

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
 федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего образования
 «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Инженерная Школа Природных Ресурсов
 Направление подготовки: 18.04.01 Химическая технология
 ООП: Анализ и контроль в химических и фармацевтических производствах
 Отделение школы (НОЦ): Отделение Химической Инженерии

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА МАГИСТРАНТА

Тема работы
Разработка и метрологическая аттестация методики определения водорастворимых антиоксидантов вольтамперометрическим методом в пищевых продуктах и биологических объектах

УДК 543.552:542.943-92'78:664

Обучающийся

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ13	Курапова Софья Александровна		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор	Слепченко Галина Борисовна	д.х.н.		

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Креницына Зоя Васильевна	к.т.н.		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Сечин Андрей Александрович	к.т.н.		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор ОХИ ИШПР	Короткова Елена Ивановна	д.х.н.		

Томск – 2023 г.

ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОСВОЕНИЯ ООП/ОПОП
 «Анализ и контроль в химических и фармацевтических производствах»

Код компетенции	Наименование компетенции
Универсальные компетенции	
УК(У)-1	Способен осуществлять критический анализ проблемных ситуаций на основе системного подхода, вырабатывать стратегию действий
УК(У)-2	Способен управлять проектом на всех этапах его жизненного цикла
УК(У)-3	Способен организовывать и руководить работой команды, вырабатывая командную стратегию для достижения поставленной цели
УК(У)-4	Способен применять современные коммуникативные технологии, в том числе на иностранном (-ых) языке (-ах), для академического и профессионального взаимодействия
УК(У)-5	Способен анализировать и учитывать разнообразие культур в процессе межкультурного взаимодействия
УК(У)-6	Способен определять и реализовывать приоритеты собственной деятельности и способы ее совершенствования на основе самооценки
Общепрофессиональные компетенции	
ОПК(У)-1	Способен организовывать самостоятельную и коллективную научно-исследовательскую работу, разрабатывать планы и программы проведения научных исследований и технических разработок
ОПК(У)-2	Способен использовать современные приборы и методики, организовывать проведение экспериментов и испытаний, проводить их обработку и анализировать их результаты
ОПК(У)-3	Способен разрабатывать нормы выработки, технологические нормативы на расход материалов, заготовок, топлива и электроэнергии, контролировать параметры технологического процесса, выбирать оборудование и технологическую оснастку
ОПК(У)-4	Способен находить оптимальные решения при создании продукции с учетом требований качества, надежности и стоимости, а также сроков исполнения, безопасности жизнедеятельности и экологической чистоты
ОПК(У)-5	Способен осуществлять экспериментальные исследования и испытания по заданной методике, проводить наблюдения и измерения с учетом требований техники безопасности, обрабатывать и интерпретировать экспериментальные данные
Профессиональные компетенции	
ПК(У)-1	Способен проводить технологический процесс производства лекарственных средств в соответствии с регламентом и использовать технические средства для измерения основных параметров технологического процесса, свойств сырья и продукции
ПК(У)-2	Способен использовать современные приборы и методики, организовывать проведение экспериментов и испытаний, проводить их обработку и анализировать их результаты
ПК(У)-3	Способен использовать нормативные документы по качеству, стандартизации и оценке соответствия продукции фармацевтических производств, элементы экономического анализа в практической деятельности
ПК(У)-4	Способен анализировать научно-техническую информацию, планировать и проводить эксперименты, оформлять результаты исследований и разработок



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Инженерная Школа Природных Ресурсов

Направление подготовки: Анализ и контроль в химических и фармацевтических производствах

Уровень образования: _____

Отделение школы (НОЦ) Отдел химической инженерии

Период выполнения _____ (осенний / весенний семестр 2022/2023 учебного года)

**КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН
выполнения выпускной квалификационной работы**

Обучающийся:

Группа	ФИО
2ДМ13	Курапова Софья Александровна

Тема работы:

Разработка и метрологическая аттестация методики определения водорастворимых антиоксидантов вольтамперометрическим методом в пищевых продуктах и биологических объектах

Срок сдачи обучающимся выполненной работы:

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
	<i>Глава 1 Литературный обзор по теме исследования</i>	
	<i>Глава 2 Материалы и методы исследования</i>	
	<i>Глава 3 Результаты и обсуждение</i>	
	<i>Глава 4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение</i>	
	<i>Глава 5 Социальная ответственность</i>	

СОСТАВИЛ:

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор	Слепченко Г.Б.	д.х.н.		

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ООП/ОПОП

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор ОХИ ИШПР	Короткова Е.И.	д.х.н.		

Обучающийся

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ13	Курапова С.А.		



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Инженерная Школа Природных Ресурсов
Направление подготовки (ООП) 18.04.01 Химическая технология
Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ООП/ОПОП
_____ Короткова Е.И.
(Подпись) (Дата) (ФИО)

ЗАДАНИЕ на выполнение выпускной квалификационной работы

Обучающийся:

Группа	ФИО
2ДМ13	Курапова Софья Александровна

Тема работы:

Разработка и метрологическая аттестация методики определения водорастворимых антиоксидантов вольтамперометрическим методом в пищевых продуктах и биологических объектах	
<i>Утверждена приказом директора (дата, номер)</i>	<i>№ 30-93/с от 30.01.2023</i>

Срок сдачи обучающимся выполненной работы:

--	--

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе <i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к функционированию (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.)</i></p>	<p>Объект исследования – водорастворимые антиоксиданты в пищевых продуктах и биологических объектах. Разработка методики предназначена для количественного суммарного определения содержания антиоксидантов.</p>
<p>Перечень разделов пояснительной записки подлежащих исследованию, проектированию и разработке <i>(аналитический обзор литературных источников с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе)</i></p>	<p>1) Литературный обзор на темы: характеристики объектов исследования, антиоксидантная активность некоторых исследуемых групп, методы определения антиоксидантов 2) Объект и методы исследования 3) Экспериментальная часть: — Расчет антиоксидантов по кинетическому критерию активности; — Вольтамперометрическое определение водорастворимых антиоксидантов; — Метод подготовки проб для твердых, жидких образцов и биологических объектов</p>

	4) Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение. 5) Социальная ответственность.
--	---

Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i>	Результаты исследования (графики, таблицы)
---	--

Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы
(с указанием разделов)

Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Креницына Зоя Васильевна
Социальная ответственность	Сечин Андрей Александрович
Раздел ВКР, выполненный на иностранном языке	Сыскина Анна Александровна

Названия разделов, которые должны быть написаны на иностранном языке:

Ways of obtaining antioxidants and their characteristics. Natural and artificial antioxidants
Methods for determining antioxidants
Determining antioxidant activity in food products
Electrode preparation

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	
---	--

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор	Слепченко Г.Б.	Д.Х.Н.		

Задание принял к исполнению обучающийся:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ13	Курапова Софья Александровна		

**ЗАДАНИЕ К РАЗДЕЛУ
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ
И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»**

Обучающемуся:

Группа	ФИО
2ДМ13	Курапова Софья Александровна

Школа	Инженерная школа природных ресурсов	Отделение школы (НОЦ)	Отдел химической инженерии
Уровень образования	магистратура	Направление/ООП/ОПО П	Анализ и контроль химических и фармацевтических производств

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	Бюджет проекта – не более 1 000 000 руб, в т.ч. затраты по оплате труда – не более 500 000 руб.
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	Значение показателя интегральной эффективности – не менее 4,5 из 5
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	- Районный коэффициент- 1,3; - коэффициент доплат – 0,1; - накладные расходы – 16%; - отчисления во внебюджетные фонды – 30 %

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

1. Оценка коммерческого и инновационного потенциала НТИ	Проведение предпроектного анализа. Определение целевого рынка и проведение его сегментирования. Анализ причин и следствия проблем, оценка коммерциализации проекта
2. Разработка устава научно-технического проекта	Устав проекта, организационная структура проекта, ограничения и допущения проекта
3. Планирование процесса управления НТИ: структура и график проведения, бюджет, риски и организация закупок	Составление структуры работ и календарного плана проекта. Определение бюджета НТИ
4. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности	Проведение сравнительной оценки экономической эффективности научного исследования

Перечень графического материала:

<ol style="list-style-type: none"> 1. «Портрет» потребителя результатов НТИ 2. Сегментирование рынка 3. Оценка конкурентоспособности технических решений 4. Диаграмма Исикавы 5. Иерархическая структура работ проекта 6. График проведения и бюджет НТИ
--

Дата выдачи задания к разделу по линейному графику

Задание выдал консультант

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Криницына Зоя Васильевна	к.т.н.		

Задание принял к исполнению обучающийся:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ13	Курапова Софья Александровна		

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа		ФИО	
2ДМ13		Курапова Софья Александровна	
Школа	Инженерная школа природных ресурсов	Отделение (НОЦ)	Отдел химической инженерии
Уровень образования	магистратура	Направление/специальность	18.04.01 Химическая технология: анализ и контроль химических и фармацевтических производств

Тема ВКР:

Разработка и метрологическая аттестация методики определения водорастворимых антиоксидантов вольтамперометрическим методом в пищевых продуктах и биологических объектах

Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:

<p>Введение</p> <ul style="list-style-type: none"> – Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика) и области его применения. – Описание рабочей зоны (рабочего места) при разработке проектного решения/при эксплуатации 	<p><i>Объект исследования: пищевая продукция и биологические объекты (содержание антиоксидантов в пищевой продукции и биологических объектах)</i></p> <p><i>Область применения: пищевая промышленность, лабораторный анализ</i></p> <p><i>Рабочая зона: лаборатория</i></p> <p><i>Количество и наименование оборудования рабочей зоны: комплексный вольтамперометрический анализатор «СТА», ультразвуковая ванна, центрифуга, аналитические весы</i></p> <p><i>Рабочие процессы, связанные с объектом исследования, осуществляющиеся в рабочей зоне: пробоподготовка объектов исследования, центрифугирование, экстрагирование, определение наличия антиоксидантной активности методом инверсионной вольтамперометрии, аттестация методики</i></p>
--	--

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

<p>1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности при эксплуатации:</p> <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные при эксплуатации объекта исследования, проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны. 	<ul style="list-style-type: none"> — Трудовой кодекс Российской Федерации от 30.12.2001 N 197-ФЗ (ред. от 27.12.2018) — ГОСТ 12.2.032-78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. — ПНД Ф 12.13.1-03. Методические рекомендации. Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения) — ГОСТ 12.0.004-90. Организация обучения безопасности труда
<p>2. Производственная безопасность при эксплуатации:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Анализ выявленных вредных и опасных производственных факторов – Расчет уровня опасного или вредного производственного фактора 	<p>Вредные факторы:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Умственное перенапряжение; – Чрезмерное значение фактора; – Факторы, порождаемые химическим и физико-химическими свойствами используемых в рабочей зоне веществ или материалов; – Недостаточная освещенность рабочей зоны; – Повышенный уровень вибрации; – Перенапряжение зрительного анализатора; – Статические физические перегрузки; – Динамические нагрузки. <p>Опасные факторы:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Опасные и вредные производственные факторы, связанные с электрическим током;

	<ul style="list-style-type: none"> – Повышенный уровень ультразвука; – Недостаток естественного и искусственного освещения; – Вещества, вызывающие поражение кожи и раздражение глаз; – Монотонность труда, вызывающий монотонию. <p>Требуемые средства, необходимые для коллективной и индивидуальной защиты:</p> <ul style="list-style-type: none"> – осветительные приборы; – изолирующие устройства; – вентиляция; – халат лабораторный; – перчатки; – защитные очки; – респиратор. <p><u>Расчет:</u> расчет системы искусственного освещения</p>
3. Экологическая безопасность при эксплуатации	<p>Воздействие на селитебную зону: отсутствует</p> <p>Воздействие на литосферу: промышленные отходы, связанные с разработкой проекта</p> <p>Воздействие на гидросферу: слив реактивов и продуктов пробоподготовки в канализационную сеть</p> <p>Воздействие на атмосферу: минимальные выбросы веществ из вытяжного шкафа, содержащие низкие концентрации химических веществ</p>
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях при эксплуатации	<p>Возможные ЧС: выход оборудования из строя короткое замыкание утечка растворов кислоты возгорание оборудования</p> <p>Наиболее типичная ЧС: возгорание оборудования</p>
Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
01.03.2023	

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Сечин Андрей Александрович	к. т. н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ13	Курапова Софья Александровна		

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа включает в себя 130 страниц, 18 рис, 40 табл и 65 источников.

Ключевые слова: инверсионная вольтамперометрия, антиоксидантная активность, водорастворимые антиоксиданты, ртутно-пленочный электрод, метрологические характеристики, пищевые продукты

Объектом исследования являются пищевые продукты, алкогольные и безалкогольная продукция, овощи, фрукты и продукты их переработки.

Целью данной работы является разработка методики вольтамперометрического определения водорастворимых антиоксидантов в пробах пищевых продуктов, алкогольных и безалкогольных напитках, овощей, фруктов и продуктов их переработки и расчет основных метрологических показателей.

Для достижения цели определены следующие задачи:

1. Провести литературный обзор по методам и условиям определения водорастворимых антиоксидантов в различных объектах;
2. Изучить закономерности влияния различных факторов (рН среды, состав фонового электролита, времени накопления и скорости развертки) на процесс электровосстановления кислорода на электроде;
3. Выбрать рабочие условия пробоподготовки пищевых продуктов, алкогольных и безалкогольных напитков, овощей, фруктов и продуктов их переработки при определении антиоксидантов методом инверсионной вольтамперометрии;
4. Разработать методику определения водорастворимых антиоксидантов методом инверсионной вольтамперометрии. Рассчитать основные метрологические характеристики.

Работа представляется введением, пятью разделами, заключением, приведены приложения и список использованных источников.

Область применения: полученная разработка может использоваться в качестве методики определения водорастворимых антиоксидантов в пищевых продуктах, алкогольных и безалкогольных напитков, овощей, фруктов и продуктов их переработки, а также более подробного изучения антиоксидантов в научных целях.

Оглавление

Введение.....	15
Глава 1 Литературный обзор.....	17
1.1 Характеристики объектов исследования	17
1.1.1 Определение и классификация. Роль антиоксидантной активности в организме человека	17
1.1.2 Способы получения антиоксидантов и их характеристики. Природные и искусственные антиоксиданты	22
1.1.3 Нормопотребление антиоксидантов и их влияние на здоровье человека	24
1.1.4 Влияющие факторы на содержание антиоксидантов в пищевых продуктах: условия выращивания растений и способы обработки пищевых продуктов и биологических объектов	26
1.2 Антиоксидантная активность некоторых исследуемых групп.....	28
1.3 Методы определения антиоксидантов	32
1.3.1 Хроматографические методы.....	32
1.3.2 Фотолюминесцентный метод.....	33
1.3.2 Кулонометрическое определение	36
1.3.3 Метод полярографии.....	37
1.3.4 Амперометрический способ	38
1.3.6 Вольтамперометрический метод	39
Глава 2 Материалы и методы исследования	41
2.1 Объекты исследования. Приборы и материалы	41
2.2 Методика подготовки	42
2.2.1 Приготовление фонового раствора (рН=6,86)	42
2.2.2 Раствор подкисленной воды для установления рН (рН~2,0- 3,0).....	42
2.2.3 Исходный раствор кверцетина концентрации 100 мг/дм ³ для сравнения.....	42

2.2.4 Рабочий раствор кварцетина концентрации 10 мг/дм ³	42
2.3 Подготовка электродов	43
2.3.1 Подготовка индикаторного (рабочего) ртутно-пленочного электрода	43
2.3.2 Подготовка электрода сравнения к работе	44
2.3.3 Подготовка к работе вспомогательного сравнения	44
2.4 Подготовка прибора к работе.....	44
Глава 3 Результаты и обсуждения	45
3.1 Расчет антиоксидантов по кинетическому критерию активности.....	45
3.1.1 Измерение фонового электролита в отсутствии антиоксидантов.....	46
3.1.2 Измерение фонового электролита в присутствии антиоксидантов	47
3.1.3 Расчет антиоксидантной активности.....	50
3.1.4 Оформление результатов.....	52
3.2 Вольтамперометрическое определение водорастворимых антиоксидантов	53
3.2.1 Подготовка к выполнению измерений.....	54
3.2.2 Выполнение измерений	55
3.2.3 Обработка и контроль точности результатов измерений.....	55
3.2.4 Проверка приемлемости результатов измерений	57
3.2.5 Оформление результатов измерений	57
3.3 Метод подготовки проб для твердых, жидких образцов и биологических объектов.....	58
3.3.1 Подготовка пробы	58
3.3.1.1 Подготовка твердой пробы.....	59
3.3.1.2 Подготовка жидкой пробы	61
3.3.2 Выполнение измерений	61
3.3.3 Обработка результатов измерений	63

3.3.4 Проверка приемлемости результатов измерений	63
3.3.5 Оформление результатов измерений	64
Глава 4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	65
4.1 Предпроектный анализ	65
4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования	65
4.1.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения.....	67
4.1.3 Диаграмма Исикавы	68
4.1.4 Оценка готовности проекта к коммерциализации	69
4.1.5 Выбор предпочтительного метода коммерциализации результатов научно-технического исследования.....	71
4.2 Проект. Планирование исследовательских работ	72
4.2.1 Цели и результаты проекта	72
4.2.2 Иерархическая структура проекта.....	72
4.3 План проекта.....	73
4.3.2 Диаграмма Ганта	74
4.3.3 Бюджет научного исследования	76
4.4 Оценка сравнительной эффективности исследования	80
Глава 5 Социальная ответственность	84
5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности.....	84
5.2 Производственная безопасность.....	86
5.2.1 Анализ опасных и вредных производственных факторов	89
5.2.1.1 Работа с вредными химическими веществами.....	89
5.2.1.2 Отклонение показателей микроклимата	91
5.2.1.3 Превышение уровня шума	92

5.2.1.4 Недостаточность освещенности рабочей зоны	93
5.2.1.5 Электробезопасность	97
5.2.1.6 Пожаровзрывобезопасность.....	98
5.2.1.7 Повышенный уровень электромагнитных излучений.....	99
5.3 Экологическая безопасность.....	99
5.3.1 Анализ влияния разработки проекта исследования на окружающую среду .	99
5.3.2 Мероприятия по защите окружающей среды.....	100
5.3.2.1 Воздействие на атмосферу	100
5.3.2.2 Воздействия на литосферу	101
5.3.2.3 Воздействие на гидросферу	102
5.3.2.4 Воздействие на селитебную среду	102
5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях.....	103
5.4.1 Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований	103
5.4.2 Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС, пожаро- и взрывобезопасность	104
Заключение.....	105
Заключение.....	107
Список использованных источников	108
Приложение А.....	115

Введение

Антиоксиданты – это важнейший объект исследования в медицине, биохимии и молекулярной биологии. Существует гипотеза, что старение организма напрямую связано с нарушениями тонких механизмов антиокислительной защиты организма. Недостаточность антиоксидантного потенциала при развивающихся патологических процессах может корректироваться фармацевтическими препаратами, обладающие опосредованной антиоксидантной активностью. Новые комплексы, помимо своих основных фармакологических действий, уменьшают процесс окисления свободных радикалов, восстанавливают систему антиоксидантной защиты и снимают тяжесть клинических симптомов. В связи с чем, остро обозначилась необходимость контроля антиоксидантного статуса организма, с целью дальнейшей терапевтической коррекции.

На данный момент отсутствует универсальный показатель антиоксидантной активности в пищевой продукции, что требует проведения длительных, несопоставимых и недостоверных исследований на основе несертифицированных методик и проверки их качества. В связи с этими составляющими, внедрение новых методик разработок и приборов способные обеспечить точные результаты при определении антиоксидантной активности пищевых продуктов является важным значением для обеспечения проверки качества, эффективности и безопасности в пищевых продуктах.

В литературе представлено множество методов для определения антиоксидантов, приводящих к получению результатов разных размерностей, что не позволяет сравнить их между собой. Несмотря на это, количество сертифицированных методик и приборов, способных надежно и быстро измерить антиоксидантную активность продуктов, является ограниченным. Также существует нехватка информации о влиянии ряда факторов, таких как pH среды, природа антиоксидантов, характеристики растворителя и время выдержки продукции на ее антиоксидантные свойства.

Электрохимические методы – самые перспективные и доступные способы для определения антиоксидантов. Они отличаются низкой себестоимостью, высокой чувствительностью и способностью анализировать как водные, так и неводные среды. Метод инверсионной вольтамперометрии довольно удобен для определения антиоксидантов и их активности, так как он более чувствителен к наличию кислорода и его активных радикалов в среде.

Целью работы является разработка методики вольтамперометрического определения водорастворимых антиоксидантов в пробах пищевых продуктов, алкогольных и безалкогольных напитках, овощей, фруктов и продуктов их переработки и расчет основных метрологических показателей. Для достижения поставленной цели необходимо указать следующие **задачи**:

1. Провести литературный обзор по методам и условиям определения водорастворимых антиоксидантов в различных объектах;

2. Изучить закономерности влияния различных факторов (рН среды, состав фонового электролита, времени накопления и скорости развертки) на процесс электровосстановления кислорода на электроде;

3. Выбрать рабочие условия пробоподготовки пищевых продуктов, алкогольных и безалкогольных напитков, овощей, фруктов и продуктов их переработки при определении антиоксидантов методом инверсионной вольтамперометрии;

4. Разработать методику определения водорастворимых антиоксидантов методом инверсионной вольтамперометрии. Рассчитать основные метрологические характеристики.

Научная новизна: разработаны рабочие условия количественного определения водорастворимых антиоксидантов методом ИВА. Также подобраны условия пробоподготовки для твердых, жидких продуктов.

Глава 1 Литературный обзор

1.1 Характеристики объектов исследования

1.1.1 Определение и классификация. Роль антиоксидантной активности в организме человека

Антиоксиданты – это вещества, которые могут защитить клетки организма от повреждения свободными радикалами. Такие радикалы образуются при окислительных реакциях в организме, и могут вызвать повреждение ДНК, белков и жиров. Антиоксиданты способны связывать свободные радикалы и предотвращать такие повреждения.

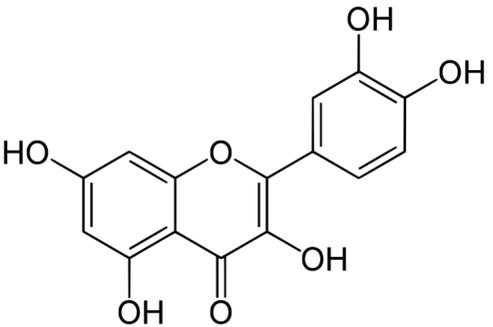
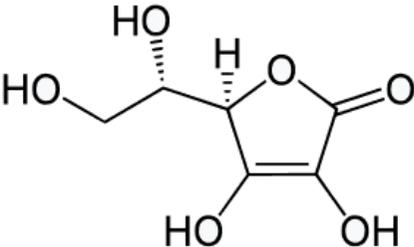
Группа антиоксидантов классифицируется на 2 основных типа: ферментативные и неферментативные антиоксиданты.

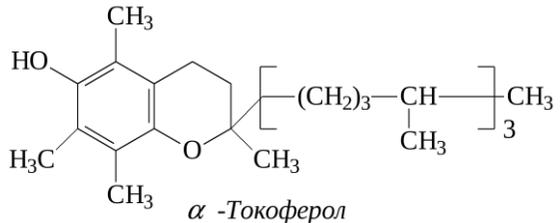
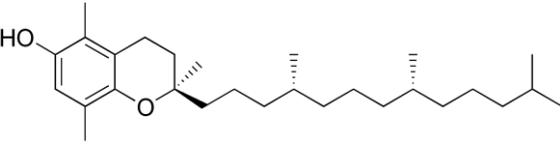
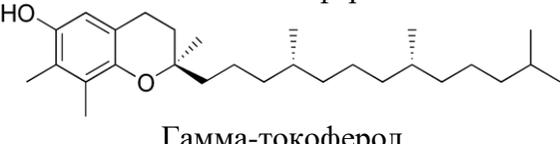
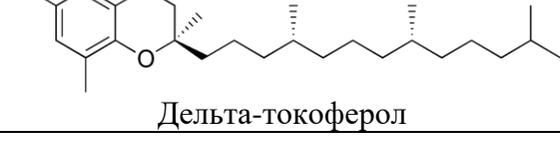
Ферментативные антиоксиданты – ферменты, способные нейтрализовать свободные радикалы.

Неферментативные антиоксиданты – группа, к которой относятся многие витамины, например, С и Е; некоторые аминокислоты, например, тирозин и цистеин, флавоноиды, полифенолы и каротиноиды, которые защищают клетки от повреждения радикалами [1].

В таблице 1 указаны некоторые характеристики неферментативных антиоксидантов [2].

Таблица 1- Характеристика некоторых неферментативных антиоксидантов

Название	Определение	Структурная формула	Где содержится	Количественное содержание
Кверцетин	Природное биохимическое вещество группы флавоноидов. Название произошло от латинского названия дуба. Кверцетин относится к витаминным препаратам группы Р.		Растения, в основном красного и багрового цвета, содержат водорастворимый рутин. Этот компонент можно найти в любистоке, каперсах, гречневой крупе, луке (в особенности красном и во внешних оболочках), яблоках, перце, чесноке, золотом усе, красном винограде, чае, цитрусовых, темной вишне, бруснике, томатах, брокколи, малине, чернике, клюкве, аронии, рябине, облепихе, водянике, плодах опунции, некоторых видах меда (эвкалиптовом, чайного дерева), орехах, цветной и кочанной капусте, красном вине, оливковом масле, желудях.	Содержание зависит от
Витамин С	Основной антиоксидант сыворотки крови. Этот водорастворимый витамин нейтрализует свободные радикалы плазмы крови и, таким образом, препятствует их взаимодействию с ЛПНП.		Пищевыми источниками витамина С являются цитрусовые фрукты, клубника, помидоры, капуста и зеленolistные овощи.	Стандартная дозировка 60 мг, курильщики, больные с заживающими ранами, беременные и кормящие матери требуют дополнительного потребления витамина С.

