

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПИЩЕВЫХ  
СИСТЕМ ИМ. В.М. ГОРБАТОВА» РАН**

На правах рукописи

**КУПАЕВА НАДЕЖДА ВЛАДИМИРОВНА**

**«НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ  
АНТИОКСИДАНТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ  
МЯСНОГО ПАШТЕТА»**

Специальности:

4.3.5 - Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

4.3.3 – Пищевые системы

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Научный руководитель:  
кандидат технических наук,  
Котенкова Елена Александровна

Москва – 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	4
<b>ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	8
<b>1.1 Экзогенные антиоксиданты: термины, классификация, роль в организме</b> .....	8
<b>1.2 Вторичное растительное сырье как источник антиоксидантов и возможности их использования в пищевой промышленности</b> .....	23
<b>1.3 Методы определения антиоксидантных свойств растительного сырья и продуктов с их содержанием</b> .....	37
<b>1.4 Заключение по обзору литературы</b> .....	45
<b>ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	48
<b>2.1 Объекты исследования</b> .....	48
<b>2.2 Организация эксперимента</b> .....	49
<b>2.3 Методы исследований</b> .....	52
2.3.1 Методы оценки антиоксидантного потенциала .....	52
2.3.2 Стандартные методы исследований .....	58
2.3.3 Дизайн исследования экстракта шелухи желтого лука репчатого и мясных паштетов <i>in vivo</i> .....	64
<b>ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	72
<b>3.1 Результаты определения антиоксидантного потенциала шелухи репчатого лука</b> .....	72
<b>3.2 Результаты изучения показателей качества и безопасности, сохранности антиоксидантных свойств экстракта шелухи желтого репчатого лука</b> .....	82
<b>3.3 Научное обоснование применения экстракта шелухи желтого репчатого лука в производстве мясного паштета антиоксидантного действия</b> .....	89
3.3.1 Исследование сохранности антиоксидантных свойств экстракта шелухи желтого репчатого лука в мясной матрице.....	90
3.3.2 Технология производства мясного паштета антиоксидантного действия и результаты определения характеристик готового продукта.....	101
3.3.3 Результаты определения показателей безопасности и установление сроков годности мясного паштета.....	113
3.3.4 Оценка экономической эффективности разработанного мясного паштета антиоксидантного действия .....	120
<b>3.4 Результаты изучения экстракта шелухи лука и мясных паштетов <i>in vivo</i></b> .....	123
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	143
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ</b> .....	145
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	148
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	173
<b>Приложение 1</b> .....	173
<b>Приложение 2</b> .....	174
<b>Приложение 3</b> .....	175

<b>Приложение 4</b> .....	178
<b>Приложение 5</b> .....	181
<b>Приложение 6</b> .....	184
<b>Приложение 7</b> .....	185

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Согласно международным базам данных количество исследований по запросу «plant antioxidants» стремительно растет с начала века. Такая тенденция в первую очередь обусловлена различными свойствами антиоксидантов (АО), в частности, нормализацией функционирования антиоксидантной системы (АОС) организма посредством снижения окислительного стресса и его последствий, а также продлением сроков годности продуктов питания за счет ингибирования окислительных процессов липидов и белков. Доказано, что свободно-радикальные реакции способствуют развитию неинфекционных заболеваний, к которым относятся сахарный диабет, сердечно-сосудистые, нейродегенеративные и другие. Кроме того, образ жизни современного человека, такие экзогенные факторы, как окружающая среда, питание, стресс, а также наследственные генные мутации приводят к дисбалансу между антиоксидантами и свободными радикалами, что, в свою очередь, способствует развитию окислительного стресса. Известно, что антиоксиданты обладают различными биологическими свойствами, включая противодиабетические, противовоспалительные, противоопухолевые, антимикробные и другие. Востребованность растительных АО обусловлена увеличением потребительского спроса на «натуральные» продукты и товары «без консервантов». Особый интерес представляют природные антиоксиданты, в том числе полученные из вторичного сырья, не подвергающегося переработке.

Ежегодно в мире образуется около 30% сельскохозяйственных отходов, которые являются потенциальным сырьем для производства продуктов с добавленной стоимостью. Лук репчатый (*Allium cepa L.*) в настоящий момент занимает 2-е место по выращиванию в мире, а в ходе его переработки ежегодно образуется более 500 000 тонн отходов. В связи с этим, извлечение АО из шелухи лука, изучение их свойств и применение в разработке продуктов питания является актуальной задачей и соответствует стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года.

**Степень разработанности темы.** Научными и прикладными исследованиями в области изучения роли растительных антиоксидантов и изучении их эффектов в разработке продуктов питания занимались такие ученые, как А.Б. Лисицын, И.М. Чернуха, В.К. Мазо, Г.А. Донская, А.А. Кочеткова, А.С. Дыдыкин, Е.Б. Бурлакова, С.В. Золотокопова, Г.И. Косьянов, Rita Celano, Cha Yong-Jun, Kumar Manoj E. Vijaya и другие.

Отдельные этапы работы выполнены в рамках темы исследования № FNEN 2019-0008 государственного задания ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН.

**Целью настоящей работы** является научное обоснование практического применения антиоксидантов вторичного сырья переработки лука репчатого в производстве мясного паштета на основе комплексного изучения его антиоксидантного потенциала.

В рамках поставленной цели решались следующие основные задачи:

1. На основе аналитических данных изучить перспективность использования вторичного растительного сырья в качестве источника антиоксидантов при производстве продуктов питания.

2. Апробировать и систематизировать методы определения антиоксидантного потенциала растительного сырья и продуктов с их внесением. Обосновать и сформировать дизайн для изучения их влияния на организм биообъектов.

3. Обосновать выбор шелухи желтого репчатого лука на основании выбранных методов и изучить сохранность антиоксидантных свойств, показатели качества и безопасности экстракта на его основе. Разработать техническую документацию на производство экстракта.

4. Научно обосновать применение экстракта шелухи жёлтого репчатого лука в производстве мясного паштета. Разработать техническую документацию на производство мясного паштета антиоксидантного действия.

5. Оценить влияние экстракта шелухи жёлтого репчатого лука и мясных паштетов с и без его внесения на организм биообъектов.

#### **Научная новизна исследования.**

Научно обоснованы этапы определения антиоксидантного потенциала растительного сырья с учетом различных механизмов действия антиоксидантов со свободными радикалами.

Впервые комплексно изучены антиоксидантные свойства шелухи красного, желтого и белого репчатого лука, установлено соотношение типов АО по силе их действия и продемонстрирована клеточная антиоксидантная активность. Изучены динамика изменения общей антиоксидантной емкости экстракта шелухи желтого репчатого лука при хранении и внесении его в мясную матрицу.

Показано комплексное влияние экстракта шелухи желтого лука и паштета с его внесением на организм биообъектов. Установлены взаимосвязи изменчивости функциональных показателей организма лабораторных животных.

#### **Теоретическая и практическая значимость.**

Теоретическая значимость работы заключается в обосновании роли соотношения типов антиоксидантов по силе их действия, антиоксидантной активности при изучении антиоксидантного потенциала растительного сырья. Общая антиоксидантная емкость является величиной динамической и взаимовосполняемой за счёт разных механизмов действия антиоксидантов, входящих в состав исследуемого образца.

Практическая значимость работы заключается в подтверждении эффективности использования шелухи желтого лука репчатого в качестве источника антиоксидантов для придания пищевой продукции антиоксидантных свойств. По результатам исследований разработана техническая документация: ТИ, ТУ 10.89.15-000-00419779 по производству

экстракта шелухи лука репчатого желтого и ТИ и ТУ 10.13.14-151-00419779 по производству мясного паштета антиоксидантного действия.

#### **Методология и методы исследований.**

В работе были использованы современные методы определения общей антиоксидантной емкости, клеточной антиоксидантной активности, хемиллюминесценции и хромато-масс-спектрометрии. Электрофоретическое разделение, определение химического, аминокислотного и жирнокислотного составов, органолептические исследования, микробиологические и физико-химические методы использовали для разработки мясного паштета антиоксидантного действия и изучения влияния экстракта на его характеристики. Для оценки воздействия экстракта и паштетов с и без его внесения на организм биообъектов применяли биохимические, гематологические, цитометрические методы, комплекс показателей АОС, включающий ОАЕ, уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) и активности супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT) и глутатионпероксидазы (GPx).

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

- Результаты комплексного определения антиоксидантного потенциала шелухи красного, желтого и белого лука.
- Экспериментальные данные, подтверждающие сохранность антиоксидантных свойств экстракта шелухи лука при хранении и внесении его в мясную матрицу.
- Технология получения экстракта шелухи желтого репчатого лука и мясного паштета с его внесением.
- Результаты определения основных характеристик и сроков годности мясного паштета с экстрактов шелухи лука желтого.
- Результаты определения воздействия экстракта шелухи лука желтого и паштетов с и без его внесения на организм биообъектов.

**Личный вклад автора** заключается в сборе и анализе литературных данных, планировании и выполнении экспериментов, обобщении результатов и представлении их в виде докладов и научных публикаций в стране и за рубежом.

**Степень достоверности полученных результатов** подтверждается использованием современных методов статистической обработки полученных экспериментальных результатов, актами выработки мясного паштета в «Отделе научно-прикладных и технологических разработок» и в опытно-промышленных условиях.

#### **Апробация результатов.**

Результаты исследования были доложены диссертантом и обсуждены на: 60th International Meat Industry Conference (Kopaonik, Serbia, 2019); XIV Международной научно-

технической конференции «Техника и технология пищевых производств» (Могилев, Беларусь, 2022); I Международном саммите молодых ученых по направлениям AgroTech и FoodDesign (Сочи, Россия, 2022); Пятой школе молодых ученых «Основы здорового питания и пути профилактики алиментарно-зависимых заболеваний» с международным участием (Москва, Россия, 2022); Научно-практической конференции с международным участием «Умное питание» (Москва, Россия, 2023); V Международной научно-практической молодежной конференции, посвященной памяти Р.Д. Поландовой «Пищевые технологии будущего: инновационные идеи, научный поиск, креативные решения» (Москва, Россия, 2023); II Международном саммите молодых ученых по направлению AgroTech и FoodDesing (Сочи, Россия, 2023).

#### **Публикации материалов исследований.**

По теме диссертации опубликовано 25 печатных работ, из них 6 публикаций в изданиях, индексируемых международными базами данных WOS и Scopus, в том числе 3 в Q1, 10 публикаций в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 9 – в сборниках научных трудов, материалов конференций.

#### **Структура и объем диссертации.**

Диссертационная работа изложена на 185 страницах машинного текста и включает введение, 3 главы, заключение, список литературы и приложения. Диссертация содержит 56 таблиц, 29 рисунков и 7 приложений. Список литературы включает 309 источников, из которых 217 – иностранных.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Экзогенные антиоксиданты: термины, классификация, роль в организме

Антиоксидантами называют вещества, которые способны препятствовать реакциям свободно-радикального окисления (СРО) других молекул. Более широкое определение АО было предложено Halliwell и Gutteridge, как любого вещества, которое, присутствуя в низкой концентрации по сравнению с количеством окисляемого субстрата, значительно задерживает или предотвращает окисление этого субстрата, где под субстратом подразумеваются все органические и многие неорганические молекулы, присутствующие *in vivo* [1]. Антиоксиданты характеризуются разным антиоксидантным потенциалом (АОП), который описывает способность вещества или смеси веществ действовать как антиоксидант и уменьшать негативное влияние окислительных реакций на клетки, органы, организм или продукты питания [2]. Кроме того, понятие АОП включает в себя характеристику как антирадикальных свойств, так и величину антиоксидантной активности (АОА), которые описывают разные принципы действия АО. Так, антирадикальные свойства описывают возможность соединения реагировать со свободными радикалами (СР) в рамках одной свободно-радикальной реакции, а АОА характеризует способность вещества ингибировать процесс окисления, который обычно включает множество различных реакций, например перекисное окисление липидов [2,3]. Известно, что проявление антиоксидантных свойств объясняется разными механизмами действия, которые описывают способы ингибирования окислительных реакций и процессов, происходящих в сложных биологических системах. К таким механизмам относятся регуляция активности ферментов путем ингибирования продукции оксидаз, способствующих образованию активных форм кислорода (АФК), или усиления активности антиоксидантных ферментов, в частности активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, каталазы, глутатионредуктазы (GR) и глутатионтрансферазы (GST). [4,5]. Также к антиоксидантным механизмам относятся способность взаимодействовать с ионами металлов (железа и меди), ингибирование перекисного окисления липидов, влияние на антиоксидантные реакции клеток через воздействие на их сигнальные пути [2,6]. Несмотря на многочисленные подходы, не существует универсального метода, позволяющего предсказать механизм проявления антиоксидантной активности веществ.

Антирадикальные свойства соединения проще предсказать, так как взаимодействие АО со СР включает в себя два общепринятых механизма: перенос атома водорода (hydrogen atom transfer - HAT) и переноса одного электрона (single electron transfer - SET). При этом реакция



нейтрализации СР антиоксидантами может идти одновременно по двум механизмам, что является наиболее распространенным примером [7–11]. Схематически механизмы представлены на рисунке 1 [12].

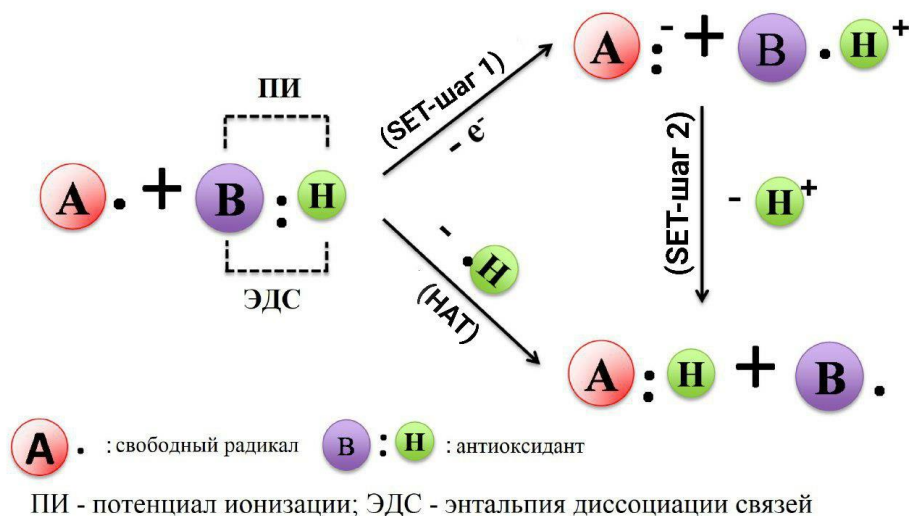


Рисунок 1. Механизмы взаимодействия АО со СР: перенос одного электрона (SET) и перенос атома водорода (HAT)

Реакция по механизму HAT представляет собой согласованное движение протона и электрона за одну кинетическую стадию. Свободный радикал нейтрализуется одним атомом водорода антиоксиданта, а сам антиоксидант становится новым СР, который более стабилен и менее реакционноспособен, чем исходный [7]. В механизме HAT энтальпия диссоциации связей (ЭДС) является важным параметром при оценке антиоксидантного действия [13]. Чем ниже ЭДС Н-донорной группы в потенциальном антиоксиданте, тем легче будет протекать реакция нейтрализации СР. Заданная реакция имитируется переносом одного электрона от нуклеофила к субстрату с образованием радикального промежуточного продукта, который затем может быть вовлечен в любые другие реакции. При механизме SET антиоксидант передает электрон СР, превращаясь в катион-радикал. В этом механизме потенциал ионизации (ПИ) антиоксиданта является наиболее важным энергетическим фактором при оценке антиоксидантного действия. Чем ниже ПИ, тем легче происходит отщепление электрона [12]. Очень сложно определить, по какому именно механизму (HAT или SET) протекает взаимодействие АО и СР. Механизм реакции зависит от структуры и растворимости АО, коэффициента разделения и полярности растворителя [14].

В настоящее время не существует единой классификации экзогенных АО. Однако антиоксиданты в широком смысле подразделяются на синтетические и натуральные, где среди последних выделяют эндогенные и экзогенные (рисунок 2) [15].

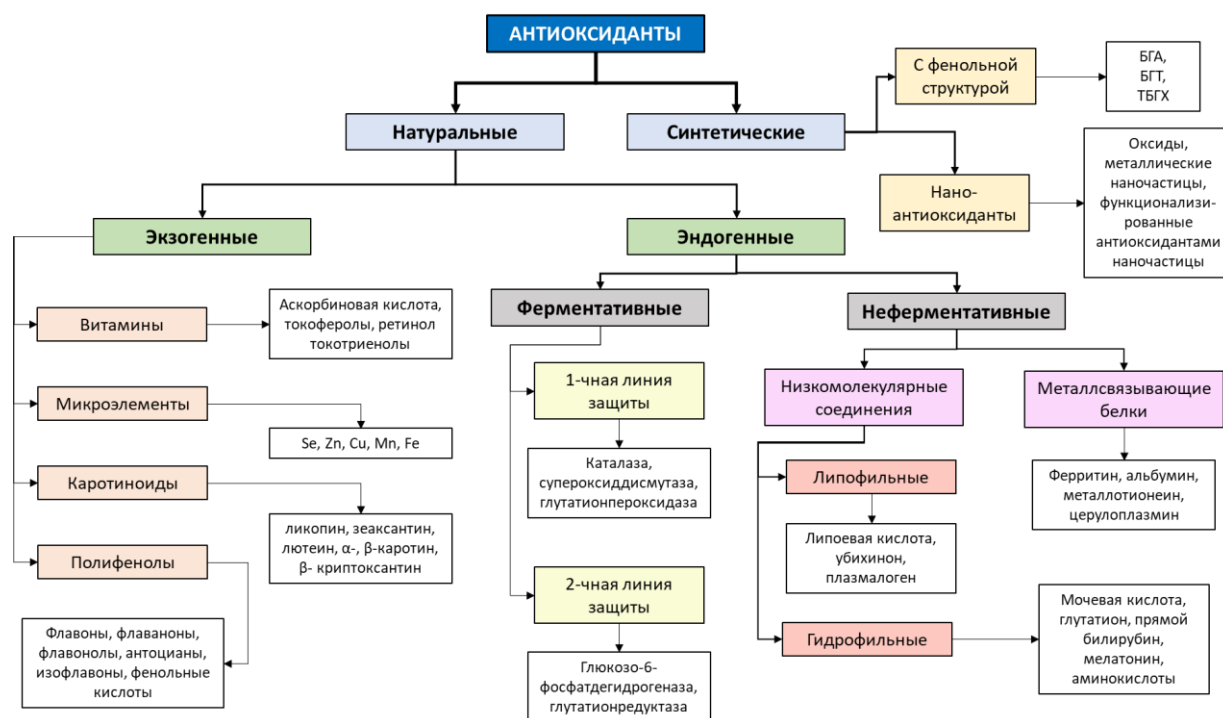


Рисунок 2. Общая классификация антиоксидантов

Эндогенными называют АО, вырабатываемые самими биологическими системами, и обычно их подразделяют на ферментативные и неферментативные. Данные группы АО представляют собой соединения, характеризующиеся различными способами и местом действия и конечными эффектами. Это разнообразие определяет индивидуальную роль каждого соединения в организме. Ферментативные АО проявляют строго определенную органную и клеточную локализацию антирадикального действия, а также способны разрушать гидроперекиси, не используя радикальный механизм [16,17]. Комплексное действие таких антиоксидантных ферментов, как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза демонстрирует наибольшую эффективность антиоксидантной защиты [15]. К неферментативным АО относятся вещества, которые эффективно акцептируют синглетный кислород и гидроксильные радикалы [16]. Основными неферментативными эндогенными АО являются металлсвязывающие белки, антиоксидантные свойства которых заключаются в способности связывать ионы металлов ( $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Fe}^{2+}$ ), которые могут реагировать с перекисью водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) и катализировать образование АФК в реакции Фентона [18]. Также некоторые белковые АО проявляют многофункциональность и могут ингибировать гидроксильные радикалы ( $\text{HO}\cdot$ ) за счет свободных сульфгидрильных групп цистеина, например, альбумин и металлотионеины [19].

