

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2595814

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ/ОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ОРГАНИЧЕСКИХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ СРЕД

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Уральский государственный экономический университет" (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2015123278

Приоритет изобретения **17 июня 2015 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **04 августа 2016 г.**

Срок действия патента истекает **17 июня 2035 г.**

*Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности*

Г.Н. Ивлиев





**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015123278/15, 17.06.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
17.06.2015

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 17.06.2015

(45) Опубликовано: 27.08.2016 Бюл. № 24

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: RU 2235998, 10.09.2004. RU 2486499,
27.06.2013. RU 2433405, 10.11.2011.

Адрес для переписки:

115551, Москва, Шипиловский пр-д, 41, корп. 1,
кв. 51, Скибневскому А.Ю.

(72) Автор(ы):

**Брайнина Хьена Залмановна (RU),
Ходос Марк Яковлевич (RU),
Захаров Александр Сергеевич (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

**Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Уральский государственный
экономический университет" (RU)**

**(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕГРАЛЬНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ/ОКСИДАНТНОЙ
АКТИВНОСТИ ОРГАНИЧЕСКИХ КОНДЕНСИРОВАННЫХ СРЕД**

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу определения интегральной антиоксидантной/оксидантной активности органических конденсированных сред, в том числе биологических. Способ включает приготовление исходного раствора, содержащего медиаторную систему, состоящую из реагентов, включающих элемент в окисленной и восстановленной форме, или соединений, образующих обратимую окислительно-восстановительную пару, и оценку антиоксидантной/оксидантной активности по электрохимическим параметрам анализируемого объекта, введенного в исходный раствор. При этом перед введением в исходный раствор анализируемый объект диспергируют в водном растворе этанола в пропорции 1:0,8...1,2 по

объему до размера частиц не более 0,5 мкм. Водно-спиртовой раствор готовят с соотношением компонентов 1:1 по объему. Время хранения подготовленной пробы не более 30 мин. Электрохимическим параметром оценки антиоксидантной/оксидантной активности служит изменение окислительно-восстановительного потенциала после введения смеси анализируемой жидкости в водно-спиртовом растворе в буферный раствор, содержащий медиаторную систему. Использование настоящего способа позволяет повысить достоверность и точность получаемой информации и уменьшить время анализа, расширить число анализируемых объектов. 3 з.п. ф-лы, 10 пр., 5 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2015123278/15, 17.06.2015**(24) Effective date for property rights:
17.06.2015

Priority:

(22) Date of filing: **17.06.2015**(45) Date of publication: **27.08.2016** Bull. № **24**

Mail address:

**115551, Moskva, SHipilovskij pr-d, 41, korp. 1, kv.
51, Skibnevskomu A.JU.**

(72) Inventor(s):

**Brajnina KHena Zalmanovna (RU),
KHodos Mark YAKovlevich (RU),
Zakharov Aleksandr Sergeevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Uralskij gosudarstvennyj
ekonomicheskij universitet" (RU)**(54) **METHOD OF DETERMINING INTEGRAL ANTIOXIDANT/OXIDANT ACTIVITY OF ORGANIC CONDENSED MEDIA**

(57) Abstract:

FIELD: biology.

SUBSTANCE: invention relates to method of determining integral antioxidant/oxidant activity of organic condensed media, including biological ones. Method involves preparation of initial solution containing a mediator system consisting of reagents, including element in the oxidised and reduced form, or compounds, which form reversible redox pair, and evaluation of antioxidant/oxidant activity in electrochemical parameters of analysed object, introduced to initial solution. At that, before introduction into initial solution the analysed object is dispersed in water solution of ethanol in ratio 1:0.8...1.2

volume to particle size of not more than 0.5 mqm. Water-alcohol solution is prepared with ratio of 1:1 by volume. Storage time of prepared sample is not more than 30 minutes. Electrochemical parameter of evaluation of antioxidant/oxidant activity is change in redox potential after introduction of mixture of analysed liquid in aqueous-alcoholic solution in buffer solution containing mediator system.

EFFECT: use of present method enables higher reliability and accuracy of obtained information and reduced analysis time, expand number of analysed objects.