<p>Витамин Е</p>	<p>Входит в состав липопротеинов и клеточных мембран и препятствует перекисному окислению полиненасыщенных жирных кислот. Он является основным антиоксидантом липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Кроме того, витамин Е тормозит агрегацию тромбоцитов и адгезию моноцитов</p>	<p>  α-Токоферол </p> <p>  Бетта-токоферол </p> <p>  Гамма-токоферол </p> <p>  Дельта-токоферол </p>	<p>В больших количествах обнаруживается в растительных маслах и пшеничных зародышах, а также в мясе, рыбе, фруктах и овощах..</p>	<p>Рекомендуемая суточная норма потребления (RDA) витамина Е составляет 30 МЕ (30 мг/сут)</p>
-------------------------	---	--	---	---

Роль антиоксидантов в организме человека заключается в защите клеток от окислительного стресса, который может вызвать различные заболевания, включая сердечно-сосудистые заболевания, злокачественные онкологические заболевания и диабет. Также антиоксидантная активность напрямую влияет на иммунную систему организма человека, она способствует ее укреплению и улучшению поведения клеток [2].

На развитие онкологических заболеваний, диабета и сердечно-сосудистых заболеваний антиоксидантная активность влияет с помощью свободных радикалов, которые порождаются в организме и могут нанести вред клеткам и тканям. Их образование связывается с повреждением ДНК, вызванный окислительным процессом. Свободные радикалы вызывают перекисное окисление липидов, кислородных радикалов и других реакций, которые могут повредить ДНК клетки, приводя к мутации и развитию раковых клеток. Антиоксиданты защищают ДНК от повреждения свободными радикалами, и, следовательно, снижают риск развития онкологических заболеваний. Развитие диабета в организме также связано с окислительным стрессом в организме. Высокий уровень глюкозы в крови может вызвать перекисное окисление липидов и другие окислительные процессы, которые повреждают клетки и ткани организма. Антиоксиданты могут снижать уровень окислительного стресса и уменьшать риск развития диабета. Кроме того, некоторые антиоксиданты, как витамины С и Е, могут помочь улучшить чувствительность клеток к инсулину, что может вызвать уменьшение риска развития сахарного диабета [3].

Клетки, ткани и органы в организме человека выполняют свои функции благодаря содержанию и регулированию активности множества биологических молекул. Такие, как ферменты, имеют катализирующее действие на химические реакции, другие молекулы регулируют активность генов, а третьи – участвуют в передаче сигналов между клетками [4].

Содержание и регулирование активности биомолекул в разных биологических объектах имеет свои особенности. В клетках организма содержится большое количество белков, которые выполняют различные функции,

такие как транспорт веществ, катаболизм, фотосинтез, прием сигналов и прочее. Обычно, клетки регулируют химическую активность и, следовательно, функции молекул, через постоянную концентрацию определенных ионов, таких как ионы кальция или натрия, регуляцию рН или использование энергии в формате АТФ. Клетки также могут изменять свою химическую активность в ответ на различные внешние сигналы, такие как гормоны или нейромедиаторы [5].

Ткани в организме могут содержать более специализированные биологические молекулы, которые специфичны для их функций. Например, мышечные ткани содержат активно-миозиновые молекулы, которые обеспечивают сокращение мышц, а нервные ткани содержат нейромедиаторы, такие как ацетилхолин или норадреналин, которые передают сигналы от нервных клеток к другим клеткам. Ткани также могут регулировать содержание большого количества гликогена, который может использоваться как источник энергии при необходимости [6].

Содержание антиоксидантной активности в органах может различаться в зависимости от многих факторов, таких как возраст, пол, питание и образ жизни человека. Для оценки уровня антиоксидантной активности в органах используются различные методы, в том числе и химические анализы [7].

Некоторые органы, такие как печень, почки и легкие, содержат большое количество антиоксидантов, таких как глутатион и витамин Е. Эти органы выполняют важную роль в очистке организма от токсинов и антиоксиданты являются неотъемлемой частью их функционирования.

Некоторые другие органы, такие как сердце, мозг и глаза, также имеют высокий уровень антиоксидантной активности, что связано с их высокой активностью и важной ролью в жизнедеятельности организма [8].

Таким образом, антиоксидантная активность в органах - важный показатель здоровья организма в целом. Регулярное потребление продуктов, богатых антиоксидантами, таких как фрукты, овощи и зелень, а также здоровый образ жизни, могут помочь поддерживать высокий уровень антиоксидантной активности в органах и снижать риск различных заболеваний.

1.1.2 Способы получения антиоксидантов и их характеристики.

Природные и искусственные антиоксиданты

Антиоксиданты - это вещества, которые защищают организм от вредного воздействия свободных радикалов. Существует несколько способов получения антиоксидантов: как естественными способами, так и путём синтеза в лабораторных условиях [9].

Некоторые из наиболее распространенных и известных природных антиоксидантов включают в себя витамин А, витамин С, витамин Е и некоторые изофлавоны, такие как кверцетин и рутин. Другие природные антиоксиданты включают в себя полифенолы, бета-каротин и селен.

Один из самых известных способов получения природных антиоксидантов - это употребление в пищу продуктов, богатых антиоксидантами. К ним относятся фрукты и овощи, такие как черная смородина, апельсины, клубника, морковь, шпинат и капуста. Также доступны специальные добавки с высоким содержанием антиоксидантов [10, 11].

Кроме того, антиоксиданты могут быть получены путем извлечения и очистки из природных ресурсов, таких как травы, фрукты и овощи [12]. Это естественный процесс, подразумевающий использование специальных растворителей и обработку результата фильтрацией и осаждением. Характеристики антиоксидантов включают их способность поглощать свободные радикалы, что делает их важными для борьбы со многими заболеваниями. Они также помогают снизить воспаление в теле и улучшить состояние кожи и волос. В целом, природные антиоксиданты являются чрезвычайно важными для поддержания здоровья и процессов старения. Они могут быть получены через пищу или специальные добавки и помогать человеку, берегущему своё здоровье, необходимо учитывать важность наличия антиоксидантов в рационе. Исследования показывают, что правильное питание с высоким содержанием антиоксидантов может снижать риск заболеваний, таких как диабет, атеросклероз, гипертония, болезни сердца и онкологических заболеваний.

Природные антиоксиданты являются предпочтительными для использования, так как они предлагают ряд дополнительных преимуществ. Они безопасны, не имеют токсичности и имеют меньшую вероятность вызова побочных эффектов в сравнении с большинством синтетических антиоксидантов. Кроме того, природные антиоксиданты часто содержатся в продуктах, богатых питательными веществами, которые имеют другие преимущества для здоровья [11]. Поэтому, употребление богатых антиоксидантами продуктов может не только помочь в борьбе с вредными свободными радикалами, но и улучшить состояние кожи, волос, ногтей и здоровья в целом.

Необходимо отметить, что, антиоксиданты могут иметь полезный эффект для здоровья, их употребление и дозировка должны быть повторно оценены, так как они могут взаимодействовать с некоторыми лекарствами и иметь другие побочные эффекты. Получение антиоксидантов через естественный путь, такой как регулярное употребление продуктов, богатых этими веществами, является эффективным способом поддержания здоровья, снижения риска развития серьезных заболеваний и улучшения качества жизни.

Искусственные антиоксиданты - это вещества, производимые при химических реакциях в лабораторных условиях с целью защиты от воздействия свободных радикалов [12]. Они используются в пищевых добавках и других продуктах, которым необходима длительная стабильность.

Одним из наиболее распространенных синтетических антиоксидантов является бутилгидрокситолуол (ВНТ). Используется в пищевых продуктах и косметике. Он защищает жирные кислоты, витамины и другие питательные вещества от окисления [13].

Еще одним из популярных синтетических антиоксидантов является бутилгидроксианизол (ВНА). Он используется в качестве антиоксиданта в ряде продуктов, таких как сыр, масло, консервы и снеки [13]. Кроме того, другим способом получения искусственных антиоксидантов является процесс синтеза при помощи химических реакций. Примерами являются пропилгаллат,

октилгаллат и этилгаллат, которые широко используются в пищевой и фармацевтической промышленности.

Однако, использование искусственных антиоксидантов вызывает опасения среди потребителей и исследователей. Они могут вызывать негативные побочные эффекты и иметь высокую токсичность [14]. Большинство искусственных антиоксидантов имеют ограничения на уровень потребления и могут быть опасны для здоровья в больших дозах. Кроме того, искусственные антиоксиданты могут уменьшать количество естественных антиоксидантов в организме, что приводит к нарушению баланса и уменьшению общей защитных свойств организма.

Поэтому, более предпочтительным и безопасным способом получения антиоксидантов является их употребление через естественные продукты, богатые этими веществами. Они содержат множество питательных веществ, включая витамины С и Е, селен, каротиноиды и флавоноиды, которые повышают активность антиоксидантов в организме.

Некоторые из продуктов, богатых природными антиоксидантами, включают свежие фрукты и овощи, цветную капусту, киви, чернику, темный шоколад, орехи, чай из зеленых листьев, красное вино и многие другие [15].

Поэтому, чтобы получить достаточное количество антиоксидантов, рекомендуется употреблять разнообразные продукты, богатые этими веществами, а также вести здоровый образ жизни, включая регулярные занятия спортом и сокращение количества вредных привычек.

1.1.3 Нормопотребление антиоксидантов и их влияние на здоровье человека

Нормопотребление антиоксидантов играет важную роль в поддержании здоровья человека. Рекомендуемая норма потребления антиоксидантов зависит от многих факторов, таких как возраст, пол, уровень активности, состояние здоровья и другие. Однако, общий принцип заключается в том, что чем больше свежих фруктов и овощей в рационе, тем больше антиоксидантов получает организм.

Определенные виды антиоксидантов, такие как витамин С, витамин Е и β-каротин, могут быть получены также из дополнительных препаратов, однако весьма рекомендуется получать их из естественных продуктов [14].

Исследования показали, что употребление антиоксидантов в нормализованных количествах оказывает благотворное влияние на организм человека. Они не только обеспечивают важные питательные вещества, но также снижают риск развития разнообразных заболеваний, включая различные инфекционные и воспалительные заболевания, а также болезни кожи и глаз [13].

Однако, превышение нормы потребления антиоксидантов может также вызвать определенные побочные эффекты. Например, чрезмерное употребление витамина Е может увеличить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Кроме того, некоторые исследования показали, что определенные виды антиоксидантов, такие как бета-каротин, могут увеличить риск развития опухолей. Поэтому, перед употреблением высоких доз антиоксидантов, важно проконсультироваться с врачом или диетологом [15].

В целом, следует помнить, что антиоксиданты могут значительно повысить качество жизни и уменьшить риск развития ряда заболеваний. Однако, нормопотребление антиоксидантов следует получать в основном из естественных продуктов, а дополнительные препараты следует принимать лишь по рекомендации специалиста.

Для обеспечения своего организма достаточным уровнем антиоксидантов, следует также активно заниматься спортом, отказаться от курения и ограничить употребление алкоголя и жирной, обработанной и быстро перевариваемой пищи.

В целом, правильное потребление антиоксидантов и ведение здорового образа жизни могут существенным образом повысить общую жизнеспособность организма, улучшить физическое и психическое здоровье и снизить риск развития ряда заболеваний [12].

1.1.4 Влияющие факторы на содержание антиоксидантов в пищевых продуктах: условия выращивания растений и способы обработки пищевых продуктов и биологических объектов

Содержание антиоксидантов в пищевых продуктах зависит от многих факторов, включая условия выращивания растений и методы обработки пищевых продуктов. Антиоксиданты представлены различными классами соединений, такими как витамины (С, Е, А), каротиноиды, флавоноиды, фенольные кислоты и другие биологически активные вещества. Рассмотрим, какие факторы могут повлиять на их содержание в продуктах [16].

Условия выращивания растений

Качество почвы, климатические условия, методы обработки растений и уровень загрязнения окружающей среды, все это может оказать влияние на содержание антиоксидантов в растительной продукции. Это обусловлено тем, что многие антиоксиданты являются созданными растениями защитными соединениями, которые помогают им защищаться от стресса, причиняемого окружающей средой. Кроме того, условия выращивания также могут повлиять на содержание микронутриентов, таких как железо, цинк, медь, которые работают совместно с антиоксидантами для поддержания здоровья человека [16, 17].

Способы обработки пищевых продуктов

Методы обработки пищевых продуктов также важны, так как некоторые антиоксиданты могут подвергаться деградации при нагревании или обработке химическими веществами. Например, при обработке продуктов на высоких температурах, витамин С может частично разрушаться, что приводит к снижению общего содержания антиоксидантов в продуктах. Некоторые антиоксиданты восстанавливаются при переваривании пищи, такие как ликопен, что означает, что окончательный эффект этих продуктов находится не только в сырой, но и в приготовленной форме [16, 18].

Таким образом, чтобы получить максимальное количество антиоксидантов из пищевых продуктов, необходимо обратить внимание на качество продукта, его методы выращивания и обработки. Лучшими методами приготовления продуктов

являются готовка на пару, запекание в духовке или в кастрюле на минимальном количестве воды и прочие методы, которые сохраняют питательность и вкус продукта.

Большинство антиоксидантов содержится в свежих фруктах и овощах. Так, в томатной мякоти содержится значительное количество ликопена, а болгарском перце содержится большое количество витамина С. Черника, малина, клюква и гранат - это плоды, наиболее богатые полифенолами. Однако условия их выращивания и методы обработки также модифицируют уровень антиоксидантов - например, климатические изменения могут увеличить содержание антиоксидантов в направленной к региону сельской местности еде [17, 19].

Таким образом, необходимость включения продуктов с высоким содержанием антиоксидантов в рацион человека не обсуждается, однако необходимо учитывать факторы выращивания и обработки продуктов, чтобы получить максимальную пользу и избежать побочных эффектов [19, 20].

Актуализация исследования антиоксидантной активности в пищевых продуктах и биологических объектах является важным направлением для медицины и научного сообщества.

Одним из основных способов измерения антиоксидантной активности является определение общей концентрации антиоксидантов — как собственных, так и внешних (получаемых из пищи). Это может быть произведено с помощью нескольких методов, включая ABTS (2,2'-азино-ди-(3-этилбензтиазолин-6-сульфоновая) кислота), FRAP (железоредуцирующая способность антиоксидантов), других биофизических тестов, а также физико-химических методов анализа [20, 21].

В настоящее время исследования по изучению антиоксидантной активности проводятся как в не требующейся дополнительных усилий пище (фрукты, овощи, ягоды), так и в биологических объектах — тканях, органах, клетках, крови — с целью выявления новых возможностей для профилактики и лечения заболеваний.

Кроме того, исследования нацелены на изучение отдельных компонентов пищевых продуктов, таких как полифенолы, каротины, токоферолы и других микронутриентов [19].

Изучение антиоксидантной активности имеет потенциально важное значение при создании новых продуктов. Например, добавление антиоксидантов в пищу может улучшить качество продукта и продлить его срок годности. Компании могут использовать эти исследования, чтобы создать более здоровые продукты, богатые антиоксидантами, для удовлетворения потребностей потребителей, которые становятся все более внимательными к своему здоровью и образу жизни [22].

В целом, исследование антиоксидантной активности в пищевых продуктах и биологических объектах имеет большое значение для развития медицины и науки. Оно может привести к выявлению новых методов профилактики и лечения заболеваний, а также к созданию новых продуктов на основе натуральных ингредиентов, способствуя поддержанию здоровья и долголетию. Однако, необходимо учитывать, что принимать дополнительные дозы антиоксидантов нужно только после консультации со специалистом и следующих рекомендациям по их использованию.

1.2 Антиоксидантная активность некоторых исследуемых групп

Кверцетин — природное биохимическое вещество группы флавоноидов. Название произошло от латинского названия дуба. Кверцетин относится к витаминным препаратам группы Р [23].

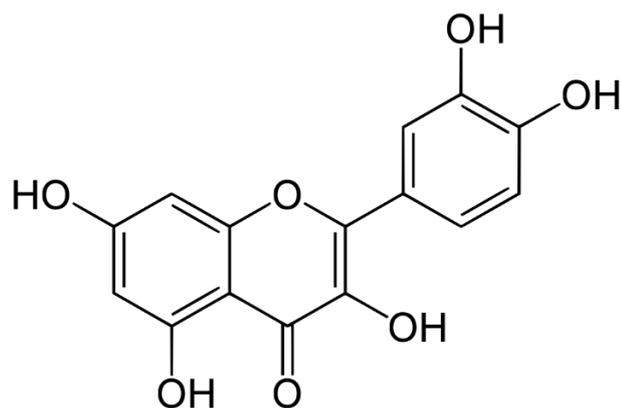


Рисунок 1 - Структурная формула кверцетина

Известно, что большинство их гликозидов обладают мощным антиоксидантным эффектом. Кверцетин помогает снизить риск развития хронических заболеваний сосудов, нормализует их проницаемость. Добавление кверцетина при артериальной гипертензии помогает снизить артериальное давление. Содержится в растениях (преимущественно красного, багрового цвета): в любистoke, каперсах, гречневой крупе, луке (особенно красном; в большем количестве — во внешних оболочках), яблоках, перце, чесноке, золотом усе, красном винограде, чае, цитрусовых, тёмной вишне, бруснике, томатах, брокколи, малине, чернике, клюкве, аронии, рябине, облепихе, водянике, плодах опунции, некоторых сортах мёда (эвкалиптовом, чайного дерева), орехах, цветной и кочанной капусте, красном вине, оливковом масле, желудях — в виде водорастворимого рутина [24].

В конце XX века, когда витамин Е позиционировался в средствах массовой информации как мощнейший антиоксидант, снижающий риск возникновения разнообразных болезней, многие жители западных стран стали принимать препараты с высоким содержанием токоферолов. Последующие исследования показали, что регулярный приём таких добавок ассоциируется с повышенной смертностью. Так, по данным выполненного в 2004 году обзора двадцати исследований применения витаминов А, С, Е и бета-каротина с участием 211 818 пациентов, витамины увеличивают смертность, как и по данным выполненного в 2005 году метаанализа по добавкам с витамином Е. В систематическом обзоре,

выполненном в 2012 году и обобщающем данные исследований витаминов-антиоксидантов у 215 900 пациентов, был сделан вывод об опасности добавок с витамином Е, бета-каротином и большими дозами витамина А. В 2012 году японские исследователи заявили, что избыток витамина Е ведёт к остеопорозу. Положительный эффект добавок с витамином Е доказан только в отношении недостаточности токоферола [25].

Витамин С – восстанавливает активную форму витамина Е, способствует выведению холестерина, улучшает вазодилатацию сосудов и тормозит агрегацию моноцитов [26].

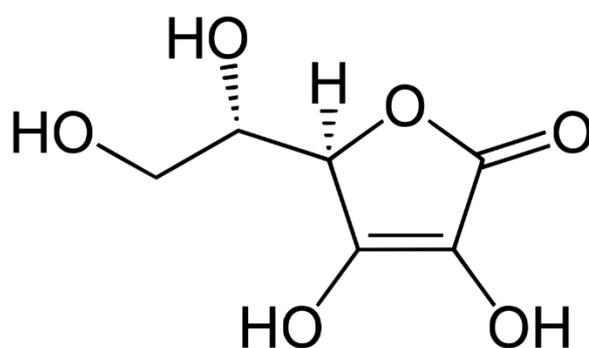


Рисунок 2 - Структурная формула витамина С

Аскорбиновая кислота и её соли (аскорбат натрия, аскорбат кальция и аскорбат калия) применяются в пищевой промышленности в качестве пищевых добавок Е 300–Е 305 в роли антиокислителей (антиоксидантов) и стабилизаторов окраски с целью увеличить срок хранения продуктов, замедлить ферментативное окисление напитков, предотвратить изменение цвета фруктов, овощей и продуктов их переработки при замораживании, консервировании и расфасовке, и сохранить находящиеся в них витамины. Сама аскорбиновая кислота также используется как подкислитель (регулятор кислотности) D-изоаскорбиновая (эриторбовая) кислота используется в качестве консерванта (пищевая добавка Е315) [27].

Витамин А, а точнее его предшественник β-каротин, проявляет антиоксидантные свойства как в сыворотке крови, так и в составе ЛПНП. Он тормозит захват окисленных ЛПНП макрофагами, но не препятствует их

первоначальному окислению. Витамин А в больших количествах обнаруживается во фруктах, желтых и оранжевых овощах (морковь, тыква, картофель) и темно-зеленых овощах (шпинат и брокколи). RDA витамина А не определена [28].

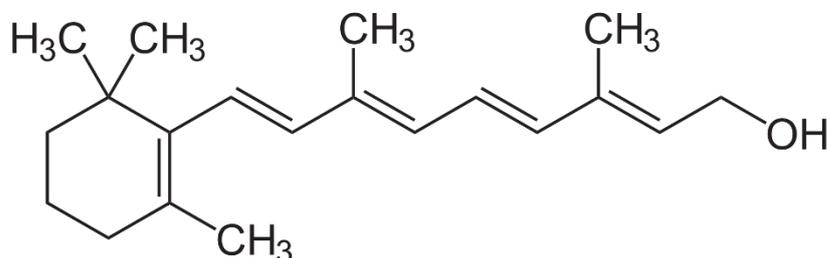


Рисунок 3 - Структурная формула витамина А

Витамин А выполняет множество биохимически важных функций в организме человека и животных. Ретиналь является компонентом родопсина — основного зрительного пигмента. В форме ретиноевой кислоты витамин стимулирует рост и развитие. Ретинол является структурным компонентом клеточных мембран, обеспечивает антиоксидантную защиту организма [28, 29].

Благодаря наличию двух сопряжённых двойных связей в молекуле ретинол способен взаимодействовать со свободными радикалами, в том числе и со свободными радикалами кислорода [29]. Эта важнейшая особенность витамина позволяет считать его эффективным антиоксидантом. Ретинол также значительно усиливает антиоксидантное действие витамина Е. Вместе с токоферолом и витамином С он активирует включение селена в состав глутатионпероксидазы. Витамин А способен поддерживать SH-группы в восстановленном состоянии (им тоже присуща антиоксидантная функция). Однако витамин А может проявить себя и как прооксидант, так как он легко окисляется кислородом воздуха с образованием высокотоксичных перекисных продуктов. Витамин Е препятствует окислению ретинола [29, 30].

Хотя применение препаратов витаминов Е, С и А не было ассоциировано с какими-либо выраженными токсическими эффектами, следует подчеркнуть, что в одном из исследований был выявлен повышенный риск рака легкого у курящих пациентов, получающих препарат витамина А [28-30]. Витамины Е, С и А – это

основные витамины, обладающие антиоксидантными свойствами. Роль других витаминов (К, группы В, омега-3 и омега-6 жирных кислот) также важна, однако не является определяющей.

1.3 Методы определения антиоксидантов

Методика определения водорастворимых антиоксидантов возможна различными методами: амперометрическим, ВЖХ, ВЭЖХ, фотолюминисцентный метод. Однако наиболее часто используются методики определения хроматографическими и вольтамперометрическими методами.

1.3.1 Хроматографические методы

Высоко эффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – методика анализа, которая используется для измерения различных молекул в биологических объектах. В методе вещества разделяются и выводятся в порядке убывания растворимости, что позволяет идентифицировать отдельные антиоксиданты. Метод позволяет измерить как количественные, так и качественные показатели антиоксидантов в биологических объектах человека.

Для идентификации и определения лигнанов и их производных широко используют разные методы хроматографии. Тонкослойную хроматографию применяют для качественного анализа, а также для выделения лигнанов в чистом виде в небольших количествах [38].

Хроматографическими методами определено содержание антиоксидантов во многих пищевых продуктах и созданы национальные базы данных в Голландии, США, Канаде, Финляндии, Испании, Японии, Великобритании. Найдено содержание антиоксидантов в зернах, злаках и орехах, в злаковых культурах, в винах, чае и кофе, бобах, в ягодах. На основании этих результатов созданы и другие базы данных по содержанию антиоксидантов в пищевых продуктах. Наибольшее количество антиоксидантов обнаружено в зернах льна и кунжута [39].

В таблице представлены параметры определения антиоксидантов методами ВЭЖХ.

Таблица 2 – Хроматографические методы определения

Метод	Объект исследования	Характеристики	Источник
ВЭЖХ	Хмель, пиво баночное и бочковое	Определение содержания полифенолов Стеклоуглеродный электрод Рабочий раствор - кверцетин	[40]
Газожидкостная хроматография	Куриное мясо	Анализ ряда вредных синтетических добавок	[41]
Жидкостная хроматография	Молочная продукция	Заполнение колонки активированным углем Экстрагирование пробы на вибросмесителе Двухступенчатая очистка экстракта Стеклоуглеродный электрод	[42]
ВЭЖХ	Красный клевер	Экстрагент – этанол, метанол Подвижная фаза H ₂ O/АсОН-МеОН Детектирование УФ-МС	[43]
ВЭЖХ, УФ-детектирование	Напитки безалкогольные	Время удерживания -8,5 мин Максимум спектров поглощения – 208, 256, 354 нм ИУ – 690,1	[44]

1.3.2 Фотолюминесцентный метод

Фотолюминесцентный метод определения - метод, основанный на способности антиоксидантов ингибировать окисление аминокислот, что приводит к снижению интенсивности фотолюминесценции, вызванной светом определенной длины волны, в подавляющей концентрации кислорода.

Механизм действия этого метода заключается в том, что антиоксиданты могут замедлить реакцию окисления аминокислот и тем самым предотвратить или уменьшить нарушение структуры белков, участвующих в метаболизме клеток тела. Кроме того, большинство антиоксидантов способны перехватывать свободные радикалы, образующиеся при окислении, и тем самым предотвращают их дальнейшее действие на биологические молекулы и структуры [45].

При проведении фотолюминесцентного метода, в раствор продукта, который содержит антиоксиданты, добавляется аминокислота, которая играет роль окисляемого вещества. Фотолюминесценция регистрируется на различных временных интервалах при использовании света определенной длины волны, а затем фотолюминесцентная интенсивность измеряется [45].

