

663.2
М54

УКРАИНСКАЯ АКАДЕМИЯ АГРАРНЫХ НАУК
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ ВИНОГРАДА И ВИНА «МАГАРАЧ»

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ
АКТИВНОСТИ В ЖИДКОФАЗНЫХ ПРОДУКТАХ ВИНОДЕЛИЯ

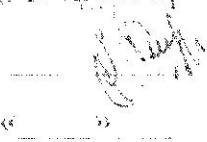
РД 00334830-055-2008 : .

Янта 2008 г.

УТВЕРЖДАЮ:

Директор НИВиВ «Магарин»

д. с.-х. н., профессор, академик А. В. Соколов



А. В. Соколов

Санкт-Петербург

11.09.11

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ АЛТИНОКСИДНОЙ
АКТИВНОСТИ В ЖИДКОФАЗНЫХ ПРОДУКТАХ ВИНОГРАДА

РД 00334830-055-2008 г.

отдел биологических активных
компонент винограда, тех. наук

А. В. Соколов

отдел биологических активных
компонент винограда, канд. тех. наук

Д. М. Касаткин

отдел биологических активных
компонент винограда, канд. биологических
наук, техн. рук

Д. М. Касаткин

Исполнитель
Ведущий инженер отдела биологически
активных продуктов винограда

Д. А. Касаткин

Ведущий инженер отдела биологически
активных продуктов винограда

Д. А. Касаткин

Аспирант

Д. А. Касаткин

Маркоконтроль
ст. научн. сотрудник
супервизор по метрологии
биологически
активных продуктов винограда

Д. А. Касаткин
В. В. Белов

РД 00334830-055-2008 г.

РУКОВОДЯЩИЙ ДОКУМЕНТ

Методические указания

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ В ЖИДКОФАЗНЫХ ПРОДУКТАХ ВИНОДЕЛИЯ

РД 00334830-055-2008 г.

Дата введения

Настоящие методические указания устанавливают методику выполнения измерений (в дальнейшем МВИ) антиоксидантной активности в винах, коньяках, экстрактах, слабоалкогольных напитках, соках виноделия на приборе Цвет Язуа -01-АЛ с амперометрическим детектором [1-4].

1 Нормы точности измерения

Настоящая МВИ обеспечивает выполнение измерений массовой концентрации антиоксидантов в исследуемых образцах с погрешностью, не превышающей 5% во всем диапазоне измеряемых величин при доверительной вероятности 0,95.

2 Способ измерения

Методика обеспечивает измерение массовой концентрации всех антиоксидантов в винах, коньяках, экстрактах, слабоалкогольных напитках, соках амперометрическим методом с помощью прибора Цвет-Язуа-01-АЛ в

пределах +2,0 до -2,0 В. Скорость подачи элюента 1,2 см³/мин (СКО не более 5 %)

3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реагенты, материалы

- 3.1 Весы лабораторные общего назначения, 2 класс точности с наибольшим пределом измерения 200 г, типа ВЛР-200 – ГОСТ 24104-88
- 3.2 Меры массы – ГОСТ 7328-82Е
- 3.3 Колбы мерные вместимостью 10, 50, 250 1000 см³ ГОСТ 1770-74Е
- 3.4 Воронка стеклянная химическая – ГОСТ 23932-90
- 3.5 Вода бидистилированная – ГОСТ 6709-72
- 3.6 Кислота орто-фосфорная, ч.д.а.– ГОСТ 4556-78
- 3.7 Стаканчики для взвешивания типа СВ 24/10 ГОСТ 25336-82
- 3.8 Гидроксид натрия, х.ч. – ГОСТ 4328-77
- 3.9 Дозатор пипеточный с пределами измерений 5-50 мм³ и 100-1000 мм³ с наконечниками ТУ 9452-002-33189998-2002
- 3.10 Анализатор антиоксидантной активности «ЦветКуза-01-ЛЛ» ТУ МЭКВ. 414538.001
- 3.11 Шприц медицинский типа «Рекорд» вместимостью 1 см или одноразовый – ТУ 64-1-3776-84
- 3.12 Бумажные фильтры «синяя лента» – ТУ 6-09-1678-86
- 3.13 Компьютер с программным обеспечением
- 3.14 TROLOX-С (6 гидрокси-2,5,7,8- тетраметилхроман-2-карбокси кислота). согласно НД