4 cl, 10 ex, 5 tbl

Изобретение относится к области электрохимических методов анализа, в частности, к определению интегральной антиоксидантной/оксидантной активности (АОА/ОА) органических конденсированных сред, включая биологические.

5 Существует способ определения оксидантной активности, в котором проводят анализ биологических объектов по 54 параметрам, являющимся индикаторами оксидантного стресса, и сравнивают полученные значения с нормальным уровнем, используя специальные диаграммы (патент США 5950634).

10 Недостатком известного способа является необходимость определения большого количества параметров, характеризующих исследуемый объект, что определяет высокую сложность анализа и неоднозначность результатов.

Известен способ определения антиоксидантной активности, включающий оценку антиоксидантной активности по электрохимическим параметрам раствора ("Free Radical Biology & Medicine", 2000, Vol. 28, №6, pp. 860-870).

15 К недостаткам данного способа следует отнести то, что не все антиоксиданты обладают электрохимической активностью в доступной для выбранного электрода области потенциалов и соответственно не дают волну окисления при использовании циклической вольтамперометрии. Также не может быть получена информация об активности (концентрации) оксидантов.

Известен способ определения суммарной концентрации антиоксидантов, в котором 20 в качестве окислителя, взаимодействующего с антиоксидантами, используются ионы железа Fe^{3+} в составе комплексного соединения. Измерения железовосстанавливающей антиоксидантной способности (Ferricreducing/antioxidantpowerassay - FRAP) проводят методом спектрофотометрии, используя реакцию восстановления Fe(III)-трипиридилтриазина до Fe(II)-трипиридилтриазина, который окрашен в интенсивно 25 синий цвет (максимум поглощения при 593 нм) (Патент США 6177260).

30 Недостатком этого способа является то, что в круг определяемых соединений не входят важнейшие сульфгидрильные SH-содержащие антиоксиданты, такие как глутатион и цистеин, т.к. измерения проводятся в кислой среде. В связи с этим этот метод не позволяет судить об общем содержании антиоксидантов в объекте исследования.

Наиболее близким техническим решением по способу, выбранному в качестве прототипа, является способ определения интегральной антиоксидантной/оксидантной активности органических объектов, включающий приготовление исходного раствора, 35 в который вводят медиаторную систему, содержащую одновременно окисленную и восстановленную формы реагента, и оценку антиоксидантной/оксидантной активности по электрохимическим параметрам анализируемого объекта, введенного в исходный раствор, при этом в качестве электрохимического параметра оценки интегральной антиоксидантной/оксидантной активности служит изменение окислительно-восстановительного потенциала измерительной системы до и после введения 40 анализируемого объекта в исходный раствор. В качестве растворителя используют воду, органические соединения и/или их смесь (Патент РФ 2235998).

45 Данный способ имеет следующие недостатки. Способ применим для анализа только водорастворимых объектов и для определения только водорастворимых антиоксидантов. Использование органических растворителей лимитируется тем, что они неконтролируемо смещают потенциал измерительного электрода, снижают растворимость белков, что делает невозможной корректную оценку антиоксидантной/оксидантной активности исследуемого биологического объекта. Кроме того, на границе раздела «хлорид - серебряный электрод сравнения - раствор» в растворе, содержащем

органический растворитель, возникает диффузионный потенциал, чей вклад в измеряемую величину практически невозможно учесть. Необходимо также принять во внимание, что в случае использования органических растворителей крайне сложно подобрать обратимую медиаторную систему, обеспечивающую определение водо- и жирорастворимых антиоксидантов.

Задачей, решаемой настоящим изобретением, является возможность определения интегральной антиоксидант/оксидантной активности, включающей как водо-, так и жирорастворимые антиоксиданты и оксиданты, экстрагируемые водно-спиртовым раствором из конденсированной среды, как жидкой, так и твердой, расширение числа анализируемых объектов, повышение достоверности, точности и воспроизводимости получаемых результатов, а также сокращение времени проведения анализа.