По результатам измерений определяется интенсивность фотолюминесценции с целью выявления степени ингибирования окисления аминокислот в продукте на основе его антиоксидантной активности. Следует отметить, что фотолюминесцентный метод может дать более точные и чувствительные результаты определения антиоксидантной активности в продуктах, чем другие методы, но требует специального оборудования и может быть дорогим в использовании [46].

Методика определения антиоксидантной активности в пищевых продуктах на основе фотолюминесцентного метода, описываемая в [47], используется для более точного и чувствительного измерения антиоксидантной активности продукта на основе его способности ингибировать окисление аминокислот.

Методика включает следующие этапы:

- Подготовка раствора продукта, который содержит антиоксиданты;
- Добавление раствора в раствор аминокислоты, которая играет роль окисляемого вещества;
- Регистрация фотолюминесценции раствора на различных временных интервалах при использовании света определенной длины волны;
- Измерение интенсивности фотолюминесценции.

Снижение интенсивности фотолюминесценции при экспозиции света свидетельствует о том, что аминокислота была окислена. Антиоксидантная активность продукта определяется в зависимости от того, как много окислительных молекул было ингибировано продуктом.

Среди преимуществ этой методики можно отметить ее высокую чувствительность и высокую точность измерения, а также возможность отслеживать изменения антиоксидантной активности продукта при различных условиях. Однако, этот метод может оказаться довольно сложным для применения, требующим специального оборудования, и может быть дорогим для использования в производственных условиях, поэтому может не подходить для определения антиоксидантной активности продукта в массовых производственных процессах. Также эта методика может быть чувствительна к длительности экспозиции на свет и температуры окружающей среды, поэтому его результаты необходимо интерпретировать в рамках определенных условий эксперимента.

Методика определения в [48] описывает метод определения антиоксидантной активности пищевых продуктов с помощью фотолюминесцентного датчика.

Суть метода заключается в следующем:

- Создание фотолюминесцентного датчика, который включает в себя материал, способный генерировать фотолюминесценцию при воздействии на него света;
- Иммобилизация датчика на поверхности твердого или жидкого продукта путем нанесения датчика на пищевую поверхность или погружения датчика в продукт;
- Облучение датчика светом и измерение фотолюминесценции, которая возникает в результате взаимодействия датчика с радикалами оксидативного стресса, находящимися в продукте;
- Измерение интенсивности фотолюминесценции и использование этой величины для определения антиоксидантной активности продукта.

Этот метод является быстрым, чувствительным и легко автоматизируемым, что делает его применимым для широкого диапазона пищевых продуктов.

1.3.2 Кулонометрическое определение

Кулонометрический метод определения - метод, основанный на измерении изменения потенциала на электроде, покрытом антиоксидантом, при взаимодействии с окислителем. Измерение линейно зависит от концентрации антиоксиданта в растворе, что позволяет определять количество антиоксиданта в продукте.

В [49] описывает метод определения антиоксидантов в пищевых продуктах кулонометрическим методом, основанном на электрохимической детекции. Согласно методу, создается электродная система, содержащая кулонометрический зонд (электрод), покрытый антиоксидантом. Подача потенциала на электрод и измерение электрического тока, который возникает при взаимодействии антиоксиданта со свободными радикалами в продукте. Используются полученные данные для определения антиоксидантной активности продукта.

В [50], описывается метод определения антиоксидантов в пищевых продуктах кулонометрическим методом, основанном на электрохимической детекции.

Суть метода заключается в следующем:

- Создание электродной системы, содержащей кулонометрический зонд (электрод), покрытый антиоксидантом.
- Инкубация зонда с продуктом, который содержит свободные радикалы.
- Подача потенциала на электрод и измерение электрического тока, который возникает при реакции антиоксиданта со свободными радикалами.
- Использование результатов для определения антиоксидантной активности продукта.

В [51], описывает метод определения антиоксидантов в пищевых продуктах кулонометрическим методом, основанном на электрохимической детекции. Суть метода заключается в следующем:

- Создание электродной системы, содержащей кулонометрический зонд (электрод), покрытый антиоксидантом;
- Добавление определенной концентрации перекиси водорода в раствор продукта;
- Подача потенциала на электрод и измерение электрического тока, который возникает при реакции антиоксиданта со свободными радикалами;
- Использование результатов для определения антиоксидантной активности продукта.

1.3.3 Метод полярографии

Метод полярографии основан на измерении изменений текущей плотности электрода в растворе из-за взаимодействия антиоксидантов с окислителями. В этом методе используются различные электроды, например, ртутные или стеклянные, которые погружены в раствор продукта и связанные с регистрирующим прибором. Процесс происходит следующим образом: вначале ионти внутреннего комплекса окислителя, диссоциировавшего в растворе, редокс-реакцией происходит переход электрона от молекулы антиоксиданта на ион окислителя, который в свою очередь восстанавливается. В результате, на электроде регистрируется ток и, в зависимости от величины этого тока, можно определить количество антиоксиданта в продукте [52].

В предложенной статье [53] метод электрохимического определения антиоксидантной активности флавоноидов основан на измерении потенциала полувольты окисления на электроде, размещенном на колонке с проточным режимом. Электрохимическая активность рассматриваемых соединений имеет корреляцию с их способностью предотвращать перекисное окисление липидов.

1.3.4 Амперометрический способ

Основан на измерении электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества (или смеси веществ) на поверхности рабочего электрода, находящегося под определенным потенциалом.

Чувствительность амперометрического способа определяется как природой рабочего электрода, так и потенциалом, приложенным к нему. В качестве материала рабочего электрода используют стеклоуглерод, золото, платину, серебро, медь, никель, палладий и др. Потенциал может устанавливаться в пределах от 0 до 2,5 В [15].

Известно, что амперометрический способ анализа обладает рядом преимуществ: низким пределом обнаружения, высокой селективностью (определяются только соединения, молекулы которых могут окисляться; другие соединения, присутствующие даже в больших концентрациях, не определяются), малым объемом ячейки (0,1-5 мкл), простотой обслуживания.

В условиях амперометрического детектирования хорошо окисляются соединения, содержащие гидроксильные группы, предел их обнаружения на уровне 10^{-9} - 10^{-12} г, в благоприятных условиях некоторые соединения определяются на уровне 10-15 г (фемтограммы) [31].

В таблице представлены параметры определения антиоксидантов амперометрическим методом.

Таблица 3 – Параметры количественного определения амперометрическим методом

Объект исследования	Метрологические характеристики	Источник
Образцы чая, вина	Стеклоугледодистый электрод Этанольный раствор ($\phi=40\%$) Фосфатный буфер $pH=7,4$ Предел обнаружения – 0,005 мкм Предел корреляции 0,93	[32]
Аскорбиновая кислота, глутатион, вина, ягоды, апельсины	Предел обнаружения 0,03-0,08 для черной смородины, капусты, апельсинов Повторяемость – 2%	[33]
Клубника, чай, сок, свекла, редис,	Потенциал обнаружения 0...2,5 В Значение токов $10^{-6} \dots 10^{-9}$ А Стандарт – кверцетин	[35]
Виноград и винная продукция	Воспроизводимость 8,6% Стандарт Trolox –С Определение массовой концентрации мг/дм ³	[36]
Сублимированные порошки и экстракты фруктов	СКО менее 5% Малые токи обнаружения Среднее значение результатов 3-5 опытов	[37]

1.3.6 Вольтамперометрический метод

Вольтамперометрия - это электрохимический метод, заключающийся в измерении зависимости тока от потенциала на поверхности электрода. Для возбуждения восстановления или окисления электроактивных химических соединений на электроде потенциал изменяется систематически. Результирующий ток пропорционален концентрации электрохимических соединений.

В таблице представлены параметры определения антиоксидантов методами вольтамперометрии.

Таблица 4 - Методы определения вольтамперометрией

Объект исследования	Характеристики	Источник
Растительное сырьё	Математическая модель Перколяция с использованием растворов этанола Получение экстракта из сырья Электроды: РПЭ,ХСЭ ФБР: 0,1 М NaClO ₄	[54]
Растительная продукция	Каломельный электрод (НКЭ) Вспомогательный электрод – платиновая проволока Капилляр Луггина Шлифовка поверхности перед каждым применением	[55]

Определение антиоксидантной активности имеет неограниченный спектр определений и нет конкретно существующего единственного метода в оценке антиоксидантов. Все результаты экспериментов невозможно сравнить меж собой, поскольку используются разные методы оценки модельной системы, имеют различную закономерность и индивидуальный подход к измерению. При разработке метода определения важно достичь цели правильного выбора метода анализа, либо модифицировать существующие методы.

Глава 2 Материалы и методы исследования

2.1 Объекты исследования. Приборы и материалы

Объектами вольтамперометрического Исследования в данной исследовательской работе являются пищевые продукты и биологические объекты, а именно:

- Безалкогольная продукция (газированные напитки, соки, чай и кофе);
- Алкогольная продукция (вино, пиво);
- Овощи и фрукты, а также продукты их переработки (детское пюре, свиной фарш, печень говяжья, виноград, консервы);
- Биологические объекты.

Для исследования антиоксидантной активности в вышеперечисленных объектах используется такое оборудование, как:

- 1) Комплекс вольтамперометрический анализатор «СТА» [56];
- 2) Центрифуга лабораторная настольная с частотой вращения до 3000 об/мин;
- 3) Ультразвуковая ванна с частотой не менее 20 Гц;
- 4) Весы электронные [57];
- 5) Дозаторы пипеточные (найти марку написать) установкой доз 1,0-2,0 мкл;
- 6) Индикаторный электрод – ртутно-пленочный электрод;
- 7) Электрод сравнения – хлорсеребряный электрод(ХСЭ);
- 8) Вспомогательный электрод – ХСЭ;

В работе используются реактивы и материалы:

- Кверцетин ч.д.а., 98% - $C_{15}H_{10}O_7$ [58];
- Аскорбиновая кислота - $C_6H_8O_6$
- Раствор калия хлорида - KCl (1М);
- Вода дистиллированная – H_2O (ГОСТ Р 58144) [59];
- Водный раствор аммиака NH_4OH (ГОСТ 9-92) [60];
- Серная кислота - H_2SO_4 (ГОСТ 4204) [61];

- Азотная кислота – HNO_3 (ГОСТ 701) [62];
- Стандарт – титр рН-метрии 3 разряда, рН=6,86 [63];
- Фильтровальная бумага «Синяя лента» [64];
- Стаканчики из кварцевого стекла объемом 20-25 см³ [65];
- Шпатели, стеклянные палочки.

2.2 Методика подготовки

2.2.1 Приготовление фонового раствора (рН=6,86)

Фоновый раствор для определения водорастворимых антиоксидантов готовят из стандарт-титра рН 6,86. Для этого стандарт-титр переносят в мерную колбу 2-го класса по ГОСТ 1770 вместимостью 1000 см³ и растворяют в дистиллированной воде в соответствии с [63].

2.2.2 Раствор подкисленной воды для установления рН (рН~2,0- 3,0)

В мерную колбу вместимостью 25 см³, содержащую примерно 20 см³ дистиллированной воды, с помощью пипетки или дозатора добавляют 0,1 см³ серной кислоты, доводят раствор до метки. Раствор готовят в день измерений.

2.2.3 Исходный раствор кверцетина концентрации 100 мг/дм³ для сравнения

В стаканчике для взвешивания отвешивают (10,0±0,1) мг кверцетина, добавляют 6,0 см³ дистиллированной воды и 6,0 см³ этилового спирта. Перемешивают до полного растворения. После растворения кверцетина содержимое стаканчика количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Срок хранения раствора в холодильнике — 1 мес.

2.2.4 Рабочий раствор кверцетина концентрации 10 мг/дм³

В мерную колбу вместимостью 10 см³ с помощью пипетки или дозатора вводят 1,0 см³ раствора кверцетина по 2.2.3, доводят до метки дистиллированной водой. Срок хранения раствора в холодильнике — 14 дней.

2.3 Подготовка электродов

2.3.1 Подготовка индикаторного (рабочего) ртутно-пленочного электрода

Использование ртутно-пленочного электрода (РПЭ) обосновано тем, что на таких электродах не происходит пропорционального уменьшения тока кислорода в присутствии активных веществ и в кислых средах. РПЭ предполагает возможность исследования водорастворимых антиоксидантов искусственного и природного происхождения в пищевых продуктах в кислых средах.

В качестве рабочего электрода выбран РПЭ, который обладает наибольшую чувствительность, высоту сигнала, хорошую воспроизводимость метода и наименьший остаточный ток.

Индикаторный ртутно-пленочный электрод представляет собой полиэтиленовый стержень с запрессованной серебряной проволокой диаметром (0,8 – 1,1) мм длиной (5 – 10) мм, площадь поверхности составляет (0,2 – 0,3) см². Для подготовки электрода к работе проводят амальгамирование, то есть нанесение на поверхность серебра пленки ртути толщиной (10 - 15) мкм. Покрытие ртутью производят путем опускания рабочей части электрода (серебряной проволоки) в металлическую ртуть на (2 – 3) с, затем ртуть растирают фильтровальной бумагой для равномерного распределения по поверхности серебра. В том случае, если на конце серебряной проволоки "свисает" избыточное количество ртути в виде капли, ее удаляют мокрой фильтровальной бумагой или стряхиванием в бюксы со ртутью. Электрод промывают дистиллированной водой.

Процедуру амальгамирования рабочей поверхности электрода повторяют при появлении не амальгамированных участков на поверхности электрода. При образовании серого налета на поверхности, электрод протирают фильтровальной бумагой.

После проведения анализа рабочую поверхность электродов ополаскивают дистиллированной водой и хранят в стаканчике с дистиллированной водой.

2.3.2 Подготовка электрода сравнения к работе

В качестве электрода сравнения используют хлоридсеребряный электрод (ХСЭ). ХСЭ представляет собой спираль из серебряной проволоки, покрытой хлоридом серебра, помещенную в корпус с полупроницаемой пробкой, корпус заполнен раствором калия хлорида концентрации 1 моль/дм³. Конец серебряной проволоки имеет токовыводящий контакт для подключения к прибору.

Электрод сравнения заполняют раствором калия хлорида концентрации 1 моль/дм³. Заполнение электродов производят не реже 1 раза в 2 недели. Хранят электроды в растворе хлорида калия.

2.3.3 Подготовка к работе вспомогательного сравнения

В качестве вспомогательного электрода используют хлоридсеребряный электрод (раздел 2.3.2). Готовят вспомогательный электрод аналогично разделу 2.3.2.

2.4 Подготовка прибора к работе

Прибор подготавливают и подключают к ПК вольтамперометрический комплекс анализатора СТА, устанавливают программу к работе и проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации и техническому описанию прибора.

Условия работы прибора:

- обработка раствора с перемешиванием 10 с;
- успокоение 20 с;
- развертка 30 мВ/с от 0,0 В до -0,9 В;
- инверсия по току и потенциалу;
- количество измерений 3- 5 раз.

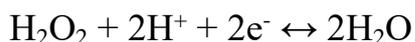
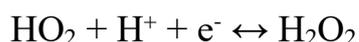
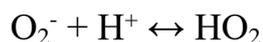
Глава 3 Результаты и обсуждения

3.1 Расчет антиоксидантов по кинетическому критерию активности

Способность антиоксидантов сохранять нейтрализованные свободные радикалы зависит от скорости протекания реакции и от общей концентрации антиоксидантов в пробе. Они могут проявлять различную активность в зависимости от структуры антиоксиданта и проявлять различную активность.

Для определения антиоксидантов в образцах использовали метод катодной вольтамперометрии, а именно процесс электровосстановления кислорода.

Этот способ определяет одноэлектронное восстановление кислорода с образованием активных кислородных радикалов по механизму:



Антиоксиданты, имеющие восстановительную природу, реагируют с кислородом и его активными радикалами на поверхности индикаторного электрода, что отражает уменьшение катодного тока электровосстановления кислорода на РПЭ в области потенциалов 0,0 ... -0,9 В.

Метод заключается в том, чтобы регистрировать зависимости токовых показателей, которые протекают в ячейке прибора, от приложенного к электродам напряжения. За аналитический сигнал принимается максимальное значение электровосстановления тока кислорода в присутствии и в отсутствии антиоксидантов в качестве отсутствующего значения принимается значения тока фоновых кривых.

Кислородная концентрация в веществе подвержена колебаниям в зависимости от температуры, давления окружающей среды. В качестве сигнала используется относительное изменение высоты катодного тока электровосстановления кислорода на электроде.

3.1.1 Измерение фонового электролита в отсутствии антиоксидантов

Для снятия фоновых значений показателя тока исследуемый раствор рН 6,86 (0,025М Na₂HPO₄ и 0,025М КН₂РО₄), объемом 10 мл, помещают в электрохимические ячейки, опускают электроды, устанавливают параметры, приведенные в таблице и запускают снятия токовых значений фона.

Таблица 5 - Устанавливаемые параметры для процесса регистрации тока

Название	Параметры
Интенсивность перемешивания +/-	+
Число повторов	5
Время перемешивания, с	10
Время успокоения, с	20
Потенциал перемешивания +/-	-
Потенциал диапазона регистрации тока, В	0,0...-0,9
Скорость линейного изменения потенциала, мВ/с	30

После начала регистрации катодного тока электровосстановления кислорода измерения проводились назначенное количество раз. По полученным вольтамперограммам находят максимум электровосстановления тока кислорода и определяют потенциал, при котором наблюдается максимум тока электровосстановления.

Соблюдая выдержку времени, скорость перемешивания и время успокоения раствора, ошибка эксперимента значительно уменьшалась.

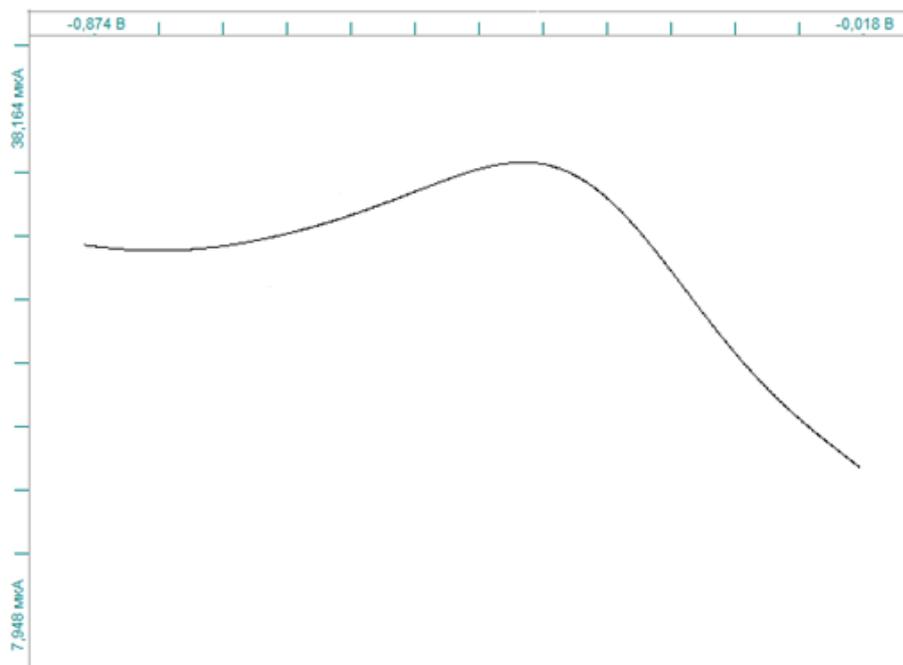


Рисунок 4 – Вольтамперограмма усредненных фоновых значений тока на РПЭ при отсутствии антиоксиданта

3.1.2 Измерение фонового электролита в присутствии антиоксидантов

Для измерений катодного тока электровосстановления кислорода на РПЭ готовится образец аскорбиновой кислоты. Для этого навеску массой 0,1 г растворяют в 10 мл растворителя (дистиллированная вода). Для исследования из раствора образца отбирают аликвоту 0,3-0,5 мл.

В ячейки анализатора с фоновым электролитом дозатором добавляются аликвоты исследуемого образца антиоксиданта – аскорбиновой кислоты. Устанавливаются параметры для процесса регистрации тока и запускается программа «проба».

Таблица 6 - Устанавливаемые параметры для процесса регистрации тока

Название	Параметры
Число повторов	3
Время активации, с	180
Потенциал активации, В	-0,4
Время перемешивания, с	10
Потенциал перемешивания, +/-	-
Время успокоения, с	20
Потенциал диапазона регистрации тока, В	0,0...-0,9
Скорость линейного измерения потенциала, мВ/с	30

После запуска программы происходит регистрация тока восстановления кислорода заданное количество раз. Значения снимают при тех же показателях, каждый раз оценивая значение предельного тока электровосстановления кислорода и потенциал, при котором наблюдается максимум значения тока электровосстановления кислорода.

Так, при снятии токовых показателей электровосстановления тока были подобраны образцы детских соков, пюре, чая, кофе и фруктов. На рисунках ниже показаны вольтамперограммы тока в присутствии антиоксидантов в ячейках анализатора.

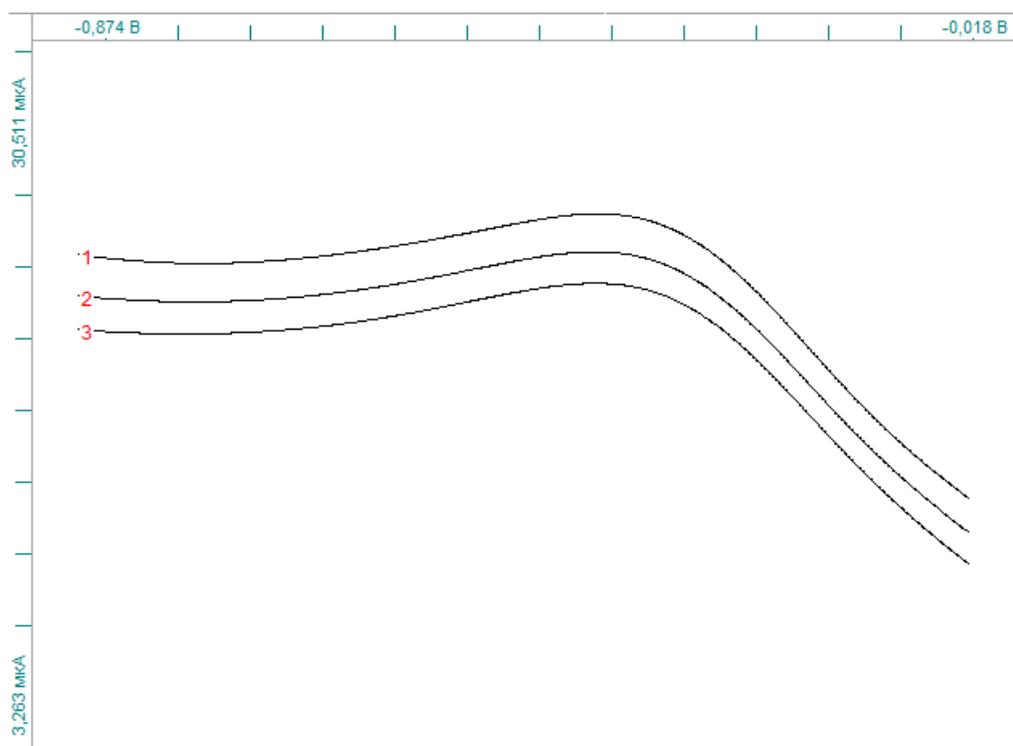


Рисунок 5 – Вольтамперограмма тока электровосстановления кислорода в фоновом электролите в присутствии пробы «Морс Агуша» при t: 3 мин(1), 6 мин (2), 9 мин (3)

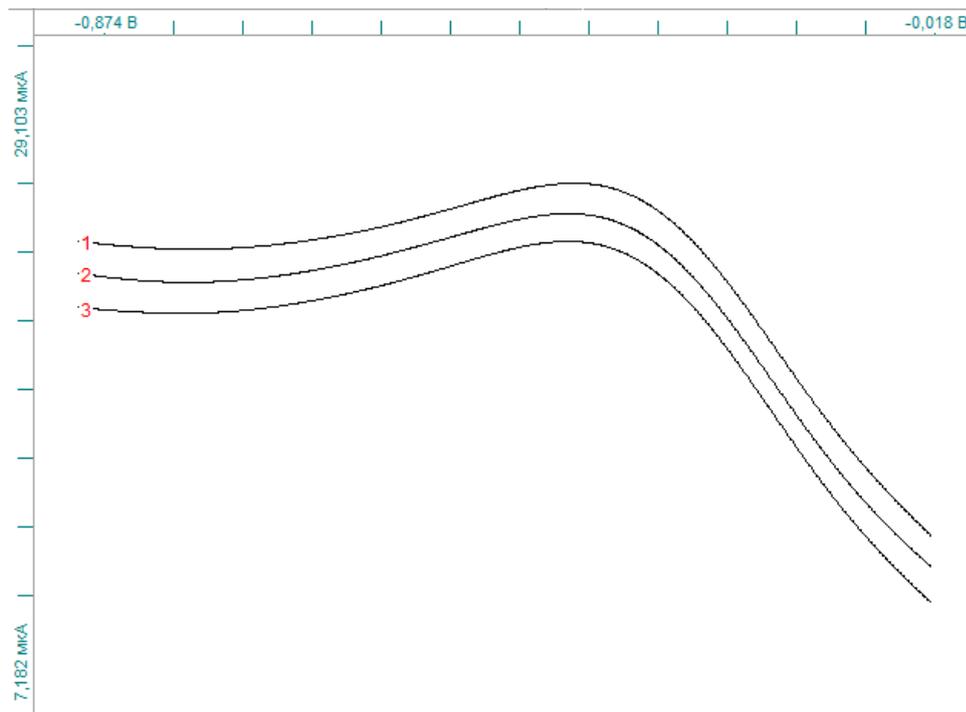


Рисунок 6 - Вольтамперограмма тока электровосстановления кислорода в фоновом электролите в присутствии пробы «Пихтовой напиток» при t: 3 мин(1), 6 мин (2), 9 мин (3)

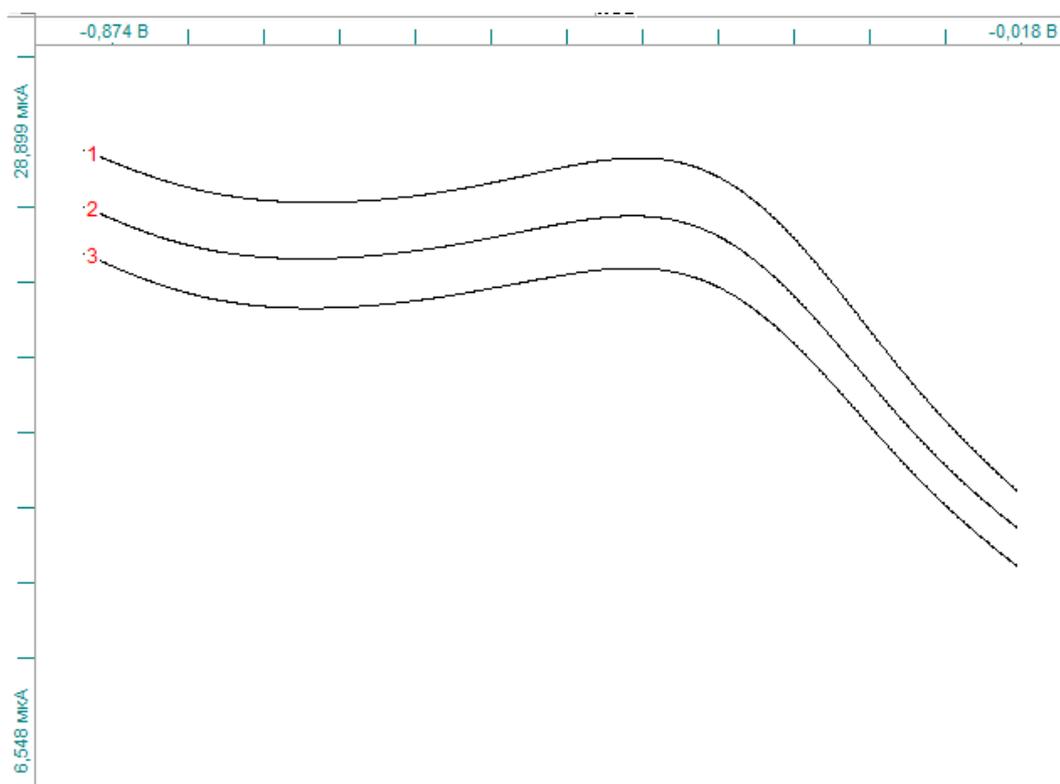


Рисунок 7 - Вольтамперограмма тока электровосстановления кислорода в фоновом электролите в присутствии пробы «Мандариновый сок» при t: 3 мин(1), 6 мин (2), 9 мин (3)

3.1.3 Расчет антиоксидантной активности

Оценивается суммарная антиоксидантная активность исследуемых образцов по кинетическому критерию антиоксидантной активности. Критерий К (мкмоль/л, мин) отражает количество прореагировавшего кислорода во времени. Определяется по формуле:

$$K = \frac{C_0}{t} \left(1 - \frac{I}{I_0}\right)$$

где I – ток электровосстановления кислорода в присутствии образца в растворе, мкА;

I_0 - ток электровосстановления кислорода в отсутствии образца в растворе, мкА;

C_0 – исходная концентрация кислорода в фоновом растворе, мкмоль/л;

t – время протекания реакции, мин

По полученным данным значений предельного тока электровосстановления кислорода строятся зависимости относительного изменения тока электровосстановления кислорода от времени протекания реакции взаимодействия с активными радикалами.