Примечание: Допускается применение средств измерений, устройств, материалов и реагентов, отличающихся от приведенных, но не уступающих им по метрологическим характеристикам, влияющим на результат измерений.

4 Требование безопасности

При выполнении измерений согласно данной методики следует руководствоваться «Основными правилами безопасной работы в химических

лабораториях», изд. ВНИИ ТБ ХП 1979 г., «Правилами пожарной безопасности при эксплуатации предприятий химической промышленности ВНС-79», Правилами технической эксплуатации электроустановок потребителей», Энергоиздат, 1986 г.

5 Требование к квалификации персонала

К выполнению измерений могут быть допущены лица, имеющие высшее или средне-техническое специальное образование и опыт работы в химической лаборатории.

Оператор должен быть знаком с устройством анализатора антиоксидантной активности, с операциями, проводимыми при выполнении измерений и обработке результатов.

6 Условия выполнения измерений

6.1 При выполнении измерений должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды (25 ± 10)°C;
- относительная влажность окружающего воздуха от 30 до 80%;
- атмосферное давление от 84,0 до 106,7 кПа (от 630 до 795 мм рт.ст.);
- напряжение переменного тока (220-250) В;
- частота переменного тока (50 ± 1) Гц;
- содержание агрессивных веществ в воздухе помещения не должно превышать санитарных норм;
- механические воздействия, внешние электрические и магнитные поля, влияющие на работоспособность, должны быть исключены.

7 Подготовка к выполнению измерения

Перед выполнением измерений необходимо провести следующие операции: приготовление элюента, приготовление растворов, построение калибровочного графика стандартного вещества (TROLOX-C).

7.1 Приготовление элюента.

Элюентом служит 2,2 mM раствор орто-фосфорной кислоты. В мерную колбу вместимостью 1000 см³ наливают 700 см³ бидистилированной воды,

добавляют пипеточным дозатором 150 м^3 концентрированной орто-фосфорной кислоты и доводят до метки бидистилированной водой. Тщательно перемешивают в течение 15-20 с.

7.2 Приготовление растворов.

7.2.1 Приготавливают рабочий раствор TROLOX-С с массовой концентрацией 100 мг/дм^3 . На аналитических весах в стаканчике взвешивают $0,0057 \text{ г}$ TROLOX-С, добавляют туда 30 см^3 метилового спирта. После растворения TROLOX-С содержимое стаканчика количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3 и доводят до метки раствором $2,2 \text{ мМ}$ орто-фосфорной кислоты. Тщательно перемешивают в течение 15-20 с. Срок хранения раствора в холодильнике – 1 месяц.

7.2.2 Приготавливают стандартные растворы TROLOX-С с массовой концентрацией $0,2; 0,5; 1,0; 4,0 \text{ мг/дм}^3$. В мерные колбы вместимостью 10 см^3 пипеточным дозатором вводят $20, 50, 100$ и 400 м^3 рабочего раствора TROLOX-С соответственно, доводят до метки раствором $2,2 \text{ мМ}$ орто-фосфорной кислоты. Тщательно перемешивают в течение 15-20 с.

Стандартные растворы TROLOX-С готовят каждый раз при построении калибровочного графика.

7.3 Построение калибровочного графика TROLOX-С

Перед началом работы необходимо построить калибровочный график TROLOX-С. Для этого последовательно измеряют сигналы стандартных растворов TROLOX-С, приготовленных по п.7.2.2. Измерения проводятся на анализаторе антиоксидантной активности «ИвестЯзу-01-АЛ».