Низкомолекулярные антиоксиданты, например, витамины С, Е, коэнзим Q, каротины, глутатион и микроэлементы также способны нейтрализовать СР. Глутатион, убихинон, альбумин и металлотионеины и мочевая кислота вырабатываются в организме [15,20]. Однако

такие значимые вещества, как витамин С, каротиноиды, полифенолы (флавоноиды, фенольные кислоты, стильбены, лигнаны), а также некоторые минералы, например, Zn, Mn, Cu, Se, участвующие в защите организма от окислительного стресса, являются экзогенными АО и попадают в организм из природных источников, таких как растения, мясо и мясопродукты, микроорганизмы, водоросли и др. Известно, что эндо- и экзогенные АО могут действовать синергически для поддержания или восстановления окислительно-восстановительного гомеостаза клеток и организма в целом [18].

Существуют синтетические формы АО, которые могут быть биоэквивалентны своим природным формам, например, биовитамин С и химически синтезированная  $\alpha$ -аскорбиновая кислота или синтетический и природный  $\alpha$ -токоферол. Кроме того, антиоксиданты используются в качестве технических вспомогательных средств для предотвращения окисления нестабильных ингредиентов в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Наиболее распространенными синтетическими АО являются соединения с фенольной структурой, к которым относятся бутилированный гидроанизол (БГА), бутилированный гидротолуол (БГТ), трет-бутилгидрохинон (ТБГХ), которые эффективны в качестве ингибиторов окисления липидов в пищевых продуктах. Не смотря на эффективность и распространенность синтетических АО, известно, что они представляют потенциальный риск для здоровья, что приводит к увеличению интереса и поиску эффективных, нетоксичных природных антиоксидантов [15].

Экзогенные природные АО классифицируют, распределяя их распределении по наличию в структуре молекулы определенных функциональных групп, связанных с проявлением антиоксидантных свойств (рисунок 3). Так выделяют четыре основные категории: катализаторы, комплексообразователи, полиены и доноры протона [16].

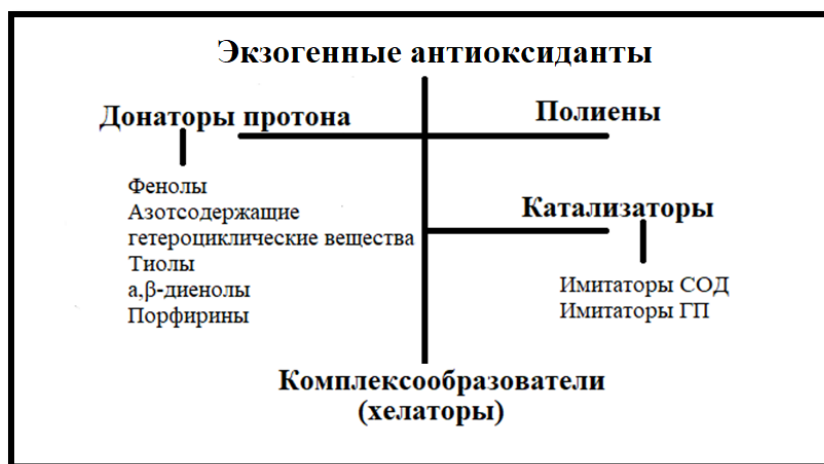


Рисунок 3. Классификация экзогенных природных АО по наличию функциональных групп

Полиенами принято считать соединения, содержащие несколько ненасыщенных связей, антиоксидантные свойства которых обусловлены легкой окисляемостью, что делает их более

привлекательной мишенью для АФК и СР. Полиены взаимодействуют с различными реакционными молекулами, образуя ковалентные связи, тем самым защищая от СРО биомолекулы. Известно, что полиеновые АО характеризуются низким АОП, однако, при взаимодействии с донаторами протона (когда последние находятся в более высокой концентрации), этот потенциал значительно увеличивается. Полиены проявляют сильную протекторную защиту в отношении липидов и менее выраженную к белкам и ДНК. Отмечается, что продукты окисления полиенов могут вступать в реакции СРО, тем самым проявляя прооксидантные свойства [21]. Ретиноиды (ретинол, ретиноевая кислота, ретиналь и витамин А) и каротиноиды (астаксин, ликопин, каротины, астаксантин, спириллоксантин и лютеин) являются основными представителями полиеновых антиоксидантов [22].

Комплексообразователи (или хелаторы) – это соединения, которые подавляют металлозависимое свободно-радикальное окисление. Антиоксидантные свойства хелаторов обусловлены взаимодействием соединений с катионами металлов переходной валентности [16]. Комплексообразователи способны проявлять прооксидантные свойства, сила которых зависит от химической структуры инициаторов СРО и самих АО [23]. Наиболее распространенными и изученными примерами данной группы АО являются карведилол, 1,10-батофенантролин, этилендиаминтетрауксусная кислота и ее соли (версен, трилон Б, комплексон III), а также карнозин, десфероксамин и некоторые представители флавоноидов [22].

Катализаторы (иногда называют «имитаторами ферментов») представляют собой группу веществ, способных катализировать элиминацию АФК и промежуточных продуктов СРО без образования новых свободных радикалов. Катализаторы способны оказывать универсальное ингибирующее воздействие на реакции СРО. К тому же катализаторы не расходуются и не подвергаются распаду в ходе защитных реакций, а значит, могут быть использованы в существенно меньших дозировках, чем вещества других групп [16].

Донаторы протона представляют собой вещества с легкоподвижным атомом водорода. Они также, как и полиены эффективны преимущественно против перекисного окисления липидов, но слабо защищают от окислительного повреждения белки и нуклеиновые кислоты [16]. Данная группа является самой большой и делится на несколько подгрупп: фенолы, азотсодержащие гетероциклические вещества, тиолы,  $\alpha$ ,  $\beta$ -диенолы и порфирины. Азотсодержащие гетероциклические соединения проявляют антиоксидантные свойства путем взаимодействия с перокси- и алкоксирадикалами, которые образуются в процессе ПОЛ за счет легкоподвижного атома водорода, связанного с азотом в составе ароматического гетероцикла. Основными представителями азотсодержащих гетероциклических веществ являются мелатонин [24], производные 1,4-дигидропиридина [25], пирролопиримидина и 5,6,7,8-тетрагидробиоптерин [26], а также фолиевая кислота (витамин В9), рибофлавин (витамин В2),

пиридоксин (витамин В6), никотиновая кислота (витамин В3), тиамин (витамин В1), биотин (витамин В7). Тиолы имеют двойственный механизм антиоксидантного действия: они могут играть роль как донаторов протона (с образованием тиольных радикалов), так и хелаторов катионов переходных металлов. По степени предупреждения окислительного повреждения белков они являются более эффективными АО, чем фенольные соединения. Прооксидантный эффект тиолы проявляют за счет образования тиольных радикалов. Представители тиоловых АО: глутатион, цистеин, гомоцистеин, N-ацетилцистеин, эрготионеин, дигидролипоевая кислота [22]. Основным представителем группы  $\alpha$ ,  $\beta$ -диенолов является аскорбиновая кислота (витамин С), прооксидантный эффект которой связан с тем, что она способна легко отдавать протоны водорода с последующим превращением в дегидроаскорбиновую кислоту. Порфирины имеют множественный механизм действия и способны выступать в роли доноров протона, комплексообразователей и катализаторов. Наиболее ярким представителем данной группы является билирубин.

К фенольным АО принято относить все соединения вида  $Ar(OH)_n$ , в которых одна или несколько гидроксильных групп соединены с ароматическим ядром. Механизм действия таких АО схож с азотсодержащими гетероциклическими веществами, однако в данном случае подвижный атом водорода находится в ОН-группе. Фенолы выражено угнетают реакции ПОЛ, но очень слабо действуют на радикальные АФК и не могут обеспечить эффективную защиту от окислительного повреждения белкам и нуклеиновым кислотам. Так, фенольные АО могут отдавать атом водорода, то есть действовать по механизму НАТ, липидным радикалам ( $L^{\cdot}$ ,  $LO^{\cdot}$ ,  $LOO^{\cdot}$ ) с образованием липидных производных ( $LH$ ,  $LOH$ ,  $LOOH$ ) и антиоксидантного радикала. Также фенольные АО могут участвовать в обрыве цепи ПОЛ [27]. Некоторые АО фенольного типа, например, часть флавоноидов могут выступать в роли комплексообразователей и способны хелатировать катионы металлов, действуя по механизму SET [28]. Прооксидантные свойства фенолов зависят от концентрации АО, выраженности и времени протекания процессов СРО, присутствия в среде катионов металлов, имеющих переходную валентность (железо, медь, марганец и др.).

Фенольные АО являются самой объемной и изучаемой группой АО, как природного, так и синтетического происхождения. В зависимости от принципиальных особенностей строения молекул, их физико-химических свойств и характера антирадикального действия фенольные АО разделяют на относительно небольшое число основных типов. Также соединения классифицируют по происхождению, растворимости в воде и липидах, механизму антиокислительного типа, природе ароматического кольца, по числу ОН-групп, фрагментов  $Ar(OH)_n$ , *орто*-заместителей. Кроме того, природные фенольные АО и их производные имеют огромное разнообразие и, исходя из этого, их классифицируют в зависимости от строения их

структуры и количества бензольных колец на мономеры, димеры и полимеры, как представлено на рисунке 4, что является наиболее популярным видом классификации данных АО [27].

Флавоноиды широко распространены в овощах и фруктах, цветах, семенах, стеблях и корнях в качестве вторичных метаболитов и являются наиболее изученными и охарактеризованными природными АО. Известно, что флавоноиды придают окраску плодам и цветам, привлекая животных и насекомых, защищают растения от биотических стрессоров, таких как травоядные, бактерии, грибы, и абиотических стрессоров окружающей среды, например, индуцированных повреждений УФ излучения и других факторов [29]. Также флавоноиды, являясь переносчиками водорода, участвуют в процессах фотосинтеза и окислительного фосфорилирования и считаются главным желтым пигментом за счет наличия хромофорной группы (карбонильная группа и конъюгированная с ней двойной связью  $C\alpha-C\beta$ ) [30].

Например, они участвуют в окрашивании плодов и цветов, привлекая животных, и защищают растения от биотических стрессоров, таких как травоядные, бактерии, грибы, и абиотических стрессоров окружающей среды, таких как поглощение ультрафиолетового (УФ) света. Таким образом, флавоноиды присутствуют повсеместно во всех растениях.

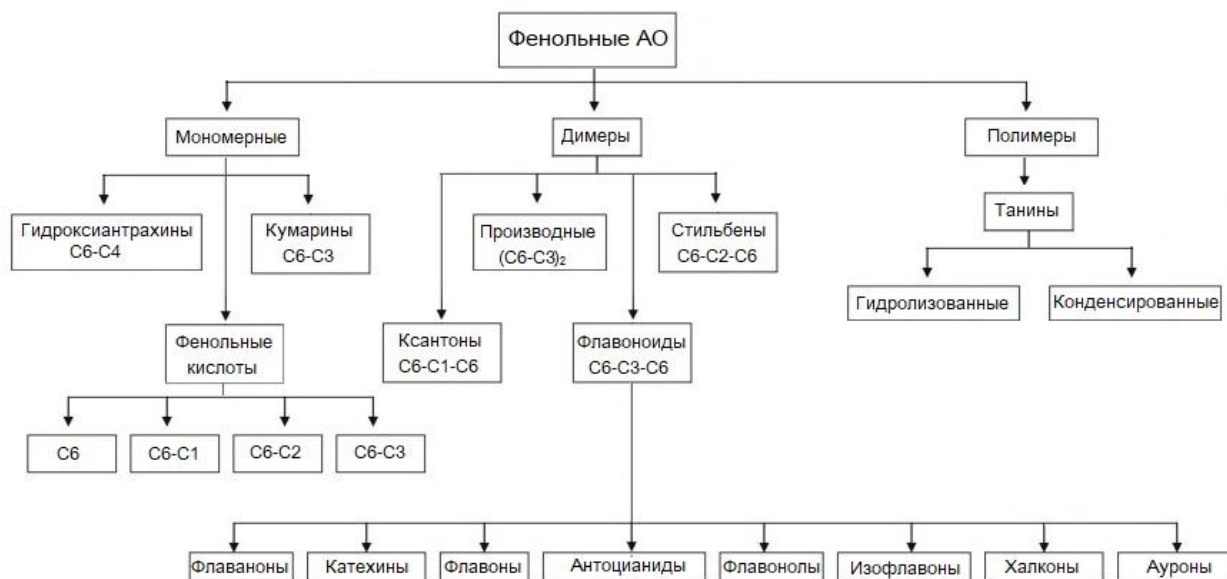


Рисунок 4. Классификация природных фенольных антиоксидантов

Многочисленные исследования показали, что практически все растения в разных концентрациях содержат флавоноиды, фенологликозиды, дубильные вещества (танины), органические кислоты, липиды, эфирные масла, витамины и каротиноиды, которые являются необходимыми экзогенными АО, так как данные вещества являются вторичными метаболитами растений и не образуются в организме человека [24]. Фенольные соединения, повсеместно распространенные в растениях, являются неотъемлемой частью рациона человека и

представляют значительный интерес благодаря своим антиоксидантным свойствам и потенциальному благоприятному воздействию на организм, в том числе за счет нейтрализации СР.

Свободными радикалами (СР) называют химически активные неустойчивые частицы, содержащие один или несколько (полирадикалы) неспаренных электронов на внешней оболочке. СР участвуют в реакциях присоединения, распада, замещения, диспропорционирования и рекомбинации. По химической структуре их разделяют на заряженные (ион-радикалы) и нейтральные, а также на короткоживущие (доли секунд) и долгоживущие (до нескольких лет) [31]. Свободные радикалы, в том числе активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота необходимы для корректного функционирования человеческого организма, органов и клеток [32]. Наиболее реакционноспособными молекулами в организме человека являются такие радикалы, как гидроксильный радикал, супероксидный анион-радикал, перекись водорода, синглет кислорода, гипохлорит, радикал оксида азота и радикал пероксинитрита. СР участвуют в окислительно-восстановительных реакциях (ОВР), которые являются неотъемлемой частью процессов, обеспечивающих жизнедеятельность любого организма. Так, ОВР связаны с взаимодействием атомов через фотон-электронные процессы, происходящие в клетках, при которых возникает разность потенциалов на мембране клеток. В результате таких реакций освобождается энергия, которая расходуется на регенерацию клеток (на обеспечение процессов жизнедеятельности организма) и поддержание гомеостаза [20]. В живом организме непрерывно генерируются и нейтрализуются высокореакционные частицы в ходе ферментативных и неферментативных реакций, которые участвуют в важных процессах метаболизма. Например, монооксид азота ( $\text{NO}^{\bullet}$ ), является естественным фактором расслабления сосудов [33], также обуславливает релаксацию гладких мышц, обладает антиагрегантными и антиадгезионными свойствами, является важным нейромедиатором и проявляет противомикробную и цитотоксическую активности [34]. Первичный радикал супероксид ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), образующийся в мембранах ряда клеток, в первую очередь, фагоцитов, обеспечивает антимикробную защиту. Пероксид водорода регулирует в клетках уровень тиоловых соединений и окислительно-восстановительный потенциал, которые образуются в результате активности фермента глутатионпероксидазы.

Активные формы кислорода формируют наиболее обширную и разнообразную группу высокореакционных частиц в живой системе. АФК участвуют в механизмах бактерицидности, в синтезе биологически активных веществ, в обмене коллагена, регуляции проницаемости мембран и др. Однако АФК обладают двойственной природой и, в зависимости от их концентрации, участвуют в важных процессах метаболизма или наносят серьезные повреждения клеткам (рисунок 5) [35].

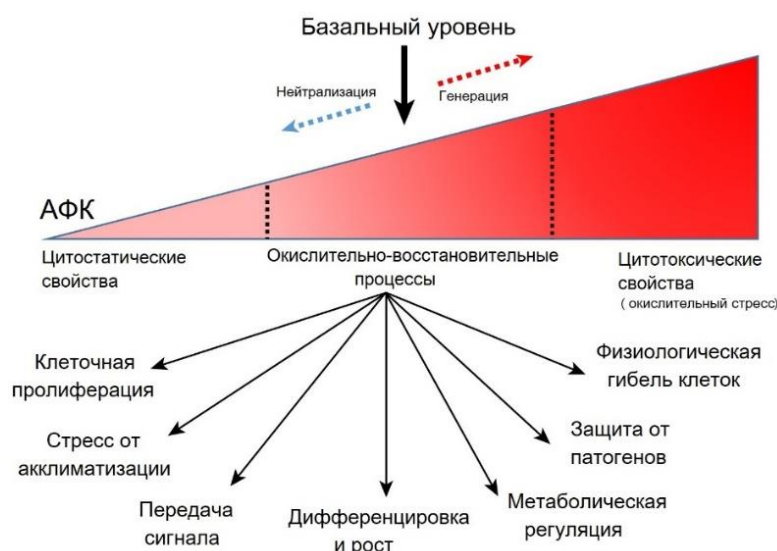


Рисунок 5. Влияние концентрации АФК на регуляцию разных клеточных процессов

Необходимость поддержания концентрации АФК в нормальном состоянии обусловлена тем, что, как повышение, так и понижение содержания АФК, негативно влияют на функционирование клеток. При низких концентрациях АФК проявляют цитостатические свойства, которые запускают апоптоз клетки, а в случае высоких - развивается окислительный стресс и цитотоксические свойства, которые ведут к некрозу [35].

В организме СР находятся в равновесии благодаря окислительно-восстановительному гомеостазу, однако из-за эндо- и экзогенных факторов может происходить избыточная генерация и дальнейшее накопление СР и АФК [32]. В таком случае высокореакционные молекулы способны разрушать биологически значимые молекулы: дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), белки, нуклеиновые кислоты, углеводы и липиды в ядрах и в мембранах клеток, что приводит к развитию окислительного стресса, а затем, к ряду заболеваний [36–38]. В условиях оксидативного стресса молекулы белков являются субстратами, попадающими под действия СРО, ведущего к образованию окислительных модификаций, которые влияют на изменение механизма передачи сигнала, активности ферментов, термостабильности и восприимчивости к протеолизу, а также могут способствовать повреждению мембраны и некоторых клеточных функций [20]. Молекулы ДНК в основном подвергаются прямому повреждению под действием гидроксид-радикалов ( $\text{HO}\cdot$ ) и в меньшей степени в реакциях с кислородными супероксид-анионами ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ). Именно  $\text{HO}\cdot$  способен напрямую взаимодействовать с гетероциклическими основаниями ДНК, к которым относятся пиримидиновые и пуриновые, а также с остатками сахаров (дезоксирибозой и рибозой) [34]. Более доступным субстратом окисления являются липидные структуры [39]. Проникая в толщу биологических мембран, АФК инициируют цепные реакции перекисного окисления липидов, что приводит к потере мембранами их функций, в первую очередь, барьерной [40]. ПОЛ протекает во всех клетках,



однако, наиболее сильная генерация СР происходит в лейкоцитах, тромбоцитах и гепатоцитах. Как правило, ПОЛ происходит в остатках полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) с накоплением новых радикалов [41]. Взаимодействие отдельных остатков жирных кислот в мембранных структурах приводит к цепным реакциям окисления липидов, которые играют важную роль в патологии клеток.

Основная цепь превращений при ПОЛ представлена на рисунке 6 и состоит из 4 этапов: инициации процесса перекисного окисления липидов, продолжения (роста) цепи, разветвление цепи (амплификация процесса) и терминации процесса (обрыва цепей) [27,41]. Инициаторами ПОЛ служат такие АФК, как супероксидный анион-радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ), гидроксильный радикал ( $HO^{\cdot}$ ), перекись водорода ( $H_2O_2$ ) и синглетный кислород ( $^1O_2$ ), которые вступают во взаимодействие с ПНЖК (LH) с образованием липидных радикалов ( $L^{\cdot}$ ). Затем новый СР ( $L^{\cdot}$ ) вступает во взаимодействие с молекулярным кислородом ( $O_2$ ). Продуктом такой реакции является перекисный радикал ( $LOO^{\cdot}$ ), который далее реагирует с новой молекулой полиненасыщенной жирной кислоты с образованием перекиси этой кислоты ( $LOOH$ ) и другого СР ( $L^{\cdot}$ ). Этот процесс поддерживает цепное свободно-радикальное окисление липидов.

