



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **102692** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)**G01N 33/02** (2006.01)**G01N 33/52** (2006.01)**C09K 15/00****G01N 21/27** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ****(21)** Номер заявки: **u 2015 05291****(22)** Дата подання заявки: **29.05.2015****(24)** Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.11.2015****(46)** Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.11.2015, Бюл.№ 21****(72)** Винахідник(и):**Велика Наталія Володимирівна (UA),
Омельчук Сергій Тихонович (UA),
Аністратенко Тетяна Іванівна (UA),
Коршун Марія Михайлівна (UA)****(73)** Власник(и):**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
бул. Т. Шевченка, 13, м. Київ, 01601 (UA)****(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ І ФІТОСИРОВИНИ****(57)** Реферат:

Спосіб визначення антиоксидантної активності продуктів харчування і фітосировини включає виготовлення суспензії жовткових ліпопротеїдів, додавання до суспензії жовткових ліпопротеїдів досліджуваного розчину, ініціювання перекисного окиснення ліпідів, додавання розчину трихлороцтової кислоти, перемішування, центрифугування, додавання розчину тіобарбітурової кислоти, витримування у кип'ячій воді, охолодження, вимірювання оптичної густини і розрахунок антиоксидантної активності, причому готують 0,5-1 % суспензію жовткових ліпопротеїдів з сирого жовтка курячого яйця, як досліджуваний розчин беруть 5-15 %-ний екстракт з продуктів харчування або фітосировини, до суспензії жовткових ліпопротеїдів додають досліджуваний розчин у кількості 8-12 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, для ініціювання перекисного окиснення ліпідів суміш опромінюють ультрафіолетовою лампою, додають 25-30 %-ний розчин трихлороцтової кислоти у кількості 75-85 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, після центрифугування додають розчин тіобарбітурової кислоти з концентрацією 0,6-1,0 % у кількості, що становить 75-85 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, оптичну густину досліджуваної проби і контрольної проби вимірюють при довжині хвилі 532-550 нм, антиоксидантну активність розраховують за формулою

$$AOA = \frac{D_k - D_d}{D_k} \cdot 100, \text{ де } AOA - \text{величина антиоксидантної активності продукту, } D_d -$$

оптична густина досліджуваної проби, D_k - оптична густина контрольної проби.

UA 102692 U

Корисна модель належить до способів визначення антиоксидантної активності продуктів харчування, фітосировини і може бути використана у практиці роботи санітарно-хімічних лабораторій обласних (міських) СЕС, НДІ медичних і технологічних профілів, установ, що проводять товарознавчу експертизу продуктів харчування і фітосировини.

Відомий спосіб визначення загальної антиоксидантної активності (АОА) рослинних олій [патент України на корисну модель № 77689, МПК (2013.01) G01N 21/00, дата публікації відомостей про видачу патенту: 25.02.2013, Бюл. № 4]. Цей спосіб включає екстрагування наважки дослідного зразка розчинником, розділення суміші у холодильнику, використання отриманого екстракту для проведення реакції з Fe(III), інкубування реакційної суміші, вимірювання оптичної густини, оцінювання результатів за калібрувальним графіком. Перед екстрагуванням наважку дослідного зразка розчиняють у гексані, вимірювання оптичної густини здійснюють з використанням фотоелектроколориметра при довжині хвилі 490-530 нм, оцінювання результатів проводять за калібрувальним графіком, використовуючи як стандарт жиророзчинний вітамін Е.

Спільними ознаками зі способом, що заявляється, є: попередня підготовка зразка та вимірювання оптичної густини з використанням фотоелектроколориметра.

Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату, є порівняна складність способу-аналога, а також вузький асортимент досліджуваних продуктів харчування, а саме: визначення загальної антиоксидантної активності рослинних олій.