Прибор работает следующим образом: насос постоянно прокачивает элюент, забирая его из емкости через всю систему. В кран-дозатор в положении «ввод» стандартным медицинским шприцем вместимостью 1 см^3 в дозирующую петлю вводится исследуемый раствор. Поворотом ручки крана в положение «анализ» поток элюента направляют определенную дозу исследуемого вещества, заключенную в петле, в ячейку детектора. В ячейке детектора на поверхности рабочего электрода происходит окисление молекул

исследуемого вещества, при этом возрастаёт электрический ток между двумя электродами. Величина электрического тока зависит от природы анализируемого вещества, природы рабочего электрода и потенциала, приложенного к электроду.

Возникающие электрические токи очень малы, в пределах 10^{-6} – 10^{-9} А, эти аналоговые сигналы усиливаются, а затем, с помощью АЦП (автоматический цифровой преобразователь), преобразуются в цифровой сигнал, который регистрируется на дисплее компьютера. В случае необходимости выходные результаты можно распечатать на принтере.

Рабочий электрод выполнен из стеклоуглерода, который наиболее универсален при определении полифенольных соединений в винодельческих средах. Потенциал может изменяться в пределах от +2,0 до -2,0 В, для построения калибровочного графика устанавливается +1,3 В.

В качестве элюента используется 2,2 мМ раствор H_3PO_4 , скорость подачи которого составляет $1,2 \text{ см}^3/\text{мин}$. Проводят по 5 последовательных измерений сигналов (площади выходной кривой) стандартных растворов TROLOX-С. За результат принимают среднее арифметическое значение из 5 измерений (СКО не более 5%). По полученным данным строят калибровочный график в координатах: X – сигнал TROLOX-С (площадь выходной кривой); Y – концентрация TROLOX-С, $\text{мг}/\text{дм}^3$, описываемый уравнением: $Y = aX + b$

8 Подготовка пробы к анализу

Перед измерением пробу, в случае необходимости, фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента» и разбавляют.

9 Выполнение измерения

Подготовленную пробу набирают в медицинский шприц вместимостью 1 см^3 и промывают дозирующую петлю, при этом кран-дозатор находится в положении «ввод».

Далее ведут измерение по п.7.3. Проводят по 5 последовательных измерений сигналов (площади выходной кривой) исследуемых растворов. За

результат принимают среднее арифметическое значение из 5 измерений (СКО не более 5%).

Расчет антиоксидантной активности СА ($\text{мг}/\text{дм}^3$) исследуемого образца проводят по калибровочному графику TROLOX-С. В случае необходимости полученную величину пересчитывают в $\text{мг}/\text{см}^3$. При расчете конечного результата для жидкого образца необходимо учесть разбавление пробы (если оно проводилось). Расчет проводится по формуле:

$$\text{СА} = \text{САгр.} \cdot N;$$

где САгр. - величина массовой концентрации антиоксидантов, найденная по калибровочному графику, $\text{мг}/\text{дм}^3$;