Технический результат, обеспечиваемый настоящим изобретением, заключается в возможности достоверно измерять сдвиг потенциала, определяемый наличием в системе именно оксидантов или антиоксидантов, как водо-, так и жирорастворимых, снизить влияние растворителя на измеряемый потенциал, снизить вклад диффузионного потенциала в измеряемую величину, определять интегральные значения антиоксидантной и оксидантной активности, анализируя одну пробу, что повышает точность и достоверность получаемой информации и сокращает время анализа.

Технический результат и решение поставленной задачи достигаются тем, что перед введением в исходный раствор анализируемый конденсированный органический объект перемешивают с водным раствором этанола в пропорции 1:0,8...1,2 по объему. Способ отличается также тем, что водно-спиртовой раствор содержит этиловый спирт и воду в соотношении 1:1 по объему и тем, что смесь конденсированного органического объекта и спиртового раствора вводят в исходный раствор с медиаторной системой не позже 30 мин после их приготовления и, кроме того, тем, что смешивание конденсированного органического объекта с водно-спиртовым раствором осуществляют путем перемешивания или диспергирования органического объекта в растворе до размеров частиц не более 0,5 мкм.

Указанные отличительные признаки существенны и в своей совокупности обеспечивают достижение технического результата.

Присутствие в исходном растворе медиаторной системы определяет его окислительно-восстановительный потенциал. При введении в исходный раствор анализируемой пробы, содержащей антиоксиданты/оксиданты, его окислительно-восстановительный потенциал изменяется в результате взаимодействия антиоксидантов/оксидантов с одним из компонентов медиаторной системы согласно уравнению Нернста. При использовании предлагаемого изобретения сокращается время проведения анализа, что особенно явно проявляется при анализе семенной жидкости, вязкость которой намного выше других исследованных объектов, и растительных объектов. При введении анализируемого конденсированного органического объекта в смеси с водно-спиртовым раствором на основе этанола, определяемая величина антиоксидантной активности (АОА) существенно выше по сравнению с прототипом, как показали результаты исследований. Более того, результатом анализа семенной жидкости в некоторых случаях вместо интегральной оксидантной активности (ОА) может фиксироваться АОА. Это обусловлено вкладом в измеряемый сигнал жирорастворимых антиоксидантов. Концентрация водно-спиртового раствора (1:1 по объему) и состав смеси анализируемого конденсированного органического объекта и водно-спиртового раствора (1:0,8...1,2 по объему) определены по результатам исследований, приведенным ниже. Результаты экспериментов показывают, что величина АОА и воспроизводимость

результатов измерения по прототипу заметно ниже, чем при измерении по предлагаемому способу. Это связано с тем, что при использовании прототипа жирорастворимые антиоксиданты не определяются, либо определяются не полностью. При содержании этанола в растворе выше 50% и соотношении анализируемая проба/водно-спиртовой раствор, выходящих за рамки заявленных значений по объему, определяемое значение АОА недостоверно, что обусловлено недостаточным извлечением жирорастворимых АО из объекта исследования при малом содержании водно-спиртовой смеси или влиянием органического растворителя (спирта) на измеряемую величину потенциала и возникновением диффузионного потенциала в измерительной системе при большом содержании водно-спиртовой смеси.

Способ осуществляют следующим образом.

Готовят исходный раствор, содержащий медиаторную систему, состоящую из реагентов, включающих элемент в окисленной и восстановленной форме или соединений, образующих обратимую окислительно-восстановительную пару, а антиоксидантную/оксидантную активность оценивают по электрохимическим параметрам раствора - изменению окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) после введения в исходный раствор анализируемого объекта. Изменение электрохимических параметров раствора обусловлено изменением соотношения окисленной и восстановленной форм медиатора в результате химической реакции с антиоксидантом/оксидантом. Концентрацию (активность) антиоксидантов/оксидантов в растворе рассчитывают по формуле:

$$X = \pm \frac{C_{ox} - \alpha C_{red}}{1 + \alpha},$$

$$\alpha = \frac{C_{Ox}}{C_{Red}} \times 10^{(E-E_1)nF/2.3RT}$$

где

X - антиоксидантная/оксидантная активность раствора в электрохимической ячейке, ммоль-экв/л;

C_{Ox} - концентрация окисленной формы медиатора в электрохимической ячейке, ммоль/л;

C_{red} - концентрация восстановленной формы медиатора в электрохимической ячейке, ммоль/л;

E - исходный потенциал медиаторной системы;

E_1 - потенциал, устанавливающийся в системе после введения анализируемого вещества;

R - универсальная газовая постоянная;

T - температура, К;

n - число электронов, участвующих в окислительно-восстановительной реакции;

F - число Фарадея.