Активность исследуемого образца оценивалась на основе произведения значения углового коэффициента полученных прямолинейных зависимостей на исходную концентрацию кислорода в фоновом растворе.

Таблица 7 - Значение растворимости кислорода в растворителях

Растворитель	С ₀₂ , мкмоль/л
Вода	256
Этанол	2680

Ниже представлены зависимости для некоторых исследуемых образцов.

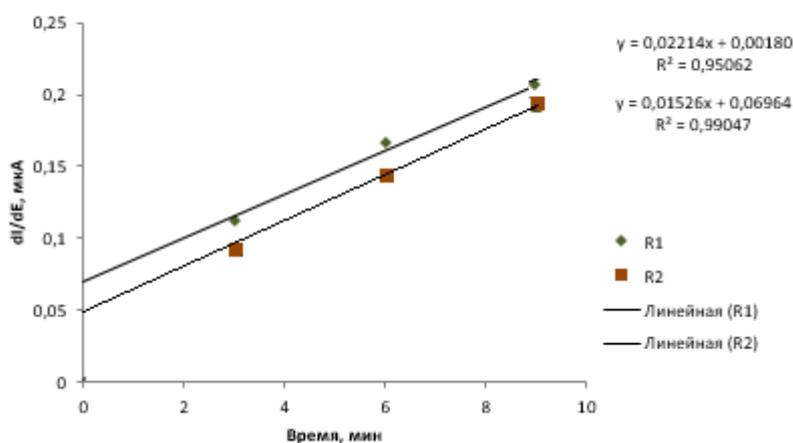


Рисунок 8 – Зависимость относительного изменения тока электровосстановления кислорода от времени протекания процесса в присутствии образца «Мандарин» (n=3)

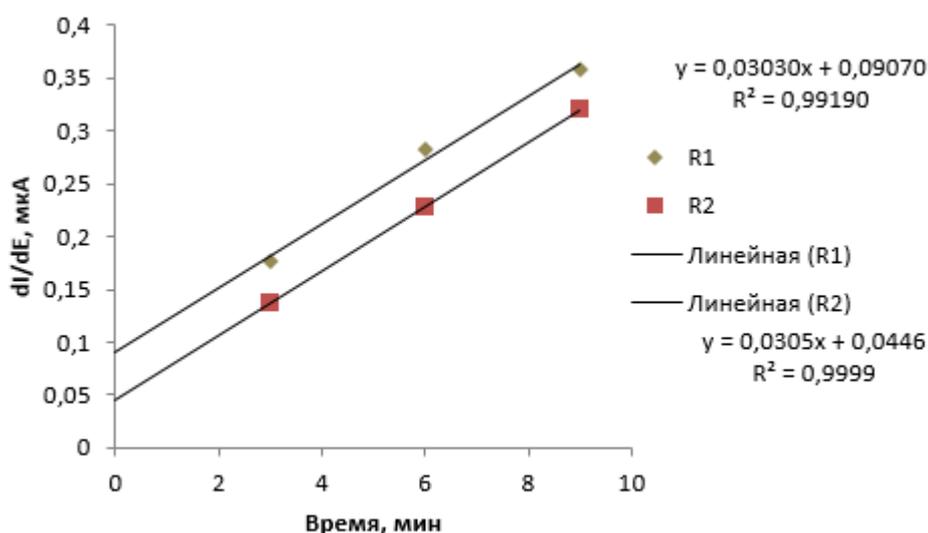


Рисунок 9 - Зависимость относительного изменения тока электровосстановления кислорода от времени протекания процесса в присутствии образца «Пихтовой напиток» (n=3)

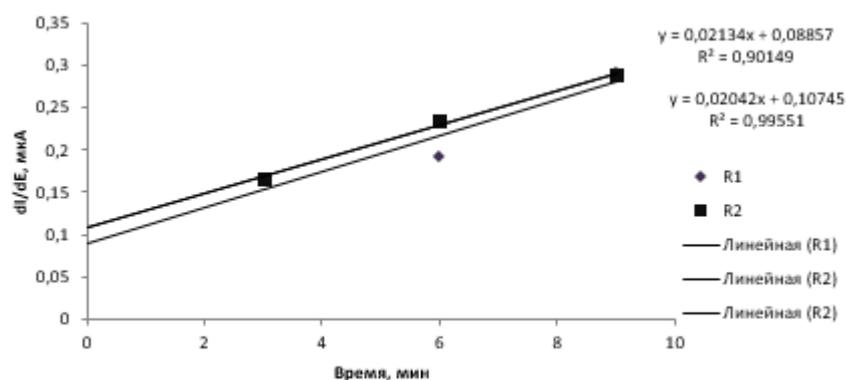


Рисунок 10 - Зависимость относительного изменения тока электровосстановления кислорода от времени протекания процесса в присутствии образца «Пихтовой напиток» (n=3)

3.1.4 Оформление результатов

Полученные результаты образцов подвергаются статистической обработке. При оценке результатов используется среднее арифметическое значение, стандартное отклонение и относительное стандартное отклонение, которые находят по формулам:

$$\bar{Y} = \frac{\sum_{i=1}^n Y_i}{n};$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}{n-1}};$$

$$S_r = \frac{S}{\bar{Y}}$$

Для выбора доверительного интервала среднего значения берем доверительную вероятность $P=0,95$. Конечные результаты сводятся в таблицу значений суммарной антиоксидантной активности исследуемых образцов.

Таблица 8 - Значение суммарной антиоксидантной активности исследуемых образцов при $P=0,95$

Название образца	К, мкмоль/л мин	Sr
Мандарин	4,92	0,072
Пихтовый напиток	5,25	0,081
Морс Агуша ягодный	3,41	0,046
Чай черный	5,32	0,078
Кофе сублимированный	7,96	0,11
Пюре детское грушевое	3,74	0,039
Сок яблочный Агуша	3,92	0,035

3.2 Вольтамперометрическое определение водорастворимых антиоксидантов

Физическая величина скорости не менялась от количества аскорбиновой кислоты в растворе. При получении количественных характеристик, которые не изменялись от увеличения концентрации аскорбиновой кислоты, разработан следующий подход определения по кверцетину.

Для количественного определения водорастворимых антиоксидантов в образцах предложен метод определения водорастворимых веществ по кверцетину.

3.2.1 Подготовка к выполнению измерений

Для начала работы выполняется подготовка к выполнению измерений. Для этого подготавливают градуировочные растворы кверцетина концентрациями 0,2; 0,5; 1,0 и 4,0 мг/мл. В каждую мерную колбу объемом 10 мл вводят растворы соответственно и доводят до метки водой.

После подготовки прибора и посуды к работе, снимаются фоновые значения электровосстановления кислорода без кверцетина. Затем в ячейки анализатора дозатором добавляются аликвоты по 0,5 мл в каждую ячейку, включают программу пробы и регистрируют выходное значение сигнала электровосстановления кислорода.

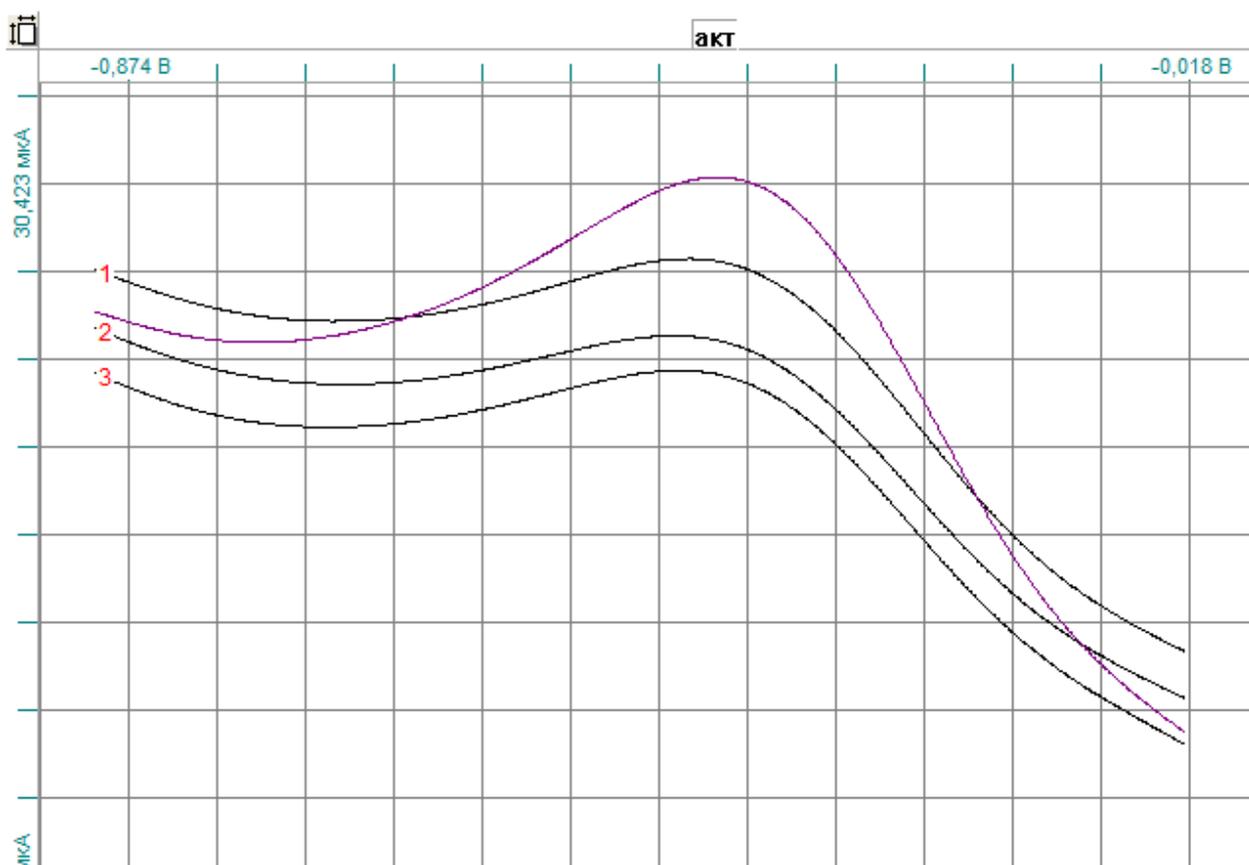


Рисунок 11 - Вольтамперограмма электровосстановления кислорода в присутствии кверцетина

По полученным значениям вычисляют среднеарифметическое значение показателя тока электровосстановления кислорода и среднеквадратическое отклонение, которое не должно превышать 5%. При отклонении среднеквадратического значения измерения необходимо приготовить свежие градуировочные растворы и повторить процедуру.

Строится градуировочная зависимость в виде линейной зависимости значений сигнала тока электровосстановления кислорода от концентрации кверцетина.

3.2.2 Выполнение измерений

Измерение содержания антиоксидантов в пробе проводят следующим методом.

Исходя из значений полученных сигналов электровосстановления кислорода, с помощью градуировочной зависимости вычисляют суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов, в пересчете на кверцетин. Вычисляют среднеарифметическое значение полученных токовых значений. За результат принимается среднеарифметическое значение содержания водорастворимых антиоксидантов в пересчете на кверцетин, при значении среднеквадратического отклонения не более 5%.

При превышающем значении выходного сигнала электровосстановления кислорода пробу необходимо разбавить элюентом и повторить измерение суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов, согласно предыдущему пункту.

3.2.3 Обработка и контроль точности результатов измерений

Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов в образцах вычисляют по формуле:

$$CA = CA_K N \text{ мг/дм}^3$$

CA_K – суммарное содержание антиоксидантов в пересчете на кверцетин, мг/дм³;

N – кратность разбавления пробы.

Суммарное содержание антиоксидантов в твердой пробе вычисляется по формуле:

$$CA = \frac{CA_K V_n N}{m_n \cdot 1000}$$

CA_K – суммарное содержание антиоксидантов в пересчете на кверцетин, определяемое по градуировочной зависимости;

V_n – объем аликвоты анализируемого раствора, dm^3 ;

N – кратность разбавления пробы;

m_n – навеска анализируемого вещества, мг.

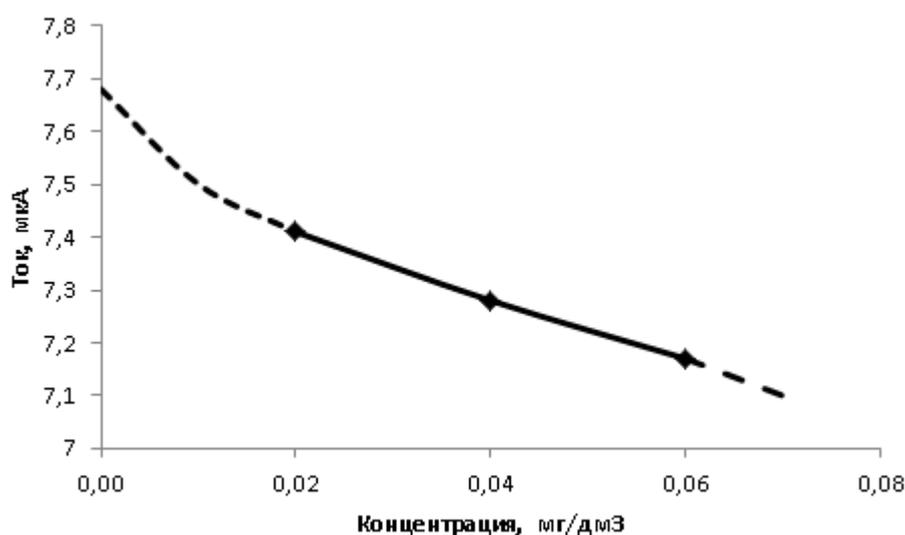


Рисунок 12 - Определение суммарного содержания антиоксидантов в пересчете на кверцетин

Величину суммарного содержания антиоксидантов находят следующим образом: полученную величину аналитического сигнала в пробе откладывают на оси ординат полученной градуировочной зависимости и далее проводят линию параллельно оси абсцисс до пересечения с градуировочной зависимостью, из точки пересечения отпускают перпендикуляр к оси абсцисс, и находят содержание водорастворимых антиоксидантов в пробе.

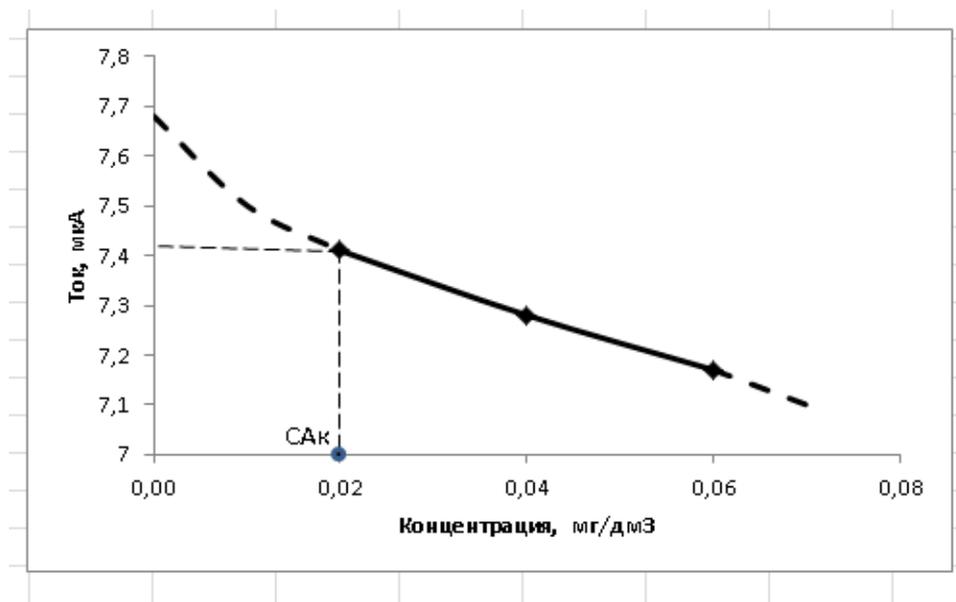


Рисунок 13 – Определение содержания антиоксидантов в пробе

3.2.4 Проверка приемлемости результатов измерений

Расхождения результатов измерений не должно превышать предела внутрिलाбораторной прецизионности. Это значение вычисляется по формуле:

$$|X_1 - X_2| \leq 0,01R_L \frac{X_1 + X_2}{2}$$

где X_1 и X_2 – результаты измерений концентрации водорастворимых антиоксидантов, полученные в одной лаборатории;

R_L – предел внутрिलाбораторной прецизионности, принимается по таблице ниже;

Таблица 9 - Относительное значение пределов внутрिलाбораторной прецизионности при $P=0,95$

Диапазон измерений, мг/дм³	Предел внутрिलाбораторной прецизионности при $P=0,95$, R_L , %
От 0,1 до 1,5 (включительно)	42

3.2.5 Оформление результатов измерений

Результат измерений представляется в виде выражения:

$$(X \pm U_L), \text{ мг/дм}^3 \text{ при } P=0,95$$

где X – результат измерений;

U_L – расширенная неопределенность, вычисляется по формуле:

$$U = 0,01U_{(отн)}X$$

U_(отн) – расширенная неопределенность.

Расширенная неопределенность принимается по таблице ниже при k=2

Таблица 10 – Значение расширенной неопределенности

Диапазон измерений, мг/дм ³	Относительное стандартное отклонение результатов измерений	Относительное стандартное отклонение систематической погрешности	Расширенная относительная неопределенность при k=2
От 0,1 до 1,5 (включительно)	12	4	25

3.3 Метод подготовки проб для твердых, жидких образцов и биологических объектов

На основе вышепредложенного метода определения водорастворимых антиоксидантов в объектах предложен метод пробоподготовки пищевых продуктов для суммарной оценки антиоксидантов.

3.3.1 Подготовка пробы

Рекомендуемые величины навесок и объемов образцов проб для различных видов продуктов представлены в таблице

Таблица 11 – Рекомендуемые величины навесок

Объект анализа	Навеска, г или объем, мл
Фрукты, овощи и продукты их переработки	0,5-3,0
Биологические объекты (мясо, мясопродукты, птица, яйцо и продукты их переработки)	0,5-3,0
Чай, кофе, какао	0,1-0,5
Напитки алкогольные и безалкогольные	0,5-3,0

3.3.1.1 Разработка способа пробоподготовки твердых образцов

Нами был предложен метод подготовки проб с использованием центрифуги, ультразвука следующим образом. Задачей является разработка определения антиоксидантов, позволяющий обеспечить определение концентраций и её селективность. Для её разработки проанализированы параметры массы образца пробы, времени и скорости центрифугирования, экстрагирование в ультразвуковой ванне и соотношение компонентов

На первом этапе подбиралась масса навески образца пробы. Выявлено, что масса варьируется для определенных объектов анализа в зависимости от матрицы объекта – его текстуры и качества. Так, для фруктов, овощей, биологических объектов выбран диапазон от 0,5 до 3,0 грамм, для сыпучих проб (чай, кофе, какао) навеска составит 0,1-0,5 грамм.

Следующим фактором было определение соотношения добавки растворов в образцы. Для всех видов образцов выявлено, что при добавке водного раствора аммиака в пробу в соотношении 1:1 позволяет устранить мешающие органические соединения в образце и повысить истинное содержание антиоксидантов в пробе. При уменьшении концентрации аммиака не достигается значение рН, при котором происходит полная экстракция в органическую фазу. Увеличение содержания аммиака в пробе исключено из-за его ограниченного растворения.

Процесс центрифугирования предложен в методике для определения времени и скорости вращения для выделения жидкой фазы из полученной пробы. При времени центрифугирования 1-3 минуты центрифугат не выделялся из пробы, при значении времени 7-15 минут с аликвоты верхней фазы не обнаружено электровосстановления кислорода на вольтамперограммах.

Ультразвуковая обработка пробы – один из этапов, при которой стенки клеток пробы разрушают органические включения ультразвуковыми волнами, тем самым сохраняя содержание антиоксидантов в пробе. Ультразвуковое экстрагирование принимают при температуре 40 °С в течение 15 минут. При

увеличении времени экстракции происходит разрушение свободных радикалов в пробе, и, следовательно, отсутствует ток электровосстановления кислорода.

Полученные значения массы приведены в таблице 11.

Исходя из вышеприведенного метода, подобраны рабочие условия подготовки образцов пробы

Таблица 12 - Заданные параметры для проведения пробоподготовки

Наименование	Параметры
Ультразвуковая ванна	<i>Температура: 40 °С</i>
	<i>Время: 15 минут</i>
Центрифуга	<i>Время: 5 минут</i>
	<i>Скорость оборотов: 3000 об/мин</i>
Навеска	<i>Фрукты, овощи: от 0,5 до 3,0 г</i>
	<i>Биологические продукты: до 3,0 г</i>
	<i>Сухие сыпучие пробы: от 0,1 до 0,5 г</i>
Соотношение компонентов водный аммиак-проба	1:1

Для подготовки твердой пробы навеску исследуемого образца соответственно таблице измельчают стеклянной палочкой или шпателем в стаканчике. Полученную массу смешивают с водным раствором аммиака 1:2 и перемешивают стеклянной палочкой.

Полученную массу переливают в пробирку и плотно закрывают крышкой. Пробу экстрагируют в ультразвуковой ванне при температуре 40 °С в течение 15 минут.

Полученный раствор центрифугируют при скорости 3000 об/мин на протяжении 5 минут. После центрифугирования верхний слой центрифугата фазу отделяют в стаканчик, добавляют дистиллированной воды, подкисленной серной кислотой до значений рН 2-3. Полученную пробу используют для определения

антиоксидантной активности методом инверсионной вольтамперометрии. Для исследования из раствора исследуемого образца берут аликвоту 0,3-0,5 мл.

3.3.1.2 Подготовка жидкой пробы

Для подготовки жидких проб навеску образца, согласно таблице, растворяют в 10 мл водно-спиртовой смеси в соотношении 1:1. Для исследования из полученного раствора берут аликвоту 0,3-0,5 мл.

3.3.2 Выполнение измерений

Для выполнения суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов подберем исследуемые пробы:

Таблица 13 - Выбор исследуемых образцов

Группа пищевых продуктов	Выбор
Овощи	Помидоры, лук репчатый
Фрукты	Виноград черный Мандарин Марокко
Безалкогольная продукция	Сок яблочный Чай черный Кофе сублимированный Чайный сбор вечерний
Алкогольная продукция	Вино сухое белое
Детское питание	Сок детский осветлённый яблочный «Агуша» Пюре детское с брокколи «Агуша» Пюре фруктовое «ФрутоНяня»
Биологические объекты	Свиной фарш охлажденный Печень куриная

Полученные образцы готовят к оценке согласно 3.3.1. Аликвоты образцов 0,3-0,5 мл дозатором помещают в ячейки анализатора и устанавливают значения параметров для исследования согласно таблице.