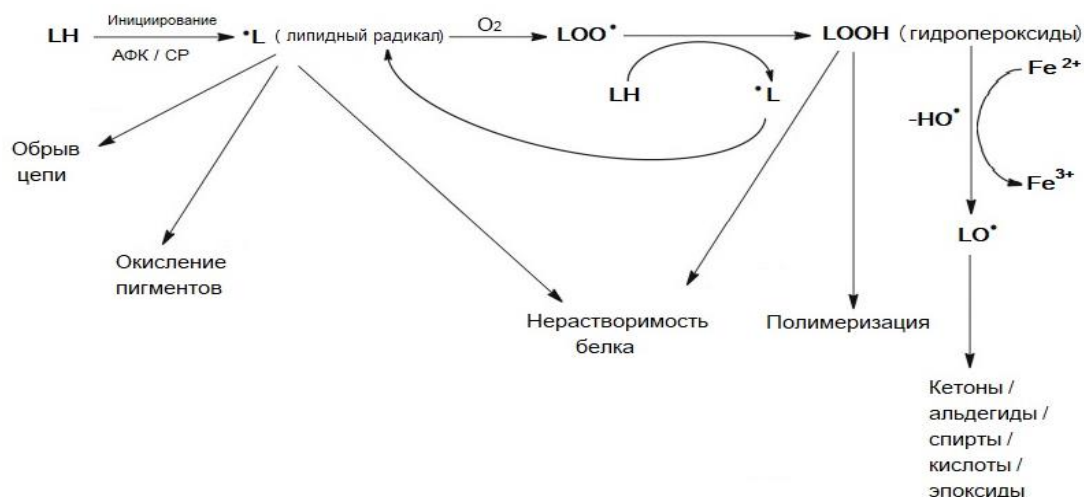


Рисунок 6. Общая схема перекисного окисления липидов

Наличие ионов железа ( $Fe^{2+}$ ) способствует потере стабильности и дальнейшему распаду молекул гидроперекиси липидов ( $LOOH$ ). В ходе такого процесса образуются новые свободные радикалы  $LO^{\cdot}$  и  $HO^{\cdot}$ . Причем, дальнейшие окислительные модификации  $LO^{\cdot}$  в клетке приводят к образованию стабильных продуктов ПОЛ, которые характеризуются высокой токсичностью, и могут приводить к гибели клетки. Даже минимальные концентрации продуктов ПОЛ в мембранах в физиологических условиях влияют на фазовое состояние липидного бислоя, усиливают гидратацию поверхности клетки, модифицируют проводимость мембран для ионов и малых молекул [34].

Таким образом, доступными мишенями свободно-радикального окисления являются все важные биомолекулы организма. Результатом таких окислительных процессов является

модификации и фрагментация липидов, белков и ДНК, причем с образованием аномальных соединений, токсичных для живого организма [39]. В последние годы ученые активно изучают вклад различных реакций СРО в развитие определенных патологических процессов, так как он может существенно отличаться. Модификация нуклеиновых кислот способствует развитию раковых и опухолевых патологий [39], а окислительное повреждение белков влияет на развитие нейродегенеративных заболеваний [42,43].

В человеческом организме функционирует ряд естественных защитных систем, которые обеспечивают сохранение постоянства внутренней среды и адаптацию к условиям существования. Одной из таких систем является антиоксидантная, которая отвечает за поддержание равновесия в окислительно-антиокислительном балансе клеток и организма в целом, регулируя количество генерируемых СР и АФК, предотвращая неконтролируемое СРО биомолекул и тканей [44]. АОС подразделяется на ферментативную и неферментативную, включающую в себя экзогенные и эндогенные антиоксиданты [45].

На рисунке 7 представлена схема реакций образования АФК и пути их нейтрализации ферментативными АО, где GT- глутатионтрансфераза, FADH – формальдегиддегидрогеназа, GLO – глиоксалаза, ROOH – органические гидропероксиды, R(O) – другие продукты окислительной модификации (4-гидроксиноненаль и др.), HR(O)SG – их конъюгаты с глутатионом [46]. Основными ферментативными АО, присутствующие во всех клетках млекопитающих, являются супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатионпероксидаза (GPx), глутатион-S-трансфераза (GST) [47] и глутатионредуктазы (GR) [48,49].

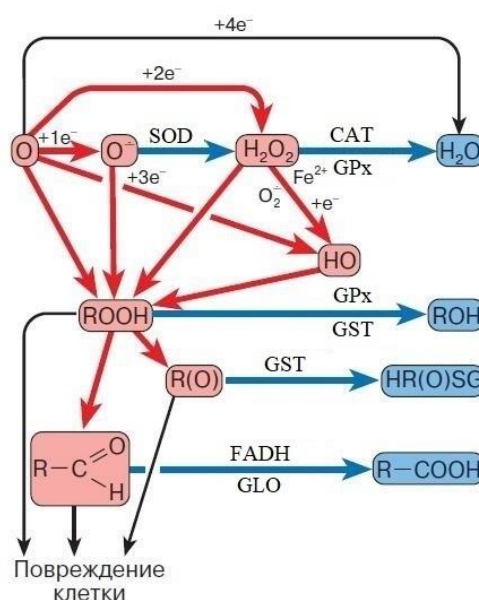


Рисунок 7. Реакции образования АФК и окислительных модификаций биомолекул (красные стрелки) и реакции АОС (синие стрелки)

Супероксиддисмутазы - это класс близкородственных ферментов, которые присутствуют почти во всех аэробных клетках и во внеклеточных жидкостях [50] и различаются в зависимости от типа переходного металла-кофактора активного центра фермента. Так существуют Cu,Zn-SOD, распространенная в цитозоле, Mn-SOD, наличие которой характерно для митохондрий, а также менее распространенные Fe-SOD и Ni-SOD [51]. У человека, как и у всех других млекопитающих и большинства хордовых, присутствуют три формы SOD. Так SOD1 находится в цитоплазме, SOD2 в митохондриях, а SOD3 является внеклеточной [50,52,53]. Основная функция SOD заключается в катализации реакции дисмутации супероксида ( $O_2^{\cdot-}$ ) в кислород ( $O_2$ ) и пероксид водорода ( $H_2O_2$ ). Образующаяся перекись водорода подвергается разложению на воду и кислород в ходе гетеролитического расщепления O-O-связи, катализируемой CAT [50], тем самым предотвращая образование высокореактивного гидроксильного радикала ( $HO^{\cdot}$ ) [54]. Известно, что молекула CAT состоит из четырех идентичных субъединиц, каждая из которых содержит протопорфирин IX с хелатированным атомом железа, находящемся в трехвалентном состоянии [50]. CAT является одним из основных ферментов разрушения АФК [58] и присутствует в каждом органе всех млекопитающих, причем наибольшая концентрация фермента наблюдается в печени [50,54].

Основным окислительно-восстановительным буфером в большинстве клеток считается система глутатиона, которая состоит из неферментативного АО - глутатиона (GSH) и таких ферментов, как GR, GP, GST [55]. Глутатионовая АОС была обнаружена практически у всех животных, растений и микроорганизмов [20] как окислительно-восстановительный регулятор основных жизненно важных функций клеток [56]. В основе глутатионовой АОС лежит один из важнейших клеточных антиоксидантов - восстановленный глутатион [56], который способен нейтрализовать активные формы кислорода и азота, тем самым контролируя окислительно-восстановительный гомеостаз [55,57]. GSH является трипептидом  $\gamma$ -глутамилцистеинилглицин, который содержит необычную пептидную связь между аминокислотной группой цистеина и карбоксильной группой боковой цепи глутамата. Как и многие цистеинсодержащие молекулы, глутатион легко окисляется с образованием окисленного димера (GSSG), например, под действием перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) или органических пероксидов (ROOH). При передаче одного электрона от АФК, GSH становится реакционноспособным, особенно в отношении тиолов. Так как наиболее распространенным тиолом в клетке является глутатион, то происходит образование димеров [55]. Как внутриклеточный антиоксидант, GSH под действием глутатион-S-трансферазы путем конъюгации субстрата R может связывать и инактивировать различные ксенобиотики с образованием GSR [55]. Однако такой химической модификации с GSH подвергаются только те соединения, которые имеют полярную группу, то есть субстратами служат вещества, которые, с одной стороны, имеют электрофильный центр

(например, OH-группу), а с другой стороны - гидрофобные зоны. Восполнение GSH может осуществляться путем его синтеза *de novo* в цитозольном пространстве или из конечных продуктов (глутамата, цистеина и глицина) внеклеточного преобразования GSH, а также при восстановлении окисленного глутатиона под действием GR [55].

Одним из наиболее важных антиоксидантных ферментов является глутатионредуктаза, участвующая в восстановлении дисульфидной связи окисленного глутатиона (GSSG), превращая его обратно в сульфгидрильную форму (GSH). Данный процесс осуществляется за счет энергии NADPH, получаемой в ходе пентозного пути. В клетках, подверженных окислительному стрессу, например, в эритроцитах, до 10% поступающей глюкозы используется на восстановление глутатиона с помощью GR. Сама глутатионредуктаза состоит из двух одинаковых субъединиц, молекулярная масса которых 50-55 кДа. На одном конце каждой субъединицы находится кофермент флавинадениндинуклеотид, а на другом – участки, связывающие NADPH. При этом, в ходе образования сульфгидрильной формы глутатиона, полость между субъединицами занимает одна молекула окисленного глутатиона [55]. Кроме регенерации GSH, GR катализирует расщепление перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) и органических гидропероксидов (ROOH) за счет четырех кофакторов селена, входящих в ее состав [47].

Глутатионпероксидазы, помимо других функций, катализируют восстановление гидроперекисей липидов в соответствующие спирты и восстановление пероксида водорода до воды. Существует 8 изоформ глутатионпероксидаз (GP1-GP8), отличающихся по локализации в клетке и по субстратной специфичности. Так пять изоформ GP (GP 1,2,3,4 и 6) являются селензависимыми, а именно содержат остаток селеноцистеина в активном центре [58]. GP способствуют вступлению перекисных радикалов ( $ROO\cdot$ ) в реакцию друг с другом, результатом которой является образование воды и кислорода. Также GP вместе с глутатион-S-трансферазами участвуют в поддержании функциональной активности клеточных белков и пептидов путем нейтрализации CP и АФК [47].

Одним из элементов АОС являются глутатион-S-трансферазы. Суперсемейство GST включает три подсемейства изоферментов: цитозольные, митохондриальные и микросомальные. В настоящее время изоферменты GST обнаружены в большинстве живых организмов, включая аэробные бактерии, дрожжи, растения, насекомые и позвоночные. GST проявляют высокую активность в отношении продуктов перекисного окисления ДНК и липидов [54]. Изоформы GST играют важную роль в регуляции клеточной передачи сигналов белок-белковыми взаимодействиями с регуляторными киназами, контролирующими клеточный ответ на стресс, пролиферацию и индукцию апоптоза. В митохондриях GST катализирует образование конъюгатов и восстановление органических гидропероксидов с использованием GSH. GST не взаимодействует с  $H_2O_2$ , но эффективно снижает гидропероксиды

полиненасыщенных (линолевых и арахидоновых) жирных кислот, фосфолипидов, мононуклеотидов и ДНК [56]. Таким образом, GST является важным компонентом антиоксидантной защиты, особенно от эндогенных метаболитов, образующихся при окислительном стрессе [59].

Помимо ферментативных АО не менее важную роль в АОС занимает неферментативное звено, к которому относятся белковые молекулы и низкомолекулярные, роль некоторых из них указана на рисунке 2 [48]. Известно, что АОС состоит из трех линий защит, где первые две отвечают за ингибирование СР, тогда как третья основана на восстановлении биомолекул, клеток и тканей. Однако в последние годы во многих научных статьях появилась четвертая линия защиты – адаптационная, которая по функциям сходна с третьей [60]. В первую линию АОС, основной задачей которой является профилактика, входят АО, которые подавляют или предотвращают образование в клетках СР и АФК [60]. Главными составляющими являются ферменты, а именно SOD, CAT, GP, а также GST и фосфолипид-гидропероксид глутатионпероксидазы [20]. Помимо ферментов в первую линию АОС входят белки, которые связывают ионы металлов такие, как трансферрин и церулоплазмин.

Вторая линия защиты организма от СРО заключается в ингибировании цепных реакций образования СР путем обрыва на стадии разветвления. АО данной группы нейтрализуют СР, становясь при этом новыми СР, реакционная способность которых значительно ниже. Вторая линия защиты включает в себя как гидрофильные АО, такие как аскорбиновая и мочевиная кислоты, GSH, билирубин, альбумин и тиолы, так и липофильные - витамин Е и убихинол (рисунок 8) [61].

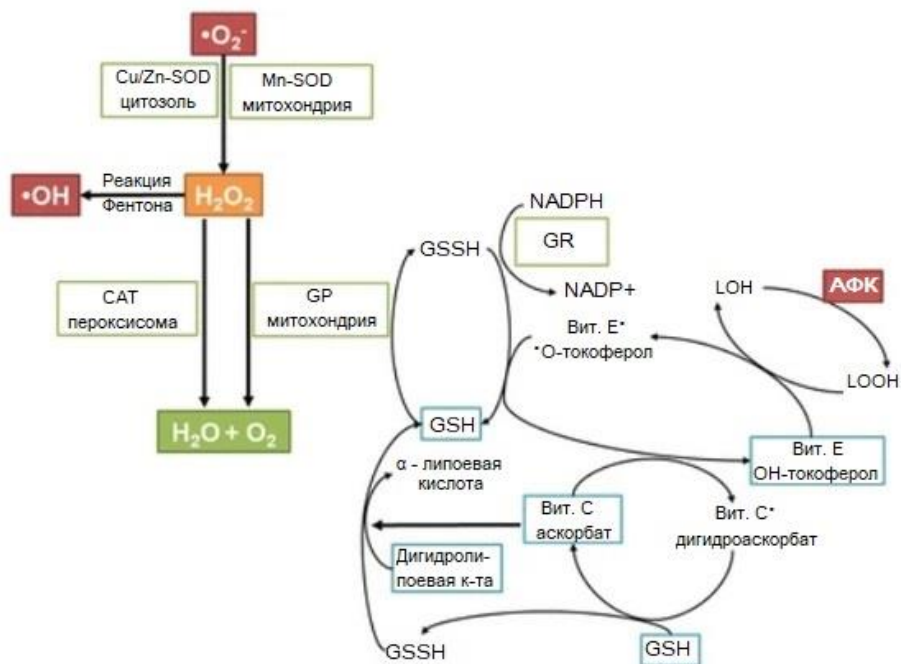


Рисунок 8. Вторая линия защиты антиоксидантной системы

Аскорбиновая кислота или витамин С является моносахаридным АО, обнаруженным как у животных, так и у растений, однако в организме человека не синтезируется, поэтому он должен быть получен из продуктов питания. В клетках витамин С поддерживается в восстановленной форме за счет реакции с глутатионом. Аскорбиновая кислота является восстановителем, что позволяет ей нейтрализовать АФК, такие как перекись водорода ( $H_2O_2$ ) [20]. Витамин Е - это общее название для набора из восьми родственных токоферолов и токотриенолов, которые являются жирорастворимыми витаминами, проявляющие антиоксидантные свойства. На данный момент наиболее изучен  $\alpha$ -токоферол, так как он обладает самой высокой биодоступностью [62]. Считается, что форма  $\alpha$ -токоферола является наиболее важным липидорастворимым АО и защищает мембраны от окисления путем взаимодействия с липидными радикалами, образующимися при ПОЛ [63] путем нейтрализации промежуточных СР и обрыва цепных реакций. Образующиеся в ходе таких взаимодействий  $\alpha$ -токофероксильные радикалы могут восстанавливаться до  $\alpha$ -токоферола в реакциях с другими АО, например, аскорбат, ретинол или убихинол [20].

К третьей линии АОС относятся АО, активация которых происходит только после повреждения биомолекул или тканей свободными радикалами. Такие АО являются ферментами *de novo*, основная цель которых устранить нарушения путем восстановления окисленных ДНК, белков или липидов. Также важной задачей АО третьей линии является распознавание, разрушение и удаление окислительных модификаций биомолекул с целью недопущения их накопления, которое может оказывать токсичное действие на ткани организма [27]. Основными АО данной группы являются ферментативные системы репарации ДНК (полимеразы, гликозилазы и нуклеазы), а также протеолитические ферменты (протеиназы, протеазы и пептидазы), которые расположены в цитозоле и в митохондриях клеток млекопитающих [20]. Еще одну важную функцию АОС выполняет четвертая линия защиты. Действие АО этой группы в основном заключается в механизме адаптации, в котором используется сигнал, генерируемый СР для синтеза и транспорта соответствующих АО в нужный участок организма.

Таким образом, важную роль в функционировании АОС организма играют экзогенные низкомолекулярные АО, большинство из которых не синтезируются в организме человека. Основным источником экзогенных АО являются продукты питания, преимущественно, растительного происхождения.

## **1.2 Вторичное растительное сырье как источник антиоксидантов и возможности их использования в пищевой промышленности**

Многие исследования подтверждают, что АО снижают риск развития рака, болезней сердца и диабета, ингибируют агрегацию тромбоцитов в плазме, а также проявляют антибактериальное, противовирусное, противовоспалительное и антиаллергенное действие [27]. Вводимые ограничения на использование синтетических антиоксидантов из-за их пагубного воздействия на здоровье человека, обращают взгляд исследователей на природные АО, среди которых наибольший интерес, в первую очередь экономический, вызывают АО, получаемые из отходов плодоовощной промышленности. Кроме того, получаемые пищевые и медикаментозные АО должны соответствовать следующим критериям: быть относительно недорогими, не обладать токсическими эффектами, быть эффективными при низких дозировках, обладать высокой термостойкостью, не иметь специфического запаха, вкуса и цвета. Некоторые неиспользуемые части растений, такие как семена, кожура, листья, шелуха, стебли и корни могут быть новыми источниками антиоксидантов, а их переработка позволит избежать финансовых и экологических проблем, связанных с этими побочными продуктами [64].

На основании данных в «Бюллетене о состоянии сельского хозяйства» Федеральной службы государственной статистики была составлена таблица 1 с данными о валовых сборах основных сельскохозяйственных культур в хозяйствах всех категорий Российской Федерации за период 2017-2022 годов [65]. За последние 6 лет больше всего было собрано зерновых и зернобобовых культур (~130412 тыс. тонн / год), на втором месте – свекла сахарная, объем сборов которых составил около 45392 тыс. тонн / год. Примерно одинаковое количество было собрано семян и плодов масличных культур и картофеля, объемы которых составили около 22330 и 20431 тыс. тонн / год. Количество собранных овощей открытого и закрытого грунта равнялось 13651 тыс. тонн / год, тогда как овощи бобовые лущеные сушеные (зернобобовые культуры) были собраны в количестве ~3822 тыс. тонн / год в период 2017-2022 годов. Известно, что сельское хозяйство и связанные с ним отрасли агропромышленного комплекса, к которым относятся хранение продукции растениеводства, переработка сельскохозяйственной продукции, кормопроизводство, пищевая промышленность, ежегодно образуют сотни миллионов тонн органических отходов. В России объемы отходов достигают 630-650 млн. тонн в год, из которых 56% приходится на животноводство и 35,6% на растениеводство. При этом птицеводство и перерабатывающие отрасли образуют около 3,7% и 4,7%, соответственно, от общего объема отходов [66]. В связи с этим, переход от классической линейной экономики, основанной на принципе «бери, производи и утилизируй», к экономике замкнутого цикла (ЭЗЦ)

является популярной концепцией, которую продвигают по всему миру последнее десятилетие многие отрасли промышленности и, прежде всего, сельское хозяйство и пищевая промышленность [67,68].

