



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 110764

(13) C2

(51) МПК

G01N 33/02 (2006.01)

G01N 21/25 (2006.01)

G01J 3/40 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2015 03037

(22) Дата подання заявки: 02.04.2015

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: 10.02.2016

(41) Публікація відомостей
про заявку: 25.09.2015, Бюл.№ 18

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 10.02.2016, Бюл.№ 3

(72) Винахідник(и):

Барвінченко Валентина Миколаївна (UA),
Ліпковська Наталія Олександрівна (UA),
Туров Володимир Всеволодович (UA),
Картель Микола Тимофійович (UA)

(73) Власник(и):

ІНСТИТУТ ХІМІЇ ПОВЕРХНІ ІМ. О.О. ЧУЙКА
НАН УКРАЇНИ,

вул. Генерала Наумова, 17, м. Київ-164,
03164, Україна (UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

Nehete Jeetendra. Correlation of antioxidant
activity with phenolic content and isolation of
antioxidant compound from Lygodium
flexuosum (L.) Sw. extracts / Nehete
Jeetendra, Bhatia Manish // Int. J. Pharm.
Pharm. Sci. - 2011. - Vol. 3. - N. 2. - P. 48-52
Labuda J. Reaction of macrocyclic complex
Cu(TAAB)₂⁺ with hydroxylamine / J. Labuda,
E. Korgova // Chem. Papers. - 1986. - Vol. 40.
- N. 3. - P. 301-307

Prior R.L. Standardized methods for the
determination of antioxidant capacity and
activity phenolics in foods and dietary
supplements / R.L. Prior, X. Wu, K. Schaich //
J. Agric. Food Chem. - 2005. - Vol. 53. - P.
4290-4302

UA 77689 U, 25.02.2013

RU 2282851 C2, 10.10.2005

RU 2170930 C1, 20.07.2001

EA 016868 B1, 30.07.2012

WO 2007039775 A1, 12.04.2007

US 6613577 B1, 02.09.2003

Zaporozhets O.A. A new test method for the
evaluation of total antioxidant activity of herbal
products / O.A. Zaporozhets, O.A.

Krushynska, N.A. Lipkovska, V.N.

Barvinchenko // J. Agric. Food Chem. - 2004. -
Vol. 52. - P. 21-25

Bodie E. Douglas. Macrocyclic ligands and
their metal complexes.

(Tetrabenzob[b,f,j,n][1,5,9,13]-

tetraazacyclohexadecine)copper(II) nitrate /

Bodie E. Douglas // Inorganic syntheses. -

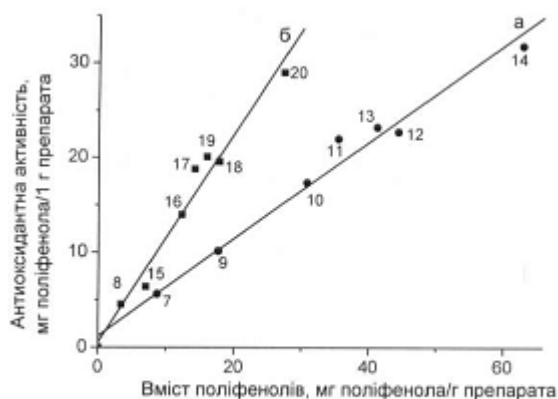
New York: Wiley-Interscience Publication. -

John Wiley & Sons. - 1978. - Vol. XVIII. - P.32-
33

UA 110764 C2

(54) СПОСІБ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОДУКТІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ**(57) Реферат:**

Винахід належить до аналітичної хімії, фармакології, фармації, харчової промисловості та може бути використано при аналізі лікарських рослин та препаратів на їх основі. Спосіб спектрофотометричного визначення загальної антиоксидантної активності продуктів рослинного походження включає проведення екстракції із лікарських рослин та препаратів на їх основі, застосування реакції відновлення антиоксидантами іонів міді, використання речовин-стандартів для побудови градувальних графіків. В розчин, який аналізується, додають водний розчин тетрабензо-[b,f,j,n][1,5,9,13]-тетраазаціклогексадецин-купрум(II) нітрату, додатково додають етанол, встановлюють рН розчину $10,2 \pm 0,7$ і вимірюють світлопоглинання при довжині хвилі 695 нм. Спосіб характеризується високою правильністю отриманих результатів при використанні стандартного обладнання і доступних речовин-стандартів.