За прототип вибрано спосіб оцінки антиоксидантної активності (АОА), наведений у статті: Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкина Ю.О. и др. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лабораторное дело, 1988. - № 5. - С. 59-62. За цим способом спочатку виготовляють суспензію жовткових ліпопротеїдів (ЖЛП) шляхом гомогенізації жовтка курячого яйця у рівному об'ємі фосфатного буферного розчину (40 мМ KH_2PO_4 , 105 мМ KCl , рН = 7,45). Отриману суспензію перед використанням розводять у 25 разів тим же буферним розчином. Потім до 1 мл суспензії ЖЛП додають 0,5-1 мл досліджуваного розчину та 7 мл фосфатного буферного розчину. Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) у всіх пробах ініціюють додаванням 1 мл 25 мМ розчину $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, який готували перед уживанням. Кінцевий об'єм проби становив 10 мл. Контрольна проба не містила досліджуваного розчину. У нульову пробу додають тільки фосфатний буферний розчин і розчин Fe^{2+} . Проби інкубують при 37 °С протягом 15 хвилин при інтенсивному перемішуванні. Швидкість ПОЛ визначають по кількості накопичених у зразку продуктів, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Після інкубації відбирають по 2 мл із кожної проби, доливають по 1 мл 20 %-ного розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) й 0,1 мл 10^{-2} М розчину іонолу в етанолі. Потім уміст пробірок перемішують й центрифугують 15 хвилин при 900 g на центрифугі ОПН-3. До 2 мл отриманого супернатанту додають 1,8 мл реагенту тіобарбітурової кислоти (ТБК), який має такий склад: 0,5 % ТБК в 0,3 % розчині натрій додецилсульфату. Суміш інкубують в киплячій водяній бані протягом 15 хвилин. Потім пробірки охолоджують, додають по 2 мл хлороформу й після інтенсивного струшування знову центрифугують за тих самих умов. У водній фазі вимірюють оптичну густину контрольної проби й досліджуваної проби проти контрольної проби при довжині хвилі 532 нм. АОА досліджуваного зразка розраховують за формулою:

$$\text{АОА} = \frac{\Delta D_{\text{к}} - \Delta D_{\text{д}}}{\Delta D_{\text{к}}} \cdot 100\%,$$

$$\text{де } \Delta D_{\text{к}} = \Delta D_{\text{к}}^{\text{т}} - \Delta D_{\text{к}}^0; \Delta D_{\text{д}} = \Delta D_{\text{д}}^{\text{т}} - \Delta D_{\text{д}}^0$$

$D_{\text{к}}^0$ і $D_{\text{д}}^0$ - оптична густина, виміряна в суспензії ЖЛП і суспензії ЖЛП із досліджуваним розчином до інкубації;

$D_{\text{к}}^{\text{т}}$ і $D_{\text{д}}^{\text{т}}$ - оптична густина, виміряна в тих же зразках у момент часу t (через 15 хвилин інкубації). Вимірювання $\Delta D_{\text{к}}$ й $\Delta D_{\text{д}}$ необхідно для того, щоб урахувати початковий ступінь окисненості суспензії ЖЛП і досліджуваного розчину. Помилка способу не перевищує 5 %.

Розроблена методика була використана для визначення АОА деяких фармакологічних препаратів, сумарної АОА плазми крові здорових і хворих людей з різними захворюваннями, а також при моделюванні патологічних станів у тварин. При цьому, крім АОА, визначали й здатність досліджуваних зразків плазми крові до окиснення в умовах ініціювання ПОЛ іонами Fe^{2+} .

Спільними ознаками з корисною моделлю, що заявляється, є: виготовлення суспензії жовткових ліпопротеїдів, додавання до суспензії жовткових ліпопротеїдів досліджуваного

розчину, ініціювання перекисного окиснення ліпідів, додавання розчину трихлороцтової кислоти, перемішування, центрифугування, додавання розчину тіобарбітурової кислоти, витримування у кип'ячій воді, вимірювання оптичної густини досліджуваної проби проти контрольної проби і розрахунок антиоксидантної активності.

5 Причинами, що перешкоджають одержанню потрібного технічного результату, є надмірна складність способу-прототипу.

В основу корисної моделі поставлена задача у способі визначення АОА шляхом зміни параметрів забезпечити спрощення способу.