Таблица 1 - Валовые сборы основных сельскохозяйственных культур в хозяйствах всех категорий Российской Федерации за 2017-2022 года

Наименование сельскохозяйственной культуры	Валовые сборы в год, тыс. тонн						
	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2017-2022 (ср. за год)
Зерновые и зернобобовые культуры (в весе после доработки)	135539	113255	121200	133463	121399	157614	130412
в том числе зерновые культуры:	131277	109819	117856	130016	117560	153005	126589
пшеница	86003	72136	74453	85894	76061	104233	83130
рожь	2549	1916	1428	2378	1722	2179	2029
тритикале озимая и яровая	501	401	356	310	288	307	361
кукуруза на зерно	13208	11419	14282	13879	15238	15787	13969
ячмень	20629	16992	20489	20939	17996	23393	20073
овес	5456	4719	4424	4132	3776	4529	4506
рис	987	1038	1099	1142	1076	920	1044
гречиха	1525	932	786	892	919	1222	1046
просо	316	217	440	396	368	308	341
Овощи бобовые лущеные сушеные (зернобобовые культуры)	4262	3436	3344	3447	3839	4606	3822
из них: горох	3286	2304	2369	2740	3168	3616	2914
Семена и плоды масличных культур - всего (в весе после доработки), из них:	16497	19535	22769	21245	24850	29085	22330
семена подсолнечника	10481	12756	15379	13314	15656	16362	13991
бобы соевые	3622	4027	4360	4308	4760	6003	4513
семена рапса	1510	1989	2060	2572	2794	4514	2573
Свекла сахарная	51913	42066	54350	33915	41202	48908	45392
Картофель	21708	22395	22073	19607	17959	18843	20431
Овощи свежие или охлажденные, не включенные в другие группировки:							
Овощи открытого и закрытого грунта, из них:	13612	13685	14104	13864	13029	13614	13651
огурцы	1505	1604	1626	1687	1603	1636	1610
томаты (помидоры)	2669	2900	3015	2976	3051	3251	2977
капуста	2706	2519	2646	2652	2202	2325	2508
морковь столовая	1438	1408	1559	1369	1263	1364	1400
свекла столовая	784	838	873	801	732	773	800
лук репчатый	1794	1642	1670	1738	1543	1602	1665
бахчевые продовольственные культуры	1815	1970	1785	1584	1899	1635	1781

Реализация принципов ЭЗЦ является способствует эффективному использованию ресурсов с целью максимизации экономических выгод при одновременном снижении нагрузки на окружающую среду [69]. Так, с 2022 года в Российской Федерации реализуется социально-экономическая инициатива «Экономика замкнутого цикла» – стратегия, направленная на



создание комплексной системы вовлечения в оборот вторичного сырья из отходов от всех секторов экономики, к 2030 году планируется возвращать в хозяйственный оборот до 50% от всех сельскохозяйственных отходов [70].

В ходе деятельности сельскохозяйственного сектора экономики ежегодно образуются значительные объемы органических отходов, которые в дальнейшем используются для производства продуктов с низкой стоимостью или вовсе попадают на свалки. При этом, образующееся вторичное растительное сырье является потенциальным богатым источником ценных веществ, в том числе природных антиоксидантов [71]. Идея эффективного использования отходов с целью производства продуктов с высокой коммерческой ценностью, например, лекарств, нутрицевтиков, космецевтиков и др., является целью ЭЗЦ [72,73]. На рисунке 9 представлены различные функциональные вещества, которые можно получить из отходов пищевой промышленности [74].

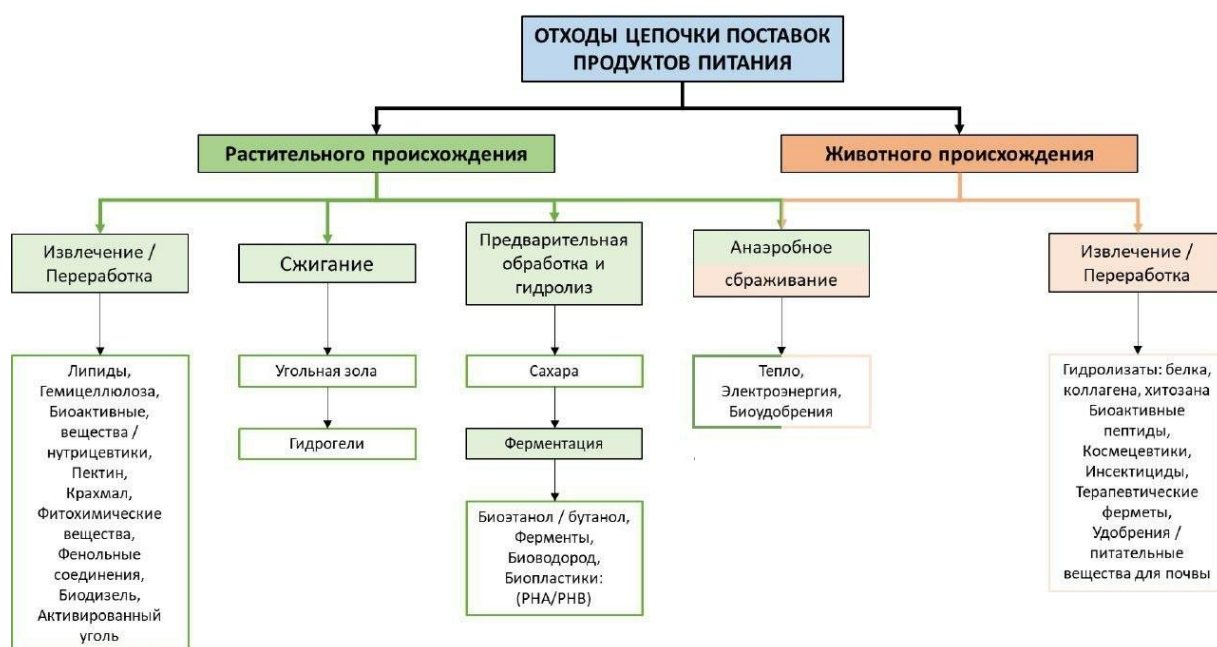


Рисунок 9. Пути переработки вторичного сырья

Во всем мире зерновые и зернобобовые культуры являются самыми распространёнными сельскохозяйственными растениями. Согласно отчету Продовольственной и сельскохозяйственной организации (FAO) за 2023 год, мировое производство зерновых достигло 2840 миллионов тонн [75]. Продукты переработки зерновых содержат широкий спектр высокоценных соединений, включая полифенолы [76]. Наиболее распространенными фенольными соединениями, обнаруженные в отходах зерновых культур являются флавоноиды и фенольные кислоты, которые классифицируются как гидроксibenзойная и гидроксикоричная кислоты [77]. Так, кукуруза характеризуется самым высоким содержанием полифенолов (15,55 мкг / г зерна), меньшее количество АО содержит пшеница (7,99 мкг / г зерна), а рис – около 5,56 мкг / г зерна.

Сахарная свекла также является одной из важнейших сельскохозяйственных культур, используемых для производства сахара [78]. В настоящее время в Европе ежегодно производится около 120 миллионов тонн свеклы, из которой извлекается примерно 16 миллионов тонн сахара. В процессе переработки свеклы образуется большое количество таких побочных продуктов, как свекольная ботва, мякоть и отработанная меласса, которые являются источниками биоактивных молекул с потенциальной кардио- и вазопротекторной ролью [79]. В работе R. Kushwaha et al. сообщалось, что листья сахарной свеклы содержат бетаин, клетчатку, фолиевую кислоту и витамины группы B [80]. В другой научной работе M. Chen et al. было продемонстрировано, что меласса сахарной свеклы содержит большое количество фенольных соединений, а именно антоцианы (цианидин-3-О-рутинозид, цианидин-3-О-глюкозид, дельфинидин-3-О-рутинозид и дельфинидин-3-О-глюкуроид), галловую кислоту, ванилин, гидроксibenзойную кислоту, сирингиновую кислоту, катехин и феруловую кислоту [81].

Картофель является еще одним наиболее распространенным и широко потребляемым растением во всем мире. Структура потребления картофеля меняется со свежего на переработанный (картофельное пюре, чипсы и т.д.), что приводит к увеличению образования отходов [82], утилизация которых представляет собой важную экологическую проблему для предприятий пищевой промышленности [83]. Картофель содержит незаменимые аминокислоты, витамины и минералы [84]. Кроме того, многие сорта картофеля характеризуются большим количеством аскорбиновой кислоты (до 42 мг / 100 г), калия (до 693,8 мг / 100 г), пищевых волокон (до 3,3%) и других полезных биологически активных компонентов [85]. Фенольные кислоты являются наиболее распространенными фенольными соединениями, представленными в картофеле. Так, содержание хлорогеновой кислоты составляет примерно 90% от всех фенольных соединений в картофельной кожуре, а количество кофейной кислоты в картофеле – 25-72 мг / 100 г [85].

Томаты считаются самым популярным сельскохозяйственным овощем во всем мире с годовым производством примерно 180 миллионов тонн. В России валовые сборы помидоров составляют около 21,8% от всего объема выращиваемых овощей открытого и закрытого грунта (таблица 1). В процессе промышленной переработки томатов образуются такие побочные продукты, как семена и кожура, составляющие 10-40% от общего объема переработанных томатов и использующиеся в качестве корма для животных и удобрений [86]. В помидорах и их побочных продуктах присутствуют каротиноиды, полифенолы, токоферолы, некоторые терпены и стерины [87]. Содержание каротиноидов в кожуре и семенах томатов составляет 793,2 и 157,9 мкг/г сухого сырья, соответственно, однако, их концентрации могут варьироваться в зависимости от сорта томатов и промышленных методов их обработки [86].

Ликопин (413,7 мкг / г сухого веса) и  $\beta$ -каротин (149,8 мкг / г сухого веса) являются основными каротиноидами отходов переработки томатов [87].

По оценкам продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН [88] репчатый лук (*Allium cepa*) занимает одно из первых мест по производству овощей во всем мире, уступая только томатам [72]. Ежегодно лук выращивают в 126 странах на площади 3,6 млн. га, производя около 73,20 млн. тонн в год [89]. В России при переработке луковых одним из побочных продуктов является шелуха, а количество отходов составляет от 5-9% до 21,6-29,9% от массы исходного сырья в зависимости от размера луковиц и способа очистки [90], что составляет до 500 тыс. тонн в год. Аналогичная ситуация наблюдается в Евросоюзе, где ежегодно после переработки репчатого лука образуется около 450 тыс. тон отходов [91]. В последние годы был зафиксировано увеличение производства репчатого лука не менее, чем на 25% [71,92]. Этот рост обусловлен не только использованием лука как ароматизированного овощного или пряного компонента, но и его применением в качестве источника биоактивных веществ и фитонутриентов [92]. Репчатый лук содержит множество АО, которые способствуют профилактике некоторых заболеваний, связанных с окислительным стрессом. Результаты многих эпидемиологических исследований показали, что регулярное употребление лука может снизить риск развития сердечно-сосудистых патологий, различных форм рака и нейродегенеративных заболеваний [93,94]. Исследования биологических свойств мякоти репчатого лука ведутся на протяжении многих лет. На сегодняшний день известно, что лук обладает рядом полезных свойств, включая антибактериальные, противоопухолевые, гипогликемические, гиполипидемические и антиоксидантные [89,95]. Интересно, что АОП растительных оболочек значительно превосходит аналогичные показатели для мякоти плодов, что обусловлено защитными функциями кожуры. Внешние слои растений чаще подвергаются экзогенным негативным воздействиям, среди которых резкие перепады температуры, засуха или повышенная влажность, УФ-излучение, обработка удобрениями и токсичными химическими соединениями, направленными на уничтожение вредителей. Так, количество феруловой кислоты в коричневом рисе больше, чем в шлифованном, так как полифенолы в основном находятся в кортикальном слое [76], а в работе P.V. Hung [96] было продемонстрировано, что экстракты отрубей характеризовались большим содержанием АО, чем эндосперм.

В последние годы интерес к переработке луковых отходов значительно возрос, что отражается в увеличении числа научных исследований, посвященных данной теме. Отходы репчатого лука стали предметом внимания из-за их дешевизны и доступности. Они включают в себя шелуху (самые внешние слои), корни, верхушки луковиц и испорченные луковицы [73,97]. Основным компонентом луковых отходов при переработке является шелуха, которая составляет до 60% от общего объема [71,98]. Однако из-за неприятного вкуса и запаха, отходы

обычно не используют для кормления животных или в качестве органического удобрения. Вместо этого, их направляют на утилизацию, что также требует дополнительных финансовых затрат [71–73]. С другой стороны, луковая шелуха богата полифенольными АО, в основном кверцетином и его производными, а именно глюкозидами, относящимися к группе флавоноидов [99]. Teshika et al. [100] установили, что *Allium cepa* содержит в 5-10 раз больше кверцетина (300 мг/кг), чем брокколи (100 мг/кг), яблоко (50 мг/кг) и черника (40 мг/кг). Кроме того, шелуха репчатого лука характеризуется повышенным содержанием кемпферола, феруловой и галловой кислоты. Эти биологически активные вещества обладают антиоксидантным, противовоспалительным, противоопухолевым, противомикробным и ингибирующим ферменты действиями [72,101,102]. Известно, что преобладающими флавоноидами в составе шелухи лука являются кверцетин и его производные, в частности его гликозиды, в независимости от сорта растения. Антоцианы преимущественно присутствуют в красном луке и составляют примерно 10% от общего содержания флавоноидов во влажном сырье [71,92]. Таким образом, потенциально высокие антиоксидантные свойства шелухи репчатого лука, дешевизна и доступность сырья позволяют рассматривать ее в качестве перспективного альтернативного источника растительных АО. При работе с растительными источниками АО важно учитывать такие факторы, как сорт, климатические и почвенные условия, сезон сбора урожая, послеуборочные условия хранения сырья. Все эти факторы могут оказывать сильное влияние на состав АО и их антиоксидантный потенциал в растительном сырье.

Технологии, применяемые для извлечения АО, достаточно разнообразны. До сих пор не существует единого стандартного метода для экстракции всех природных антиоксидантов, поскольку каждое соединение обладает своими химическими и физическими свойствами и локализовано в разных органах и частях растения [103]. В настоящее время все виды экстракции разделяют на два типа методов. При традиционном подходе используют простое и недорогое оборудование, большое количество растворителя и необходимо больше времени для экстракции. Процесс проходит при атмосферном давлении и могут сопровождаться варьированием температурного режима. Современные нетрадиционные методы считаются более экологичными, однако, для их реализации необходимо более дорогое и сложное оборудование. Процесс экстракции проводят при более высоких значениях давления и температуры, что сокращает время извлечения АО. Тем не менее, общий принцип получения флавоноидов одинаковый: он заключается в выдерживании растительного сырья в растворителе, обеспечивающего сольubilизацию АО [104].

Традиционными методами, используемыми для экстракции растений, являются мацерация, тепловое воздействие и экстракция в аппарате Сокслета [103]. Эти методы просты, но имеют недостатки: длительное время экстракции, потребность в большом количестве

растворителей для увеличения выхода АО [105]. Основные принципы, достоинства и недостатки традиционных методов экстракции представлены в таблице 2 [105].

Таблица 2 – Плюсы и минусы традиционных методов экстракции растительных АО

Метод экстракции	Принцип действия	Преимущества	Недостатки
Мацерация	Диффузия в подходящую экстракционную среду приводит к размягчению и разрушению клеточной стенки растения с высвобождением растворимых фитохимических веществ	Подходит для: - термочувствительных компонентов - различных растительных материалов, растворителей и значений pH Простой, легкий и дешевый метод	- Длительное время экстракции - Большое количество растворителя - Низкая концентрация полифенолов в экстракте
Тепловая экстракция	Тепловая энергия вызывает разрушение клеточных структур, увеличение проницаемости клеточных мембран и нарушение взаимодействий полифенолов и липопротеинов, что может повысить растворимость полифенолов	- Увеличивается растворимость полифенолов и массоперенос; - Более быстрая кинетика - Более высокий выход полифенолов - Простое оборудование	- Разложение термочувствительных фенольных соединений - Высокий расход растворителя - Ограниченный выбор растительного материала и экстракционной среды
Экстракция в аппарате Сокслета	Растворитель, нагретый до кипения с обратным холодильником, конденсируется и попадает в камеру, в которой находится наперсток для отбора проб	- Меньшее количество растворителя - Более высокий выход полифенолов	- Воздействие опасных и легковоспламеняющихся жидких органических растворителей. - Растворители для экстракции должны быть высокой чистоты, что увеличивает стоимость

В ряде научных работ была изучена эффективность разных растворителей по отдельности и смеси растворителей при экстракции фенольных соединений из вторичного сырья фруктов и овощей [106]. В работе Quу Diem Do et al. [107] была исследована эффективность использования воды, метанола, этанола и ацетона, а также их 50% и 75% водных растворов для экстрагирования фенольных соединений из *L. aromatica*. Авторами было показано, что выход сухих веществ увеличивался с ростом полярности растворителя и концентрации воды в растворителе. При этом общая концентрация фенольных соединений и величины FRAP и DPPH снижались при уменьшении концентрации растворителя. В. Lapornik et al. [108] показали, что извлечение антоцианов и полифенолов из кожуры винограда, красной и черной смородины 70% водно-этанольным и 70% водно-метанольным растворами более эффективно по сравнению с водой. Кроме того, было определено, что с увеличением времени экстракции концентрация АО возрастала при использовании органических растворителей и уменьшалась при водной экстракции. В статье L. Boulekbache-Makhlouf et al. исследовали эффективность применения 70% водных растворов этанола, метанола и ацетона для извлечения АО из вторичного сырья баклажан (кожуры) [109]. По результатам работы было установлено, что 70% раствор метанола позволял экстрагировать большее количество антоцианов, тогда как значения общего количества фенолов, флавоноидов и дубильных веществ было наивысшем при

использовании 70% ацетона в качестве растворителя. В другой работе авторы изучали эффективность 50%, 70% и 90% водных растворов метанола, этанола и ацетона для извлечения АО из листьев сладкого картофеля [110]. Так, Z.-F. Fu et al. установили, что экстракт, полученный с использованием 50% ацетона, характеризовался наибольшим выходом сухих веществ, количеством фенолов и способностью нейтрализовать радикал DPPH, а 70% водно-этанольный растворитель способствовал лучшему извлечению флавоноидов и антоцианов.

Традиционные методы экстракции имеют два основных недостатка по сравнению с альтернативными: необходимость значительных объемов растворителя, использование высоких температур или длительного времени экстракции. В случае метода мацерации не используются высокие температуры, однако применяется более длительное время, которое составляет не менее 6 часов. Несмотря на существующие недостатки традиционных методов экстракции, в лабораториях и промышленности продолжают широко их использоваться, поскольку оборудование для экстракции широко доступно и стоит дешевле, чем установки для альтернативных методов [111].

В настоящее время существует большое количество работ, посвященных изучению экстракции растительных АО, однако невозможно однозначно определить, какой растворитель характеризуется большей эффективностью. Процесс экстракции АО традиционными методами зависит от типа и свойств как используемого растворителя, так и извлекаемых соединений и целей их дальнейшего использования. При выборе растворителя стоит обращать внимание на его полярность, температуру кипения, реакционную способность, вязкость, безопасность и др. [107,112,113]. С точки зрения пищевой промышленности, из всех упомянутых растворителей, этанол и вода являются более подходящими, поскольку они общепринято считаются безопасными для человека [103,114].

Как в традиционных, так и в нетрадиционных методах экстракции используются полярные растворители, которые играют решающую роль в выходе фенольных соединений. Кроме того, органические растворители высокой полярности более эффективны, чем неполярные. В настоящее время предпочтение отдается таким безопасным растворителям, как вода и этанол, смесь которых более эффективна при экстракции фенолов, чем отдельные растворители, что объясняется промежуточной полярностью водно-спиртовых растворов, которая аналогична полярности фенольных соединений. Так, этанол увеличивает растворимость фенольных АО, тогда как вода способствует их десорбции из сырья [111].