Фіг.

Винахід належить до аналітичної хімії, фармакології, фармації, харчової промисловості та стосується способу спектрофотометричного визначення загальної антиоксидантної активності (АОА) продуктів рослинного походження, що може бути використано при аналізі лікарських рослин та препаратів на їх основі, зокрема лікарських препаратів, харчових продуктів та дієтичних добавок.

Величина антиоксидантної активності рослинної сировини є одним з найважливіших показників її якості, оскільки значною мірою характеризує її біологічну дію. Основними природними відновниками, що обумовлюють антиоксидантну активність, є поліфеноли. Об'єктивним критерієм правомірності застосування цього показника для оцінки якості продуктів рослинного походження є високі коефіцієнти кореляції між знайденими величинами АОА та вмістом поліфенолів. АОА виражають у перерахунку на речовину-стандарт (кверцетин, рутин, тролокс та ін), тобто вказують масу вибраної речовини-стандарту, яка в даних умовах дає такий же аналітичний сигнал, що і 1 г досліджуваного препарату. Для вимірювання АОА використовують волюмометричні, спектрофотометричні, хемілюмінесцентні, флуоресцентні, електрохімічні і деякі більш специфічні методи аналізу. Перед проведенням вимірювань будь-яким з відомих методів оцінки АОА здійснюють екстракцію з рослинної сировини речовин, які зумовлюють її антиоксидантну активність.

Відомий спосіб спектрофотометричного визначення антиоксидантної активності [1], заснований на реакціях відновлення вільних радикалів (DPPH–1–дифеніл–2–пікрилгідразилу, ABTS-катион-радикал 2,2'-азинобіс (3-тилбензтіазолін-6-сульфонової кислоти), в основі якого лежить вимірювання відносної здатності антиоксидантів нейтралізувати вільні радикали порівняно із речовиною-стандартом. Згідно з цим способом, аналізований препарат змішують з розчином вільного радикалу і фіксують зменшення у часі оптичної густини під дією антиоксидантів при 514 нм для DPPH і 734 нм для ABTS. Для кількісного вираження АОА запропоновано кінетичні параметри:

а) константа другого порядку - k_2 (л·моль⁻¹·хв.⁻¹) швидкості зменшення концентрації радикальної форми DPPH;

б) $t_{1/2}$ - час, необхідний для зниження вихідної концентрації стабільних радикалів удвічі.

Спільними суттєвими ознаками відомого і заявленого способу є підготовка проб для аналізу, а саме проведення екстракції з лікарських рослин та препаратів на їх основі, застосування для реєстрації аналітичного сигналу спектрофотометричного методу.

До причин, що перешкоджають досягненню технічного результату заявленого винаходу, належить застосування дорогих хімічних та біохімічних реактивів і матеріалів; нестійкість розчинів реагентів у часі, що вимагає спеціальних умов їх зберігання; наявність складних і довготривалих стадій аналізу. Принциповим недоліком відомого способу є недостатня правильність, оскільки коефіцієнт кореляції між знайденими величинами АОА екстрактів лікарських рослин та вмістом у них поліфенолів становить 0,8181 при визначенні за DPPH [2] та 0,76 за ABTS [3].

Відомий спосіб спектрофотометричного визначення антиоксидантної активності, заснований на реакціях відновлення антиоксидантами іонів металів змінної валентності, а саме, іонів заліза (Fe³⁺) в присутності фотометричних реагентів - метод FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) [4]. Згідно з цим способом, аналізований препарат змішують з розчином хлориду заліза Fe³⁺, додають розчин фотометричного реагенту (трипіридилтриазину, 1,10-фенантроліну, 2,2'-дипіридилу та ін.) і фіксують оптичну густину при довжині хвилі 510 нм (для фенантроліну), 520 нм (для 2,2'-дипіридилу) та 593 нм (для трипіридилтриазину) через 60 хвилин.

Спільними суттєвими ознаками відомого і заявленого способу є підготовка проб для аналізу, а саме проведення екстракції із лікарських рослин та препаратів на їх основі, застосування для реєстрації аналітичного сигналу спектрофотометричного методу, використання речовин-стандартів для побудови градувальних графіків.