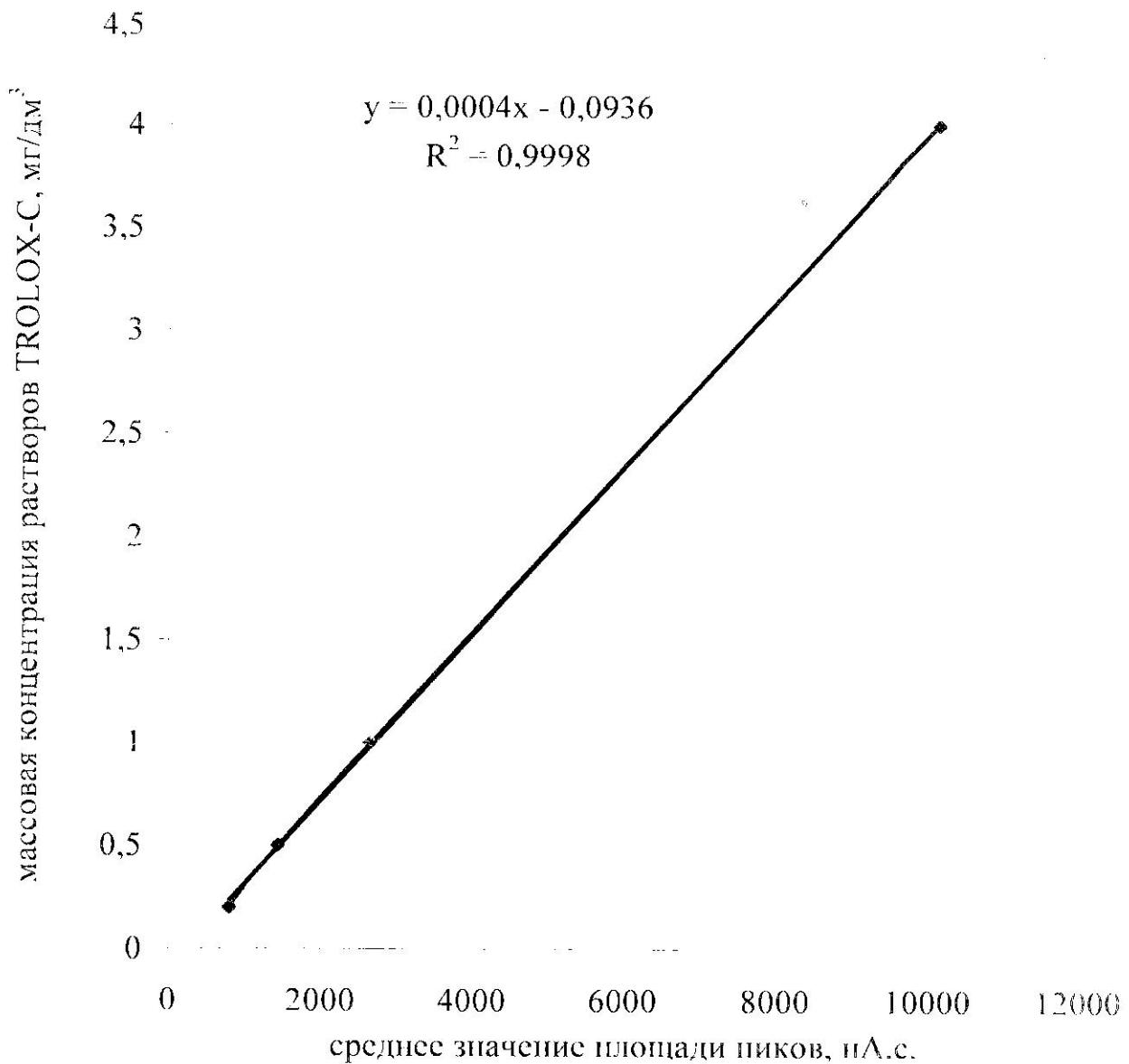
N коэффициент разбавление анализируемого образца.

**9 Перечень нормативных ссылок и использованной литературы
работ по применению прибора Цвет-Язуа-01-АЛ
для определения природных антиоксидантов**

1. Нахомов В.Н., Яшин Я.И., Яшин А.Я., Багирова В.Л., Арзамасцев А.Н., Кукас В.Г., Ших Е.В. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений. Патент № 2238554. Приоритет от 25.07.2003 г.
2. Яшин Я.И., Яшин А.Я., Нахомов В.Н. Установка для определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных соединений. Патент № 2238555. Приоритет 25.07.2003 г.
3. Яшин А.Я., Яшин Я.И., Нахомов В.Н., Черноусова Н.И. Новый экспрессный амперометрический способ определения антиоксидантной активности растительных лекарственных препаратов, биологически активных добавок и напитков /Материалы VII Международного съезда «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения», Фитофарм. - Миккели, Финляндия, 2004, с.617-620.
4. Яшин А.Я., Яшин Я.И. Прибор для определения антиоксидантной активности растительных лекарственных экстрактов и напитков. Материалы VII Международного съезда «Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения», Фитофарм. - Миккели, Финляндия, 2004, с.613-617.