Антиоксидантная/оксидантная активность (АОА/ОА) выражается в ммоль-экв/л или ммоль-экв/г окислителя/восстановителя медиаторной системы, израсходованного на химическую реакцию с антиоксидантами/оксидантами анализируемого образца, в случае анализа объекта, находящегося в жидком или твердом состоянии, соответственно.

В качестве медиаторной системы могут быть использованы растворы, содержащие реагенты, включающие элемент в окисленной и восстановленной форме или соединения, образующие обратимую окислительно-восстановительную пару, например, V(IV)/V

(III), I₂/I⁻, Fe(III)/Fe(II), Sn(IV)/Sn(II), хинон/гидрохинон и др. Антиоксидантную/оксидантную активность оценивают по электрохимическим параметрам раствора - изменению окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) после введения в исходный раствор анализируемого вещества.

В качестве фоновых водных растворов могут быть использованы, например, фосфатный, бикарбонатный, ацетатный буферы, хлорид натрия.

Измерительный электрод может быть изготовлен из платины, золота в виде, например, стержня, диска, проволоки, фольги, пленочного электрода, сделанного методом вакуумного напыления или трафаретной печати с использованием металлсодержащих чернил и паст.

Электродом сравнения может служить, например, стандартный хлорид-серебряный электрод, а также электроды в виде серебряного стержня, проволоки, фольги, покрытых хлоридом серебра, или толстопленочный электрод, изготовленный из паст, содержащих серебро и хлорид серебра. При этом между электродом и раствором, содержащим медиаторную систему, помещают раствор KCl или мембрану, защищающую электрод от контакта с компонентами медиаторной системы.

Способ иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1

В электрохимическую ячейку, содержащую измерительный электрод - толстопленочный платиновый электрод и электрод сравнения - стандартный хлорид-серебряный электрод, заполненную 0,9 мл фосфатного буферного раствора (pH 7,2), вносят 0,1 мл смеси K₃[Fe(CN)₆] и K₄[Fe(CN)₆]. Измеряют исходный потенциал системы (E) при перемешивании. 2 мл анализируемого объекта - сок мультифруктовый восстановленный «Сады Придонья» смешивают с 2 мл водно-спиртового раствора состава 1:1 по объему. Для приготовления водно-спиртового раствора используют этанол (этиловый спирт). Время хранения подготовленной пробы не более 30 мин 0,2 мл полученной пробы добавляют в электрохимическую ячейку при перемешивании и измеряют потенциал (E₁), устанавливающийся в системе после внесения пробы. Все измерения проводят при комнатной температуре. Концентрацию (активность) антиоксидантов в растворе рассчитывают по вышеуказанной формуле. Результаты измерений в сравнении с прототипом приведены в таблице 1.

Пример 2

Подготовку растворов и проведение анализа нектара «Фруктовый сад», яблочный осуществляют аналогично примеру 1, за исключением того, нектар смешивают с водно-спиртовым раствором в пропорции 1:1,2. Результаты измерений в сравнении с прототипом приведены в таблице 1.

Пример 3

Подготовку растворов и проведение анализа - льняного масла нерафинированного ТУ 9141-003-49349753-08, производитель ООО «Соцсервис Агро», осуществляют аналогично тому, как это описано в примере 1, за исключением того, что анализируемый объект диспергируют 60 сек в водно-спиртовом растворе до размеров частиц 0,5 мкм. Для приготовления водно-спиртового раствора используют этиловый спирт, который смешивают с водой в равных пропорциях по объему. Масло смешивают с водно-спиртовым раствором в отношении 1:0,8 по объему. Результаты измерений в сравнении с прототипом приведены в таблице 1.