10 Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення АОА, який включає виготовлення суспензії жовткових ліпопротеїдів, додавання до суспензії жовткових ліпопротеїдів досліджуваного розчину, ініціювання перекисного окиснення ліпідів, додавання розчину трихлороцтової кислоти, перемішування, центрифугування, додавання розчину тіобарбітурової кислоти, витримування у кип'ячій воді, охолодження, вимірювання оптичної густини і розрахунок антиоксидантної активності, згідно з корисною моделлю, готують 0,5-1 % суспензію жовткових ліпопротеїдів з сирого жовтка курячого яйця, як досліджуваний розчин беруть 5-15 %-ний екстракт з продуктів харчування або фітосировини, до суспензії жовткових ліпопротеїдів додають досліджуваний розчин у кількості 8-12 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, для ініціювання перекисного окиснення ліпідів суміш опромінюють ультрафіолетовою лампою, додають 25-30 %-ний розчин трихлороцтової кислоти у кількості 75-85 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, після центрифугування додають розчин тіобарбітурової кислоти з концентрацією 0,6-1,0 % у кількості, що становить 75-85% від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, оптичну густину досліджуваної проби і контрольної проби вимірюють при довжині хвилі 532-550 нм, антиоксидантну активність розраховують за формулою

$$\text{АОА} = \frac{D_k - D_d}{D_k} \cdot 100, \text{ де АОА - величина антиоксидантної активності продукту, } D_d -$$

25 оптична густина досліджуваної проби, D_k - оптична густина контрольної проби.

Згідно з корисною моделлю, для виготовлення 5-15 %-ного екстракту з продуктів харчування або фітосировини досліджуваний зразок розтирають, додають розрахований об'єм гарячої дистильованої води з температурою 65-75 °С і витримують у термостаті при $t^\circ = 36,5-37,5^\circ\text{C}$ протягом 45-55 хвилин, після чого відділяють від твердої фази.

30 Згідно з корисною моделлю, при вимірюванні оптичної густини досліджуваної проби як розчин порівняння беруть опромінений ультрафіолетовою лампою зразок суспензії жовткових ліпопротеїдів, до якого замість досліджуваного розчину додано відповідний об'єм дистильованої води.

35 Згідно з корисною моделлю, при вимірюванні оптичної густини контрольної проби як розчин порівняння беруть неопромінений зразок суспензії жовткових ліпопротеїдів, до якого замість досліджуваного розчину додано відповідний об'єм дистильованої води, а контрольний розчин складається з неопроміненої суспензії жовткових ліпопротеїдів та відповідного об'єму досліджуваного розчину, опроміненого ультрафіолетовою лампою.

40 Спосіб визначення антиоксидантної активності продуктів харчування і фітосировини здійснюють так. Для приготування 5-15 %-ного екстракту з продуктів харчування або фітосировини, продукт подрібнюють у порцеляновій ступці. У пробірку поміщають наважку досліджуваного продукту (0,5-1,5 г), додають 10,0 мл гарячої дистильованої води з температурою 65-75 °С і витримують у термостаті при $t^\circ = 36,5-37,5^\circ\text{C}$ протягом 45-55 хвилин, після чого рідкий екстракт відділяють від твердої фази фільтруванням через ватно-марлевий фільтр. Готують 0,5-1 % суспензію жовткових ліпопротеїдів з сирого жовтка курячого яйця. Ця суспензія жовткових ліпопротеїдів у способі, що заявляється, служить субстратом окиснення. У пробірку № 1 вносять 2,5 мл суспензії жовткових ліпопротеїдів і 0,2-0,3 мл екстракту продукту (8-12 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів). У пробірку № 2 вносять 2,5 мл екстракту продукту. У пробірку № 3 вносять 2,5 мл суспензії жовткових ліпопротеїдів і 0,2-0,3 мл дистильованої води (8-12 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів). У пробірку № 4 вносять 2,5 мл суспензії жовткових ліпопротеїдів. У пробірку № 5 вносять 2,5 мл суспензії жовткових ліпопротеїдів і 0,2-0,3 мл дистильованої води. Проби № 1, № 2 і № 3 переносять у кварцові кювети і опромінюють безтіньовою ультрафіолетовою лампою з довжиною хвилі 350-370 нм потужністю 48 Вт на відстані 20 см протягом 50 хвилин. Проби № 4 і № 5 залишають неопроміненими. Опромінені проби переносять відповідно у пробірки № 1, № 2 і № 3. У пробірку № 4 додають 0,2-0,3 мл опроміненого екстракту продукту (8-12 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів). У пробірки № 1, № 3, № 4 і № 5 додають 25-30 %-ний розчин трихлороцтової кислоти у кількості 75-85 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів. Вміст пробірок