Таблица 14 - Параметры определения

Условия измерения	Значение
Фоновый буферный раствор	6,86
Количество ячеек	2
Используемая система в ячейке	2-х электродная
Индикаторный электрод	РПЭ
Вспомогательный и электрод измерения	ХСЭ
Диапазон развертки потенциала, В	0,0...-0,9
Скорость развертки, мВ/с	30
Потенциал накопления пика, В	-0,4
Время выдержки, с	180
Количество опытов	3

Ниже приведены вольтамперограммы некоторых исследуемых образцов.

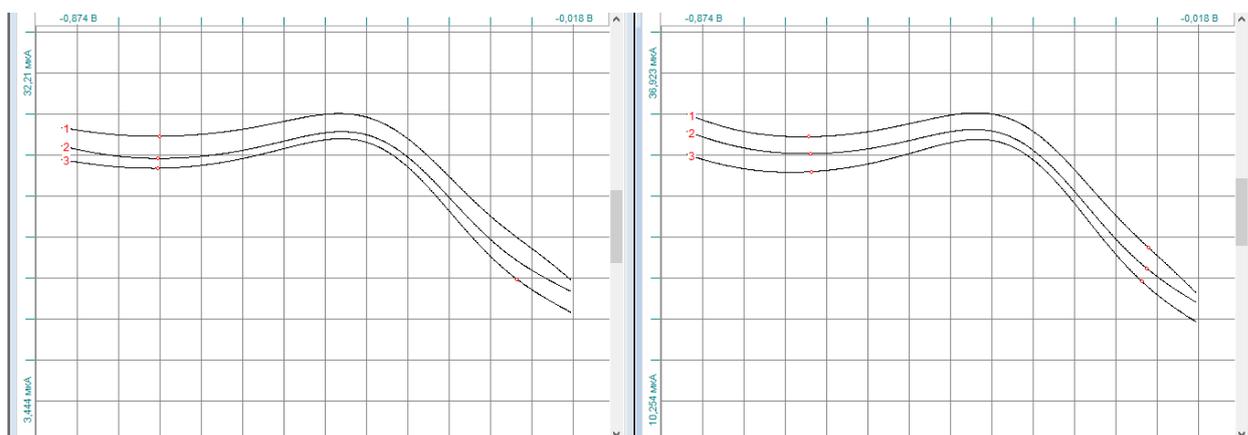


Рисунок 14 - Катодная вольтамперограмма пробы «Печень куриная вареная» при $E=-0,4$ В; $W= 30$ мВ/с; ФБР рН=6,86

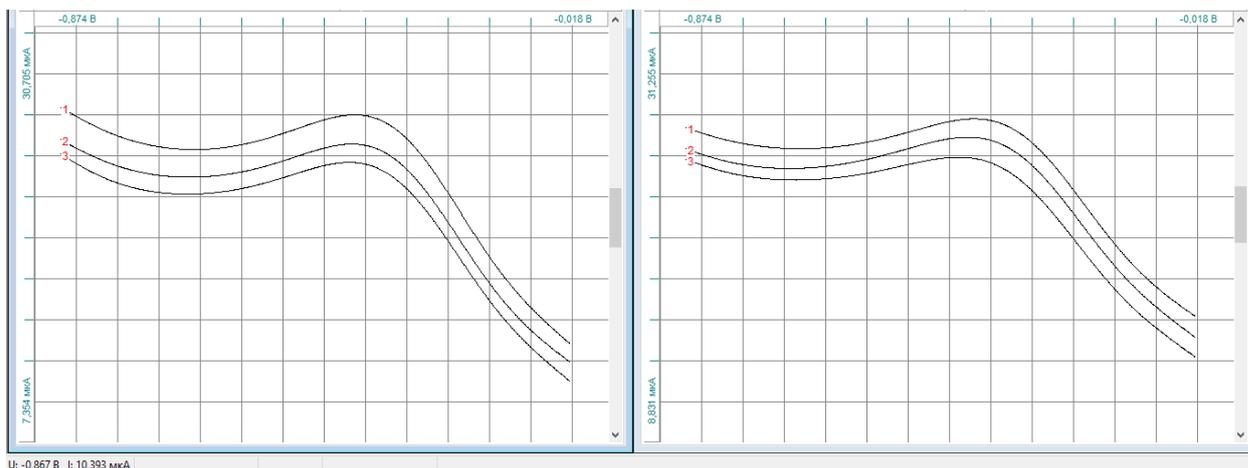


Рисунок 15 - Катодная вольтамперограмма пробы «Фарш свиной охлажденный» при $E=-0,4$ В; $W= 30$ мВ/с; ФБР рН=6,86.

3.3.3 Обработка результатов измерений

Обработка результатов полученных измерений проводится согласно 3.2.3.

$$CA=CA_K N$$

Вычисляют суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов в образцах свиного фарша:

$$CA=0,1 \cdot 2=0,2$$

Суммарное содержание антиоксидантов в пробе вычисляется по формуле:

$$CA = \frac{CA_K V_n N}{m_n \cdot 1000} = \frac{0,1 \cdot 5 \cdot 20}{1 \cdot 1000} = 0,1 \text{ мг/дм}^3$$

3.3.4 Проверка приемлемости результатов измерений

Расхождения результатов измерений не должно превышать предела внутрилабораторной прецизионности. Вычислим по формуле:

$$\left| X_1 - X_2 \right| \leq 0,01 R_T \frac{X_1 + X_2}{2}$$

$$|0,1 - 0,11| \leq 0,01 \cdot 42 \cdot 0,105$$

$$0,01 \leq 0,04$$

3.3.5 Оформление результатов измерений

Результат измерений представляется в виде выражения:

$$(0,1 \pm U_{л}), \text{ мг/дм}^3 \text{ при } P=0,95$$

Расширенная неопределенность, вычисляется по формуле:

$$U = 0,01 \cdot 25 \cdot 0.1$$

Следовательно,

$$(0,1 \pm 0,025), \text{ мг/дм}^3 \text{ при } P=0,95$$

Аналогичные вычисления рассчитываются для остальных образцов.

Полученные значения проб водорастворимых антиоксидантов сведем в таблицу.

Таблица 15 - Результаты исследования

Наименование пробы	Результат измерения, мг/дм ³ при P=0,95	Проверка приемлемости результатов
Фарш свиной охлажденный	0,10±0,03	0,01≤0,04
Помидоры	1,10±0,28	0,01≤0,021
Лук репчатый	1,25±0,30	0,01≤0,04
Виноград черный	0,10±0,03	0,01≤0,04
Сок детский осветлённый яблочный «Агуша»	0,82±0,17	0,04≤0,07
Пюре детское с брокколи «Агуша»	0,71±0,25	0,01≤0,021
Пюре фруктовое «ФрутоНяня»	0,82±0,21	0,02≤0,04
Кофе сублимированный	3,00±0,07	0,04≤0,06
Вино сухое белое	2,50±0,13	0,02≤0,04
Сок яблочный	0,70±0,18	0,01≤0,03
Печень куриная отварная	0,50±0,13	0,06≤0,09
Куриное филе охлажденное	0,65±0,16	0,01≤0,04
Чайный сбор вечерний	0,13±0,03	0,03≤0,07

Предложенный метод прост, не требует длительного времени определения методики, большого количества затрат химических реактивов и трудозатрат. Определяемая концентрация составляет от 0,1 до 1,5 мг/дм³ включительно.

Глава 4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

При исследовании данного проекта в разделе «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение» необходимо установить цель, в которой будет определена коммерческая привлекательность, оценки для ресурсной, финансово-экономической и социальной базы, а также определится эффективность проекта.

Для достижения поставленной цели необходимо поставить задачи проекта, а именно:

- Сформировать концепцию проекта и его экономическую идею;
- Составить план работ по разработке исследовательского проекта;
- Определить опцию проведения исследований;
- Оценить коммерческий потенциал и перспективу проведения исследования;
- Определить ресурсосберегающую, финансовую социальную и экономическую эффективность исследования данной исследовательской работы.

4.1 Предпроектный анализ

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Антиоксидантная активность существует в широком ряде продуктов – овощах, фруктах, продуктах их переработки, безалкогольной продукции, алкогольной продукции, детском питании и многих других объектах. Антиоксидантами в этих продуктах является содержание флавоноидов, витаминов и других питательных веществ, необходимых человеку. Преимущественно потребление суточной нормы антиоксидантов предотвращает появление в организме онкологических заболеваний, сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета.

Цель исследовательской научной работы является разработка методики вольтамперометрического определения антиоксидантной активности, а одним из результатов – разработка методики её метрологической аттестации. Методика позволит определять количественный анализ суммарного содержания антиоксидантов, основываясь на процессе электровосстановления кислорода, чтобы выявить количественное содержание в продуктах антиоксидантов для суточной нормы потребления человеком.

Составим карту сегментирования рынка по вышеприведенным признакам.

Таблица 16 – Карта сегментирования рынка

		Вид потребителя		
		Пищевая промышленность	Аналитические лаборатории	Производители пищевых продуктов
Размер	Крупные			
	Средние			
	Мелкие			

 - Фирма А;  - Фирма Б;  - Фирма В.

Сегментирование проходит по степени потребности использования результатов. так, потенциальным потребителем методики оценки антиоксидантов являются производители пищевой продукции и аналитические лаборатории, проводящие сложные этапы работы и длительный анализ проб при определении антиоксидантов. При меняя данную методику на производстве, производители в разы сокращают время, затрачиваемое на определения антиоксидантов, тем самым сокращая время анализа в целом и повышая эффективность своего производства.

4.1.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

Проводя анализ конкурирующих разработок методик, существующих на рынке, можно сказать что рынки пребывают в постоянном движении. Такой вид анализа помогает соперничать с конкурентами, внося коррективы в разработки и исследования.

Анализ конкурентноспособны решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения позволяет провести оценку сравнительной эффективности научной разработки и определить направления для её будущего повышения.

Проведём сравнительный анализ для оценки различных разработок методики, позволяющих оценить количественное содержание антиоксидантов в пищевых продуктах, биологических объектах.

В настоящем рынке лидерами по количеству разработок являются методы: ВЭЖХ, хроматографические методы, кулонометрические методы, вольтамперометрические, амперометрические, полярографические и потенциометрические методы. Эти методики позволяют оценить наличие антиоксидантов, выявить метрологическими и в качестве математической модели их количественное содержание. Главным недостатком этих систем является то, что они лишены высокой чувствительности определения, имеют большой расход компонентов для пробоподготовки и проведения опыта.

Составим оценочную карту для сравнения конкурентных технических решений, приведенную в таблице.

Таблица 17 – Оценочная карта для сравнения конкурентных научно-технических разработок (решений)

Критерий оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		Б _ф	Б _{к1}	Б _{к2}	К _ф	К _{к1}	К _{к2}
1	2	3	4	5	6	7	8

Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1.Выход продукта	0,25	5	5	4	1,25	1,0	1,0
2. Энергоемкость процессов	0,05	5	4	4	0,25	0,2	0,2
3.Качество продукта	0,3	4	4	3	1,1	1,2	0,8
Экономические критерии оценки эффективности							
1. Цена	0,2	5	3	3	0,9	0,6	0,7
2. Финансирование научной разработки	0,1	2	5	4	0,2	0,5	0,4
3. Время	0,1	3	3	4	0,2	0,25	0,2
Итого	1				3,9	3,75	3,3

Основываясь на проведенный анализ конкурентов, можно сказать, что преимущество разрабатываемого проекта, в том, что требуется меньше времени на его выполнение, он имеет достоинство в цене, которая ниже позиции конкурентов и высокой технологичности. Также не стоит забывать о высоком авторитете рассматриваемых компаний, который присутствуют на рынке не один год.

4.1.3 Диаграмма Исикавы

Диаграмма Исикавы – графический метод анализа и формирования причинно–следственных связей, инструментальное средство для систематического определения причин проблемы и последующего графического представления. Применяется для:

- Выявление причин возникновения проблемы;
- Анализа и структурирования процессов на предприятии;

- Оценка причинно–следственных связей.

Выявленные факторы, влияющие на результат исследования представлены на рисунке.

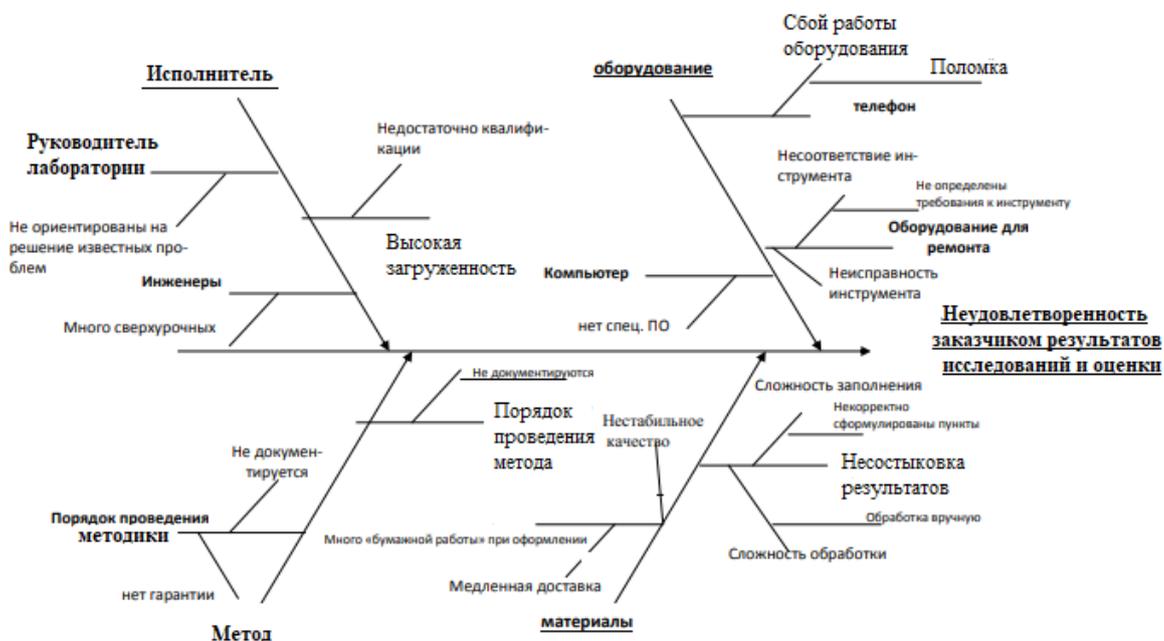


Рисунок 16 - Диаграмма Исикавы

Наиболее вероятными являются – многообразие переменных (факторов) в методике, отсутствие требуемых знаний у исполнителя. Главным образом все возможные проблемы сводятся к некорректному определению в оценке содержания активности и получение несоответствующего действительности результата.

4.1.4 Оценка готовности проекта к коммерциализации

Для любого проекта полезно оценить степень ее готовности к внедрению и выяснить уровень собственных знаний для ее проведения (или завершения). Для этого заполним и проанализируем специальную форма, содержащую показатели степени проработанности проекта с позиции коммерциализации и компетенции разработчика научного проекта. В каждом показателе выставлена оценка по

пятибалльной шкале в зависимости от степени проработанности научного проекта, уровня имеющихся знаний у разработчика и т.д.

Таблица 18 - Оценка степени готовности проекта к коммерциализации

№ п/п	Наименование	Степень проработанности научного проекта	Уровень имеющихся знаний у разработчика
1	Определен имеющийся научно-технический задел	5	5
2	Определены перспективные направления коммерциализации научно-технического задела	5	4
3	Определены отрасли и технологии (товары, услуги) для предложения на рынке	4	4
4	Определена товарная форма научно-технического задела для представления на рынок	3	3
5	Определены авторы и осуществлена охрана их прав	5	4
6	Проведена оценка стоимости интеллектуальной собственности	3	3
7	Проведены маркетинговые исследования рынков сбыта	4	3
8	Разработан бизнес-план коммерциализации научной разработки	3	3
9	Определены пути продвижения научной разработки на рынок	3	3
10	Разработана стратегия (форма) реализации научной разработки	4	4
11	Проработаны вопросы международного сотрудничества и выхода на зарубежный рынок	3	3
12	Проработаны вопросы использования услуг инфраструктуры поддержки, получения льгот	4	4
13	Проработаны вопросы финансирования коммерциализации научной	4	4

	разработки		
14	Имеется команда для коммерциализации научной разработки	5	5
15	Проработан механизм реализации научного проекта	4	4
	Итого баллов	59	56

Оценка готовности научного проекта к коммерциализации (или уровень имеющихся знаний у разработчика) определяется по формуле:

$$B_{\text{сум}} = \sum B_i,$$

где $B_{\text{сум}}$ – суммарное количество баллов по каждому направлению;

B_i – балл по i -му показателю.

Значение $B_{\text{сум}}$ по обоим направлениям попало в интервал от 59 до 45, следовательно, данная разработка считается перспективной. Успешное развитие метрологической оценки антиоксидантов составит хорошую конкуренцию зарубежным разработкам. Для этого необходимо вкладывать большие ресурсы в проект.

4.1.5 Выбор предпочтительного метода коммерциализации результатов научно-технического исследования

Рассмотрев все предложенные методы коммерциализации, наиболее эффективным для данной методики разработки является лаборатория. Имеется предприятие по оценке антиоксидантов ООО «ЮМХ», заинтересованные в разработке новых методик, а также усовершенствование технологического процесса.

Такой выбор связан с тем, что исследования проводятся на основе экспериментальных данных, взятых непосредственно с результатов оценки лаборанта. Поэтому разработка является актуальной для нескольких предприятий, что связано с различными условиями проведения процесса. Владелец предприятия и работники, выполняющие исследования, заранее договариваются о предоставлении последними услуг по повышению эффективности процесса и

обучению персонала, а производитель в свою очередь предоставляет данные для НТИ. Такой метод коммерциализации является единственным подходящим.

4.2 Проект. Планирование исследовательских работ

4.2.1 Цели и результаты проекта

Информация о заинтересованных сторонах проекта, активно участвующих в проекте, а также анализ их ожиданий, которых могут быть затронуты в результате завершения проекта, представлены в таблице.

В таблице представлена информация о иерархии целей проекта и критериях достижения целей.

Таблица 19 - Цели и результаты проекта

Цели проекта	Разработка методики вольтамперометрического определения антиоксидантной активности
Ожидаемые результаты проекта	Наличие пробоподготовки для твердых, сыпучих, жидких продуктов и их переработки; Определение количественного содержания антиоксидантов
Критерии приемки результата проекта	Наличие метрологического критерия погрешности не более 5%
Требования к результату проекта	Установление уровня наличия антиоксидантов на основании выбранного объекта исследования
	Определение влияния на объекты исследования
	Выявление антиоксидантной активности в пищевых продуктах и продуктах их переработки

4.2.2 Иерархическая структура проекта

Иерархическая структура работ (ИСР) – детализация укрупненной структуры работ. В процессе создания ИСР структурируется и определяется содержание

всего проекта. На рисунке представлена иерархическая структуры работ по исследовательскому проекту.

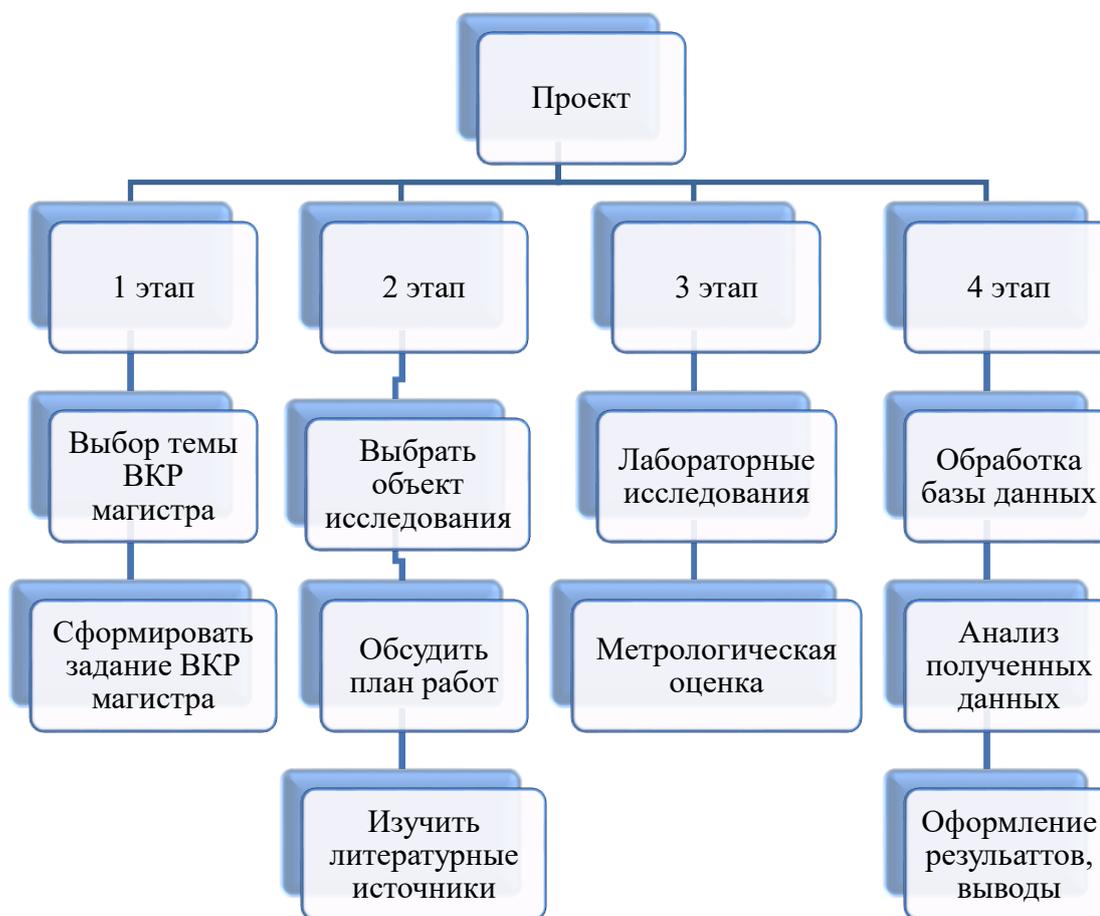


Рисунок 17 - Иерархическая структура ВКР

4.3 План проекта

В рамках планирования научного проекта необходимо построить календарный и сетевой графики проекта. Линейный график представляется в виде таблицы.

Таблица 20 – Календарный план работ

Название	Длительность, дней	Дата начала работ	Дата окончания работ	Состав участников
Утверждение темы магистерской диссертации	7	15.10.2021	24.10.2021	Слепченко Г.Б. Курапова С.А.
Согласование	9	25.10.2021	03.11.2021	Слепченко

плана работ по ВКР				Г.Б. Курапова С.А.
Литературный обзор	197	04.11.2021	31.05.2022	Курапова С.А.
Лабораторные исследования	168	01.06.2022	13.12.2022	Курапова С.А.
Метрологическая обработка данных	45	14.12.2022	29.01.2023	Курапова С.А.
Обработка полученных данных, обсуждение результатов	10	30.01.2023	02.03.2023	Слепченко Г.Б. Курапова С.А.
Оформление результатов работы	120	03.03.2023	04.06.2023	Курапова С.А.
Итого	562			

4.3.2 Диаграмма Ганта

Диаграмма Ганта – это тип столбчатых диаграмм (гистограмм), который используется для иллюстрации календарного плана проекта, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ. График строится в виде таблицы с разбивкой по месяцам и декадам (10 дней) за период времени выполнения научного проекта.

Таблица 21 – Каендарный план-график НИОКР по теме

№	Продолжительность выполнения работ																						
	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Январь	Февраль	Март	Апрель	Май	июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Январь	Февраль	Март	Апрель	май		
Год	2021				2022								2023										
Утверждение темы магистерской диссертации																							
Согласование плана работ																							
Литературный обзор																							
Лабораторные исследования																							
Метрологическая обработка																							
Обработка полученных данных и обсуждение результатов																							
Оформление результатов работы																							

4.3.3 Бюджет научного исследования

При планировании бюджета научного исследования должно быть обеспечено полное и достоверное отражение всех видов планируемых расходов, необходимых для его выполнения. Данные отражены в таблице.

При выполнении учета сырья, материалов, покупных изделий и полуфабрикатов, в эту статью включается перечень затрат, необходимый для выполнения данной исследовательской работы. Количество потребных материальных ценностей определяется по нормам расхода.

Таблица 22 – Затраты на материальные ресурсы, оборудование и программное обеспечение

Наименование	Единицы измерения	Кол-во	Цена за ед. с НДС, руб	Общие затраты, руб
Бумага для печати офисная	Пачка	2	350	700
Персональный компьютер	Шт.	1	87990	87990
Весы аналитические	Шт.	1	9000	9000
Программное обеспечение	Шт.	1	24000	24000
Анализатор СТА	Шт.	1	256000	256000
Центрифуга	Шт.	1	45331	45331
Ультразвуковая ванна	Шт.	1	16750	16750
Канцелярские принадлежности	Шт.	1	2000	2000
Набор реактивов для опытов	Шт.	1	9852	9852
Затраты по статьям расходов				451623
Транспортные расходы				5000
Итого затрат				456623

В эту статью включается основная заработная плата научных и инженерно-технических работников, рабочих макетных мастерских и опытных производств, непосредственно участвующих в выполнении работ по данной теме. Величина расходов по заработной плате определяется исходя из трудоемкости выполняемых работ и действующей системы оплаты труда. В состав основной заработной платы включается премия, выплачиваемая ежемесячно из фонда заработной платы (размер определяется Положением об оплате труда).