В последние годы были разработаны инновационные методы экстракции, примерами которых являются экстракция с помощью ультразвука или микроволновой печи, сверхкритическая жидкостная экстракция, ферментативная и другие [105,115,116]. Согласно различным исследованиям, эти подходы имеют ряд преимуществ: более высокий выход,

сокращение времени экстракции, меньший расход растворителей и снижение влияния на окружающую среду [117]. Принципом всех нетрадиционных методов экстракции является разделение растворимых растительных компонентов и нерастворимых клеточных остатков. Наиболее распространенные современные методы экстракции, а также их преимущества и ограничения приведены в таблице 3 [105]. Несмотря на многие преимущества современных подходов к экстракции, главными их недостатками являются использование дорогостоящего оборудования, необходимость оптимизации процесса из-за использования повышенных или критических температур и давления, что может приводить к модификациям химических структур АО и изменению их антиоксидантных свойств. Кроме того, большинство современных подходов к извлечению растительных АО до сих пор не апробированы в промышленных условиях и в основном применяются только на уровне лабораторных исследований. В связи с чем, требуются дополнительные время и ресурсы для изучения применимости нетрадиционных методов получения растительных АО из вторичного сырья в масштабах производства [103].

Растительные экстракты широко применяются в различных областях промышленности, в том числе в пищевой индустрии, где могут быть использованы как техническое вспомогательное средство или функциональных ингредиент для обогащения пищевых продуктов. Мясо и мясные продукты являются одной из основных групп продуктов питания с высокой биологической ценностью, содержащей белки и минералы - в частности, цинк и железо [118]. Мясо и продукты на его основе обладают целым рядом профилактических и укрепляющих здоровье свойств [119], и являются одним из важнейших продуктов питания наряду с овощами, фруктами, молочными продуктами и рыбой [120].

Окисление липидов является основной не микробиологической причиной порчи мяса и мясопродуктов. Это сложный процесс, включающий множество механизмов, взаимодействующих друг с другом. Ненасыщенные жирные кислоты вступают в реакцию с молекулярным кислородом по свободнорадикальному механизму [121]. Во время окислительных процессов образуются гидропероксиды, которые подвергаются дальнейшему окислению или разложению с образованием вторичных реакционноспособных продуктов, таких как альдегиды, кетоны, кислоты и спирты. Присутствие этих соединений приводит к снижению качества и срока годности мясных продуктов с точки зрения цвета, вкуса, аромата, текстуры и пищевой ценности [122–126].

Таблица 3 – Плюсы и минусы нетрадиционных методов экстракции растительных АО

Метод экстракции	Принцип действия	Преимущества	Недостатки
Ультразвуковая экстракция (УЗ)	УЗ волны разрушают клеточные стенки, что увеличивает проникновение растворителя в растительный материал и усиливает массоперенос и выход полифенолов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Увеличение выхода экстракции;</li> <li>• Быстрая кинетика;</li> <li>• Недорогое оборудование;</li> <li>• Использование широкого спектра растворителей;</li> <li>• Меньший объем растворителя;</li> <li>• Сокращение времени экстракции</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Разложение фенольных соединений;</li> <li>• Выход полифенолов и кинетика экстракции зависит от характеристик растительного сырья;</li> <li>• Наличие большего количества растительных частиц способствует затуханию УЗ волн и приводит к ограничению активной части УЗ внутри зоны, расположенной вблизи УЗ излучателя</li> </ul>
Микроволновая (МВ) экстракция	Излучение взаимодействует с полярными материалами и вызывает нагрев вблизи поверхности материала. Дипольное вращение молекул разрушает водородные связи; усиление миграции растворенных ионов способствует проникновению растворителя в матрицу	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Значительное сокращение времени;</li> <li>• Меньший объем растворителя;</li> <li>• Увеличение выхода;</li> <li>• Простой и экономичный процесс</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Разложение термочувствительных полифенолов;</li> <li>• Меньший выход неполярных и летучих соединений;</li> <li>• Влияние МВ на выход полифенолов зависит от полярности растворителя;</li> <li>• Вероятность извлечения большого количества балластных веществ</li> </ul>
Ферментативная экстракция	Ферменты разрушают матрикс стенок растительных клеток, что облегчает экстракцию полифенолов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Простая технология</li> <li>• Быстрая экстракция</li> <li>• Увеличивает разрушение клеточной стенки растений</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Применение ферментов в промышленных процессах сопряжено с высокими затратами</li> </ul>
Жидкостная экстракция под давлением и ускоренная экстракция растворителем	Органические растворители при высоких давлениях и температурах (выше их нормальной температуры кипения), повышают диффузионную способность растворителей, что в результате увеличивает кинетику. Высокое давление способствует более быстрому заполнению экстракционных ячеек и проникновению жидкости в твердую матрицу	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Меньший расход растворителя;</li> <li>• Процедура занимает меньше времени</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Не подходит для термолабильных соединений</li> <li>• Высокая температура может оказывать воздействие на структуру и функциональную активность фенольных соединений.</li> </ul>



Продолжение таблицы 3

Метод экстракции	Принцип действия	Преимущества	Недостатки
Сверхкритическая жидкостная экстракция	Отделение одного компонента (экстрагента) от другого (матрицы) с использованием сверхкритических жидкостей в качестве экстрагирующего растворителя	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Быстрая экстракция</li> <li>• Небольшое количество органического растворителя или отсутствие растворителя.</li> <li>• Отсутствие остатков растворителя</li> <li>• Регулируемая плотность растворителя (сверхкритическая жидкость)               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Выборочное извлечение</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Высокая стоимость установки</li> <li>• Требуются технические знания свойств сверхкритической жидкости (например, фазовый режим, область перехода).</li> </ul>
Твердо-жидкостная экстракция	Первоначальная экстракция различными растворителями (метанол, этанол, ацетон) и дальнейшее фракционирование методом жидкостно-жидкостной экстракции (этилацетатом или гексаном) с последующей колоночной хроматографией или твердофазной экстракцией	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Хорошо изученный метод</li> <li>• Большой опыт применения в области добычи полезных ископаемых</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Длительное время экстракции</li> <li>• Большой расход токсичных и легковоспламеняющихся растворителей               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Проблема с испарением</li> <li>• Многократная экстракция</li> </ul> </li> <li>• Трудоемкий, времязатратный и дорогой</li> <li>• После экстракции требуется фильтрация</li> </ul>

При окислении липидов образуются соединения, вызывающие разные заболевания, и стимулирующие процесс старения [127–129]. Мясные белки также чувствительны к окислению. Обнаружено, что пищевые окисленные аминокислоты, такие как дитиозины и  $\alpha$ -аминоадипиновая кислота ( $\alpha$ -АА), нарушают физиологические процессы. Для ингибирования окислительных процессов и сохранения качества мяса и мясных продуктов в условиях длительного хранения требуется усиление антиокислительной защиты [130].

Введение АО в мясо и продукты его переработки является основным способом замедления окисления питательных веществ и продления сроков годности продуктов [122,123]. Антиоксиданты, используемые в пищевой промышленности, можно разделить на натуральные и синтетические. Наиболее широкое применение нашли бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол и трет-бутилгидрохинон [126,131], а также аскорбиновая кислота и токоферол. Хотя натуральные и синтетические антиоксиданты играют важную роль в пищевой промышленности, как наука, так и промышленность в последнее время отдают значительное предпочтение природным антиоксидантам, включая поиск антиоксидантных веществ из природных источников без нежелательных побочных эффектов [131–133]. Эта тенденция объясняется тем фактом, что синтетические антиоксиданты в высоких концентрациях могут оказывать негативное влияние на здоровье [132,134], а также увеличением потребительского спроса на "натуральные" продукты и продукцию "без консервантов" [132].

Растения, овощи, фрукты и их побочные продукты являются богатым источником антиоксидантных соединений, которые, к тому же, обладают превентивными и терапевтическими свойствами [123]. Рекомендуется использование антиоксидантных соединений в виде экстрактов, обладающих лучшей антиоксидантной активностью, чем чистые соединения, благодаря потенциальному синергетическому эффекту [135]. Многочисленными исследованиями показана эффективность использования растительных экстрактов или ингредиентов для замедления окислительных процессов в мясных продуктах. Так, была продемонстрирована эффективность экстракта *Echinacea angustifolia* для снижения окисления липидов и белков в курином мясе [126], замедление перекисного окисления липидов в печеночном паштете за счет добавления эфирных масел шалфея и розмарина [136]. Добавление шалфея к куриному мясу (0,1 г/100 г) способствовало предотвращению и замедлению образования токсичных соединений в результате окисления липидов, ответственных за неприятный вкус и потерю питательных качеств при длительном хранении в морозильной камере [137]. Kim et al. [138] продемонстрировали, что внесение 70% этанольных экстрактов *Pimpinella brachycarpa* и *Aralia elata* в сырые говяжьи котлеты способствовало снижению концентрации продуктов ПОЛ и микроорганизмов, а также улучшению стабильности цвета

мяса в хранении при 4°C в течение 12 дней. В другой работе Das et al. [139] показали, что использование экстракта зрелых листьев *Moringa oleifera* в приготовленных котлетах из козлятины в количестве 100 мг/100 г снижало окислительную порчу продукта в течение большего времени, чем распространенный синтетический АО бутилированный гидрокситолуол.

Помимо мясных продуктов, растительные фенольные соединения из таких источников, как специи, травы, чай, масла, семена, злаки, скорлупа какао, фрукты и овощи, часто используются в качестве натуральных антиоксидантов в пищевых маслах [140,141]. В работе R.M. Vodoira et al. [142] было показано, что коммерческие и растительные АО (смесь токоферола, экстракта розмарина, аскорбилпальмитата и лимонной кислоты) могут быть эффективны для предотвращения окисления масла семян чиа. Также была продемонстрирована возможность использования натуральных АО в виде водных экстрактов фенхеля и ромашки при производстве печенья для придания антиоксидантных свойств продукту [143]. Известно, что природные АО можно использовать для предотвращения изменения цвета в пищевых продуктах, вызванное окислением пигментов. Так, в работе S. Wibowo et al. [144] растительные АО добавляли в свежие фруктовые соки для улучшения стабильности каротиноидных пигментов, а также для защиты и стабилизации аромата. С. Caleja et al. продемонстрировали, что включение экстрактов фенхеля и ромашки в творог позволяет избежать изменения цвета (желтизны) при хранении [145].

Кроме того, доказано положительное физиологическое влияние соединений, обладающих антиоксидантными свойствами [146,147]. На данный момент существует множество технологий создания продуктов животного происхождения с добавлением растительного сырья, которые характеризуются повышенной биологической ценностью и сбалансированным аминокислотным составом [148]. Мясные продукты обогащают ПНЖК, пробиотиками и биологически активными растительными соединениями (антиоксиданты, пищевые волокна) [149,150]. Особенно интересным направлением является изучение АО, полученных из отходов переработки плодоовощной промышленности, что позволяет снизить себестоимость функциональных продуктов питания, а также соответствует принципам экономики замкнутого цикла [68,151]. Недавние исследования показали, что диета, богатая антиоксидантами, защищает людей от дегенеративных заболеваний, таких как рак, диабет, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания, болезни Паркинсона, Альцгеймера, рассеянный склероз и боковой амиотрофический склероз, вызванные окислительным стрессом [152,153]. АО имеют решающее значение для поддержания оптимального клеточного и системного состояния, поскольку являются первой линией защиты от повреждения свободными радикалами [154]. Дегенеративные заболевания оказывают существенное влияние на здоровье, качество и продолжительность жизни. Количество людей, имеющих данные патологии, растет,

на них приходится примерно 60% из 56,5 миллионов зарегистрированных случаев смерти во всем мире [155]. Около половины всех смертей, вызванных хроническими заболеваниями, связаны с сердечно-сосудистыми патологиями, также высокий процент относится к ожирению и диабету, которые сейчас имеют тенденцию к развитию в раннем возрасте [156].

Кроме того, ежедневно современный человек сталкивается с загрязнением окружающей среды, сигаретным дымом, стрессом, болезнями и другими факторами, которые могут влиять на образование СР, что увеличивает потребность в антиоксидантах [154,155]. Продукты питания с функциональными компонентами, могут рассматриваться как способ укрепления здоровья человека и профилактики развития заболеваний [157]. Экстракты растений, содержащие биологически активные вещества (БАВ), на протяжении многих лет используются в качестве функциональных пищевых ингредиентов.

Антиоксиданты из природных источников являются ценными биологически активными соединениями с хорошо продемонстрированным потенциалом использования в пищевой промышленности. Как было показано ранее, сельскохозяйственные отходы представляют собой отличную альтернативу в качестве сырья для получения АО и являются источниками потенциально безопасных натуральных добавок с различной биологической активностью. Растительные экстракты могут быть использованы как в качестве технических вспомогательных средств, так и для разработки функциональных продуктов питания [158]. В контексте экономики замкнутого цикла предпринимаются усилия по использованию природных АО из вторичного растительного сырья.

### 1.3 Методы определения антиоксидантных свойств растительного сырья и продуктов с их содержанием

Исследования по изучению влияния АО на организм человека приобретает с каждым годом все большее значение. Начиная с 60<sup>ых</sup> годов стремительно развивались новые точные методы, позволяющие количественно оценить АО и сравнить несколько образцов друг с другом. Так в 1970 году Simplified A. был предложен простой метод измерения антиоксидантных свойств с использованием колориметра и трубки спектрометра [159]. В статье 1981 года Чурка Е.И. [160] появляется описание сравнительного анализа нескольких АО (каротиноиды, токоферол и лигнин) независимыми методами исследования - вольтамперометрия и хемилюминесценция (ХЛ). Вольтамперометрический метод позволял выделить из смеси наиболее легко окисляемые компоненты и определить их окислительный потенциал. Измерение интенсивности ХЛ люминола (в качестве индикатора) при окислении дает информацию, отражающую общий вклад компонентов, которые могут действовать как ингибиторы радикальных процессов [160]. Широко применяются методы количественного анализа, основанные на фотометрии. В 80<sup>ых</sup> годах появился метод радикала DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), который активно используется в настоящее время с небольшими модификациями [161].

За последние десятилетия количество методов и подходов исследования антиоксидантных свойств моновеществ, экстрактов и продуктов питания значительно увеличилось. Эти методы разнообразны и включают в себя волюмометрические, электрохимические, фотометрические, хемилюминесцентные, флуоресцентные и другие. Каждый из них предоставляет широкий набор результатов, которые важно рассматривать в комплексе, а не по отдельности. Как правило, при оценке АОП индивидуальных соединений или смесей используется способность образца влиять на протекание модельной реакции, чаще всего – свободно-радикальное окисление какого-либо вещества. Кинетика такого процесса контролируется по поглощению кислорода (с помощью методов измерения объема) либо по изменению характеристик реакционной смеси, таких как поглощение электромагнитного излучения, флуоресценция, люминесценция и другие. В некоторых случаях создаются условия для генерации радикалов с постоянной скоростью, например, добавлением инициаторов или химической генерацией радикалов в результате протекания контролируемого химического процесса [162].

В настоящее время существует огромное количество разнообразных методов определения антиоксидантных свойства исследуемого объекта. Однако терминология, методы исследования и выражение полученных данных до сих пор не имеют единого вида, что

затрудняет интерпретацию и сравнение результатов исследований, полученных в разных научных группах [163]. Кроме того, авторы используют разные термины для описания АОП. Так, наиболее популярным термином является «антиоксидантная активность», хотя его использование зависит от выбранных методов исследования. Авторы часто описывают «антиоксидантную активность» (АОА) исследованных образцов, но на самом деле они определяли количество фенольных веществ, например, общее содержание фенольных соединений или флавоноидов, каротиноидов, танинов и других классов АО, используя при этом качественные реакции. Кроме того, зачастую корректнее использовать термин «общая антиоксидантная емкость», что подразумевает общее количество СР, которое способен нейтрализовать антиоксидант, содержащийся в пробе определенного объема, выражая это количество в эквиваленте стандартного АО. При этом АОА характеризует скорость нейтрализации СР или количество СР, которые нейтрализуются в единицу времени [163]. Кроме того, для системного определения антиоксидантных свойств растительных образцов необходимо использовать комплекс методов.

Наиболее многочисленные методы и их модификации, упоминаемые в литературе, используют фотометрическую регистрацию, вероятно, как самую удобную и доступную. Метод Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP), основанный на окислительно-восстановительной реакции получил широкое распространение за счет простоты, дешевизны и автоматизированности [164]. Основной принцип метода заключается в измерении восстановления, связанного в комплекс Fe (III), под действием АО (рисунок 10) [165], которое сопровождается интенсивной синей окраской. Как правило, в качестве источника ионов трехвалентного железа используют хлорид железа (III), а фотометрическим реагентом выступает трипиридилтриазин (TPTZ), который с ионами трехвалентного железа образует комплекс желтого цвета [165]. Известно, что в качестве фотометрического реагента могут быть использованы другие соединения, например, 1,10-фенантролин или 2,2'-дипиридил [166].

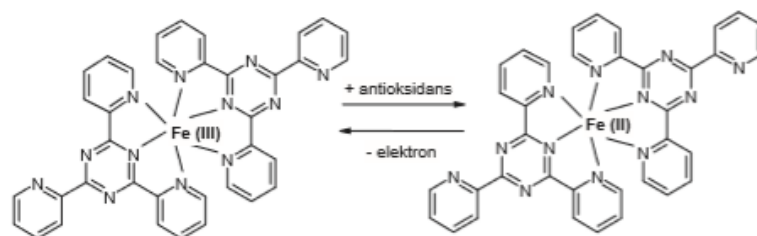


Рисунок 10. Реакция восстановления Fe (III), используемая в методе FRAP

Скорость образования комплекса с двухвалентным железом зависит от количества АО в исследуемом образце, поэтому измерение аналитического сигнала производят после инкубации. Оптическую плотность раствора регистрируют, не дожидаясь установления химического

равновесия [167]. Антиоксидантный потенциал выражают в виде общей антиоксидантной емкости (ОАЕ), которую определяют по градуировочному графику и выражают в эквивалентах моль стандартного антиоксиданта (дигидрокверцетина, аскорбиновой кислоты, кверцетина и др.). Аналогом метода FRAP является метод CUPRAC - Cupric Reducing Antioxidant Power [166,167], который также изучает окислительно-восстановительный процесс. CUPRAC основан на восстановлении заключенной в комплекс двухвалентной меди, под действием АО (рисунок 11) [168], сопровождающийся изменением цвета раствора от светло-голубого до желто-оранжевого. В данном методе в качестве лиганда используется 2,9-диметил-1,10-фенантролин (Neocuproine) [168]. Оптическую плотность пробы регистрируют при 450 нм [167], значения антиоксидантного потенциала определяют аналогично методу FRAP [167,168].

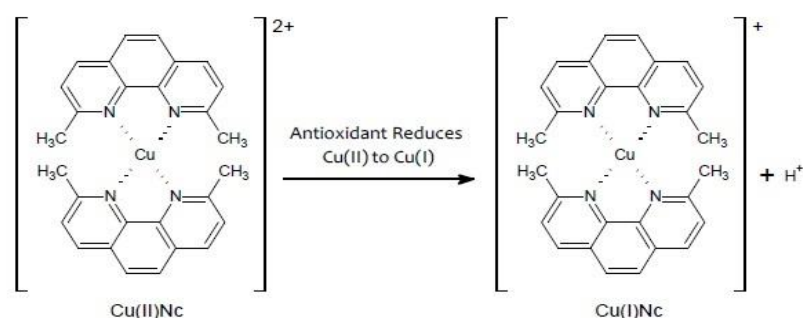


Рисунок 11. Реакция восстановления Cu (II), используемая в методе CUPRAC

Фотометрический метод DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) был разработан для оценки способности соединений нейтрализовать СР и претерпевал различные модификации с 1958 года [169]. DPPH является одним из немногих стабильных органических азотных радикалов, который имеет темно-фиолетовый цвет и не требует генерации перед анализом. Данный метод основан на измерении восстановительной способности антиоксидантов (АН на рисунке 12) в отношении хромогенного радикала (DPPH<sup>•</sup>) [170], что сопровождается появлением желтого цвета [169]. Данный анализ является простым и быстрым, что вероятно, объясняет его широкое использование в скрининге АОП [170]. Известно, что за счет стабильности радикала DPPH, возможно применять его для скринингового исследования антиоксидантных свойств определенных фракций соединений, которые предварительно были разделены методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) [171].