перемішують і центрифугують при 5000 об/хвил. протягом 10 хвилин. По 4 мл розчину проб № 1, № 3, № 4 і № 5 переносять у пробірки з відповідною нумерацією і додають по 1,8-2,2 мл (45-55 % від об'єму досліджуваної проби) розчину тіобарбітурової кислоти з концентрацією 0,6-1,0 %. Перемішують і підігрівують на киплячій водяній бані протягом 15 хвилин. Вміст пробірок охолоджують під струменем холодної води до температури 18-20 °С. На фотоелектроколориметрі (в 1 см кюветі при довжині хвилі 532-550 нм) вимірюють оптичну густину досліджуваної проби (D_d) пробірка № 1 проти пробірки № 3 (дослід), а також оптичну густину контрольної проби (D_k) пробірка №4 проти пробірки № 5 (контроль). Розрахунок антиоксидантної активності харчового продукту чи фітосировини ведуть за формулою:

$$AOA = \frac{D_k - D_d}{D_k} \cdot 100\%$$

де: АОА - величина антиоксидантної активності харчового продукту чи фітосировини, %;

D_d - оптична густина досліджуваної проби;

D_k - оптична густина контрольної проби.

Величина АОА показує, наскільки досліджуваний продукт зменшує (якщо АОА > 0) або збільшує (якщо АОА < 0) перекисне окиснювання ліпідів у суспензії жовткових ліпопротеїдів.

За шкалою антиоксидантної активності до сильних антиоксидантів належать харчові продукти чи фітосировина, для яких АОА вища, ніж +60 %. Для помірних антиоксидантів - АОА становить від 31 % до 60 %. До нейтральних належать продукти, АОА яких у межах від +30 % до -30 %. Помірними прооксидантами є продукти, для яких АОА має значення в межах інтервалу від -31 % до -60 %. Сильними прооксидантами є продукти, АОА яких становить < -61 %.

Далі здійснення способу, що заявляється, підтверджується наступними прикладами конкретної реалізації.

Приклад 1. Сухе листя петрушки подрібнюють у порцеляновій ступці. Готують 5 %-ний екстракт листя петрушки: у пробірку поміщають 0,5 г сухого подрібненого листя петрушки, заливають 10,0 мл дистильованої води з температурою ≈ 70 °С і витримують у термостаті при 37 °С протягом 50 хвилин, після чого фільтрують через ватно-марлевий фільтр. Готують 1 % суспензію жовткових ліпопротеїдів (субстрат ЖЛП). У пробірку № 1 вносять 2,5 мл субстрату ЖЛП і 0,2 мл екстракту листя петрушки. У пробірку № 2 вносять 2,5 мл екстракту листя петрушки. У пробірку № 3 вносять 2,5 мл субстрату ЖЛП і 0,2 мл дистильованої води. У пробірку № 4 вносять 2,5 мл субстрату ЖЛП. У пробірку № 5 вносять 2,5 мл субстрату ЖЛП і 0,2 мл дистильованої води. Проби № 1, № 2 і № 3 переносять у кварцові кювети і опромінюють безтіньовою ультрафіолетовою лампою з довжиною хвилі 350-370 нм потужністю 48 Вт на відстані 20 см протягом 50 хвилин. Проби № 4 і № 5 залишають неопроміненими. Опромінені проби переносять відповідно у пробірки № 1, № 2 і № 3. У пробірку № 4 додають 0,2 мл опроміненого екстракту листя петрушки із пробірки № 2. У пробірки № 1, № 3, № 4 і № 5 додають по 2 мл 28 % трихлороцтової кислоти. Вміст пробірок перемішують і центрифугують при 5000 об/хвил. протягом 10 хвилин. По 4 мл супернатанту (рідкої фази після центрифугування) проб № 1, № 3, № 4 і № 5 переносять у пробірки з відповідною нумерацією. У пробірки № 1, № 3, № 4 і № 5 додають по 2 мл 0,8 %-ного розчину тіобарбітурової кислоти, перемішують і підігрівують на киплячій водяній бані протягом 15 хвилин. Вміст пробірок охолоджують під струменем холодної води до температури 18-20 °С. На фотоелектроколориметрі (в 1 см кюветі при $\lambda = 550$ нм) вимірюють оптичну густину (D_d) проби № 1 проти проби № 3 (дослід), а також оптичну густину (D_k) проби № 4 проти проби № 5 (контроль). Результати вимірювання: $D_k = 0,165$. $D_d = 0,025$. Розрахунок ведуть за формулою:

$$AOA = \frac{0,165 - 0,025}{0,165} \cdot 100\% = 84,8\%$$

Таблиця

№ прикладу	Концентрація екстракту, %	Температура гарячої дистильованої води, °С	Температура термостата, °С	Час витримання у термостаті, хвилини	Концентрація суспензії ЖЛП, %	Екстракт, у % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів	Концентрація розчину трихлороцтової кислоти, %	Кількість розчину трихлороцтової кислоти, % від об'єму суспензії ЖЛП	Концентрація розчину тіобарбітурової кислоти, %	Кількість розчину тіобарбітурової кислоти, % від об'єму суспензії ЖЛП	Оптична густина досліджуваної проби D _d	Оптична густина контрольної проби D _k	Антиоксидантна активність %
1	5	70	37,0	50	1,0	8	28	80	0,8	50	0,025	0,165	+84,8
2	10	65	36,5	45	0,75	10	25	75	1,0	45	0,030	0,170	+82,4
3	15	75	37,5	55	1,25	12	30	85	1,2	55	0,030	0,185	+83,8
4	10	70	37,0	50	1,0	8	28	80	0,8	50	0,125	0,120	-4,2
5	15	70	37,0	50	1,0	8	28	80	0,8	50	0,289	0,145	-99,3
6	10	70	37,0	50	1,0	8	28	80	0,8	50	0,023	0,165	+86,0
7	7	70	37,0	50	1,0	8	28	80	0,8	50	0,085	0,174	+51,2
8	10	65	37,0	45	1,0	8	28	80	0,8	50	0,130	0,132	+1,5
9	10	65	37,0	50	1,0	8	28	80	0,8	50	0,006	0,132	+95,5

Приклади 2 та 3. Сухе листя петрушки подрібнювали у порцеляновій ступці. Готували 10 % екстракт з сухого листя петрушки. Визначення АОА здійснювали так, як описано у прикладі 1, за винятком того, що змінювали параметри способу. Параметри способу, а також значення АОА наведено у прикладах 2 та 3 таблиці. Величина АОА (82,4-84,8) показує, що сухе листя петрушки належить до сильних антиоксидантів.