10 Пример определения

1 Построение калибровочного графика (п. 7.3)



2 Измерение исследуемых образцов проводили в соответствие с п.8,9

Расчет проводился по формуле:

$$CA = CA_{\text{grp.}} \cdot N;$$

где СА – антиоксидантная активность исследуемого образца, мг/дм³

СА_{grp.} – величина массовой концентрации антиоксидантов, найденная по калибровочному графику, мг/дм³;

N – коэффициент разбавления анализируемого образца.

В таблице 1 приведены результаты антиоксидантной активности вина, слабоалкогольных напитков, коньяка, соков, экстрактов.

Таблица 1

| № | Наименование | Антиоксидантная активность | | АОА, мг/лм³ |
|----|----------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------|----------------|
| | | Средняя площадь ника н.д.с. | Количество разбавлений | |
| 1 | Вино «Каберне-Совиньон» | 27597 | 200 | 2208 |
| 2 | Вино «Ркацители» | 7762 | 100 | 310 |
| 3 | Слабоалкогольный напиток «Анкор» | 4100 | 100 | 163 |
| 4 | Слабоалкогольный напиток «Wins» | 920 | 100 | 38 |
| 5 | Коньяк «Изумруд» | 6212 | 100 | 248 |
| 6 | Экстракт семечки «Алиготе» | 32177 | 500 | 6389 |
| 7 | Экстракт семечки «Ркацители» | 42353 | 500 | 8423 |
| 8 | Экстракт семечки «Рислинг» | 31215 | 500 | 6196 |
| 9 | Экстракт семечки «Каберне-Совиньон» | 49600 | 500 | 9873 |
| 10 | Экстракт семечки «Мерло» | 67853 | 500 | 13521 |
| 11 | Пищевой концентрат «Эноант» | 23491 | 1000 | 9395 |
| 12 | Вин-вита | 21115 | 200 | 1689 |
| 13 | Вино «Каберне-Совиньон», обработанное ДДИ | 30318 | 200 | 2425 |
| 14 | Гранатовый концентрат | 28254 | 500 | 5651 |
| 15 | Сок Бузины | 38612 | 1000 | 15444 |
| 16 | Виноградный сок | 40143 | 500 | 8029 |
| 17 | Вишневый сок | 47166 | 1000 | 18866 |

ANNALS OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY

OF AMERICA, VOL. 30, PART 10, FEBRUARY 1932, PAGES 1-100.

ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA

1931, ANNUAL MEETING, NEW YORK CITY, NOVEMBER 11-13, 1931, PAGES 1-100.
ANNUAL REPORT OF THE SECRETARY.

The Annual Meeting of the Society was held at the Hotel New Yorker, New York City, November 11-13, 1931. The meeting was opened by the President, Dr. W. E. Verrall, who gave a brief address. The Vice-President, Dr. C. L. Shantz, followed with a report on the work of the Executive Committee. The Secretary reported on the work of the Society during the year 1931.

ANNUAL REPORT OF THE SECRETARY

THE following report covers the work of the Society during the year 1931. It is submitted with the hope that it will be of interest to the members of the Society. The report is divided into three parts: (1) General, (2) Financial, and (3) Special.

GENERAL

MEMBERSHIP

TECHNICAL COMMITTEE

EDUCATIONAL COMMITTEE

SCIENTIFIC COMMITTEE

STANDARDS COMMITTEE

COLLECTOR'S COMMITTEE

EXHIBITION COMMITTEE

LIBRARY COMMITTEE

TELEGRAMS COMMITTEE

TELETYPE COMMITTEE

TELEGRAPHIC COMMITTEE

TELETYPE COMMITTEE



Fig. 1.