До причин, що перешкоджають досягненню технічного результату заявленого винаходу є те, що метод FRAP може бути використаним тільки для приблизної оцінки загальної АОА з причини існування систематичних похибок, пов'язаних з різною стехіометрією реакцій окиснення-відновлення і різною швидкістю формування аналітичного сигналу для різних типів поліфенолів, що входять до складу рослинних препаратів. Принциповим недоліком відомого способу є недостатня правильність, оскільки коефіцієнт кореляції між знайденими величинами АОА екстрактів лікарських рослин та вмістом у них поліфенолів становить лише 0,5061 [2].

Найбільш близьким за технічною суттю та результатом, що досягається, є спосіб спектрофотометричного визначення загальної АОА [5], вибраний як прототип, який базується на реакції відновлення антиоксидантами неорганічних іонів міді в присутності фотометричного

реагенту неокупроїну (2,9-диметил-1,10-фенантроліну) і вимірюванні світлопоглинання при 450 нм (метод CUPRAC).

Згідно з цим способом, в пробірку вносили 1 мл $1 \cdot 10^{-2}$ М водного розчину хлориду міді (II), 1 мл $7,5 \cdot 10^{-3}$ М етанольного розчину неокупроїну (2,9-диметил-1,10-фенантроліну) та 1 мл ацетатно-амонійного буферного розчину для створення pH 7, перемішували, після чого додавали X мл екстракту лікарських рослин і (1,1-X) мл води (загальний об'єм розчину має складати 4,1 мл). Через 30 хв вимірювали оптичну густину при 450 нм.

Спільними суттєвими ознаками відомого і заявленого способу є підготовка проб для аналізу, а саме проведення екстракції із лікарських рослин та препаратів на їх основі, застосування реакції відновлення антиоксидантами іонів міді, встановлення pH, реєстрація аналітичного сигналу спектрофотометричним методом, використання речовин-стандартів для побудови градувальних графіків.

До причин, що перешкоджають досягненню технічного результату заявленого винаходу є те, що умови проведення аналізу не є уніфікованими, а залежать від природи поліфенолів лікарської рослинної сировини. Так, при наявності глікозидів потрібно проводити додаткові стадії, а саме кип'ятіння отриманих екстрактів лікарських рослин із зворотним холодильником в 1,2 М розчині соляної кислоти, що містить 50 % метилового спирту, для гідролізу глікозидів флавоноїдів до відповідних агліконів. Принциповим недоліком відомого способу є недостатня правильність, оскільки коефіцієнт кореляції між результатами визначення АОА досліджених екстрактів 33 лікарських рослин та вмістом у них поліфенолів становить 0,8279 [2].

В основу винаходу поставлено задачу підвищити правильність визначення АОА продуктів рослинного походження, критерієм чого буде служити підвищення коефіцієнта кореляції між визначеною величиною АОА та вмістом у них поліфенолів.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб спектрофотометричного визначення загальної антиоксидантної активності продуктів рослинного походження включає підготовку проб для аналізу, а саме, проведення екстракції із лікарських рослин та препаратів на їх основі, застосування реакції відновлення антиоксидантами іонів міді, використання речовин-стандартів для побудови градувальних графіків. Згідно з винаходом, в розчин, який аналізується, додають водний розчин тетрабензо-[b, f, j, n][1, 5,9, 13]-тетраазациклогексадецин-купрум(II) нітрату, додатково додають етанол, встановлюють pH розчину $10,2 \pm 0,7$ і вимірюють поглинання при 695 нм. Як речовини-стандарт використовують кверцетин або кавову кислоту.

Таким чином, суттєвими ознаками запропонованого способу спектрофотометричного визначення загальної антиоксидантної активності поліфенолів у лікарських рослинах та їх препаратах є те, що розчин поліфенолів обробляють водним розчином тетрабензо-[b, f, j, n][1, 5,9, 13]-тетраазациклогексадецин-купрум(II) нітрату $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$, додають етанол, встановлюють pH $10,2 \pm 0,7$ і вимірюють поглинання при 695 нм.