Зарботная плата работникам является такой же неотъемлемой частью затрат проекта, как и затраты на материально-ресурсную базу исследования. Она включает в себя основную заработную в т.ч. премии и доплаты, а также дополнительную:

$$C_{зп} = Z_{осн} + Z_{доп}$$

где $Z_{осн}$ – основная заработная плата;

$Z_{доп}$ – дополнительная заработная плата.

Основная заработанная плата работника может быть найдена по следующей формуле:

$$Z_{осн} = Z_{дн} * TP$$

TP – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб. дн в год,

$Z_{дн}$ – среднедневная заработная плата работника, руб. в день.

Среднедневная заработная плата в свою очередь находится как:

$$Z_{дн} = Z_M * M F_D$$

Z_M – месячный должностной оклад работника, руб.;

M – количество месяцев работы без отпуска в течение.

Гд – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб.дн.

Для определения действительного годового фонда рабочего времени составим баланс рабочего времени, отраженный в таблице.

Таблица 23 - Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Инженер
Календарное число дней (выходные и рабочие дни)	365	365
Количество нерабочих дней (отпуск и невыходы по болезни)	44; 14	48; 14
Потери рабочего времени	56; 0	28; 0
Действительный годовой фонд рабочего времени	251	275

Месячный оклад работника находится умножением заработной платы З_б, руб. по тарифной ставке на районный коэффициент $k_p = 1,3$. Расчет основной заработной платы приведен в таблице.

Таблица 24 – Расчет основной заработной платы

Исполнитель	З _б , руб.	k_p	З _м ,руб	З _{дн} ,руб	Т _{раб} ,раб. дн.	З _{осн} , руб
Руководитель	50625, 0	1,3	65812,5	3679,83	47	172952,01
Инженер	13896,0	1,3	18064,8	873,83	200	174766,0
Итого						647718,01

Дополнительная заработная плата рассчитывается исходя из 10 - 15% от основной заработной платы, работников. Примем этот показатель равным 10, тогда общие затраты на заработную плату составят:

Таблица 25 – Расчет заработной платы

Заработная плата	Руководитель	Инженер
Основная, руб.	172952,01	174766,0
Дополнительная, руб.	25942,8	26214,9
Итого для работника, руб.	198894,84	200980,9
Всего итого, руб		399875,74

Отчисления во внебюджетные фонды и накладные расходы составляют не малую часть расходов. Отчисления во внебюджетные фонды согласно 34 главе налогового кодекса Российской Федерации составляют 30 %, для накладных расходов этот показатель примем равным 16 %. Тогда общие затраты на проведение НТИ составят 922 715 руб., что отражено в таблице 14

Таблица 26 - Бюджет НТИ

Заработная плата	Руководитель	Инженер
Основная зарплата	172952,01	174766,0
Дополнительная зарплата	25942,8	26214,9
Отчисления во внебюджетные фонды	59668,44	60294,27
Накладные расходы	159115,1	160784,72
Затраты на материальные ресурсы	456623	456623
Итого по статье Сзп	715631,91	878862,89

4.4 Оценка сравнительной эффективности исследования

Определение эффективности исследования проводится расчетом интегрального показателя. Для этого необходимо вычислить средневзвешенные величины финансовой эффективности и ресурсоэффективности.

$$I_{\Phi}^i = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{max}}$$

I_{Φ}^i – интегральный финансовый показатель разработки;

Φ_{pi} – стоимость i -го варианта исполнения;

Φ_{\max} – максимальная стоимость исполнения научно- исследовательского проекта (в т.ч. аналоги).

Расчеты интегрального финансового показателя для исполнения приведены в таблице.

Таблица 27 – Расчет интегральных финансовых показателей

Исполнение	1
I_{Φ}	1

$$I_{pi} = \sum a_i b_i$$

где I_{pi} – интегральный показатель ресурсоэффективности для i -го варианта исполнения разработки;

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;

b_i – бальная оценка i -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания, таблица 16.

Таблица 27 – Сравнительная оценка исполнений проекта

Критерии	Объекты исследования			
	Весовой коэффициент	Текущий проект	Аналог 1	Аналог 2
Адекватность разработки	0,2	5	5	3
Простота применения	0,2	5	4	4
Энергоэкономичность	0,1	4	4	2
Потенциал экономического эффекта	0,5	5	5	2
Итого		19	18	11

Расчеты интегрального показателя ресурсоэффективности для каждого исполнения приведены в таблице.

Таблица 28 – Расчет интегральных показателей ресурсоэффективности

Исполнение	1	2
I_{pi}	5	4

Для расчета сравнительной эффективности разработки необходимо воспользоваться следующими формулами:

$$I_{\text{э}} = \frac{I_{pi}}{I_{\text{ф}}^i}$$

$$\text{Э} = \frac{I_{\text{э}}^i}{I_{\text{э}}^j}$$

где $I_{\text{э}}$ – интегральный показатель эффективности

Э – сравнительная эффективность проекта.

Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения разработки приведена в таблице 29.

Таблица 29 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения

Исполнение	Текущий проект	Аналог
Интегральный показатель финансовой эффективности	0,62	1
Интегральный показатель ресурсоэффективности	4,7	3,7
Интегральный показатель эффективности	7,5	3,7
Сравнительная эффективность проекта	1	0,8

Вывод: Сравнение эффективности текущей разработки с альтернативными вариантами показало, что текущий вариант позволяет достичь того же результата при меньших финансовых затратах. Следовательно, ее можно назвать финансово и ресурсоэффективной.

Глава 5 Социальная ответственность

В данной главе рассматриваются вопросы по охране труда, которые связаны с работой в лаборатории 2 корпуса НИ ТПУ, а также разрабатываются мероприятия, которые направлены на предотвращение различных воздействий на здоровье опасных и вредных факторов на работников лаборатории. Создаются безопасные условия труда для работников в ходе выполнений работ по разработке и метрологической аттестации определения антиоксидантной активности в пищевых продуктах и биологических объектах. Научно-исследовательская работа проводится с использованием химических реагентов и применением электрооборудований в лаборатории второго корпуса НИ ТПУ.

Исследования по данной работе могут быть применены потенциальными потребителями медицинских учреждений, проводящие лабораторные исследования в биологических объектах, а также лаборатории, проводящие исследования в пищевой промышленности.

5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

На производстве между исполнительным работником и нанимателем регулируются отношения согласно Трудовому Кодексу Российской Федерации №197-ФЗ от 30 декабря 2001 года. При работе с данным проектом характерен режим гибкого рабочего времени по соглашению сторон согласно статье 102 ТК РФ.

Защита персональных данных работника осуществляется согласно Главе 14 ТК РФ. Работодатель должен обеспечивать конфиденциальность данных работника, осуществлять сбор данных, предоставлять работнику возможность ознакомления с правилами сора персональных данных, также он должен обеспечивать устойчивую меру защиты от несанкционированного доступа.

По Приказу Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 12 апреля 2011 года, проводятся обязательные предварительные и периодические

медицинские обследования работников, которые заняты на работах с вредными и (или) опасными условиями труда.

Согласно ГОСТ 12.2.032-78 «Рабочее место при выполнении работ сидя» предусматриваются требования к организации рабочего места, чтобы обеспечить комфорт работника.

Создаются наилучшие условия для лаборанта, а именно:

— Рабочее место оборудовано стабильным, прочным и безопасным стулом, которое позволяет лаборанту комфортно сидеть;

— Стул, регулирующий высоту, чтобы работник смог настроить оптимальное положение для выполнения работ;

— На рабочем месте обеспечивается свобода передвижения работника, чтобы он мог безопасно перемещаться вокруг него;

— Обеспечивается достаточное освещение рабочего места, чтобы лаборант мог выполнять свои задачи и избегать опасных ситуаций;

— Рабочее место обеспечивается необходимыми средствами индивидуальной защиты для работы с реактивами, а именно: перчатками, масками, очками и другим дополнительным оборудованием;

— Обеспечивается правильная организация технологических процессов, в том числе хранение и утилизация реактивов, используемых в работе.

В результате анализа условий труда при работе в химической лаборатории можно сделать вывод, что рабочее место должно быть оборудовано не только безопасными характеристиками, но и правильной организацией технологического процесса.

Рабочее место лаборанта на рабочем месте согласно ГОСТ 12.0.004-90 «Организация обучения безопасности труда» при работе с реактивами должно соответствовать следующим критериям:

— Площадь рабочего места должна составлять не менее 6 м²;

— Рабочее место обеспечивается необходимым оборудованием, инструментами, аппаратурой и специальными устройствами для хранения и работы с реактивами (вытяжные шкафы, стеллажи с химикатами и т.п.);

— По требованиям охраны труда и техники безопасности, на рабочем месте в открытом доступе должны располагаться инструкции по мерам первой помощи и аварийных ситуациях;

— На рабочем месте не должны располагаться предметы, которые могут привести к травмам или нанесению вреда здоровью.

Все требования ГОСТ 12.0.004-90 направлены на обеспечение безопасности труда лаборанта при работе с реактивами. Предприятие обязано соблюдать этот стандарт и организовывать обучение и обеспечение безопасности своих работников.

5.2 Производственная безопасность

При разработке данной исследовательской работы важным фактором является обеспечение безопасности для жизни и здоровья работников лаборатории.

В таблице ниже приведены опасные и вредные факторы при данной исследовательской работе по разработке методики исследования антиоксидантов в пищевой продукции и биологических объектах.

Таблица 30 – Возможные опасные и вредные факторы проекта.

Факторы (ГОСТ 12.0.003-2015)	Этапы работ			Нормативная документация
	Подготовка к исследованию	Исследование	Обработка результатов	
Работа с вредными химическими веществами	+	+		ФЗ «О безопасности производственной деятельности» от 21.07.1997 №116-ФЗ;

				<p>ГОСТ Р 12.4.011-97 Система стандартов безопасности труда. Средства защиты работающих; ГОСТ 12.1.005-88 (ССБТ) Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны; ГОСТ 12.1.007-76 (ССБТ) Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования.</p>
Отклонение показателей микроклимата	+	+	+	<p>ГОСТ Р ИСО 4369-2008 Электромагнитные поля низких частот. Критери и методы оценки поля в зданиях и на рабочих местах; СанПиН 2.2.4.1190-03 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений»; Список климатических нормативов и требований для производственных помещений, утвержденный Минздравом РФ.</p>
Превышение уровня шума	+	+	+	<p>СанПиН 2.2.2/.2.4.1340-03 Гигиенические требования к шуму на рабочих местах ив жилищных общественных зданиях; ГОСТ 12.1.003-83 Система стандартов</p>

				безопасности труда (ССБТ). Шум. Общие требования безопасности.
Недостаточная освещенность рабочей зоны	+	+	+	СанПиН 2.2.2/.2.4.1340-03 Гигиенические требования к шуму на рабочих местах ив жилищных общественных зданиях; ГОСТ 12.1.005-88 Основные санитарные правила работы с химическими веществами, опасными для человека и окружающей среды; ГОСТ 12.3.026-2001 Система стандартов безопасности труда. Световое обеспечение рабочих мест
Электробезопасность	+	+	+	ГОСТ 12.1.005-88 Основные санитарные правила работы с химическими веществами, опасными для человека и окружающей среды; СНиП 23-05-95 Освещение и естественное освещение
Пожаровзрывобезопасность	+	+	+	ТР ТС 007/2011 Технический регламент О безопасности химической продукции; ГОСТ 12.1.004-91 Пожарная безопасность. Общие требования; ГОСТ 12.2.064-2015 Система стандартов безопасности труда. Общие требования к устройству рабочих мест при выполнении работ с

				химическими и биологическими веществами ГОСТ 12.1.010-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Взрывобезопасность. Общие требования
Повышенный уровень электромагнитных излучений		+	+	СанПиН 2.2.2.542-96 гигиенические требования к устройствам, содержащим электронные лампы и источники излучения высокочастотных полей; СНиП 23-05-95 Защита от шума.; ГОСТ Р 12.4.026-2001 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Электромагнитное поле. Общие требования безопасности; СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03 Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений

5.2.1 Анализ опасных и вредных производственных факторов.

5.2.1.1 Работа с вредными химическими веществами

Работа в лаборатории требует достаточное количество аспектов для разработки данной исследовательской работы, такие, как: соблюдение и знание техники безопасности, охраны труда работников, соблюдение и наличие средств индивидуальной защиты лаборанта. Условия для работы принимаются

максимально безвредными. Данный исследовательский проект связан с работой электроприборов и химических реагентов.

В аналитической лаборатории используются вредные и опасные химические вещества. При несоблюдении мер требований безопасности они могут причинить серьезный вред здоровью и привести к патогенным факторам. Лаборант-аналитик при работе находится под воздействием различных физических факторов, таких, как: микроклиматические параметры, а именно движение воздуха, температура в помещении, влажность воздуха) и подвержен характеристикам освещения своей рабочей зоны. Соблюдение ненадлежащих санитарно-гигиенических требований в лаборатории может привести к появлению опасных факторов производственной среды, таких как взаимодействие с токсичными веществами, нагрузка на глаза при проведении анализов, работа с инструментами, взвешивание на аналитических весах и работа с приборами (вольтамперометрическим анализатором, центрифугой, ультразвуковой ванной).

В таблице приведены химические вещества, которые используются в данной исследовательской работе. Так как работа идет в основном с опасными химическими реагентами, целесообразно проводить такие мероприятия, как:

- Использование СИЗов (перчатки, защитные очки, маски, щитки, халаты);
- Использование герметичной тары для хранения реактивов и проведения реакций;
- Использование вытяжного шкафа в лаборатории.

Таблица 31 - Характеристика химических реактивов

Наименование реактива	Физические свойства	Величина ПДК, мг/дм³	Класс опасности	Токсическое действие на лаборанта
Водный раствор аммиака	Бесцветная жидкость с запахом нашатыря	20	4	Раздражение слизистых оболочек, кожного

				покрова
Серная кислота концентрированная	Маслянистая бесцветная жидкость без запаха, с сильным медным вкусом	0,3	2	Поражает дыхательные пути, кожные покровы, слизистые оболочки, вызывает затруднение дыхания и кашель
Концентрированная азотная кислота	Бесцветная дымящаяся на воздухе жидкость	2	3	Раздражение дыхательных путей

5.2.1.2 Отклонение показателей микроклимата

Условия для раоты в лаборатории зависят напрямую от состояния воздушной среды, характеризуются в основном перепадами температур, повышенной влажностью, тепловым излучением нагретых поверхностей оборудования. Воздействия микроклимата могут стать причиной ухудшения зоровья работника, так как он напрямую влияет на показатели в работе лаборанта, простуды, хронического бронхита, астмы и других заболеваний человека. В связи с этими параметрами, необходимо установить допустимые значения с учетами избытка тепла в помещении, сезонов года и хода выполнения работы.

В таблице указаны оптимальные величины микроклимата на рабочих местах.

Таблица 32 - Величины микроклимата на рабочих местах

Сезон года	Категория тяжести выполняемых работ	Температура, °С		Относительная влажность, %		Скорость движения, м/с	
		Факт.	Доп.	Факт.	Доп.	Факт.	Доп.
Теплый	Па	20	20-23	50-40	60-40	0,2	0,2
Холодный	Па	18	19-21	50-40	60-40	0,2	0,2

По размерам рабочего помещения лаборатории, относительная влажность воздуха составляет 40-45%, а температура воздуха соблюдается в диапазоне 19-22 °С. Данные показатели относятся к оптимальным условиям лаборанта на рабочем месте.

Установка кондиционирования воздуха в теплый период года позволяет поддерживать параметры воздуха в пределах, предлагаемые для надежной работы и комфортных условий пребывания работников на рабочем месте.

В холодный период температура в помещении поддерживается центральным отоплением.

Для обеспечения безопасной работы в лаборатории необходимо обеспечить поступление свежего воздуха в помещение, который необходимо отфильтровать от пыли. Помещение со всем необходимым оборудованием должно соответствовать нормам, согласно количеству работников, в лаборатории и площади лабораторного помещения. Согласно нормам требований по СанПиН 2.2.4.548-96, на каждой рабочей зоне должно циркулировать не менее 20 м³ воздуха не менее 4,5 м² на 1 кв. м. площади помещения.

В данном проектируемом помещении, его площадь составляет 35 м², а объем – 110 м³. При работе 5 человек в лаборатории на каждого приходится по 22 м³ воздуха на человека, что соответствует СанПиН 2.2.4.548-96.

5.2.1.3 Превышение уровня шума

Один из самых распространенных вредных факторов в работе лаборанта – шум. Шум является источником, который негативно влияет на ход работы и здоровье человека. Достаточно продолжительное воздействие шума может вызвать ухудшение органов восприятия звуковых колебаний. При данном исследовательском проекте характерно наличие шума от приборов: анализатора, центрифуги, ультразвуковой ванны, компьютера.

Измерение шума на рабочих местах регламентируется по: СанПиН 2.2.2/2.4.1340-03 Гигиенические требования к шуму на рабочих местах ив жилищных общественных зданиях; ГОСТ 12.1.003-83 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Шум. Общие требования безопасности.

Согласно последнему, уровень шума проводится не реже двух раз в год. Также нормируются параметры шума и максимально составляют 80 дБ для лаборатории.

5.2.1.4 Недостаточность освещенности рабочей зоны

Правильное освещение рабочего места – один из важнейших аспектов создания благоприятных условий труда. Оно способствует повышению производительности, улучшению безопасности и снижению утомляемости. Неправильное или недостаточное освещение может привести к опасным ситуациям. Идеальные условия для полного зрительного восприятия создаются при естественном солнечном свете. Искусственное освещение применяется в помещениях, где недостаточно естественного света в часы, когда естественное освещение отсутствует. Оно обеспечивается с помощью люминисцентных ламп мощностью до 80 Вт.

Для рабочего места лаборанта согласно санитарным нормам по СанПиН 1.2.3685-21, лаборатория относится к I группе помещений по задачам зрительной работы, точность наименьшего объекта различения составляет 0,5-1 мм. По этой точности зрительной работы проводится взвешивание на аналитических весах малых количеств проб, разбавление стандартов.

Согласно СанПиН 1.2.365-21, при комбинированном освещении, освещенность составляет 500 лк, а при общем освещении – 400 лк.

При подборе светового оборудования учитываются условия среды, экономические показатели.

Для работы в лаборатории предпочтителен комбинированный тип освещения, так как работа зрительная и имеет высокую точность обработки результатов и проведения опыта. В тёмное время суток естественного освещения недостаточно, чтобы не вызвать усталость и повреждение глаз. При работе лаборанта значение освещенности на рабочем месте лаборанта достигает 400 лк.

Лабораторное помещение имеет габариты:

Длина – 9 м;

Ширина – 7 м;

Высота – 5 м.

Согласно «Методики расчета системы общего равномерного искусственного освещения», в таблице ниже приведены значения коэффициента отражения потолка и стен данного помещения.

Таблица 33 - значение коэффициентов отражения потолка и стен

Состояние потолка	$\rho_{п}, \%$	Состояние стен	$\rho_{ст}, \%$
Побеленный в сырых помещениях	50	Свежепобеленные с окнами без штор	50

В таблице приведен коэффициент запаса светильников с люминесцентными лампами

Таблица 34 - Коэффициент запаса светильников с люминесцентными лампами

Характеристика объекта	Коэффициент запаса
Помещение с малым выделением пыли	1,5

Коэффициент неравномерности составит $Z= 1,1$; высота рабочей поверхности над столом $h_{рп}=0,85$ м.

Вычислим уровень рабочей поверхности до потолка:

$$h = h - h_p - h_c = 5 - 0,85 - 1 = 3,15 \text{ м.}$$

Для освещения в помещении используются люминесцентные светильники без защитной решетки типа ОД мощностью до 80 Вт. По таблице ниже определим наивыгоднейшее расположение светильников

Таблица 35 – Коэффициент расположения светильников

Наименование светильников	λ
Люминесцентные без защитной решетки типов ОД, ОДО	1,4

Определим расчетную длину между двумя рядами светильников по формуле:

$$L = \lambda \cdot h = 1,4 \cdot 3,15 = 4,41 \text{ м;}$$

Тогда:

$$l = \frac{L}{3} = \frac{4,41}{3} = 1,47 \text{ м.}$$

Число рядов светильников будет определено:

$$n = \frac{B}{L} = \frac{9}{4,41} = 2 \text{ ряда;}$$

Тогда:

$$l = \frac{L}{3} = 2 \text{ м;}$$

Количество ламп:

$$N = 5 \cdot 2 = 10 \text{ ламп.}$$

По рисунку ниже разместим лампы так, как считается уместным, так как рабочие места расположены по всему периметру помещения.

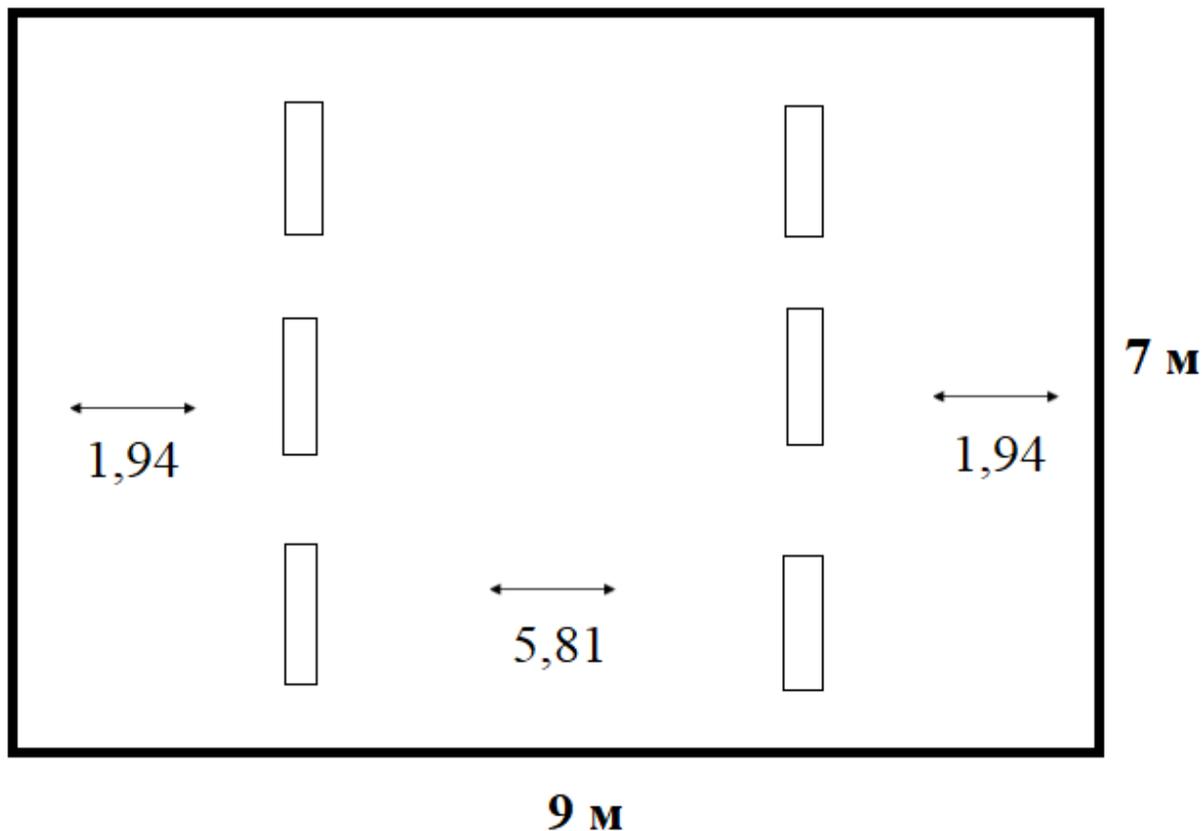


Рисунок 168 - Расположение ламп в лаборатории

Индекс освещения составит:

$$i = \frac{S}{h} (A + B) = \frac{63}{68,9} = 0,9 \text{ м};$$

Коэффициент использования светового потока составит $\eta=0,44$.

Потребный световой поток ламп в каждом ряду:

$$\Phi = \frac{400 \cdot 63 \cdot 1,5 \cdot 1,1}{10 \cdot 0,44} = 9450 \text{ лм.}$$

Из таблицы ниже подберём стандартную лампу и проведем проверку выполнения условий.

Таблица 36 - Подбор лампы для помещения

Мощность, Вт	Напряжение сети, В	Световой поток
		ЛТБ
125	220	8150

$$-10\% \leq (8150-9450)/8150 \leq +20\%$$

$$-10\% \leq -15,9 \leq +20\%$$

Определим электрическую мощность осветительной установки:

$$P = 10 \cdot 80 = 800 \text{ Вт.}$$

Изучив параметры освещения, типа светильников, индекс помещения, коэффициенты отражения стен, коэффициенты отражения потолка, и проведя проверку выполнения условий, можно сказать, что для достаточного уровня освещения при работе лаборанта необходимо добавить 1-2 светильника.

5.2.1.5 Электробезопасность

В данной исследовательской работе используются электроприборы:

- Комплексный вольтамперметрический анализатор «СТА» в комплекте с компьютером;
- Ультразвуковая ванна;
- Центрифуга лабораторная.

Повреждение изоляции в результате эксплуатации оборудования является частой причиной воздействия тока на лаборанта-работника. Поражение током представляет собой большую опасность при проведении ремонтных работ и эксплуатации приборов. Переменный ток с частотой 10-100 Гц является наиболее опасным для человека, также опасным значением тока является 0,0001 А, а смертельным – 0,1 А.

Лаборатория 2 корпуса ТПУ относится к 1 категории опасности поражения электрическим током по ГОСТ Р 12.1.019-2009. Чтобы предотвратить воздействие тока на человека-работника, необходимо:

- Изолировать токоведущие части;
- Снабдить лабораторное электрооборудование блокировками, ограждающими устройствами;

- Соблюдать расстояния заземления электрооборудования до токоведущих частей;

- Установить предупреждающие знаки, надписи;
- Сохранять целостность и исправность оборудования.

Для исправности работы оборудования необходимо поддерживать микроклимат в помещении, температуру окружающей среды варьировать в диапазоне 19-22 °С, при относительной влажности 45%.