Еще одним распространенным методом оценки АОП является метод радикала ABTS (2,2'-азино-бис-3-этилбензотиазолин-6-сульфоная кислота), который также является спектрофотометрическим. В ходе реакции ABTS с персульфатом калия образуется стабильный СР сине-зеленого цвета, оптическая плотность которого снижается при взаимодействии с АО. Полученные результаты выражают в эквиваленте Trolox. Кроме того, известны модификации данного метода путем сочетания ABTS с DPPH для измерения АОП антоцианов [32].

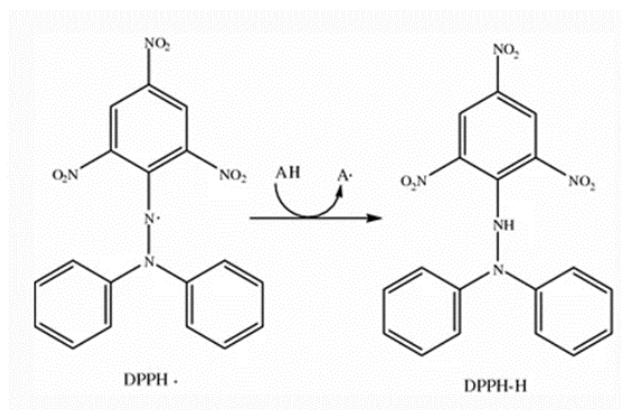


Рисунок 12. Реакция восстановления радикала DPPH антиоксидантами

Стоит отметить, что в зависимости от используемой модификации метода FRAP, CUPRAC, DPPH и ABTS полученные данные могут быть выражены как ОАЕ в эквивалентах стандартного антиоксиданта, или как активность, например, в виде концентрации АО полумаксимального ингибирования (IC50).

Метод хемилюминесценции позволяет определить антиоксидантную активность образцов. Хемилюминесценцией называют свечение какого-либо объекта, вызванное химическим воздействием, или, в ходе химической реакции, за счет образования возбуждённой молекулы и высвобождение фотона [172]. ХЛ позволяет охарактеризовать соединение, обладающее антиокислительными свойствами, двумя независимыми параметрами – общей антиоксидантной емкостью и антиоксидантной активностью. Таким образом ХЛ позволяет оценить действие АО качественными и количественными характеристиками. Метод ХЛ основан на регистрации интенсивности хемилюминесценции в системе, генерирующей свободные радикалы, в присутствии антиоксидантов и их отсутствии. При добавлении АО изменяется интенсивность и кинетика свечения за счет изменения количества СР, которая существенно различается в зависимости от группы соединений, выступающих в роли антиоксидантов [172,173]. Все соединения имеют разную активность и, следовательно, существуют «сильные», «средние» и «слабые» АО. Сильные ингибируют СР с достаточно большой скоростью и полностью подавляют хемилюминесценцию, поэтому они демонстрируют максимальный эффект, однако чрезвычайно быстро расходуются. В свою очередь, слабые АО подавляют СР достаточно медленно и лишь частично подавляют свечение. Поэтому лишь в больших концентрациях такие АО проявляют значимый эффект, при этом они медленно расходуются и имеют более длительное время действия. Средними АО принято считать соединения, скорость взаимодействия со СР ниже, чем у сильных, однако, их эффект более длительный, но уступает слабым [173]. До сих пор нет обоснования данным эффектам, что вызывает крайне высокий интерес исследователей к интерпретации результатов измерения ХЛ.



К настоящему времени, наиболее популярная модификация ХЛ основана на использовании в качестве инициатора свечения люминола [173]. В качестве источника радикалов выступает ряд систем, таких как пероксидаза хрена – перекись водорода, цитохром с – кардиолипин – пероксид водорода, гемин – пероксид водорода [173]. Также используют в качестве источника 2,2'-азобис(2-амидино-пропан) дигидрохлорид (AAPH), который способен генерировать радикалы в соответствии с термической реакцией. При взаимодействии люминола с гидроксид-ионами, образуется дианион, который участвует в реакции с кислородом. В результате данного процесса образуется нестабильный дирадикал, который распадается с образованием азота и молекулы 3-аминофталевой кислоты в возбуждённом электронном состоянии. При возвращении молекулы в основное состояние, выделяется фотон [173,174].

Главным представителем флуоресцентных методов является ORAC - Oxygen Radical Absorbance Capacity, который крайне широко распространен для оценки антиоксидантного потенциала продуктов питания и напитков. Он основан на определении абсорбционной емкости АО по отношению к кислородным радикалам ( $\text{ROO}\cdot$  и  $\text{RO}\cdot$ ). Основной принцип метода заключается в измерении изменения интенсивности флуоресценции в зависимости от времени протекания реакции и позволяет определить количественное содержание АО, то есть ОАЕ. Обычно, в качестве флуоресцирующего вещества используют флуоресцеин натрия, обладающий достаточно стабильной флуоресценцией [175].

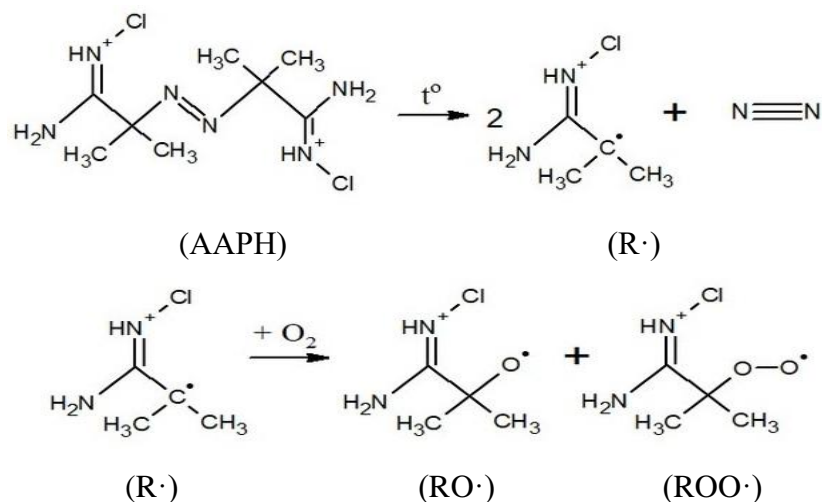


Рисунок 13. Образование свободных радикалов путем иницирования AAPH

Источником CP, в соответствии с термической реакцией (рисунок 13), является вещество 2,2'-азобис(2-амидино-пропан) дигидрохлорид. Образовавшиеся CP, воздействуя на флуоресцеин натрия, уменьшают свечение [176]. При добавлении АО (в чистом виде или исследуемый образец, содержащий смесь антиоксидантов) гашение свечения уменьшается. Данный процесс объясняется способностью антиоксидантов инактивировать CP, переводя их в менее активные молекулы. ОАЕ также рассчитывают по градуировочному графику и выражают в эквивалентах стандартного АО, чаще в эквивалентах Trolox. Распространенность и

стандартизация данного метода позволяет сравнивать широкий спектр соединений и экстрактов из разных источников.

Перечисленные методы достаточно давно разработаны и в настоящее время активно используются во многих лабораториях. Однако в зарубежной литературе чаще встречаются новые подходы к выбору методов исследования антиоксидантного потенциала, основываясь на механизме нейтрализации СР антиоксидантами. В настоящее время для определения АО, действующих по механизму НАТ, используют такие методы, как ORAC, а также определение ОАЕ с помощью хемилюминесценции. Для учета АО, действующих по механизму SET, используют такие методы, как FRAP или CUPRAC [177]. Следует отметить, что существует и третья группа методов, таких как DPPH и ABTS, которые используют одновременно оба механизма. Это связано с тем, что радикалы, используемые в данных методиках, можно нейтрализовать либо путем передачи электронов, либо радикального тушения, которое связано с переносом водорода [177].

К настоящему времени существует огромное количество методов оценки антиоксидантного потенциала растительного сырья, которые выбирают в зависимости от цели исследования и условий лаборатории. Отмечается, что применение современных методологий, а также проведение анализа несколькими методами, позволяет не только достаточно детально охарактеризовать силу и природу действия АО в комплексной смеси, но и сравнить аналогичные результаты для другого растительного сырья.

Многочисленные исследования показали, что растительное сырье содержит десятки различных химических соединений, которые вносят вклад в общую антиоксидантную емкость их экстрактов, поэтому возникает необходимость использования не только количественного, но и качественного анализа. Первым этапом изучения качественного состава растительного сырья целесообразно начинать с классического скрининга на наличие наиболее распространенных классов АО, например, с использованием реакций, представленных в таблице 4 [178]. Для изучения количественного состава растительных экстрактов используют усовершенствованные методы, основанные на качественных химических реакциях. Так, одним из самых простых и широко распространенных является метод Фолина-Чокальтеу, который позволяет определить общую концентрацию фенольных АО. Он не дает информации о классах соединений и об их структуре, однако, применяется в современных лабораториях в качестве быстрого проверенного метода. Основной его принцип заключается в окислении полифенольных соединений реактивом Фолина-Чокальтеу, который состоит из смеси фосфорно-вольфрамовой ( $H_7[P(W_2O_7)_6]$ ) и фосфорно-молибденовой ( $H_7[P(Mo_2O_7)_8]$ ) кислот. В ходе взаимодействия полифенолов с компонентами реактива, они восстанавливаются в окиси вольфрама ( $W_8O_{23}$ ) и молибдена ( $Mo_8O_{23}$ ), приобретая голубой цвет [179–181]. Также существуют методы,

позволяющие установить концентрацию определенных соединений, или класса веществ, используя качественные реакции, например, методики измерения количества витамина С, витамина Е, танинов, алколоидов, терпеноидов и др. [182].

Таблица 4 - Перечень качественных реакций для определения различных классов АО

Определяемый класс АО	Качественная реакция	Признак положительной реакции
Антоцианы	1-2 мл образца +20 мкл $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (2 М)	зеленое окрашивание
	1-2 мл образца +20 мкл $\text{H}_2\text{SO}_4$ (2 М)	розово-красное окрашивание
Каротиноиды	1 мл образца +20 мкл $\text{H}_2\text{SO}_4$ (конц.)	темно-синее окрашивание
Кумарины	1 мл образца +200 мкл $\text{NaOH}$ (10%) → (1)	пожелтение (изменение цвета) раствора
	(1) + дистиллированная вода → (2)	обесцвечивание раствора
	(2) + $\text{HCl}$ (10%)	помутнение / выпадение осадка
Фенолы	1-2 мл образца +100 мкл $\text{FeCl}_3$ (1%)	фиолетовое окрашивание
Флавоноиды	1-2 мл образца +100 мкл $\text{FeCl}_3$ (1%)	Зеленое окрашивание
Таннины	1-2 мл образца +100 мкл $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (4,4%)	потемнение раствора

Детальное представление о качественном составе растительных экстрактов позволяют сформировать такие методы, как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография (ГХ), которые в современных лабораториях оснащены масс-детекторами (МС), и тонкослойная хроматография. Данные методы основаны на циклических актах сорбции-десорбции, происходящих между подвижной фазой (элюентом) с растворенной пробой и неподвижным сорбентом. Использование аналитических стандартов целевых АО позволяет определить их количественное содержание в исследуемом образце.

В изучении антиоксидантного потенциала растительных объектов важной составляющей является определение не только количественного и качественного состава, но и влияние компонентов на живую систему. Так, существуют методы определения антиоксидантной активности образцов на клетки организма, путем добавления тяжелых металлов или свободных радикалов, которые способны провоцировать образование окислительного стресса [183]. Одной из модификаций таких исследований является использование производных флуоресцеина в качестве красителя, интенсивность свечения которых уменьшается в зависимости от количества СР. Для определения антиоксидантной активности, в систему добавляют образец, который, при наличии АО, способен нейтрализовать реакционные частицы и тем самым продлевать свечение красителя [184]. Полученные результаты выражают либо в проценте ингибирования свободно-радикального окисления или клеточной антиоксидантной активности (КАА) или в пересчете на стандартный антиоксидант. В качестве таких тест-систем могут выступать различные стандартизированные клеточные культуры, применение которых для изучения

антиоксидантной активности интенсивно развивается в современной лабораторной практике последние 15 лет [185].

Результаты, которые позволяют получить исследования на клетках, дают возможность оценить антиоксидантную активность растительных экстрактов, однако они не могут охарактеризовать влияние экзогенных АО на всю АОС организма, которая представляет собой совокупность нескольких показателей. Известно, что состояние и изменение антиоксидантной системы описывают ферментативные и неферментативные АО. Выделяют ряд показателей, которые наиболее часто измеряют в качестве маркеров состояния АОС. В свежей гепаринизированной крови определяют концентрацию восстановленного глутатиона как основного низкомолекулярного эндогенного неферментативного АО, например по методу с использованием реагента Элмана [186]. Измеряют активность SOD как основного антиоксидантного фермента, способного дисмутировать супероксид ( $O_2^-$ ), и CAT, отвечающую за расщепление перекиси водорода и разрушение многих АФК. Также могут быть определены активности GR, GP или GST для более детального изучения состояния глутатионовой компоненты АОС. Известно, что концентрация малонового диальдегида (МДА) в плазме крови или органах характеризует интенсивность ПОЛ, которое усиливается при окислительном стрессе. Классическое определение МДА основано на его способности взаимодействовать с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием комплекса активных продуктов (ТБК-АП), имеющего розовый цвет. Накопление ТБК-АП в тканях является одним из показателей нарушения окислительно-восстановительного состояния и является методом раннего выявления метаболических нарушений в организме [187]. Также отмечается важность оценки ОАЕ плазмы, в частности методом FRAP, позволяющим изучить вклад АО, нейтрализующих СР путем передачи электрона, к которым в том числе относятся низкомолекулярные внутриклеточные белки.

## 1.4 Заключение по обзору литературы

Интерес к антиоксидантам стремительно растет больше 20 лет, что обусловлено широким спектром их биологических эффектов, к которым относятся снижение риска развития нейродегенеративных и сердечно-сосудистых заболеваний, рака и сахарного диабета, а также проявление противодиабетических, антибактериальных, противовирусных, антиаллергенных, противовоспалительных свойств. В пищевой промышленности антиоксиданты активнее используются не только как технологические вспомогательные средства, но и в качестве ингредиентов для придания продуктам питания функциональных и специализированных свойств. Кроме того, в последнее время стремительно увеличивается спрос на «натуральные» продукты и товары «без консервантов». Особый научный и коммерческий интерес представляют вторичные источники растительных антиоксидантов, эффективная переработка которых позволяет получить функциональные ингредиенты для пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Ежегодно при переработке репчатого лука (*Allium cepa L*) образуется более 550 000 тонн растительного вторичного сырья, богатого кверцетином, его гликозидами и другими флавоноидами. Разнообразие растительного вторичного сырья велико, а классификации, терминология, подходы и методы оценки их антиоксидантного потенциала остаются разрозненными в зависимости от арсенала той или иной исследовательской лаборатории. На основе аналитических данных были изучены и систематизированы современные методы комплексного изучения антиоксидантного потенциала образцов растительного происхождения (рисунок 14).

Антиоксиданты имеют различные химические структуры, что обуславливает их механизмы действия, поэтому они могут быть эффективны в нейтрализации одного класса свободных радикалов и одновременно проявлять слабые свойства в отношении других. В связи с этим, первый этап работы (I) по определению антиоксидантного потенциала рекомендуется измерять общую антиоксидантную емкость по разным механизмов действия с использованием любых возможных методов. Параллельно с измерением общей антиоксидантной емкости целесообразно начинать изучение химического состава сырья (I / II). Литературные данные дают информацию о преобладании некоторых классов антиоксидантов или определенных соединений, однако, состав растительных образцов зависит от множества факторов, что влияет на вариабельность и изменчивость их химического состава и биологических свойств. Перед использованием сложных дорогостоящих аналитических методов идентификации качественного состава, рекомендуется, проводить простой химический скрининг для подтверждения наличия предполагаемых классов АО или выявления новых, а также измерить количество этих классов, используя классические колориметрические методы. По завершении

изучения ОАЕ и идентификации качественно-количественного состава образца можно прогнозировать перспективность и целесообразность использования объекта для выбранных целей.

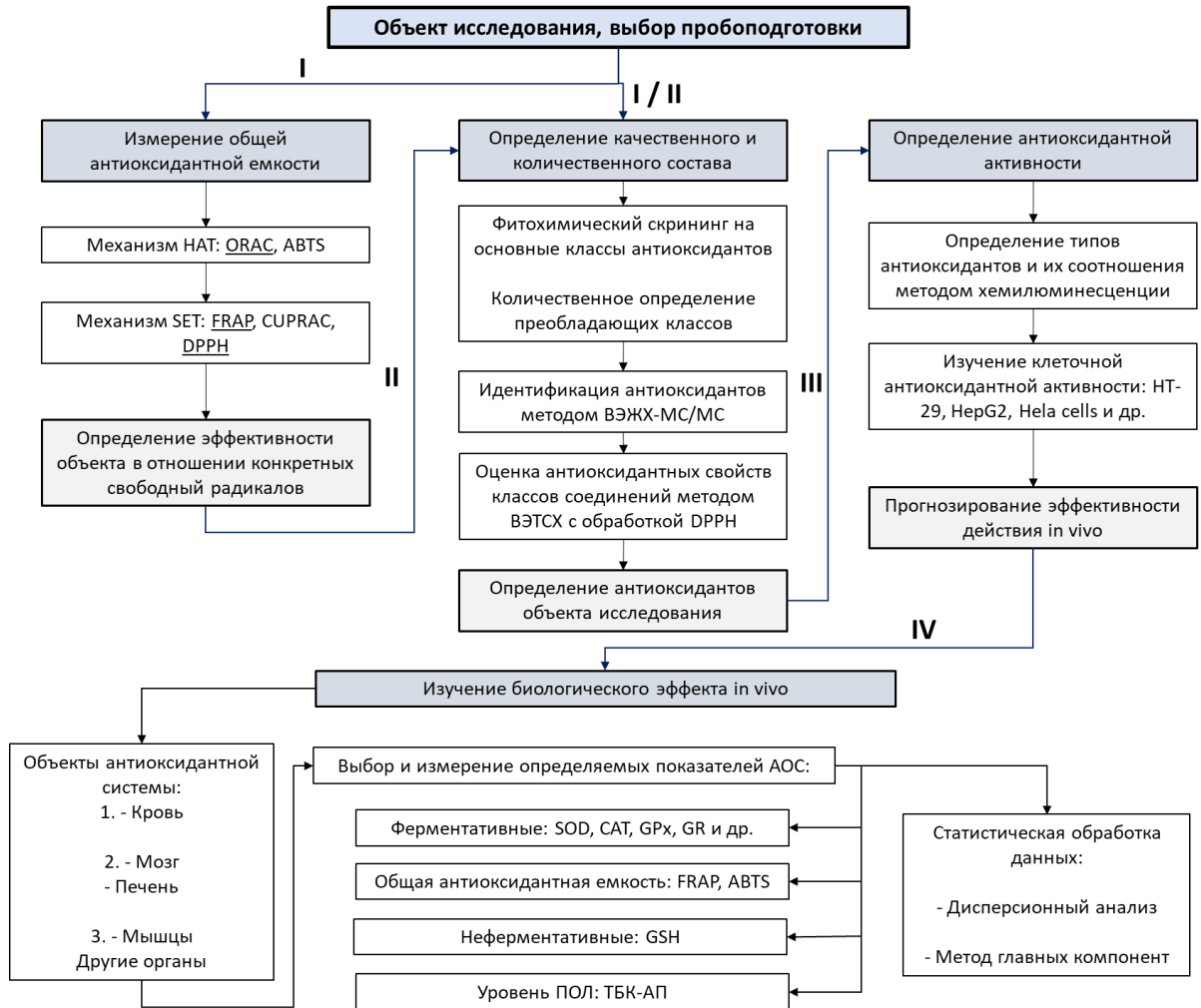


Рисунок 14. Методологический подход к изучению антиоксидантного потенциала растительного сырья на основе систематизированных литературных данных

Следующим этапом работы (III) является определение антиоксидантной активности исследуемого образца, что является важным и незаменимым промежуточным этапом перед дорогостоящими и длительными *in vivo* исследованиями. Метод хемилюминесценции позволяет определить типы АО, входящих в исследуемое сырье, и их соотношение, а также изучить характер взаимодействия АО со свободными радикалами. Отмечалось, что метод ХЛ коррелирует с показателями клеточной антиоксидантной активностью и может быть использован для сужения выборки объектов исследования. Определение КАА *in vivo* наиболее важный показатель, так как он позволяет оценить АОА с учетом биодоступности антиоксидантов. В методе КАА допускается использовать различные доступные стандартные клеточные культуры. Данный этап работы является обязательным и крайне информативным, так как количество антиоксидантов и их ОАЕ не прямо пропорционально их активности. Кроме

того, сбалансированность типов АО является важной характеристикой при прогнозировании свойств сырья, так как это обуславливает пролонгированный эффект АО в мясных продуктах при использовании их в качестве технического вспомогательного средства, а также длительный терапевтический эффект на организм. Результаты III блока исследований позволяют существенно сократить список потенциальных источников АО, спрогнозировать их биологические свойства, а также подобрать узкий спектр специфичных методов анализа для оценки эффективности и сохранности антиоксидантных свойств при разработке продуктов питания или биологически активных добавок.