Пример 4

Подготовку растворов и проведение анализа сыворотки крови осуществляют

аналогично тому, как это описано в примере 1, за исключением того, что в ячейку вносят заполненную 1,475 мл фосфатного буферного раствора (рН 7,2), вносят 0,025 мл смеси $K_3[Fe(CN)_6]$ и $K_4[Fe(CN)_6]$. 1 мл анализируемого объекта - сыворотка крови (образец 1) - смешивают с 1 мл водно-спиртового раствора состава 1:1 по объему.

⁵ Время хранения подготовленной пробы не более 30 мин. Полученную пробу в объеме 0,3 мл добавляют в электрохимическую ячейку. Результаты измерений в сравнении с прототипом приведены в таблице 1.

Пример 5

¹⁰ Подготовку растворов и проведение анализа сыворотки крови (образец 2) осуществляют аналогично примеру 4, за исключением того, что сыворотку и водно-спиртовой раствор смешивали в соотношении 1:0,9 по объему.

Результаты измерений в сравнении с прототипом приведены в таблице 1.

Примеры 6-10

¹⁵ Подготовку растворов и проведение анализа - семенная жидкость (образцы 1-5) - осуществляют аналогично тому, как это описано в примере 1. Результаты измерений в сравнении с прототипом приведены в таблице 1.

20

25

30

35

40

45

Таблица 1

| Образец | Измерение в соответствии с прототипом | | | Измерение предлагаемым способом | | |
|---|--|---|---------------------------------|--|--|---------------------------------|
| | АОА _{ср} , (ОА _{ср})*, ммоль-экв/л (число измерений, n=3) | Среднеквадратичное отклонение, S _r | Продолжительность анализа, мин. | АОА _{ср} , ммоль-экв/л (число измерений, n=3) | Среднеквадратичное отклонение S _r | Продолжительность анализа, мин. |
| Напитки | | | | | | |
| Сок мультифруктовый восстановленный «Сады Придонья». Изготовитель ОАО «Сады Придонья» | 0,98 | ±0,08 | 9 | 2,39 | ±0,01 | 4 |
| Нектар «Фруктовый сад», яблочный. Изготовитель ООО «Лебедянский» | 1,18 | ±0,09 | 19 | 1,60 | ±0,06 | 5 |
| Льняное масло нерафинированное ТУ 9141-003-49349753-08. Изготовитель ООО «Соцсервис Агро» | 0,19 | ±0,17 | 25 | 0,25 | ±0,07 | 5 |
| Сыворотка крови | | | | | | |
| Образец № 1 | 0,38 | ±0,10 | 22 | 0,80 | ±0,06 | 5 |
| Образец № 2 | 0,54 | ±0,73 | 22 | 0,69 | ±0,06 | 5 |
| Семенная жидкость | | | | | | |
| Образец № 1 | 0,35 | ±0,03 | 13 | 0,66 | ±0,04 | 5 |
| Образец № 2 | 0,38 | ±0,05 | 7 | 0,64 | ±0,08 | 5 |
| Образец № 3 | 0,30* | ±0,12 | 5 | 0,11 | ±0,01 | 4 |
| Образец № 4 | 0,58* | ±0,08 | 6 | 0,22 | ±0,08 | 5 |
| Образец № 5 | 0,52* | ±0,20 | 6 | 0,27 | ±0,07 | 4 |

* Образцы семенной жидкости № 3-5 при измерении по способу прототипа показывают ОА.

Данные таблицы 1 показывают, что во всех случаях значение АОА, найденное

заявляемым методом, выше значения АОА, найденного по методу, описанному в прототипе, что свидетельствует о вовлечении в сигналообразующую реакцию большего количества АО, а именно жирорастворимых АО.