5.2.1.6 Пожаровзрывобезопасность

В данной лаборатории опасность ЧС, таких, как пожар и взрывы полностью зависят от физико-химических свойств материалов, используемых в лаборатории, а также от веществ, работы оборудования и источников возгорания.

В лаборатории аналитической химии ТПУ, расположенной во 2 корпусе на 2 этаже, все работы проводятся согласно нормативным документам и мерам, необходимым для локализации пожаров и ЧС.

Для локализации пожаров, согласно ФЗ РФ «Технический регламент о требованиях ПБ», помещение лаборатории оснащено нижеперечисленным оборудованием:

- Углекислотный огнетушитель, обладает высокой эффективностью при минимальном риске помех на оборудовании;
- Химический огнетушитель для тушения пожаров, возникшие при взаимодействии химических веществ, обеспечивает широкий спектр действий в среде, включая большинство видов оксидов, хлоридов и бромидов;
- Ящики с песком для тушения проводов на горизонтальной поверхности;
- Асбестовое одеяло, используемое при тушении горячей одежды работников и электропроводов.

Между рабочими столами всегда обеспечен проход, выходы не загромождены. В случае эвакуации сотрудники покидают здание и следуют маршруту, который указан на плане эвакуации.

5.2.1.7 Повышенный уровень электромагнитных излучений

Повышенным уровнем электромагнитных излучений является монитор, системный блок и ультразвуковая ванна. Продолжительное воздействие электромагнитного поля на организм работника может вызвать ухудшение физического и функционального состояния нервной, сердечно-сосудистой системы.

Факторы повышенной утомляемости, изменение давления, пульса и снижение качества выполнения рабочих операций лаборанта напрямую влияют на здоровье работника. При этом должны регулироваться уровень и время пребывания в контролируемой среде электрического поля.

5.3 Экологическая безопасность

На предполагаемом рабочем месте лаборанта охрана окружающей среды и рациональное использование ресурсов является огромной частью социального и экономического значения.

5.3.1 Анализ влияния разработки проекта исследования на окружающую среду

Исследовательский процесс антиоксидантной активности в пищевой промышленности и биологических объектах проводится в лаборатории – в закрытом помещении, с использованием вытяжных шкафов и СИЗов, следовательно, прямое воздействие на окружающую среду не предусмотрено.

Используемые реактивы для пробоподготовки проб и используемые химикаты после исследования поступают в общую канализацию, в которой предусмотрены очистные сооружения. Реагенты малотоксичны, так как они нейтрализованы и обладают наименьшей концентрацией, что способствует

малому загрязнению сточных вод. Часть растворов и используемых реактивов используется повторно.

5.3.2 Мероприятия по защите окружающей среды

5.3.2.1 Воздействие на атмосферу

При работе с данным проектом могут возникнуть следующие факторы, влияющие на атмосферу:

- выбросы вредных газов и паров при открытых работах с химическими реактивами;
- выбросы запахов и пыли при работе с пищевыми продуктами и биологическими объектами;
- дополнительная нагрузка атмосферы при использовании электрооборудования;
- избыточная вентиляция может привести к потере тепла и повышению расходов энергии.

В работе используются концентрированные кислоты в малых количествах, что говорит о том, что выделение паров составляет незначительную часть. Работа с химикатами проводится в вытяжном шкафу, согласно технике безопасности, чтобы выбросить вредные пары и газы через вентиляцию в открытую атмосферу.

Согласно ФЗ «Об охране атмосферного воздуха» (ред. От 13.07.2015), СанПин 2.1.2684-21 и ГОСТ 32673-2014, необходимо организовать при работе с данным исследовательским проектом обезвреживание паров летучих химических реагентов. Вытяжные шкафы должны обеспечивать эффективное удаление из воздуха опасных компонентов. Уровень выброса должен быть ниже предельно допустимых норм, установленных в соответствии с требованиями законодательства. Для контроля проводятся регулярные измерения концентрации вредных веществ в воздухе помещения.

5.3.2.2 Воздействия на литосферу

При работе с данным исследовательским проектом могут возникнуть факторы, влияющие на литосферу:

- загрязнение грунта посредством разлива опасных химических реагентов;
- коррозия оборудования из-за высококислотных реакций, что может привести к утечкам химикатов и вызвать загрязнение окружающей среды;
- использование химических реагентов может привести к образованию отходов, которые могут выкидываться или храниться на специальных мусоросборниках (разбитая посуда, СИЗы, отработанные пробы).

Необходимо организовать правильную утилизацию органических отходов и твердых химических отходов (продукты пробоподготовки). Отработанные пробы биологических объектов и пищевой промышленности, а также средства индивидуальной защиты работника-лаборанта должны подвергаться обязательной дезинфекции на месте их образования.

На основе ФЗ от 10.01.02 № 7- ФЗ «Об охране окружающей среды», ГОСТ Р 14.01-2005, ГОСТ 17.1.3.06–82, ГОСТ 17.1.3.13–86, ГН 2.1.5.1315-03, для минимизации вредных воздействий необходимо разработать и внедрить новые технологии методики производства, которые направлены на снижение вредоносного влияния на литосферу.

Для утилизации бытового мусора предприятия используются различные методы. Один из самых распространенных - сжигание мусора в больших котлах или специальных печах, что позволяет сократить объемы мусора и снизить его влияние на окружающую среду. Однако этот метод имеет определенные недостатки: при сжигании выделяются токсичные вещества и газы, которые негативно влияют на здоровье людей и окружающую среду.

Более экологически безопасным способом утилизации мусора является его переработка. Для этого используется современное оборудование, которое

позволяет разделять мусор по составу и дальше перерабатывать его на вторичное сырье. Бумагу, стекло, металл и пластик могут быть полностью переработаны и использованы повторно, что помогает сократить объемы отходов и уменьшить негативное воздействие на окружающую среду.

Утилизация бытового мусора является важным аспектом экологической деятельности организаций, который позволяет сократить негативное воздействие на окружающую среду и сохранить природные ресурсы.

5.3.2.3 Воздействие на гидросферу

При разработке исследовательского проекта в лаборатории используется небольшое количество воды для промывки электродов, химической посуды, а также для разбавления химических реагентов. При работе с данным проектом возможны следующие нижеперечисленные риски загрязнения гидросферы:

Использование небольшого количества воды для промывки электродов, лабораторной посуды, разбавлении химических реагентов

Выпуск химических веществ и растворов при работе с химическими реактивами, который может привести к загрязнению воды

Выпуск в воду кислого раствора может привести к гибели рыб и растений

Для предотвращения этих факторов рекомендуется использовать упаковочные материалы, не содержащие токсичных и опасных соединений, утилизировать отходы в соответствии с законодательством и требованиям нормативных документов. Эти меры регламентируются в нормативных документах, и являются обязательными для выполнения в лаборатории: ФЗ «Об охране окружающей среды», ГОСТ 17.4.1.02-83, ГОСТ 17.4.3.03-85, ГОСТ 17.4.3.04-85, ГОСТ Р 14.01-2005.

5.3.2.4 Воздействие на селитебную среду

В данном исследовательском проекте вредоносные воздействия на селитебную среду оказывают:

Выпуск вредных веществ может привести к негативному воздействию на животных и птиц

Использование химических реактивов может привести к различным благоприятным условиям где размножаются насекомые и микроорганизмы.

При работе над данным проектом воздействия на селитебную среду минимизированы.

5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

5.4.1 Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований

Важнейший фактор при работе с данным исследовательским проектом – безопасность жизнедеятельности человека, важно знать и быть подготовленным к чрезвычайным ситуациям на рабочем месте. При разработке данного исследовательского проекта могут возникнуть такие чрезвычайные ситуации:

- пожар и взрывы из-за неправильного хранения взрывоопасных химических веществ;
- инциденты при работе с электрическим оборудованием: удар электрическим током, электрический разряд или взрыв;
- интоксикация и отравление из-за неправильной эксплуатации, использования и хранения химических реагентов;
- неправильная эксплуатация и подключение приборов, что может привести к короткому замыканию и возгоранию оборудования;
- выход из строя электронного оборудования, которая может быть вызвана ошибками в работе работника-лаборанта или внутренними дефектами;
- нарушение правил хранения и транспортировки опасных химических веществ, что приводит к неожиданным взрывам или отравлениям лаборанта;
- уклонение от инструкций по безопасности и правилам эксплуатации оборудования, это приводит к ЧС в химической лаборатории.

5.4.2 Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС, пожаро- и взрывобезопасность

Химические лабораторные должны соответствовать требованиям пожарной безопасности согласно ГОСТ 12.1.004-91, а также быть оборудованы средствами пожаротушения из ГОСТ 12.4.009-83.

Риск возгорания и взрывов в лаборатории зависит от свойств материалов, оборудования, источников огня и быстрого распространения огня. Лаборатория аналитической химии, расположенная во 2 корпусе ТПУ на 2 этаже кафедры ИШПР имеет все необходимые меры для предотвращения возгораний, включая эвакуационные выходы и зоны прохода между лабораторными столами.

Все лабораторные помещения снабжаются пожарными кранами и иными средствами пожарной безопасности. Пожарные краны обеспечивают лаборатории в количестве не менее одного ПК на один этаж). Также количество пожарных кранов может быть увеличено за счет труднодоступных мест в лаборатории и объема помещения. Длина пожарного рукава в пожарном шкафу должна быть не менее 20 м, согласно СП 10.13130.2020.

При возникновении пожара, все сотрудники ориентируются инструкции и плану эвакуации, который разрабатывается сотрудниками, отвечающие за пожарную безопасность организации. План располагают на видном месте в помещении. Все сотрудники лаборатории должны быть ознакомлены с правилами обращения средств пожаротушения, которые имеются в лаборатории.

Все лабораторные электрические приборы, анализаторы, необходимо устанавливать в доступных для обслуживания местах. Запрещается установка и эксплуатация неисправных нагревательных приборов.

В случае возникновения пожара, в аналитической лаборатории имеются все нижеперечисленные средства по его локализации, а именно:

- углекислотный огнетушитель, обладает высокой эффективностью при минимальном риске помех на оборудовании;
- химический огнетушитель для тушения пожаров, возникшие при взаимодействии химических веществ, обеспечивает широкий спектр действий в среде, включая большинство видов оксидов, хлоридов и бромидов;
- ящики с песком для тушения проводов на горизонтальной поверхности;
- асбестовое одеяло, используемое при тушении горячей одежды работников и электропроводов.

Во время аварийных ситуаций, связанные с патогенными ситуациями, принимают действия по ликвидации и локализации аварии. Необходимо совершить прекращение работы, сообщить о ситуации руководителю или ответственному по лаборатории. Далее проводится обеззараживание рабочего места лаборанта, где произошла авария. Вид и объем дезинфекции указывается по нормативным документам, таким, как:

- СанПиН 2.1.3.2630-10;
- Правила поведения дезинфекции и стерилизации в учреждениях.

После обработки мест аварии весь персонал надевает СИЗы, спецодежду и перчатки.

Заключение

При данном исследовании лабораторного проекта и его разработки в химической лаборатории необходимо ознакамливаться со знаниями техники безопасности. Перед началом работы проводится инструктаж лаборантов и сотрудников по технике безопасности, обсуждаются предполагаемые чрезвычайные ситуации и правильная эксплуатация оборудования. Исследование предполагает работу с химическими реагентами, поэтому все лаборанты должны уметь работать с реактивами и иметь на рабочих местах средства индивидуальной защиты. Важно учитывать возможные негативные воздействия на окружающую среду и применять меры по их минимизации. Рабочее место необходимо разработать согласно требованиям ГОСТа, СанПиНа. Отношения между

персоналом и руководителем проекта должно основываться согласно Трудовому Кодексу Российской Федерации. В данном разделе «Социальная ответственность» разработаны мероприятия по устранению и ликвидации чрезвычайно опасных ситуаций, подобраны СИЗы, разработано рабочее место лаборанта, утилизация материалов и проведен расчет светового оборудования.

Заключение

В данной работе проведено исследование на выявление активной формы водорастворимых антиоксидантов методом инверсионной вольтамперометрии.

В результате исследования разработан алгоритм методики определения количественного содержания водорастворимых антиоксидантов в пищевых продуктах, алкогольной, безалкогольной продукции. Разработан метод пробоподготовки твердых и жидких веществ.

Проведен литературный обзор по методам и условиям определения водорастворимых антиоксидантов в различных объектах. Наиболее распространенным методом определения антиоксидантной активности являлась хроматография, а также методы электрохимии (вольтамперометрия, потенциометрия, амперометрия).

Выбраны рабочие условия пробоподготовки пищевых продуктов, алкогольных и безалкогольных напитков, овощей, фруктов и продуктов их переработки при определении антиоксидантов методом инверсионной вольтамперометрии.

Разработана методика определения водорастворимых антиоксидантов методом инверсионной вольтамперометрии, а также рассчитаны основные метрологические характеристики. Так, из предложенного списка продуктов самым высокосодействующим образцом является сухое белое вино, а меньше всего содержится в образце свиного охлаждённого фарша.

Список использованных источников

1. Антиоксиданты: классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине / С.А. Шахмарданова, О.Н. Гулевская, В.В. Селецкая, А.В. Зеленская, Я.А. Хананашвили. – Текст: электронный //Первый МГМУ. – 2016. – №3. - С. 86-92. (дата обращения: 27.03.2023) – Режим доступа: Научная электронная библиотека КиберЛенинка;
2. Роль антиоксидантов в жизнедеятельности организма / В.В. Лудан, Л.В. Польская – Текст: электронный // Медицина №1. – 2013. – С. 3 - 14. (дата обращения – 27.03.2023) Режим доступа: Научная библиотека КиберЛенинка;
3. Роль антиоксидантов в лечении и профилактике заболеваний человека / С.Л. Плавинская, С.И. Плавинский // Медицина №1. – 2013. С. 41 – 54;
5. Окисление и антиоксиданты: физиологические, медицинские аспекты / Е.А. Чанчаева, Р.И. Айзман, А. Д. Герасимов – Текст: электронный // Горно-Алтайский государственный университет. – 2013. – С. 50 - 57. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennoe-predstavlenie-ob-antioksidantnoy-sisteme-organizma-cheloveka> (дата обращения – 28.03.2023) Режим доступа: Научная библиотека КиберЛенинка;
6. Роль антиоксидантов в мышечной деятельности / А. М. Гаджиев, С.А. Алиев, С.Э. Агаева – Текст: электронный // АГАФУиС. – 2014. – С. 53 - 56. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-endogennyh-i-ekzogennyh-antioksidantov-v-adaptivnoy-myshechnoy-deyatelnosti/viewer> (дата обращения – 28.03.2023) Режим доступа: Научная библиотека КиберЛенинка;
7. Система антиоксидантной защиты организма и старение / А.Л. Подколзин, А.Г. Мегреладзе, В.И. Донцов [и др.] // Научно-исследовательский центр Московского университета МЗ РФ. – 2003. – С. 15-28.;
8. Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / И. С. Чекман, И.Ф. Беленичев – Москва: МЕДпресс-информ, 2010. – С. 97-109;
9. Фенольные соединения как природные антиоксиданты / М.А. Секимаева, С.С. Ляшенко, Ф.И. Исламова, А.М. Алиев Текст – электронный // Здоровье и

образование в XXI веке. – 2021. – С. 107 - 111. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/fenolnye-soedineniya-i-antioksidantnaya-aktivnost-plodov-derezy-obyknovennoy-i-derezy-russkoj> (дата обращения – 28.03.2023) Режим доступа: Научная библиотека КиберЛенинка;

10. Качество пищевых продуктов и антиоксидантная активность Е.Н. Шарафутдинова, А.В. Иванова, А.И. Матерн, Х.З. Брайнина // Аналитика и контроль. – 2010. -№3. – С.281-286;

15. Определение антиоксидантов в продуктах растительного происхождения амперометрическим методом

16. Содержание фенольных соединений и фруктозанов у сорта якона / Гинс М.С. Гинс В.К. Кононков П.Ф. Текст – электронный //Биологические науки – 2015. – С. 628-635. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/soderzhanie-fenolnyh-soedineniy-i-fruktozanov-u-sorta-yakona-polymnia-sonchifolia-poepp-endl-ukrainskoj-introduktsii-i-drugih-vidov-a>

17. Использование физиолого-биохимических методов для выявления механизмов адаптации субтропических, южных плодовых и декоративных культур в условиях субтропиков России / Рындин А.В. Белоус О.Г. Маляровская О.И. Текст – электронный // Сельское хозяйство, лесное и рыбное хозяйство – 2016. – С. 40-48. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-fiziologo-biohimicheskikh-metodov-dlya-vyyavleniya-mehanizmov-adaptatsii-subtropicheskikh-yuzhnyh-plodovyh-i-dekorativnyh>

18. Хроматографический профиль антиоксидантов растений субтропических культур / Арасланова А.Т. Бессонова Е.А. Кравченко А.В. // XLV Всероссийская научно-практическая конференция по химии, посвященная 160-летию теории строения органических соединений Бутлерова А.М. – 2021. – С. 52-54

19. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках / Яшин А.Я. Текст – электронный // Прочие научные технологии – 2015. – С. 130-135. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/inzhektsionno-protocnaya-sistema-s>

amperometriceskim-detektorom-dlya-selektivnogo-opredeleniya-antioksidantov-v-pischevyh/viewer

20. Использование ультразвукового излучения для экстракции антиоксидантов из ягод / Еремеева Н.Б. Макарова Н.В. Текст – электронный // Промышленные биотехнологии – 2020. – С. 63-65. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-ultrazvukovogo-izlucheniya-dlya-ekstraktsii-antioksidantov-iz-yagod>

21. Изучение химического состава, антиоксидантной активности ягод, сока и выжимок винограда / Быкова Т.О. Макарова Н.В. Шевченко А.Ф. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный технический университет», г. Самара – 2021 – С. 122-124

22. Роль антиоксидантов и использование их в животноводстве / Остапчук П. С. Зубоченко Д. В. Куевда Т. А. Текст – электронный // Животноводство и молочное дело – 2019. – С. 102-117. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-antioksidantov-i-ispolzovanie-ih-v-zhivotnovodstve-i-ptitsevodstve-obzor/viewer>

23. Об использовании флавоноидов листьев персика в качестве инсектицидных препаратов / Назарова Ё.Х. Марупова М.А. Текст – электронный // Промышленные биотехнологии – 2022. – С. 101-107. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/k-voprosu-ob-ispolzovanii-flavonoidov-listiev-persika-v-kachestve-insektitsidnyh-preparatov/viewer>

24. Перспективы применения pupavki благородной (*Chamaemelum nobile* (L.) All) в фармацевтической промышленности Климович, А. А. Страх, Яна Леонидовна, Игнатовец, Ольга Степановна // Технология органических веществ : материалы 87-й научно-технической конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов, Минск, 31 января - 17 февраля 2023 г. - Минск : БГТУ, 2023. – С. 393-395.

25. Токоферолы: биологическая роль, критерии витаминной обеспеченности, физиологическая потребность организма и рекомендуемые нормы потребления / Коденцова В. М. Рисник Д. В. // Федеральный исследовательский центр питания,

биотехнологии и безопасности пищи, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. – 2022 – С. 22-31

26. Взаимодействие между витамином е и селеном: новый взгляд на старую проблему / Папазян Т.Т., Фисинин В.И., Сурай П.Ф. // Птица и птицепродукты. Кормление и содержание – 2010. – С. 21- 25

27. Реальность и вымыслы о пищевых добавках – антиокислителях / Семенова А.А. Насонова В.В. Гну Вниимп им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии // 2015. – С. 21-26

28. Общая биохимия: Витамины: практикум / Е. А. Докучаева, В. Э. Сяхович, Н. В. Богданова; под ред. С. Б. Бокутя // 2017. С – 8-13

29. Классификация системы антиоксидантной защиты как основа рациональной организации экспериментального исследования окислительного стресса у растений Прадедова Е.В. Ишеева О.Д. Саляев Р.К. / Учреждение Российской академии наук Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН, Иркутск // 2011. – С. 177-185

30. Оценка оксидативного стресса у жителей Урбанизированного Севера (на примере Ханты-Мансийского Автономного Округа) Корчина Т.Я. Корчин В.И. Лапенко И.В. / БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа - Югры Ханты-Мансийская государственная медицинская академия // 2015. – С. 83-88

31. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках / Яшин А.Я. Текст – электронный // Прочие медицинские технологии. – 2010. – С. 130-136. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/inzhektsionno-protochnaya-sistema-s-amperometriceskim-detektorom-dlya-selektivnogo-opredeleniya-antioksidantov-v-pischevyh/viewer>

32. Milardović S. A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical / S/ Milardović, D. Iveković, BS. Grabarić. – Text : electronic // Bioelectrochemistry. – 2006. – Vol. 68. – P. 175- 180. – DOI:10.1016/j.bioelechem.2005.06.005.

33. Брайнина, Х. З. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов методом потенциометрии / Х. З. Брайнина, А. В. Иванова, Е. Н. Шарафутдинова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2004. – № 4 (281). – С. 73-75

34. Брайнина, Х. З. Оценка антиоксидантной активности пищевых продуктов методом потенциометрии / Х. З. Брайнина, А. В. Иванова, Е. Н. Шарафутдинова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2004. – № 4 (281). – С. 73-75

35. Определение содержания антиоксидантов в пище А.Я. Яшин / НТЦ “Хроматография”, Москва // 2016. – С. 13-18

36. Амперометрический метод измерения антиоксидантной активности биологически активных продуктов винограда Соловьева Л.М. Асатурян Ж.М. Зайцев Г.П. Королесова В.Е. Катрич Л.И. / Национальный институт винограда и вина «Магарач» // 2010. – С. 82-84

37. Методы определения антиоксидантной активности пищевых продуктов и БАДов А.Я. Яшин, кандидат химических наук / Я.И. Яшин, Н.И. Черноусова, П.А. Федина // Терия, исследования, практика – 2016. – С. 30-36

40. Определение природных антиоксидантов в пиве Стрижаков И.И. Румянцев С.В. Яшин А.Я. Яшин Я.И. Черноусова Н.И. // Химические науки – 2006. – С. 14-22 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-prirodnih-antioksidantov-v-pive>

41. Классификация и исследование пищевых продуктов методом газожидкостной хроматографии / Каримкулов К. М. Узоков И. Э. Абдурахманова А. Д. - Прочие технологии // 2020. – С. 80-88

42. Определение антиоксидантной активности молочно-растительного экстракта методом жидкостной хроматографии / Рудниченко Е. С. Коренман Я. И // Химические технологии. – 2012. – С.8-14 URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/opredelenie-antioksidantnoy-aktivnosti-molochno-rastitelnogo-ekstrakta-metodom-zhidkostnoy-hromatografii>

43. Определение биологически активных фенолов и полифенолов в различных объектах методами хроматографии / М.В. Кочеткова, Е.Н. Семенистая // Москва, РАН им. Фрумкина – 2007. – с. 76-89

44. Изучение состава и антиоксидантной активности растительных экстрактов методом ВЭЖХ с УФ- и амперометрическим детектированием Е. Н. Семенистая, О. Г. Ларионов / Институт физической химии и электрохимии РАН им. А.Н. Фрумкина, Москва, Россия / 2008. – С 43-49

45. Кинетика и механизм действия фуллерена с-60, 5-амино-6- метилурацила и урацила как представителей слабых антиоксидантов / Шарипова Г.З., Москва, 2019

46. Люминесцентные кластеры благородных металлов, стабилизированные белковыми матрицами: фотофизические и структурные свойства, практические применения / Сыч Т.С., Санкт-Петербург, 2022

47. US Patent No. 10,206,157 B2 / <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/patent/US-9539210-B2>

48. US20130129988A1 "Method for Determining Antioxidant Capacity of Foods Using a Solid or Liquid State Photoluminescent Sensor"

49. US20110039331A1 "Antioxidant assay using electrochemical detection method"

50. US9612930B2 "Electrochemical method for measuring antioxidative capacity and apparatus for measuring the same"

51. US20080220455A1 "Antioxidant quantitation"

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

54. Определение антиоксидантной активности экстрактов растительного сырья методом катодной вольтамперометрии Короткова Е.И. Аврамчик О.А. Юсубов М.С. / Химико-фармацевтический журнал №9 НИ ТПУ, 2003.- С. 55-56

55. Оценка антиоксидантной активности тетраакис(пара-аминофенил)порфина по отношению к супероксид анион-радикалу методом вольтамперометрии / Кузьмин С.М. Чуловская С.А. Парфенюк В.И // URL:

<https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-antioksidantnoy-aktivnosti-tetrakis-para-aminofenil-porfina-po-otnosheniyu-k-superoksid-anion-radikalu-metodom>

56. СТА (ООО «ИТМ», г. Томск) по ТУ 4215-001-20694097-2012 регистрационный номер записи в Федеральном инф. фонде № 17933-16

57. ГОСТ Р 53228-2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

58. ФС 42-1290-79 Кверцетин

59. ГОСТ Р 58144-2018 Вода дистиллированная. Технические условия

60. ГОСТ 9-92 Аммиак водный технический. Технические условия

61. ГОСТ 4204-77 (СТ СЭВ 3856-82) Реактивы. Кислота серная. Технические условия

62. ГОСТ 701-89 Кислота азотная концентрированная. Технические условия

63. ГОСТ 8.135-2004 Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Стандарт-титры для приготовления буферных растворов - рабочих эталонов рН 2-го и 3-го разрядов. Технические и метрологические характеристики. Методы их определения

64. ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

65. ТУ 21-23-238-88 Стаканчики из кварцевого стекла вместимостью 20 – 25 см³

Приложение А

«Development and metrological certification of a methodology for determining water-soluble antioxidants by voltammetric method»

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2ДМ13	Курапова Софья Александровна		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Профессор	Слепченко Г.Б.	д.х.н.		