Приклади 4-9. Для дослідження було взято зразок сухої моркви (приклад 4), зразок сирого гарбуза (приклад 5), зразок фітосировини - висушені пелюстки троянди чайних сортів (приклад 6), зразок фітосировини - сухе листя м'яти (приклад 7), зразок пюре з яблук (приклад 8), збагачене рутином (0,5 %) пюре з яблук (приклад 9). Параметри способу та результати визначення АОА наведено у прикладах 4-9 таблиці. За результатами вимірювання у прикладах 4-9 суха морква мало збільшує ПОЛ у субстраті (АОА = -4,2 %) і належить до нейтральних продуктів, сирий гарбуз збільшує ПОЛ у субстраті на 99,3 % і належить до сильних прооксидантів. Висушені пелюстки троянди (АОА = +86,0 %) належать до сильних антиоксидантів, а сухе листя м'яти належить до помірних антиоксидантів (АОА = +51,2 %). Пюре з яблук належить до нейтральних продуктів (АОА = +1,5 %), а збагачене рутином пюре з яблук є сильним антиоксидантом (АОА = +95,5 %). Пропонований спосіб дозволяє при створенні раціонів харчування враховувати здатність продуктів впливати на антиоксидантну систему організму. Продукти-антиоксиданти (АОА ≥ 31 %) можуть бути використані в раціонах осіб, що працюють на підприємствах, які використовують радіаційні технології, шкідливі хімічні речовини, що активують процеси ПОЛ. Продукти - антиоксиданти рекомендовані у дієтичному харчуванні пацієнтів з запальними захворюваннями різної етіології, у геропротекторному харчуванні людей похилого віку. Нейтральні продукти (АОА = -30 ÷ +30 %) застосовують у харчуванні будь-яких контингентів здорового населення без обмежень. Продукти - прооксиданти (АОА < -31 %) повинні бути обмежені в раціоні, або мають поєднуватись з продуктами, які мають високу антиоксидантну активність. Антиоксидантно-прооксидантну активність продуктів та фітосировини необхідно враховувати при проектуванні та виготовленні нових функціональних харчових продуктів лікувальної та лікувально-профілактичної спрямованості для відповідних контингентів населення.

Спосіб, що заявляється простий у використанні, не потребує складного обладнання і може бути використаний у санітарно-хімічних лабораторіях обласних (міських) СЕС, НДІ медичних і технологічних профілів, установ, що проводять товарознавчу експертизу продуктів харчування та фітосировини.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб визначення антиоксидантної активності продуктів харчування і фітосировини, який включає виготовлення суспензії жовткових ліпопротеїдів, додавання до суспензії жовткових ліпопротеїдів досліджуваного розчину, ініціювання перекисного окиснення ліпідів, додавання розчину трихлороцтової кислоти, перемішування, центрифугування, додавання розчину

тіобарбітурової кислоти, витримування у кип'ячій воді, охолодження, вимірювання оптичної густини і розрахунок антиоксидантної активності, який **відрізняється** тим, що готують 0,5-1 % суспензію жовткових ліпопротеїдів з сирого жовтка курячого яйця, як досліджуваний розчин беруть 5-15 %-ний екстракт з продуктів харчування або фітосировини, до суспензії жовткових ліпопротеїдів додають досліджуваний розчин у кількості 8-12 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, для ініціювання перекисного окиснення ліпідів суміш опромінюють ультрафіолетовою лампою, додають 25-30 %-ний розчин трихлороцтової кислоти у кількості 75-85 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, після центрифугування додають розчин тіобарбітурової кислоти з концентрацією 0,6-1,0 % у кількості, що становить 75-85 % від об'єму суспензії жовткових ліпопротеїдів, оптичну густину досліджуваної проби і контрольної проби вимірюють при довжині хвилі 532-550 нм, антиоксидантну активність розраховують за формулою $AOA = \frac{D_k - D_d}{D_k} \cdot 100$, де АОА - величина антиоксидантної активності продукту,

D_d - оптична густина досліджуваної проби, D_k - оптична густина контрольної проби.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що для виготовлення 5-15 %-ного екстракту з продуктів харчування або фітосировини досліджуваний зразок розтирають, додають розрахований об'єм гарячої дистильованої води з температурою 65-75 °С і витримують у термостаті при $t^\circ = 36,5-37,5$ °С протягом 45-55 хвилин, після чого відділяють екстракт від твердої фази.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що при вимірюванні оптичної густини досліджуваної проби як розчин порівняння беруть опромінений ультрафіолетовою лампою зразок суспензії жовткових ліпопротеїдів, до якого замість досліджуваного розчину додано відповідний об'єм дистильованої води.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що при вимірюванні оптичної густини контрольної проби як розчин порівняння беруть неопромінений зразок суспензії жовткових ліпопротеїдів, до якого замість досліджуваного розчину додано відповідний об'єм дистильованої води, а контрольний розчин складається з неопроміненої суспензії жовткових ліпопротеїдів та відповідного об'єму досліджуваного розчину, опроміненого ультрафіолетовою лампою.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601