Винахідницький рівень запропонованого рішення полягає в тому, що комплекс дій, а саме введення водного розчину тетрабензо-[b, f, j, n][1, 5,9, 13]-тетраазациклогексадецин-купрум(II) нітрату, додавання етанолу, встановлення pH $10,2 \pm 0,7$ і вимірювання аналітичного сигналу світлопоглинання при 695 нм дозволяє підвищити правильність визначення АОА лікарських рослин та їх препаратів у перерахунку на речовину-стандарт і досягти високих коефіцієнтів кореляції між результатами визначення АОА та вмістом у них поліфенолів. При додаванні етанолу весь відновлений комплекс $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$ знаходиться в розчиненому стані, і поглинання аналізованого розчину в інтервалі концентрацій $C_{\text{етанолу}} = 40-60\%$ є стабільним. Застосування тетрабензо-[b, f, j, n][1, 5,9, 13]-тетраазациклогексадецин-купрум(II) нітрату дозволяє проводити вимірювання аналітичного сигналу при довжинах хвиль 695 нм, що підвищує вибірковість, і, відповідно, правильність аналізу, оскільки в цій області спектру відсутнє світлопоглинання продуктів окиснення поліфенолів.

Визначення антиоксидантної активності лікарських рослин при pH $10,2 \pm 0,7$ створює умови для проведення аналізу уніфікованим методом, який не залежить від хімічного складу поліфенолів лікарської рослинної сировини, виключає необхідність проведення стадії гідролізу глікозидів флавоноїдів до відповідних агліконів і, тим самим, скорочує час проведення аналізу, а також забезпечує однакову точність і правильність аналізу, але чутливість максимальна при pH 10,7.

Використання способу, що заявляється, для спектрофотометричного визначення загальної антиоксидантної активності поліфенолів у лікарських рослинах та їх препаратах є необхідним і достатнім для досягнення технічного результату, який полягає у підвищенні правильності визначення і забезпечує високі коефіцієнти кореляції між визначеною АОА та вмістом поліфенолів.

Крім того, кверцетин і кавава кислота, вибрані як речовини-стандарти, близькі за властивостями до основних груп поліфенолів і відповідають вимогам до стандартних речовин у фармації.

Винахід пояснюється наступними прикладами, які не обмежують обсяг правової охорони:

5 Приклад 1. Вибір оптимальної довжини хвилі реєстрації аналітичного сигналу.

Для вибору оптимальної довжини хвилі в мірну колбу ємністю 5,0 мл вводять аліквоту стандартного (0,069 мг/мл) водно-етанольного (4 %) розчину кверцетину, 2,5 мл етанолу, 0,8 мл розчину $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$ концентрацією 1,2 мг/мл, 0,2 мл буферного розчину ($\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$) з рН 10,7, воду до загального об'єму 5 мл та перемішують. Розчин одразу переносять у кювету з товщиною шару 1 см та вимірюють світлопоглинання в діапазоні довжин хвиль 400-900 нм. Максимум світлопоглинання $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$ після обробки розчином кверцетину спостерігається при довжині хвилі 695 нм.

Приклад 2. Вибір оптимальної концентрації етанолу.

15 В шість мірних колб ємністю 5,0 мл вносять по 1,5 мл стандартного (0,069 мг/мл) розчину кверцетину, аліквоти етанолу об'ємом 0,0; 0,5; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мл, по 0,8 мл розчину $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$ концентрацією 1,2 мг/мл, 0,2 мл буферного розчину ($\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$) з рН 10,7, воду до загального об'єму 5 мл. Розчини переносять у кювету з товщиною шару 1 см та вимірюють світлопоглинання при довжині хвилі 695 нм. Аналітичний сигнал залишається сталим при вмісті етанолу $\geq 2,5$ мл.

20 Приклад 3. Вибір оптимальної концентрації $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$.

В шість мірних колб ємністю 5,0 мл вносять по 1,5 мл стандартного (0,069 мг/мл) розчину кверцетину, 2,5 мл етанолу, аліквоти розчину $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$ (1,20 мг/мл) об'ємом 0,1; 0,3; 0,4; 0,5; 0,8 та 1,0 мл, 0,2 мл буферного розчину ($\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$) з рН 10,7, воду до загального об'єму 5 мл і перемішують. Розчини переносять у кювету з товщиною шару 1 см та вимірюють світлопоглинання при довжині хвилі 695 нм. Аналітичний сигнал залишається сталим при об'ємі $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2 \geq 0,8$ мл.