Пример 11

5 Проведение анализа лекарственного средства «Мята перечная листья -
Menthae piperitaefolia» (Медицинский препарат Р №ЛСР - 001792/08 от 17.03.2008)»
осуществляли аналогично тому, как это описано в примере 1. Подготовку анализируемой
10 пробы осуществляют следующим образом. 0,2 г сухого вещества растирают в ступке
в смеси с 2 мл водно-спиртового раствора состава 1:1 по объему в течение 5 мин до
размера частиц 0,5 мкм. В качестве спирта используют этиловый спирт. Затем добавляют
15 8 мл водно-спиртового раствора состава 1:1 по объему. Время хранения подготовленной
пробы не более 30 мин 0,2 мл полученной микросуспензии вносят в электрохимическую
ячейку при перемешивании и измеряют потенциал (E_1), устанавливающийся в системе
после внесения пробы. Концентрацию (активность) антиоксидантов рассчитывают по
15 вышеуказанной формуле. Результаты измерений приведены в таблице 2.

Пример 12

Пробоподготовку, подготовку исходного раствора и проведение измерений
анализируемого объекта - чай зеленый «Ahmad Tea» - осуществляют аналогично тому,
как это описано в примере 11. Результаты измерений приведены в таблице 2.

20 Для сравнения в таблице 2 представлены результаты определения АОА надосадочных
жидкостей образцов 11 и 12, которые были получены центрифугированием
соответствующих микросуспензий с последующей декантацией. Подготовку исходного
раствора и проведение надосадочных жидкостей осуществляют аналогично тому, как
это описано в примере 1. Полученную надосадочную жидкость в объеме 0,2 мл
25 добавляют в электрохимическую ячейку при перемешивании и измеряют потенциал
(E_1), устанавливающийся в системе после внесения пробы. Концентрацию (активность)
антиоксидантов в растворе рассчитывают по вышеуказанной формуле. Результаты
измерений приведены в таблице 2.

30

35

40

45

Таблица 2

| Образец | Микросуспензия | | Надосадочная жидкость | |
|-------------------------|---|----------------|---|----------------|
| | АОА _{ср} , ммоль-экв/г (n=3) | S _r | АОА _{ср} , ммоль-экв/г (n=3) | S _r |
| Мяты перечной листья | 0,50 | ±0,03 | 0,30 | ±0,04 |
| Чай зеленый «Ahmad Tea» | 0,66 | ±0,05 | 0,59 | ±0,04 |

Результаты, представленные в таблице 2, показывают, что АОА микросуспензии выше, чем АОА надосадочной жидкости, что обусловлено вовлечением в зону реакции большего количества антиоксидантов. То есть исследование АОА конденсированных объектов предлагаемым способом позволяет получить более полную информацию.

Концентрация водно-спиртового раствора (1:1 по объему) и состав смеси анализируемой жидкости и водно-спиртового раствора (1:0,8...1,2 по объему) выбраны оптимальными по результатам исследований, приведенным ниже.

В таблице 3 показано влияние соотношения образец/водно-спиртовая смесь на величину определяемой АОА. Соотношение вода/спирт в водно-спиртовой смеси равно 1:1 по объему. В таблице 4 показано влияние соотношения вода/спирт в водно-спиртовой смеси на величину определяемой АОА. Соотношение образец/водно-спиртовая смесь равно 1:1 по объему.

Таблица 3

| Семенная жидкость (образец б) / водно-спиртовый раствор (соотношение вода / этиловый спирт 1:1 по объёму) | Найденное значение АОА, ммоль-экв/л (n=3) | S _r |
|---|---|----------------|
| Вода/спирт (измерение в соответствии с прототипом) | 0,28 | ±0,09 |
| 4 / 1 | 0,52 | ±0,10 |
| 1 / 1,3 | 0,60 | ±0,05 |
| 1 / 1 | 0,60 | ±0,01 |
| 1 / 0,7 | 0,91 | ±0,13 |
| 1 / 4 | 1,15 | ±0,15 |
| Этиловый спирт (96%) | 1,76 | ±0,61 |

Таблица 4

| Влияние соотношение вода / этиловый спирт в водно-спиртовом растворе на результаты определения АОА образца «Семенная жидкость (образец № 7) / водно-спиртовой раствор 1:1 по объёму) | АОА _{ср} , ммоль-экв/л (n=3) | S _r |
|--|---------------------------------------|----------------|
| 10 / 0, измерение в соответствии с прототипом | 0,17 | ±0,01 |
| 4 / 1 | 0,18 | ±0,07 |
| 6 / 4 | 0,29 | ±0,10 |
| 1 / 1 | 0,50 | ±0,01 |
| 4 / 6 | 0,54 | ±0,03 |
| 1 / 4 | 1,31 | ±0,34 |