На заключительном этапе (IV) работы целесообразно проводить исследования *in vivo*. Расчет дозировок антиоксидантов должен осуществляться в соответствии с существующими в стране нормативными документами. В России это Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)», где указаны адекватные и предельные уровни потребления различных классов антиоксидантов. При планировании эксперимента модель исследования определяется в зависимости от целей и предполагаемого биологического эффекта изучаемого сырья, а также нормативных актов, предусмотренных в стране.

Ключевым этапом оценки антиоксидантного эффекта является вывод животных из эксперимента и последующие исследования. Помимо традиционного изучения состояния антиоксидантной системы крови, имеет смысл определять показатели АОС в органах и тканях, выбор которых также обуславливается моделью и целями эксперимента. Причем ключевыми являются печень и мозг, так как данные органы первоочередное реагируют на поступление АО.

Состояние АОС можно определять по уровню общей антиоксидантной емкости, перекисного окисления липидов и показателям ферментативной и неферментативной составляющих. Концентрация восстановленного глутатиона считается одним из базовых показателей, так как глутатион является основным неферментативным эндогенным АО, а в комплексе с определением активностей глутатионпероксидазы или глутатионредуктазы, можно оценить состояние глутатионовой АОС. Важно отметить, что по результатам исследования показателей АОС зачастую отмечаются тенденции к изменению маркеров или наблюдаются сложно объяснимые корреляции изменчивости показателей. В данном случае важным этапом для изучения влияния АО на организм и понимания их механизма действия *in vivo* является применение современных методов статистического анализа, в частности метода главных компонент (РСА) или кластерный анализ. РСА позволяет обнаружить взаимосвязь изменчивости показателей и их взаимодействие друг с другом, что делает возможным понимание и описание динамических изменений, связав их, например, с классическими показателями клинического и биохимического анализа крови.

## ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Объекты исследования

В соответствии с целью и задачами работы объектами исследования являлись:

1. Шелуха красного, желтого и белого репчатого лука; зелень сушеная «Базилик» и «Розмарин». Для проведения исследований растительные образцы приобретали в сети магазинов «ВкусВилл», из которых готовили водные и этанольные экстракты.

2. Модельные мясные паштеты и изготовленные в соответствии с рецептурой паштета «Говяжий» категории А по ГОСТ Р 55334 [188] без и с добавлением 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого репчатого лука (ЭШЛ).

3. Лабораторные животные (крысы-самцы стока *Wistar*), потреблявшие общевиварный рацион, экстракт шелухи желтого репчатого лука или паштеты с и без его внесения. Биологический материал (кровь, плазма и сыворотка крови, печень, мозг, почка, мышцы (*M. longissimus dorsi* и *M. Femoris*), полученный от животных.



## 2.2 Организация эксперимента

Для достижения цели и решения поставленных задач был составлен план проведения экспериментальных исследований, которые проводились в Экспериментальной клинике-лаборатории биологически активных веществ животного происхождения, отделе Научно-прикладных и технологических разработок, Испытательном центре ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, лаборатории гигиены производства и микробиологии, АО «Губкинский мясокомбинат».

В работе использовали стандартные химические, физико-химические, гистологические, микробиологические, органолептические, биохимические, гематологические, электрофоретические и хроматомасс-спектрометрические методы исследований для определения показателей качества и безопасности объектов исследования. Для изучения антиоксидантного потенциала и биологического эффекта растительного сырья были выбраны методы исследования (подчеркнутые) в соответствии со схемой систематизированных методов, представленной на рисунке 14. Работа была проведена поэтапно согласно схеме организации исследований, представленной на рисунке 15.

Теоретический этап работы включал в себя анализ отечественной и зарубежной научно-технической литературы об использовании классических и альтернативных источников растительных АО в качестве биологически активных добавок, функциональных пищевых ингредиентов и технологических вспомогательных средств для разработки различных продуктов питания антиоксидантного действия. Так же были описаны, выбраны и обоснованы существующие методы и подходы к определению антиоксидантного потенциала растительного сырья, включая изучение антиоксидантной активности *in vivo*. Отходы переработки репчатого лука были выбрана в качестве объекта исследования.

Начальный этап экспериментальной работы включал определение общих антиоксидантных емкостей в отношении кислородосодержащих свободных радикалов (ORAC) и способности восстанавливать ионы переходных металлов (FRAP) водных и этанольных экстрактов шелухи красного, желтого и белого лука репчатого, сухих базилика и розмарина. Далее методом UPLC-ESI-Q-TOF-MS были идентифицированы основные антиоксиданты шелухи лука, установлено соотношение типов АО по силе действия методом хемилюминесценции и определена клеточная антиоксидантная активность этанольных экстрактов шелухи трех видов лука. Проведены эксперименты по изучению сохранности общей антиоксидантной емкости методами ORAC, FRAP и DPPH (общая антиоксидантная емкость в отношении азотсодержащих CP 70% водно-этанольного экстракта шелухи лука репчатого, изучены его показатели безопасности. По результатам данного этапа работы была научно

обоснована перспективность использования этанольного экстракта шелухи желтого репчатого лука в качестве источника растительных АО при производстве мясного паштета.

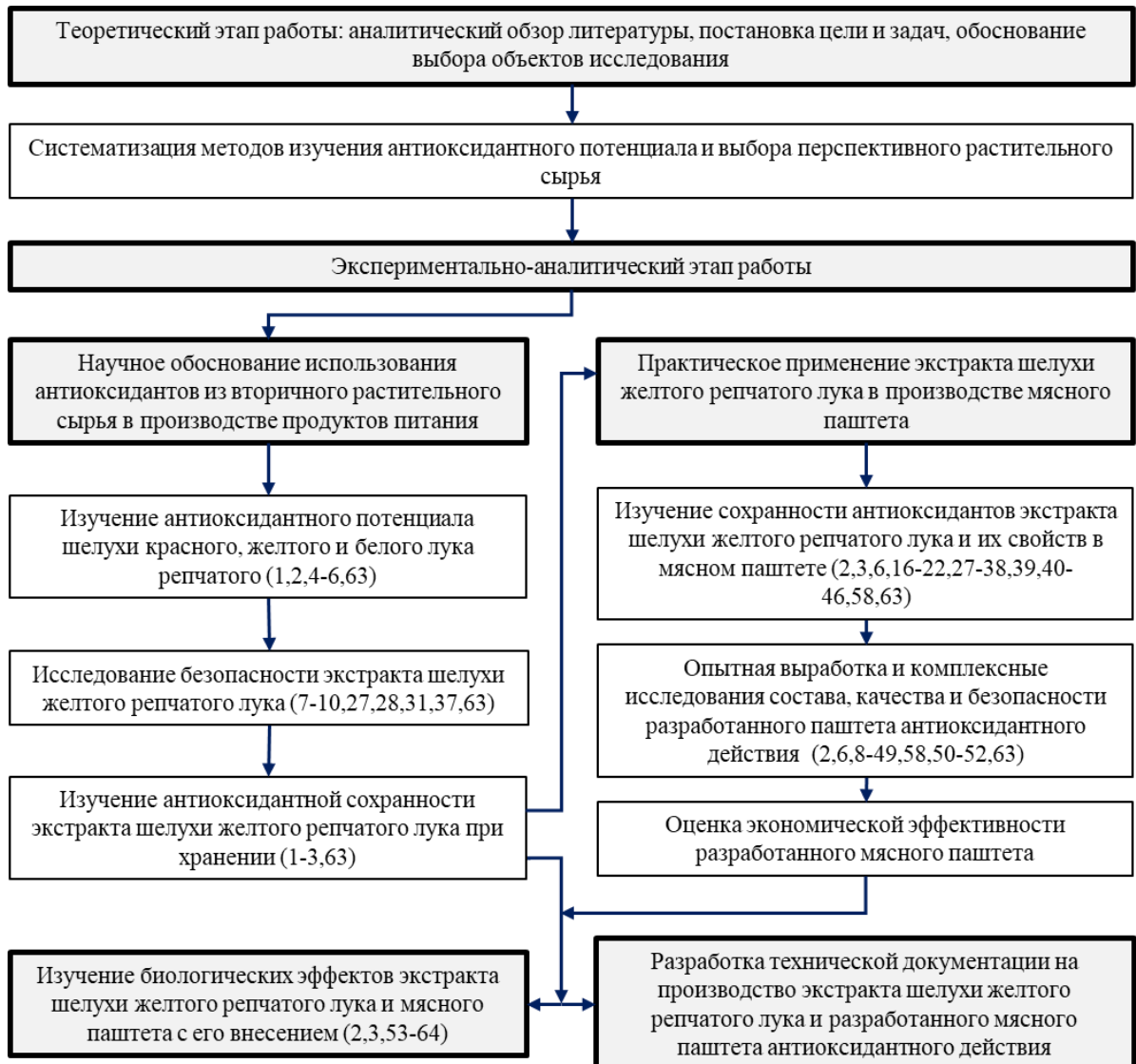


Рисунок 15 – Схема организации исследования,

где 1-6 – методы определения АОП и качественного состава; определение концентраций 7 – пестицидов, 8-13 – элементов, 14-15 – витаминов; определение массовых долей 16 – углеводов, 17 – влаги, 18 – жира, 19 – белка, 20 – хлоридов, 21 – золы, 22 – крахмала, 23 – жирно-кислотный состав; 24-26 – аминокислотный состав; 27-38 – микробиологические показатели; 39 – определение этанола; 40-45 – показатели окислительной порчи; 46 – органолептические показатели; 47 – одномерный электрофорез; 48 – определение сроков годности; 49 – оценка биологической ценности белка и продукта; 50-52 – изучение переваримости *in vitro*; 53-62 – изучение действия ЭШЛ и разработанного паштета с и без его добавления *in vivo*; 63,64 – статистическая обработка.

Следующим этапом работы являлось изучение возможности применения экстракта шелухи лука в рецептуре мясного паштета. Изучена сохранность АО шелухи лука и их антиоксидантных свойств при внесении в мясной паштет и в процессе переваримости по протоколу Покровского-Ертанова. Определено влияние экстракта на элементный состав, показатели микробиологической и окислительной порчи мясных паштетов при внесении

разных объемов экстракта при хранении. Подобрано оптимальное количество внесения экстракта, осуществлена опытная выработка, проведены комплексные исследования состава, качества и безопасности разработанного паштета антиоксидантного действия. Установлены сроки годности и рассчитана экономическая эффективность от использования экстракта шелухи лука для обогащения мясного продукта растительными АО.

Следующим этапом работы являлось изучение влияния экстракта шелухи желтого лука репчатого и мясных паштетов с и без его внесения *in vivo*. Определяли показатели общего состояния организма и антиоксидантной системы плазмы крови, органов и мышц лабораторных грызунов. Методом главных компонент была проведена оценка взаимосвязи изменчивости показателей состояния организма и антиоксидантной системы.

Финальным этапом работы являлась разработка технической документации (ТИ и ТУ) по производству этанольного экстракта шелухи желтого лука репчатого и мясного паштета антиоксидантного действия.

## 2.3 Методы исследований

### 2.3.1 Методы оценки антиоксидантного потенциала

Растительные экстракты готовили следующим образом: измельченный образец (размер частиц менее 5 мм) смешивали с 70% водно-этанольным раствором (далее по тесту этанольный или спиртовой) или дистиллированной водой  $t=98\pm 2^\circ\text{C}$  (далее по тексту водный) в соотношении 1:15 (г:мл), настаивали при  $22\pm 2^\circ\text{C}$  в течение 24 ч или 15 мин, соответственно. Затем экстракты фильтровали через фильтровальную бумагу для количественных анализов с массовой долей золы до 0,03% (ФБ-III, ГОСТ 12026) [189]. Этанольные экстракты хранили при  $4^\circ\text{C}$  в темноте, водные хранили не более 3-х дней при  $4^\circ\text{C}$ .

Для определения ОАЕ и концентрации ТБК-АП в мясных паштетах, готовили этанольные и фосфатные экстракты, соответственно. Среднюю пробу экспериментального образца смешивали с 96% этанолом или 50 мМ фосфатным буфером (рН 7,0) в соотношении 1:5 (г:мл), гомогенизировали с помощью ручного гомогенизатора S10 (Stegler, Китай) в течение 2 мин при 9000 об/мин. Этанольные экстракты настаивали в течение 60 мин при  $22\pm 2^\circ\text{C}$ . Все экстракты центрифугировали в течение 5 мин при  $4^\circ\text{C}$  при 10000 об/мин на центрифуге Eppendorf 5427 R (Германия) и хранили при минус  $40^\circ\text{C}$ .

*Определение общей антиоксидантной емкости методом Oxygen Radical Absorbance Capacity (ОАЕ<sub>ORAC</sub>)* проводили с использованием флуорометра-люминометра Fluoroskan Ascent FL (TermoLabsystems, Finland), черных 96-луночных планшетов (Greiner Bio-one, Germany) и защитных пленок (SSIbio, USA). Для измерения ОАЕ в каждую лунку вносили 30 мкл образца, стандартного антиоксиданта для построения градуировочного графика или 75 мМ фосфатного буфера (рН 7,4) в качестве холостой пробы. Затем добавляли 200 мкл 0,5 мкМ свежеприготовленного флуоресцеина натрия (Sigma-aldrich, USA), закрывали планшет пленкой и помещали в прибор для инкубации в течение 30 мин при  $37^\circ\text{C}$ , по истечении которой в каждую лунку добавляли 30 мкл 153 мкМ ААРН (2,2'-Azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride, Aldrich Chemistry, USA). Измерения интенсивности флуоресценции проводили при  $37^\circ\text{C}$  в течение 60 мин с интервалом считывания 5 мин, при этом длины волн возбуждения и эмиссии составили 485 нм и 535 нм, соответственно. В качестве стандартных антиоксидантов использовали Trolox (Sigma-Aldrich, Switzerland) в диапазоне концентраций 5-75 мкМ или кверцетина (Sigma-aldrich, India) в диапазоне концентраций 2-14 мкМ. Растительные экстракты разбавляли фосфатным буфером. ОАЕ образцов считали по градуировочному графику и выражали в ммоль-экв. кверцетина / л экстракта или в мкмоль-экв. кверцетина / г сырья или в мкмоль-экв. Trolox / г сырья.

*Определение общей антиоксидантной емкости методом Ferric Reducing Antioxidant Power (OAE<sub>FRAP</sub>)* проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). Изначально готовили реактив FRAP: в емкости в соотношениях 10:1:1 смешивали 0,3 М ацетатный буфер (рН 3,6), 10 мМ раствор фотометрического реагента – ТРТЗ (BLDpharm, China) и 20 мМ водный раствор хлорида железа (III) (PanReac AppliChem, Spain), соответственно. ТРТЗ растворяли в 40 мМ соляной кислоте. Для измерения ОАЕ в стеклянную пробирку вносили 1,45 мл FRAP и 50 мкл образца, стандартного антиоксиданта или дистиллированной воды для измерения холостой пробы. Растительные экстракты предварительно разбавляли дистиллированной водой. Реакционную смесь инкубировали в течение 30 мин при 37±0,5°С в темноте, затем регистрировали оптическую плотность при длине волны 594 нм. ОАЕ образцов считали по градуировочному графику, для построения которого использовали кверцетин (Sigma-aldrich, India) в диапазоне концентраций 140 мкМ – 300 мкМ, и выражали в ммоль-экв. кверцетина / л экстракта или в мкмоль-экв. кв. / г растительного сырья или в мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта в случае мясных паштетов.

*Определение общей антиоксидантной емкости методом радикала DPPH (OAE<sub>DPPH</sub>)* проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). В посуде из темного стекла готовили стоковый 1 мМ этанольный раствор радикала DPPH (Santa Cruz Biotechnology, USA), который настаивали в темноте при температуре 22±2°С в течение 12 часов. Перед измерением готовили рабочий раствор DPPH с концентрацией 100 мкМ, оптическая плотность которого составляла 1,10±0,15 оптических единиц. Для определения ОАЕ этанольных экстрактов шелухи лука и паштета в стеклянные пробирки вносили 1,52 мл рабочего раствора DPPH и 80 мкл образца или 96% этилового спирта в качестве холостой пробы или кверцетина в концентрациях 100-250 мкМ для построения калибровочного графика. Реакционную смесь энергично встряхивали и инкубировали в темноте при 22±2°С в течение 30 мин. Измерение оптической плотности растворов проводили в кюветах с расстоянием между рабочими гранями 1 см при длине волны 517 нм. Измерения для каждого образца проводили в четырех повторях. ОАЕ рассчитывали по калибровочному графику ( $R^2 \geq 0,9957$ ) по уравнению 1 и выражали в ммоль-экв. кверцетина/л экстракта шелухи лука или в мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта.

$$OAE_{DPPH} = \frac{\left(\frac{D_x - D_o}{D_x}\right) * 100\% - 4,6904}{0,3081} \quad (1)$$

где  $D_x$  – оптическая плотность холостой пробы;  $D_o$  – оптическая плотность образца; 4,6904 (b) и 0,3091 (a) – коэффициенты, полученные из линейного уравнения калибровочного графика.

Процент сохранности ОАЕ в экстрактах шелухи лука репчатого в процессе хранения рассчитывали, принимая за 100% значения ОАЕ в день приготовления (0 сутки).

Потери ОАЕ экстракта при внесении его в мясной паштет определяли по формуле 2, принимая за 100% значение ОАЕ, которым характеризовался объем экстракта шелухи лука, вносимый в паштет в соответствии с рецептурой (расчетная ОАЕ).

$$\text{потери ОАЕ} = 100\% - \left( \frac{\Delta(O-K) \cdot 100}{\text{ОАЕ}_{\text{рас}}} \right) \quad (2)$$

где  $\Delta(O-K)$  – разница показателей ОАЕ опытного и контрольного мясного паштета;  $\text{ОАЕ}_{\text{рас}}$  – расчетное значение ОАЕ опытного паштета.

*Количественное определение антиоксидантов методом UPLC-ESI-Q-TOF-MS* проводили на UHPLC 1290 Infinity system (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) по методике [190] в собственной модификации [191]. Анализ проводили с использованием аналитической колонки Luna Omega C18 (2.1 мм × 50 мм, размер частиц 1.6 мкм, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA).