Приклад 4. Вибір оптимального рН буферного розчину ($\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$).

30 В шість мірних колб ємністю 5,0 мл вносять по 1,5 мл стандартного (0,069 мг/мл) розчину кверцетину, 2,5 мл етанолу, 0,8 мл розчину $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$ концентрацією 1,2 мг/мл, 0,2 мл буферного розчину ($\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$) з рН 8,3; 8,7; 9,2; 10,3; 10,7; 11,0, воду до загального об'єму 5 мл і перемішують. Розчини переносять у кювету з товщиною шару 1 см та вимірюють світлопоглинання при довжині хвилі 695 нм. Аналітичний сигнал залишається сталим при рН буферного розчину ($\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$) $10,2 \pm 0,7$.

35 Приклад 5. Встановлення параметрів рівняння градувального графіка для визначення кверцетину.

В мірні колби ємністю 5,0 мл вводять стандартний водно-етанольний (4 %) розчин кверцетину (0,069 мг/мл) об'ємом 0,10; 0,30; 0,50; 0,80; 0,90; 1,00; 1,15; 1,20 мл, по 2,5 мл етанолу, 0,8 мл розчину $\text{CuTAAB}(\text{NO}_3)_2$ (1,2 мг/мл), 0,2 мл буферного розчину ($\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{CO}_3$) з рН 10,7, воду до загального об'єму 5 мл та перемішують. Розчини переносять у кювету з товщиною шару 1 см та вимірюють світлопоглинання при довжині хвилі 695 нм. Рівняння градувального графіка, побудованого в координатах $A=f(C_{\text{кверцетину}})$, має вигляд:

$$A = (46,2 \pm 3,3) C_{\text{кверцетину}},$$

де: А - оптична густина розчину при 695 нм;

$C_{\text{кверцетину}}$ - концентрація кверцетину у розчині, мг/мл.

45 Діапазон лінійності градувального графіка в межах 0,001-0,020 мг/мл кверцетину.

Приклад 6. Встановлення параметрів рівняння градувального графіка для визначення кавової кислоти.

В мірні колби ємністю 5,0 мл вводять всі розчини, як в прикладі 5, крім розчину кверцетину, замість якого вводять водний розчин кавової кислоти (0,20 мг/мл) об'ємом 0,05; 0,10; 0,35; 0,40; 0,50; 0,60; 0,80 та 1,00 мл. Всі операції, як в прикладі 5. Рівняння градувального графіка, побудованого в координатах $A=f(C_{\text{кавової кислоти}})$, має вигляд:

$$A = (0,027 \pm 0,066) + (28,6 \pm 3,2) C_{\text{кавової кислоти}},$$

де: А - оптична густина розчину при 695 нм;

55 $C_{\text{кавової кислоти}}$ - концентрація кавової кислоти у розчині, мг/мл. Діапазон лінійності градувального графіка в межах 0,002-0,040 мг/мл кавової кислоти.

Приклад 7-8. Визначення АОА дієтичної добавки "Бальзасил" ТУ У 15.8-03291669-016:2011.

В конічну колбу ємністю 50 мл вносять 0,600 г дієтичної добавки "Бальзасил", додають порцію гарячої води 4-5 мл, перемішують, через декілька хвилин обережно декантують розчин у мірну колбу ємністю 25 мл. Операцію повторюють 3-4 рази, доки розчин не стає безбарвним.

Потім розчин у колбі охолоджують до кімнатної температури, доводять до мітки водою і перемішують.

Для визначення АОА за способом, наведеним у прикладі 5, в мірні колби ємністю 5,0 мл замість розчину кверцетину вводять 0,5 мл розчину дієтичної добавки "Бальзасил" (приклад 7) і далі проводять визначення, як описано в прикладі 5. Величину АОА визначають за градувальним графіком та перераховують на вміст кверцетину у пробі.