Консультант-лингвист отделения иностранных языков ШБИП

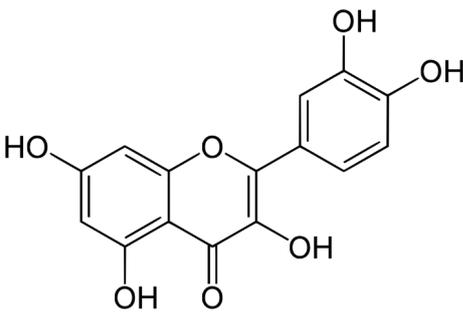
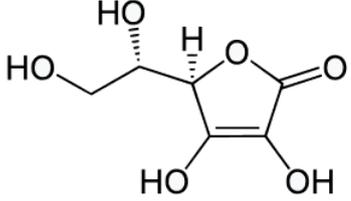
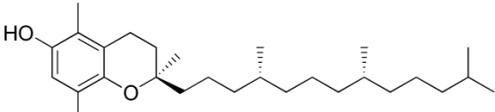
Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Сыскина Анна Александровна	к.ф.н.		

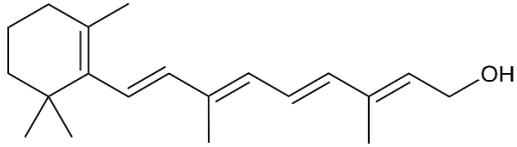
1.1 Ways of obtaining antioxidants and their characteristics. Natural and artificial antioxidants.

Antioxidants are substances that protect the body from harmful effects of free radicals. There are several ways of obtaining antioxidants, both through natural means and by synthesis in laboratory conditions.

Some of the most common and well-known natural antioxidants include vitamin A, vitamin C, vitamin E, and some isoflavones such as quercetin and rutin. Other natural antioxidants include polyphenols, beta-carotene, and selenium.

Table 37 - Characteristics of some non-enzymatic antioxidants

Name of the substance	Structural formula	Where the substance is contained
<p>Quercetin</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Quercetin, a flavonoid. It consists of a central chromone ring system with two hydroxyl groups at the 3 and 7 positions, and a penta-hydroxyphenyl group at the 4 position.</p>	<p>Found in plants (mostly of red or burgundy color): in lovage, capers, buckwheat groats, onions (especially red ones; in larger quantities - in the outer layers), apples, peppers, garlic, golden whiskers, red grapes, tea, citrus fruits, dark cherries, cranberries, tomatoes, broccoli, raspberries, blueberries, lingonberries, chokeberries, rowanberries, sea buckthorn, prickly pear fruits, some types of honey (eucalyptus, tea tree), nuts, colored and head cabbage, red wine, olive oil, acorns - in the form of water-soluble rutin.</p>
<p>Vitamin C</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Vitamin C (ascorbic acid). It features a five-membered lactone ring with two hydroxyl groups at the 2 and 3 positions, and a dihydroxyethyl side chain at the 4 position.</p>	<p>Citrus fruits, strawberries, tomatoes, cabbage, and leafy vegetables are sources of vitamin C.</p>
<p>Vitamin E</p>	 <p>The image shows the chemical structure of Vitamin E (tocopherol). It consists of a chromanol ring with a hydroxyl group at the 6 position and a long phytyl side chain at the 2 position.</p>	<p>It is found in large quantities in vegetable oils and wheat germ, as well as in meat, fish, fruits, and vegetables. The recommended daily intake (RDA) of vitamin E is 30 IU (30 mg/day).</p>

<p>Vitamin A</p>		<p>Vitamin A is present in both animal and plant products, with especially high levels found in the liver of marine fish and mammals. Genetically modified golden rice, which contains high levels of beta-carotene in its grains, is a potential solution for addressing vitamin A deficiency. However, currently no variety of golden rice is available for consumption.</p>
-------------------------	---	--

One of the most well-known ways of obtaining natural antioxidants is by consuming foods that are rich in antioxidants. These include fruits and vegetables such as blackcurrants, oranges, strawberries, carrots, spinach, and cabbage. Special supplements with high levels of antioxidants are also available.

In addition, antioxidants can be obtained through the extraction and purification of natural resources such as herbs, fruits, and vegetables. This is a natural process that involves the use of special solvents and the processing of the resulting product with filtration and precipitation.

The characteristics of antioxidants include their ability to absorb free radicals, which makes them important for fighting many diseases. They also help reduce inflammation in the body and improve the condition of the skin and hair. Overall, natural antioxidants are extremely important for maintaining health and aging processes. They can be obtained through food or special supplements and can help individuals looking to maintain their health. It is important to note the importance of having antioxidants in one's diet, as research shows that a diet high in antioxidants can reduce the risk of diseases such as diabetes, atherosclerosis, hypertension, heart disease, and cancer.

Natural antioxidants are preferred for use because they offer a number of additional benefits. They are safe, non-toxic, and have a lower likelihood of causing side effects compared to most synthetic antioxidants. Additionally, natural antioxidants

are often found in nutrient-rich foods that have other health benefits. Therefore, consuming antioxidant-rich foods can not only help fight harmful free radicals but also improve skin, hair, nails, and overall health.

It should be noted that while antioxidants can have a beneficial effect on health, their consumption and dosage should be re-evaluated as they can interact with some medications and have other side effects. Obtaining antioxidants through a natural path, such as regularly consuming foods rich in these substances, is an effective way to maintain health, reduce the risk of serious diseases, and improve quality of life.

Artificial antioxidants are substances produced by chemical reactions in laboratory conditions to protect against the effects of free radicals. They are used in food additives and other products that require long-term stability.

One of the most common synthetic antioxidants is butylated α -hydroxyl toluene (BHT). It is used in food products and cosmetics to protect fatty acids, vitamins, and other nutrients from oxidation.

Another popular synthetic antioxidant is butylated hydroxyanisole (BHA). It is used as an antioxidant in a variety of products, such as cheese, oil, preserves, and snacks. Additionally, another way of obtaining artificial antioxidants is through the synthesis process using chemical reactions. Examples include propyl gallate, octyl gallate, and ethyl gallate, which are widely used in the food and pharmaceutical industries.

However, the use of artificial antioxidants raises concerns among consumers and researchers. They can have negative side effects and high toxicity. Most artificial antioxidants have limitations on consumption levels and can pose a danger to health in large doses. Additionally, artificial antioxidants can reduce the amount of natural antioxidants in the body, leading to an imbalance and a decrease in the overall protective properties of the body.

Therefore, a more preferable and safer way to obtain antioxidants is through their consumption via natural products rich in these substances. They contain a multitude of nutrients, including vitamins C and E, selenium, carotenoids, and flavonoids, which enhance the activity of antioxidants in the body.

1.2 Antioxidant activity of some researched groups

Quercetin is a natural biochemical substance belonging to the flavonoid group. Its name comes from the Latin name for oak. Quercetin is classified as a vitamin supplement in the P group.

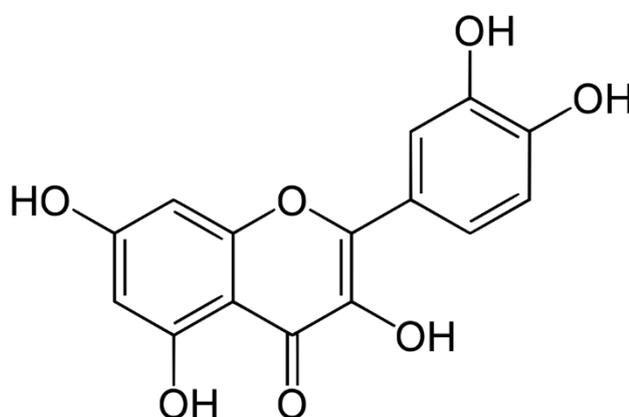


Figure 1 - The structural formula of quercetin.

It is known that most of its glycosides have a powerful antioxidant effect. Quercetin helps reduce the risk of developing chronic vascular diseases and normalize their permeability. Adding quercetin to arterial hypertension helps lower blood pressure. It is found in plants (mainly of red, crimson color), such as lovage, capers, buckwheat, onions (especially red; in larger quantities - in the outer shells), apples, peppers, garlic, Siberian ginseng, red grapes, tea, citrus fruits, dark cherries, cranberries, tomatoes, broccoli, raspberries, blueberries, lingonberries, chokeberries, rowanberry, sea buckthorn, prickly pear fruits, some varieties of honey (eucalyptus, tea tree), nuts, colored and cabbage cauliflowers, red wine, olive oil, acorns, and in the form of water-soluble rutin.

At the end of the 20th century, when vitamin E was positioned in the media as a powerful antioxidant that reduces the risk of various diseases, many residents of Western countries began taking supplements with high levels of tocopherols. Subsequent studies have shown that regular intake of such supplements is associated with increased mortality. According to a 2004 review of twenty studies on the use of vitamins A, C, E, and beta-carotene involving 211,818 patients, vitamins increase mortality, as well as the 2005 meta-analysis on supplements with vitamin E. In a systematic review conducted in 2012, which summarized the data from antioxidant vitamin studies in 215,900 patients, a conclusion was made about the danger of supplements with vitamin E, beta-carotene and high doses of vitamin A. In 2012, Japanese researchers stated that excess vitamin E leads to osteoporosis. The positive effect of vitamin E supplements has only been proven in relation to a lack of tocopherol.

Vitamin C restores the active form of vitamin E, promotes the excretion of cholesterol, improves vasodilation, and inhibits monocyte aggregation.

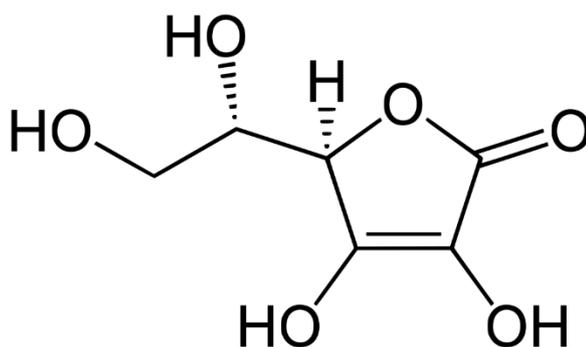


Figure 2 - Structural formula of vitamin C.

Ascorbic acid and its salts (sodium ascorbate, calcium ascorbate, and potassium ascorbate) are used in the food industry as food additives E 300-E 305 as antioxidants and color stabilizers to increase the shelf life of products, slow down the enzymatic oxidation of beverages, prevent changes in the color of fruits, vegetables, and their processed products during freezing, canning, and packaging, and to preserve the vitamins they contain. Ascorbic acid itself is also used as an acidifier (acidity regulator). D-isoascorbic (erythorbic) acid is used as a preservative (food additive E315).

Vitamin A, or more precisely its precursor β -carotene, exhibits antioxidant properties both in serum and as part of LDL. It inhibits macrophage uptake of oxidized LDL, but does not prevent their initial oxidation. Vitamin A is found in large amounts in fruits, yellow and orange vegetables (carrots, pumpkin, potatoes) and dark green vegetables (spinach and broccoli). The RDA of vitamin A has not been determined.

Vitamin A performs multiple biochemically important functions in the human and animal body. Retinal is a component of rhodopsin—the main visual pigment. In the form of retinoic acid, vitamin A stimulates growth and development. Retinol is a structural component of cell membranes and provides antioxidant protection to the body.

Due to the presence of two conjugated double bonds in the retinol molecule, it can interact with free radicals, including oxygen free radicals. This important characteristic of the vitamin makes it an effective antioxidant. Retinol also significantly enhances the antioxidant action of vitamin E. Together with tocopherol and vitamin C, it activates the inclusion of selenium in glutathione peroxidase. Vitamin A can maintain SH groups in the reduced state (it also has an antioxidant function). However, vitamin A can also act as a pro-oxidant, as it readily oxidizes to highly toxic peroxide products in the air. Vitamin E prevents the oxidation of retinol.

Although the use of vitamin E, C, and A preparations has not been associated with any pronounced toxic effects, it should be noted that in one study, an increased risk of lung cancer was observed in smoking patients receiving vitamin A supplements. Vitamins E, C, and A are the main vitamins that possess antioxidant properties. The role of other vitamins (K, B group, omega-3, and omega-6 fatty acids) is also important but not determinative.

2 Methods for determining antioxidants

The determination of water-soluble antioxidants can be carried out using various methods, including amperometric, HPLC, CE-UV, and photoluminescence methods. However, the most commonly used methods for determining antioxidants are chromatographic and voltammetric methods.

2.1 Chromatographic methods

Chromatographic methods high-performance liquid chromatography (HPLC) is an analytical technique used to measure various molecules in biological samples. In this method, substances are separated and eluted in order of decreasing solubility, which allows individual antioxidants to be identified. This method can measure both quantitative and qualitative indicators of antioxidants in human biological samples.

Different chromatography methods are widely used for the identification and determination of lignans and their derivatives. Thin-layer chromatography is used for qualitative analysis as well as for isolating lignans in small quantities.

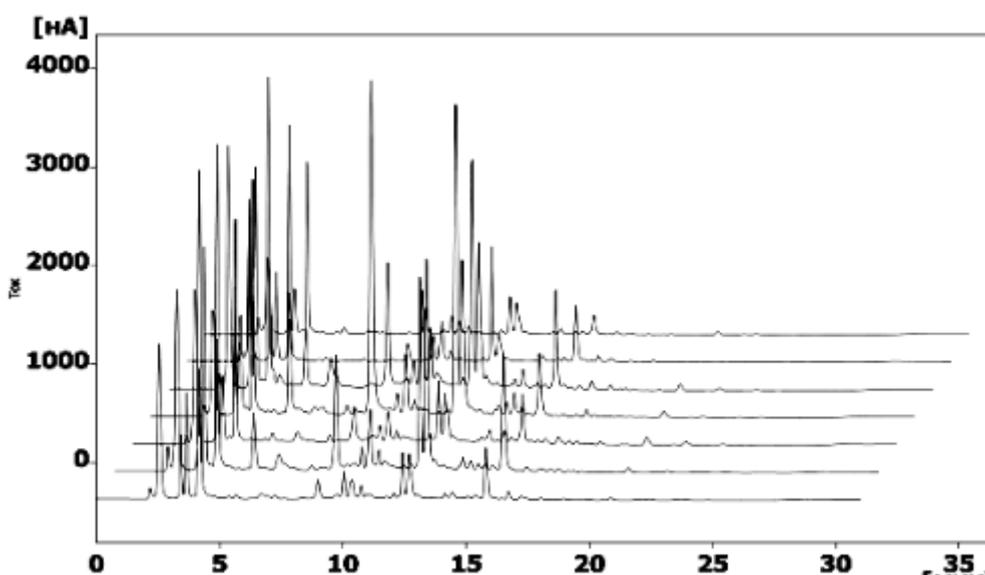


Figure 3 - Chromatogram of the determination of antioxidants in black tea from Sri Lanka

Chromatographic methods have been used to determine the antioxidant content of many food products, and national databases have been established in the Netherlands, the United States, Canada, Finland, Spain, Japan, and the UK. Antioxidant content has been found in grains, cereals, nuts, legumes, wine, tea and coffee, and berries. Based on

these results, other databases related to the antioxidant content of food products have been created. The highest amount of antioxidants has been found in flax and sesame seeds.

Table 1 shows the parameters for determining antioxidants using HPLC chromatographic methods.

Table 38 - Determination by chromatographic methods

Method	The object of the study	Specifications
HPLC	Hops, canned and cask beer	Determination of the content of polyphenols Glass-carbon electrode Working solution - quercetin
Gas-liquid chromatography	Chicken meat	Analysis of a number of harmful synthetic additives
Liquid chromatography	Dairy products	Filling the column with activated carbon Extraction of a sample on a vibrating mixer Two-stage extract purification Glass-carbon electrode
HPLC	Red clover	Extractant – ethanol, methanol Mobile phase H ₂ O/ AsON-MeON UV-MS detection
HPLC, UV detection	Non-alcoholic drinks	Holding time -8.5 min Maximum absorption spectra – 208, 256, 354 nm IU – 690.1

2.2 The photoluminescence method

The photoluminescence method of determination is a method based on the ability of antioxidants to inhibit the oxidation of amino acids, leading to a decrease in the intensity of photoluminescence caused by light of a specific wavelength in an oxygen-suppressing concentration.

The mechanism of action of this method is that antioxidants can slow down the oxidation reaction of amino acids, thereby preventing or reducing the damage to the structure of proteins involved in the metabolism of body cells. In addition, most antioxidants are capable of scavenging free radicals formed during oxidation and thus prevent their further action on biological molecules and structures.

In carrying out the photoluminescence method, an amino acid is added to the solution of the product containing antioxidants, which plays the role of the oxidizing agent. Photoluminescence is recorded at different time intervals using light of a specific wavelength, and the photoluminescence intensity is then measured.

Based on the measurement results, the photoluminescence intensity is determined to identify the degree of inhibition of amino acid oxidation in the product based on its antioxidant activity. It should be noted that the photoluminescence method can provide more accurate and sensitive results for the determination of antioxidant activity in products than other methods but requires special equipment and can be expensive to use.

The method for determining the antioxidant activity in food products based on the photoluminescence method is used for more accurate and sensitive measurement of the product's antioxidant activity based on its ability to inhibit the oxidation of amino acids.

The methodology includes the following stages:

- Preparation of a product solution containing antioxidants;
- Addition of the solution to an amino acid solution, which plays the role of an oxidizing substance;
- Registration of the photoluminescence of the solution at various time intervals using light of a specific wavelength;
- Measurement of the intensity of photoluminescence.

A decrease in the intensity of photoluminescence upon exposure to light indicates that the amino acid has been oxidized. The antioxidant activity of the product is determined depending on how many oxidizing molecules were inhibited by the product.

Among the advantages of this method are its high sensitivity and accuracy of measurement, as well as the ability to track changes in the antioxidant activity of the product under various conditions. However, this method may be somewhat complex to apply, requiring special equipment, and may be costly for use in industrial conditions, and therefore may not be suitable for determining the antioxidant activity of the product in mass production processes. In addition, this method may be sensitive to the duration of light exposure and ambient temperatures, so its results should be interpreted within the framework of certain experimental conditions.

2.3 Coulometric determination

Coulometric determination is a method based on measuring the change in potential on an electrode coated with an antioxidant, when interacting with an oxidizer. The measurement is linearly dependent on the concentration of the antioxidant in the solution, allowing the determination of the amount of antioxidant in the product.

The method of coulometric determination of antioxidants in food products is described, based on electrochemical detection. According to the method, an electrode system is created, containing a coulometric probe (electrode) coated with an antioxidant. The potential is applied to the electrode and the electric current that arises when the antioxidant reacts with free radicals in the product is measured. The obtained data are used to determine the antioxidant activity of the product.

The polarography method is based on measuring changes in the current density of an electrode in a solution due to the interaction of antioxidants with oxidizers. In this method, various electrodes are used, such as mercury or glass, which are immersed in the solution of the product and connected to a recording device. The process occurs as

follows: initially, the ions of the oxidizer's internal complex, which have dissociated in the solution, undergo a redox reaction, transferring an electron from the molecule of the antioxidant to the oxidizer ion, which in turn is reduced. As a result, a current is registered on the electrode, and the amount of antioxidant in the product can be determined depending on the magnitude of this current.

The electrochemical method of determining the antioxidant activity of flavonoids is based on measuring the half-wave potential of oxidation on an electrode placed on a column with a flow mode. The electrochemical activity of the compounds being studied is correlated with their ability to prevent lipid peroxidation.

2.4 Amperometric method

The amperometric method is based on measuring the electric current generated during the oxidation of the substance being investigated (or mixture of substances) on the surface of an electrode held at a specific potential. The sensitivity of the amperometric method depends on the nature of the working electrode material and the potential applied to it. Materials such as glassy carbon, gold, platinum, silver, copper, nickel, palladium, and others are used as working electrode materials. The potential can be set between 0 and 2.5 V.

The amperometric method of analysis has several advantages, including a low detection limit, high selectivity (only compounds whose molecules can be oxidized are detected; other compounds even at high concentrations are not detected), small cell volume (0.1-5 μ l), and ease of use and maintenance.

In the conditions of amperometric detection, compounds containing hydroxyl groups are well oxidized, and their detection limit is in the range of 10^{-9} - 10^{-12} g. In favorable conditions, some compounds can be detected at the femtogram level (10^{-15} g).

Table 39 - shows the parameters for the quantitative determination of antioxidants using the amperometric method.

The object of the study	Metrological characteristics
Samples of tea, wine	Glass-carbon electrode Ethanol solution (ph=40%) Phosphate buffer pH=7.4 The detection limit is 0.005 microns Correlation limit 0.93
Ascorbic acid, glutathione, wines, berries, oranges	Detection limit 0.03-0.08 for black currants, cabbage, oranges Repeatability – 2%
Strawberries, tea, juice, beetroot, radish,	Detection potential 0...2.5 V The value of the currents is 10-6...10-9 A Standard – quercetin
Grapes and wine products	Reproducibility 8,6% Trolox –C standard Determination of mass concentration mg/dm ³
Freeze-dried powders and fruit extracts	COE less than 5% Small detection currents The average value of the results of 3-5 experiments

2.5 Voltammetric method

Voltammetry is an electrochemical method that involves measuring the current dependence on the potential on the surface of an electrode. To initiate the reduction or oxidation of electroactive chemical compounds on the electrode, the potential is systematically changed. The resulting current is proportional to the concentration of electrochemical compounds.

The table presents the parameters for determining antioxidants using voltammetry methods.

Table 40 - Methods for determining antioxidants by voltammetry

The object of the study	Specifications
Vegetable raw materials	Mathematical model Percolation using ethanol solutions Obtaining an extract from raw materials Electrodes: RPE,HSE FBI: 0.1 M NaClO ₄
Vegetable products	Calomel electrode (CKE) Auxiliary electrode – platinum wire Luggin 's Capillary Surface sanding before each application

Determining antioxidant activity has an unlimited range of definitions and there is no specific existing singular method for assessing antioxidants. All experiment results cannot be compared with each other since different methods of evaluating the model system are used, they have different regularities and an individual approach to measurements. When developing a determination method, it is important to achieve the goal of selecting the correct analysis method or modifying existing methods.

3 Determining antioxidant activity in food products

Before performing the work, the following stages are carried out: preparing the vessels, preparing the equipment, preparing the electrodes (mercury and comparison electrodes), preparing the corresponding substances for testing.

3.1 Preparation of laboratory utensils

New laboratory vessels, interchangeable tips, and dispensers are used for analyzing antioxidant activity. The vessels (cups, flasks) must be washed with a solution of baking soda and distilled water several times. (For an improved experiment, the vessels are additionally washed with a solution of 0.1 mol/dm³ nitric acid and then distilled water).

3.2 Preparation of buffer solution

To determine the antioxidant activity, the corresponding background solution of phosphate buffer (pH = 6.86) is prepared. To do this, the fixanal (0.025M Na₂HPO₄ and 0.025M KH₂PO₄) is dissolved in a small amount of distilled water in a flask of 1000ml until fully dissolved, then the volume is brought up to the mark with water.

4 Electrode preparation

Electrode preparation is carried out in several stages.

4.1 Preparation of comparison electrodes

These are silver chloride electrodes (SCE), which are a spiral of silver wire coated with silver chloride and a housing with a semipermeable stopper. The end of the silver wire on the cap has a current-conducting contact for connection to the device. To prepare the electrodes, unscrew the cap and remove the silver wire from the housing. The housing is filled with a pre-prepared saturated solution of potassium chloride (1M) using a syringe without forming bubbles. After filling, screw the wire back into the housing, visually inspecting the spiral and the walls of the housing for the presence of bubbles (which must be prevented). Before starting the study, the electrodes are kept in a solution of potassium chloride for 12 to 24 hours to establish the equilibrium value of the electrode potential. During long-term storage of filled electrodes, the lower part of the membrane is stored in a saturated solution of potassium chloride (1M). The electrodes are refilled no less than once a month. Before starting work, the electrodes are washed with distilled water and wiped with a filter.

4.2 Preparation of mercury-film electrodes (MFE)

MFEs consist of a polymer rod with a silver wire pressed into the end of the casing. To prepare the electrode for use, the casing and tip are washed with distilled water and wiped with filter paper. The mercury is applied mechanically: the dry matte tip of the electrode is dipped into metallic mercury for 3-5 seconds, then removed and rubbed with filter paper to evenly distribute the mercury over the entire surface of the tip, until a glossy shine is obtained. Excess mercury is removed with wet filter paper.

After the film is applied, the electrodes are washed with distilled water, wiped with filter paper, and used for experiments. Safety precautions should be taken when applying mercury film to MFEs, and work should be carried out in a fume hood. MFEs should be stored in a vial of distilled water for extended periods.

4.3 Preparation of a solid sample

To prepare a solid sample, 1 gram of the sample (0.5 gram for dry, powdery substances) is ground with a glass rod in a vial.

The resulting mass is mixed with a 1:1 aqueous solution of ammonia and stirred with a glass rod. The mixture is transferred to a test tube with a tight-fitting lid and placed in an ultrasonic bath at 40°C for 15 minutes. The solution is then centrifuged at 3000 rpm for 5 minutes, and the top isopropanol layer is collected in a vial. Bidistilled water is added, and the mixture is acidified with sulfuric acid to a pH of 2-3. The solution is mixed in an ultrasonic bath and centrifuged as before.

The top layer of the centrifugate is collected, dissolved in a solvent (distilled water, alcohol, or aqueous-alcohol solutions), and used to determine antioxidant activity by voltammetric methods. An aliquot of 0.3-0.5 mL is taken from the solution for analysis.

4.4 Preparation of a soluble sample

To prepare a soluble sample, 1 gram of the sample is dissolved in 10 mL of solvent (distilled water, alcohol, or aqueous-alcohol solutions). If the required mass is small, a series of dilutions should be prepared. An aliquot of 0.3-0.5 mL is taken from the solution for analysis.

4.5 Preparation of a liquid sample

To prepare a liquid sample, 1 mL of the sample is measured and dissolved in 10 mL of solvent (distilled water, alcohol, or aqueous-alcohol solutions). If the required volume is small, a series of dilutions should be prepared. An aliquot of 0.3-0.5 mL is taken from the solution for analysis.