малахитовый зеленый. Достоверно измеряемой величиной в кинетическом методе, является скорость окисления адреналина. Присвоение значениям скорости реакции антиоксидантной или прооксидантной активности не имеет под собой научных обоснований. Поэтому для характеристики использованных вод в настоящее время корректным будет использование параметра скорость образования продукта окисления адреналина.

Выводы.

Полученные значения скоростей реакции окисления адреналина в различных водах не позволяют сделать однозначных выводов об анти/прооксидантной активности исследованных вод.

Границы диапазона значений антиоксидантной активности физиологически полноценных вод в настоящее время неизвестны.

Бесконтактная электрохимическая активация и электрохимическая очистка водопроводной воды не оказывают влияния на процесс окисления адреналина.

Анолит водопроводной воды эффективнее католита ингибирует окисление адреналина.

Отождествление скорости реакции окисления адреналина в воде с ее антиоксидантной активностью носит дискуссионный характер.

Литература.

1. Классен В.И. Омагничивание водных систем. М.: Химия. 1978.
2. Леонов Б.И., Прилуцкий В.И., Бахир В.М. Физико-химические аспекты биологического действия электрохимически активированной воды. М.: Академия медико-технических наук РФ. 1999. 243 с.
3. Лобышев В.И. Вода как сенсор слабых взаимодействий физической и химической природы // Рос. хим. журн. 2007. Т. 51. №1. С.107-114
4. Брусков В.И., Масалимов Ж.К., Черников А.В. Образование активных форм кислорода в воде под действием тепла // Докл. АН. 2002. Т. 384. № 6. С. 821-824
5. Vladimirov Yu.A. THE LOSS OF BARRIER PROPERTIES BY INNER AND OUTER MITOCHONDRIAL MEMBRANES, NECROSIS AND APOPTOSIS. // Биол. Мембраны. 2002. Т. 19. № 5. С. 356 – 377.
6. Сирота Т.В., Мирошников А.И., Новиков К.Н. Оценка про/антиоксидантных свойств воды и водных растворов // Биофизика. 2010. Т. 55. №6. С. 990-995.
7. Симонян М.А., Налбандян Р.М. Получение электрофоретически гомогенного препарата эритрокупреина и его тепловая денатурация // Биохимия. 1975. Т. 40. № 4. С. 726-732.
8. Рахманин Ю.А. Гигиенические основы дистилляционного опреснения воды для хозяйственно-питьевого водоснабжения // Автореферат дисс. докт. мед. наук. М. 1980. 54с.
9. Петрушанко И.Ю., Лобышев В.И. Физико-химические свойства водных растворов, полученных в мембранном электролизере // Биофизика. 2004. Т. 49. Вып. 1. С. 22-31.
10. Некрасова Л.П. Необычные свойства некоторых бесконтактно активированных растворов // Усп. современного естествознания. 2013. № 4. С. 87 – 92.
11. Некрасова Л.П. Проблемы измерения и интерпретации окислительно-восстановительного потенциала активированных вод // Межд. журн. прикладных и фундаментальных исследований. 2013. № 11 (часть 2). С. 13 -18.