Для визначення АОА за способом, наведеним у прикладі 6, в мірні колби ємністю 5,0 мл замість розчину кавової кислоти вводять 0,5 мл розчину дієтичної добавки "Бальзасил" (приклад 8) і далі проводять визначення, як описано в прикладі 6. Величину АОА визначають за градувальним графіком та перераховують на вміст кавової кислоти у пробі. Результати визначення АОА дієтичної добавки "Бальзасил" за розробленим способом наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Приклад	АОА, мг кверцетину / г "Бальзасилу"	Приклад	АОА, мг кавової кислоти / г "Бальзасилу"
7	5,65±0,05	8	4,55±0,06

Приклади 9-20. Визначення АОА дієтичних добавок серії "Фітосил" (-А, -Д, -К, -Л, -П, -Р) ТУ У 10.8-03291669-018:2014.

В сім конічних колб ємністю 50 мл вносять по 0,200 г "Фітосилу" (-А, -Д, -К, -Л, -П, -Р), додають 20 мл дистильованої води і нагрівають на водяній бані протягом 2 годин. Після охолодження вміст колби фільтрують через складчастий паперовий фільтр у мірну колбу ємністю 25 мл, доводять вміст колби до мітки водою і перемішують.

Для визначення АОА за способом, наведеним у прикладі 5, в мірні колби ємністю 5,0 мл замість розчину кверцетину вводять по 0,5 мл розчину препарату "Фітосил-А", -Д, -К, -Л, -П, -Р (приклад 9-14) і далі проводять визначення, як описано в прикладі 5. Величину АОА визначають за градувальним графіком та перераховують на вміст кверцетину у пробі (мг кверцетину / г "Фітосилу").

Для визначення АОА за способом, наведеним у прикладі 6, в мірні колби ємністю 5,0 мл замість розчину кавової кислоти вводять по 0,5 мл розчину препарату "Фітосил-А", -Д, -К, -Л, -П, -Р (приклад 15-20) і далі проводять визначення, як описано в прикладі 6. Величину АОА визначають за градувальним графіком та перераховують на вміст кавової кислоти у пробі (мг кавової кислоти / г "Фітосилу").

Результати визначення АОА дієтичних добавок "Фітосил" за розробленим способом наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Приклад	Дієтична добавка	АОА, мг кверцетину / г "Фітосилу"	Приклад	Дієтична добавка	АОА, мг кавової кислоти / г "Фітосилу"
9	Фітосил-П	10,15±0,80	15	Фітосил-П	6,44±0,83
10	Фітосил-А	17,39±0,42	16	Фітосил-А	13,96±0,44
11	Фітосил-К	22,06±0,76	17	Фітосил-К	18,82±0,79
12	Фітосил-Р	22,81±1,59	18	Фітосил-Р	19,59±1,65
13	Фітосил-Л	23,30±1,41	19	Фітосил-Л	20,11±1,47
14	Фітосил-Д	31,92±1,61	20	Фітосил-Д	29,06±1,64

Результати визначення антиоксидантної активності за розробленим способом співставлено із вмістом поліфенолів в дієтичних добавках "Бальзасил" і "Фітосил" (креслення). Речовина-стандарт: кверцетин (а), кавова кислота (б). Цифри на рисунку - номери прикладів. Отримані кореляційні залежності між цими показниками характеризуються високими коефіцієнтами кореляції: 0,9915 (стандарт-кверцетин) та 0,9866 (стандарт кавова кислота).

В табл. 3 наведені умови спектрофотометричного визначення загальної антиоксидантної активності відомим і заявленим способом.

Таблиця 3

Умови визначення	Заявлений спосіб	Відомий спосіб (прототип)
pH	10,2±0,7	7
Довжина хвилі вимірювання світлопоглинання, нм	695	450
Тривалість спектрофотометричного вимірювання, хв	1	30
Коефіцієнт кореляції між АОА та вмістом поліфенолів	0,9866 (речовина-стандарт-кавова кислота) 0,9915 (речовина-стандарт-кверцетин)	0,8279

З табл. 3 випливає, що заявлений спосіб визначення АОА має низку переваг у порівнянні з прототипом. Так, перебіг реакції при pH 10,2±0,7, при якому відбувається лужний гідроліз глікозидів, виключає необхідність проведення стадії гідролізу глікозидів флавоноїдів до відповідних агліконів і тим самим скорочує час проведення аналізу. Ще одним фактором підвищення експресності визначення є вимірювання світлопоглинання одразу після змішування реагентів. Вимірювання аналітичного сигналу при більших довжинах хвиль (695 нм), у порівнянні з прототипом, підвищує вибіркковість і, відповідно, правильність аналізу, оскільки в області 450 нм (за прототипом) поглинають не лише поліфеноли, а й інші природні сполуки, які не мають антиоксидантних властивостей, зокрема продукти окиснення поліфенолів.