Как видно из таблиц 3 и 4, при введении в исходный раствор анализируемого объекта в смеси с водно-спиртовым раствором найденное значение АОА возрастает при увеличении концентрации спирта в смеси и количества водно-спиртовой смеси. Это обусловлено тем, что в присутствии спирта из анализируемого объекта извлекаются наряду с водорастворимыми жирорастворимые антиоксиданты. Правильность выбора заявленного соотношения анализируемый объект/водно-спиртовой раствор (50% по объёму) и состава водно-спиртового раствора (1:1) подтверждается результатами анализа модельных систем, приведенными в таблице 5.

Достоверность определяемых по предлагаемому способу значений АОА иллюстрируется исследованием АОА модельных систем, приготовленных на основе семенной жидкости. АОА, обусловленную водорастворимыми антиоксидантами (АО), моделировали введением водного раствора аскорбиновой кислоты, жирорастворимыми - водно-спиртового раствора α-токоферола (таблица 5). Подготовку растворов и проведение анализа осуществляют аналогично тому, как это описано в примере 1. Найденное значение АОА модельной системы определяют как разность между АОА образца семенной жидкости и АОА образца семенной жидкости с добавкой, содержащей модельную систему.

Таблица 5

| Образец | Введено АО, ммоль-экв/л | АОА _{ср} , ммоль-экв/л (n=3) | S _r | Найдено АОА, ммоль-экв/л | Отклонение от введённого, % |
|---|-------------------------|---------------------------------------|----------------|--------------------------|-----------------------------|
| Семенная жидкость (образец № 8) | | 0,66 | ±0,02 | | |
| Семенная жидкость (образец № 8) + аскорбиновая кислота | 0,71 | 1,47 | ±0,02 | 0,81 | 114 |
| Семенная жидкость (образец № 8) + α-токоферол | 0,62 | 1,22 | ±0,10 | 0,56 | 90 |
| Семенная жидкость (образец № 9) | | 0,78 | ±0,01 | | |
| Семенная жидкость (образец № 9) + α-токоферол | 0,62 | 1,43 | ±0,01 | 0,65 | 105 |
| Семенная жидкость (образец № 9) + аскорбиновая кислота + α-токоферол | 1,33 | 2,10 | ±0,07 | 1,32 | 99 |
| Семенная жидкость (образец № 10) | | 0,64 | ±0,05 | | |
| Семенная жидкость (образец № 10) + α-токоферол | 0,62 | 1,33 | ±0,05 | 0,69 | 111 |
| Семенная жидкость (образец № 10) + аскорбиновая кислота + α-токоферол | 1,25 | 1,91 | ±0,07 | 1,27 | 102 |
| Среднее отклонение от введённого, % | | | | | 6,8 |

Формула изобретения

1. Способ определения интегральной антиоксидантной/оксидантной активности органических конденсированных сред, включающий приготовление исходного раствора, содержащего медиаторную систему, состоящую из реагентов, включающих элемент в окисленной и восстановленной форме, или соединений, образующих обратимую окислительно-восстановительную пару, и оценку антиоксидантной/оксидантной активности по электрохимическим параметрам анализируемого объекта, введенного в исходный раствор, при этом электрохимическим параметром оценки интегральной антиоксидантной/оксидантной активности служит изменение окислительно-восстановительного потенциала измерительной системы после введения анализируемого объекта в исходный раствор, отличающийся тем, что перед введением в исходный раствор, органический объект смешивают с водным раствором этанола в пропорции 1:0,8...1,2 по объему.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что водно-спиртовой раствор содержит этанол и воду в соотношении 1:1 по объему.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что смесь органического объекта и водно-спиртового раствора вводят в исходный раствор с медиаторной системой не позже 30 мин после приготовления смеси.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что смешивание конденсированного органического объекта с водно-спиртовым раствором осуществляют путем диспергирования органического объекта в растворе до размеров частиц не более 0,5 мкм.

25

30

35

40

45