Запропонований спосіб характеризується високою правильністю отриманих результатів і дозволяє визначати загальну антиоксидантну активність поліфенолів в лікарських рослинах та їх препаратах, використовуючи стандартне обладнання і доступні речовини-стандарт кверцетин або кавову кислоту.

Джерела інформації:

1. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Мальцева Е.В. Методы исследования антиоксидантов // Химия растительного сырья.- 2004. - № 3. - С.63-75.

2. Stef D.S., Gergen I., Trasca T. I., Stef L., Pop C, Harmanescu M., Biron R. and Pet E. Evaluation of 33 medicinal plant extracts for the antioxidant capacity and total phenols // Journal of Food, Agriculture & Environment-2010. – 8 – P.207-210.

3. Tipe R. S., Kemse N. G., and Khaire A. A. Evaluation of antioxidant potentials and total phenolic contents of selected Indian herbs powder extracts International // Food Research Journal-2013. - V.20, N3-P. 1053-1063.

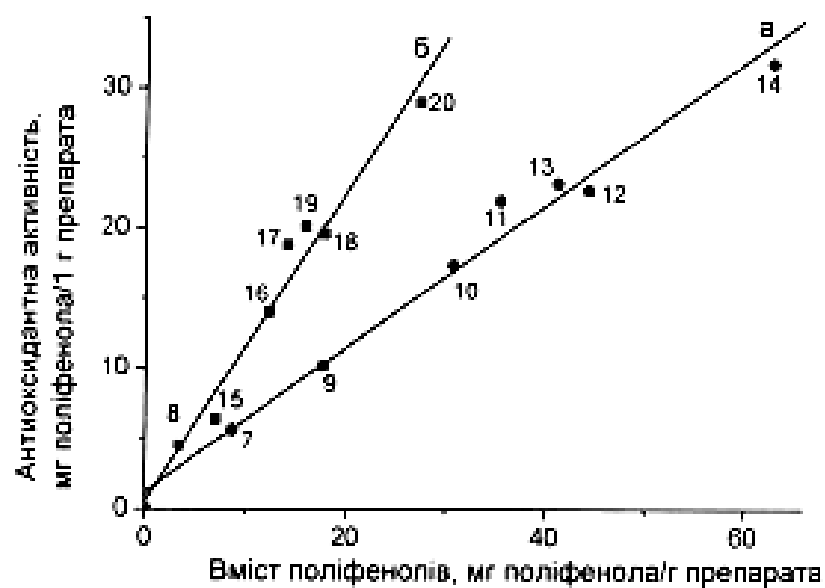
4. Цюпко Т.Г., Петракова И.С., Бриленок Н.С., Николаева Н.А., Чупрынина Д.А., Темердашев З.А., Вершинин В.И. Определение суммарного содержания антиоксидантов методом FRAP // Аналитика и контроль. - 2011. - Т. 15, № 3. - С.287-298.

5. Apak R., Gticlii K., Demirata B., Ozytirek M., Qelik S.E., Bektasoglu B., Berker K.I. and Ozyurt D. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay // Molecules-2007. - 12-P. 1496-1547.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб спектрофотометричного визначення загальної антиоксидантної активності продуктів рослинного походження, який включає підготовку проб для аналізу, а саме проведення екстракції із лікарських рослин та препаратів на їх основі, застосування реакції відновлення антиоксидантами іонів міді, використання речовин-стандартів для побудови градувальних графіків, який **відрізняється** тим, що в розчин, який аналізується, додають водний розчин тетрабензо-[b,f,j,n][1,5,9,13]-тетраазациклогексадецин-купрум(II) нітрату, додатково додають етанол, встановлюють pH розчину 10,2±0,7 і вимірюють світлопоглинання при довжині хвилі 695 нм.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як речовини-стандарт використовують кверцетин або кавову кислоту.



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