Элюирование проводили в подвижной фазе, состоящей из растворителя А (0,1% v/v муравьиной кислоты (Sigma Aldrich, USA) в деионизированной воде) и растворителя Б (0,1% v/v муравьиной кислоты в 100% ацетонитриле (Sigma Aldrich, США)). Объем впрыска образца составлял 5 мкл, температура колонки была постоянной и составляла 60°C. Хроматографию проводили в линейном градиенте растворителя Б: 0% растворителя Б в течение 2 мин, переход от 0% к 85% растворителя Б в течение 8 мин и 85% растворителя Б в течение 2 мин. Общее время анализа составило 15 мин. Для создания ионной воронки высокого давления использовали Agilent 6545XT AdvanceBio LC/QTOF (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), настроенный на режим положительной ионизации. Напряжение на капилляре составляло 4500 В; напряжение на форсунке составляло 2000 В; расход осушающего газа составлял 8 л/мин при температуре 325°C; поток газа через корпус был установлен на скорости 12 л/мин и температуре 275°C; давление в атомизаторе составляло 30 psi при высокой частоте (RF) 175 В. Для идентификации соединений использовали метод MS-фрагментации с программным обеспечением MSDIAL (версия 5.1.221218, RIKEN CSRS, Yokohama City, Japan) [192]. Количественное содержание фенольных соединений определяли по калибровочному графику, для построения которого использовали кверцетин (кв., Sigma-aldrich, India) в диапазоне концентраций 1-1000 нг/мл [99] и выражали в мкг-экв. кв./ мл ЭШЛ или мкг-экв. кв. / 100 г продукта.

*Процент сохранности антиоксидантов и общего количества фенольных соединений* экстракта шелухи лука репчатого при внесении его в мясной паштет определяли по формуле 3, принимая за 100% значение концентрации, которое содержалось в объеме экстракта шелухи лука, вносимом в паштет в соответствии с рецептурой (расчетная концентрация).

$$\% \text{ сохранности} = 100\% - \left( \frac{\Delta(O-K) \cdot 100}{C_{\text{рас}}} \right) \quad (3)$$

где  $\Delta(O-K)$  – разница значений концентраций антиоксиданта или общего содержания фенольных соединений в опытном и контрольном мясных паштетах;  $C_{рас}$  – расчетная концентрация вещества или общего содержания фенольных соединений.

*Определение типов АО и их соотношение методом хемилюминесценции.* Скрининг компонентного состава шелухи репчатого лука путем изучения характера взаимодействия антиоксидантов, входящих в растительные экстракты, со свободными радикалами изучали путем анализа влияния такого процесса на кинетические кривые хемилюминесценции в соответствии с методикой [173] на хемилюминометре Lum-100 (ДИСофт, Россия) с использованием программного обеспечения PowerGraph 3.3. Для проведения анализа в стеклянную пробирку вносили 40 мкл 1 мМ раствора люминола (Sigma-Aldrich, USA), 20 мкл 0,5 мМ раствора пероксидазы из корней хрена ( $M \approx 40000$  г/моль, активность: 235.9 U/ мг, PanReas AppliChem, Germany), 10 мкл экстракта или стандартного антиоксиданта в различных разведениях и 930 мкл 20 мМ фосфатного буфера (pH 7,4). Пробирку помещали в прибор и в течение 48 сек наблюдали фоновый сигнал, затем добавляли 100 мкл 1 мМ раствора перекиси водорода (PanReas AppliChem, Germany) и продолжали регистрацию хемилюминесцентного сигнала в течение 10 мин. Характер тушения СР антиоксидантами экстрактов определяли путем сравнения полученных кинетических кривых для нескольких разведений образца с кривыми стандартных АО, выделяя средние, сильные и слабые антиоксиданты. В качестве стандартных АО использовали кверцетин (Sigma-aldrich, India) как АО средней активности, токоферол – слабый АО и аскорбат натрия (Sigma-aldrich, China) – сильный АО.

*Определение содержания активных продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой,* в мясных паштетах проводили по методу Браже [193] следующим образом: в стеклянные пробирки вносили 1,5 мл 2% раствора ортофосфорной кислоты (Компонент-Реактив, Россия) и 0,1 мл исследуемого образца, затем добавляли 0,5 мл 0,8% раствора 2-тиобарбитуровой кислоты (PanReas AppliChem, Germany). Реакционную смесь инкубировали на водяной бане при  $95 \pm 3^\circ\text{C}$  в течение 45 мин. По истечении времени пробирки охлаждали в проточной воде. Затем к реакционной смеси добавляли 2,0 мл н-бутанола (PanReas AppliChem, Germany) и тщательно перемешивали. Полученные растворы центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин на центрифуге СМ-6М (ELMI Ltd, Латвия). Одновременно с опытными готовили холостую пробу, для чего вместо образца вносили 0,1 мл дистиллированной воды. Надосадочную жидкость переносили в кюветы с расстоянием между рабочими гранями 1 см и проводили измерение на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия) при двух длинах волн 535 нм и 570 нм. Расчет концентрации ТБК-АП в мясных паштетах проводили по формуле 4 и выражали в мкмоль /100 г продукта.

$$C_{\text{п}} = \frac{(D_{535} - D_{570})}{\varepsilon \cdot C_2} \cdot r \cdot 10^5 \quad (4)$$

где  $C_{\text{п}}$  – концентрация ТБК-АП в паштете;  $D_{535}$  – оптическая плотность пробы при длине волны 535 нм;  $D_{570}$  – оптическая плотность пробы при длине волны 570 нм;  $r$  – фактор разведения (41);  $\varepsilon$  – коэффициент молярной экстинкции триметинового комплекса малонового диальдегида с ТБК ( $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ );  $C_2$  – концентрация образца в экстракте (0,2 г/мл).

*Определение клеточной антиоксидантной активности* этанольных экстрактов шелухи репчатого лука с использованием стандартной клеточной культуры НТ-29 проводили на приборе Fluoroskan Ascent FL (TermoLabsystems, Finland) в стерильных черных 96-луночных планшетах с повышенной адсорбцией (Sigma-Aldrich, Германия).

Линию культивируемых клеток НТ-29 получали из коллекции Института вирусологии им. Д.И. Ивановского подразделения ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Культивирование проводили в стерильных вентилируемых плоскодонных флаконах,  $S=25 \text{ cm}^2$  (Thermo Fisher Scientific Inc., Дания) в среде ДМЕМ (БиолоТ, Россия), содержащей 10% инактивированную фетальную телячью сыворотку (FBS) (Corning, Франция), 2 мМ L-глутамин (БиолоТ, Россия), 1% антибиотик пенициллин / стрептомицин (100 ед/мл / 100 мкг/мл) (PanReac AppliChem, Германия) в условиях 5%  $\text{CO}_2$  при 37°C в инкубаторе ИЛМ-170-01 «Ламинар-С» (LAMSYSTEMS, Россия). Клеточную среду заменяли каждые 5 или 7 дней. В начале эксперимента клетки в экспоненциальной фазе роста снимали с подложки культурального флакона с помощью раствора 0,05% Трипсина (PanReac AppliChem, Германия) и 0,02% Версена (ПанЭко, Россия). Оценку общего количества клеток и соотношения живых и мертвых клеток проводили на проточном цитометре Guava Easy Cyte (Merck Millipore, Германия) с использованием коммерческого набора Guava® ViaCount™ Reagent (Merck Millipore, Германия).

Для измерения КАА в лунки вносили 100 мкл клеточной суспензии с концентрацией  $0,05 \cdot 10^6$  клеток / мл в среде ДМЕМ, содержащей 10% FBS, 1% антибиотик, затем планшеты инкубировали 24 ч при 37°C и 5%  $\text{CO}_2$  в инкубаторе ИЛМ-170-01 «Ламинар-С», после культуральную среду удаляли и промывали 100 мкл солевого раствора Хэнкса. В каждую лунку вносили 100 мкл исследуемого образца или стандартного АО, разведенных солевым раствором Хэнкса, или раствора Хэнкса в качестве холостой пробы, планшет инкубировали 1 ч при 37°C в термостате (Термостат суховоздушный ТС-1/20 СПУ, Россия). Для построения калибровочной прямой использовали кверцетин в диапазоне концентраций 50-150 мкМ, приготовленный из 10 мМ этанольного раствора. После инкубации жидкость удаляли и в каждую лунку вносили 100 мкл 150 мкМ DCFH-DA (2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, Sigma-Aldrich, Germany), приготовленного из 5 мМ этанольного раствора. Затем планшеты инкубировали в течение 30



мин при 37°C в термостате, после чего лунки дважды промывали раствором Хэнкса и вносили 100 мкл 600 мкМ ААРН (Aldrich Chemistry, USA) в качестве генератора свободных радикалов. Измерения интенсивности флуоресценции проводили при 37°C в течение 90 мин с 5 минутным интервалом считывания при 485 нм и 535 нм длин волн возбуждения и эмиссии, соответственно.

Для оценки изменения КАА во времени рассчитывали интенсивность свободно-радикального окисления через 30, 60 и 90 мин инкубации ( $CPO_t$ ) по формуле 5, принимая интенсивность флуоресценции холостой пробы за 100%.

$$CPO_t = \frac{Fl_{оп}}{Fl_x} * 100\% \quad (5)$$

где  $CPO_t$  – свободно-радикальное окисление через 30, 60 и 90 мин (%),  $Fl_{оп}$  – интенсивность флуоресценции опытной пробы через  $t$  мин (I),  $Fl_x$  – интенсивность флуоресценции холостой пробы через  $t$  мин (I).

Расчет клеточной антиоксидантной активности исследуемых образцов вели по формуле 6.

$$КАА = \left(1 - \frac{S_{оп}}{S_x}\right) * 100\% \quad (6)$$

где КАА, - клеточная антиоксидантная активность (%),  $S_{оп}$  - площадь под кривой опытной пробы,  $S_x$  - площадь под кривой холостой пробы.

КАА экстрактов вторичного растительного сырья рассчитывали в эквиваленте кверцетина по уравнению, полученном для кверцетина ( $R^2 > 0,99$ ), и выражали в мкмоль-экв. кверцетина / г сырья.

### 2.3.2 Стандартные методы исследований

*Определение концентраций* гексахлорциклогексана ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -изомеры), гептохлора, алдрина, ДДТ и его метаболитов проводили по ГОСТ 30349 [194], количество таких элементов, как железо, цинк, медь, свинец, кадмий измеряли в соответствии с ГОСТ 30178 [195], мышьяк по ГОСТ Р 51766 [196], ртуть - ГОСТ Р 53183 [197], магний, натрий, калий, марганец - ГОСТ Р 55484 [198], кальций - ГОСТ Р 55573 [199], селен - ГОСТ 31707 [200]. Содержание водорастворимых и жирорастворимых витаминов определяли по ГОСТ Р 55482 [201] и ГОСТ 32307 [202], соответственно.

Определение допустимого уровня содержания токсичных элементов оценивали в соответствии ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [203], СанПиН 2.3.2.560-96 «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» [204].

*Определение массовой доли:* влаги осуществляли по ГОСТ 9793 [205], жира - ГОСТ 23042 [206], белка - ГОСТ 25011 [207], углеводов по МУ 1-40-3805 [208], хлоридов - ГОСТ 9957 [209], золы - ГОСТ 31727 [210], крахмала - ГОСТ 10574 [211].

Энергетическую ценность продуктов рассчитывали на 100 г съедобной части по формуле 7. Для получения энергетической ценности в единицах системы СИ, использовали коэффициент пересчета: 1 ккал = 4,184 кДж.

$$\text{ккал} = 4 \cdot C_{\text{б}} + 9 \cdot C_{\text{ж}} + 4 \cdot C_{\text{уг}} \quad (7)$$

где  $C_{\text{б}}$  – концентрация белка (%);  $C_{\text{ж}}$  – концентрация жира (%);  $C_{\text{уг}}$  – концентрация углеводов (%).

*Жирно-кислотный состав* мясных паштетов определяли по ГОСТ Р 55483 [212]. Расчет индекса атерогенности паштетов (ИА<sub>П</sub>) осуществляли по формуле 8, приведенной Ulbriht T.L.V. и Southgate D.A.T., 1991 [213].

$$\text{ИА}_{\text{П}} = \frac{(C_{12} + C_{14} + C_{16} + \text{Транс ЖК})}{(\text{ПНЖК} + C_{18:1} + \text{другие МНЖК})} \quad (8)$$

*Аминокислотный состав* мясных паштетов оценивали по ГОСТ 34132 [214], содержание оксипролина определяли по ГОСТ 23041 [215], триптофана по МИ 103.5-105.

*Биологическую ценность* оценивали путем расчета аминокислотных скоров (АС), коэффициента различия АС (КРАС, %), коэффициента рациональности аминокислотного состава ( $R_{\text{с}}$ , доли ед.), коэффициента утилитарности и показателя сопоставимой избыточности содержания незаменимых аминокислот (НАК) ( $\sigma$ , мг/г белка эталона) в соответствии с [216].

Биологическую ценность белка паштетов определяли путем расчета аминокислотных скоров незаменимых аминокислот по формуле 9.

$$C_i = \frac{A_i}{A_{i,\text{э}}} \cdot 100 \quad (9)$$

где  $C_i$  – аминокислотный скор  $i$ -й НАК, %;  $A_i$  – содержание  $i$ -й НАК в 1 г исследуемого белка, мг/г;  $A_{i,\text{э}}$  – содержание  $i$ -й НАК в 1 г «эталонного» белка в соответствии с ФАО/ВОЗ, мг/г.

Избыточное количество НАК, не используемых на пластические нужды, определяли путем расчет коэффициента различия АС по формуле 10.

$$\text{КРАС} = \frac{\sum_{i=1}^n (C_i - 100)}{n} \quad (10)$$

где  $C_i$  – аминокислотный скор  $i$ -й НАК, %;  $n$  – количество НАК.

Сбалансированность НАК по отношению к физиологически необходимой норме (эталону) характеризовали коэффициентом рациональности аминокислотного состава ( $R_C$ , доли ед.), который рассчитывали по формуле 11.

$$R_C = \frac{\sum_{i=1}^k (A_i \cdot k_i)}{\sum_{i=1}^n A_i} \quad (11)$$

где  $A_i$  – содержание  $i$ -й НАК в 1 г исследуемого белка, мг/г;  $k_i$  – коэффициент утилитарности  $i$ -й НАК к лимитирующей аминокислоте, доли ед.

Коэффициент утилитарности (утилизации) отражает сбалансированность НА по отношению к эталону и рассчитывался по формуле 12.

$$k_i = \frac{C_{\min}}{C_i} \quad (12)$$

где  $C_{\min}$  – минимальный скор НАК оцениваемого белка по отношению к эталонному белку, доли ед.;  $C_i$  – скор для  $i$ -й НАК по отношению к эталонному белку, доли ед.

Расчет показателя сопоставимой избыточности содержания НАК ( $\sigma$ , мг/г белка эталона), показывающего суммарную массу НАК, не используемых на анаболические нужды, рассчитывали по формуле 13.

$$\sigma = \frac{\sum_{i=1}^n (A_i - C_{\min} \cdot A_{i,\text{э}})}{C_{\min}} \quad (13)$$

*Микробиологические показатели:* количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ, не более КОЕ/г) определяли в соответствии с ГОСТ 10444.15 [217], бактерий группы кишечной палочки (БГКП, колиморфы, не допускается в г) - ГОСТ 31747 [218], сульфитредуцирующих кластридий (не допускается в г) - ГОСТ 29185 [219], золотистого стафилококка (*S. Aureus*, не допускается в г) - ГОСТ 31746 [220], микроорганизмов рода *Salmonella* (не допускается в г) - ГОСТ 31659 [221], *L. Monocytogenes* (не допускается в г) - ГОСТ 32031 [222], бактерий рода *Proteus* (не допускается в г) - ГОСТ 28560 [223], дрожжи (не более КОЕ/г) и плесени (не более КОЕ/г) - ГОСТ 10444.12 [224], *E. Coli*. (не допускается в г) – ГОСТ 30726 [225], бактерии рода *Enterococcus* (не более КОЕ/г) – ГОСТ 28566 [226], *B. Cereus* - ГОСТ 10444.8 [227], бактерий рода *Pseudomonas* - ГОСТ 13720 [228].

*Показатели окислительной порчи* паштетов: содержание amino-аммиачного азота (ААА) определяли по ГОСТ Р 55479 [229], тиобарбитуровое число (ТБЧ) по ГОСТ Р 55810 [230], величину рН по ГОСТ 51478 [231], кислотное число (КЧ) - ГОСТ Р 55480 [232], перекисное число (ПЧ) - ГОСТ 34118 [233], концентрация летучих жирных кислот (ЛЖК) в соответствии с ГОСТ 23392 [234].

*Определение сроков годности* разработанного мясного паштета антиоксидантного действия осуществляли в соответствии с ГОСТ Р 70354 [235].

*Органолептическую оценку* мясных паштетов проводили по ГОСТ 9959 [236]. Использовали 5-ти балльную рейтинговую оценку, при которой максимальный балл проставлялся образцу с наивысшим органолептическим показателем: 5 баллов – отличное качество, 4 балла – хорошее качество, 3 балла – удовлетворительное качество и 2 балла – неудовлетворительное качество.

*Для проведения одномерного электрофореза* мясных паштетов отбирали 100 мг образца и добавляли к нему 2,0 мл лизирующего раствора, состоящего из 9 М мочевины (PanReac, Испания), 5% β-меркаптоэтанола (PanReac, Испания), 2% тритона X-100 (Helicon, Россия), 2% амфолинов рН 3-10 (Serva, Германия). Полученный раствор гомогенизировали с использованием гомогенизатора (Stegler S10, Китай) при 8000 об/мин в течение 5 минут, далее гомогенат осветляли центрифугированием при 14000 об/мин в течение 20 минут на центрифуге Eppendorf 5427 R (Германия). Супернатант отделяли и добавляли к нему белковый буфер, состоящий из 1 мл 10% додецилсульфата натрия (SDS) (Panreac, Испания), 250 мкл концентрированного β-меркаптоэтанола (PanReac, Испания), 625 мкл 0,5 М Трис-НСl (PanReac, Испания) и 1,5 г мочевины (PanReac, Испания), в соотношении 1:1. Затем добавляли бромфеноловый синий (Helicon, Россия) до получения темной окраски и доводили до объема 5 мл водой. Затем пробы прогревали на кипящей водяной бане в течение 5 минут.

Вертикальный гель-электрофореза проводили в соответствии с методикой [237] при постоянной силе тока и напряжении 60 В и 120 В в течение 2 часов, пока фронт красителя (бромфеноловый синий (Helicon, Россия) не достигнет нижнего края гелевых пластин, в камере «VE-10» (Helicon, США), которую заполняли 12,5% полиакриламидным гелем. Для формирования геля смешивали 2810 мкл дистиллированной воды, 4690 мкл 40% раствора акриламида (PanReac, Испания), 3340 мкл 1,5% раствора метиленбисакриламида (PanReac, Испания) и 3750 мкл 1,5 М Трис-буфера (рН 8,8) (PanReac, Испания). Непосредственно перед заливкой геля добавляли 20 мкл тетраметилэтилендиамин (ТЕМЕД, PanReac, Испания) и 3750 мкл 10% аммония персульфата (ПСА, PanReac, Испания). В качестве электродного буфера использовали раствор, содержащий 25 мМ трис-НСl (PanReac, Германия), 192 мМ глицин (PanReac, Германия) и 0,1% натрия додецилсульфат (SDS, PanReac, Германия).

Каждый исследуемый образец вносили в лунки в количестве 15 мкл. В качестве раствора стандартов использовали маркер, состоящий из препаратов – стандартов молекулярных масс (Thermo Scientific, Латвия).

Окрашивание белков проводили в растворе следующего состава: 10% уксусная кислота (Компонент-реактив, Россия), 25% изопропанол (PanReac, Испания), 0,05% кумасси G-250 (Helicon, Россия). Гель оставляли в растворе на 24 часа. Для удаления несвязавшегося красителя гель кипятили в растворе 10% уксусной кислоты в течении 10 минут. Процедуру повторяли до полного удаления несвязавшегося красителя. Дополнительно для повышения разрешающей способности метода использовали более чувствительный способ окраски белков азотнокислым серебром (PanReac, Германия) по методике Blum'a [238].

Компьютерную денситометрию одномерных электрофореграмм, находящихся во влажном состоянии, осуществляли с помощью сканера Bio-5000 Plus (Serva, Германия) в режиме 600 dpi 2D-RGB в трех повторах. Визуализированные белковые фракции интерпретировали с помощью базы данных «UniProt» [239].

*Для изучения микроструктуры* паштетов от каждого образца отбирали три кусочка размером 1,5×1,5×0,5 см, которые помещали в камеру криостата «MIKROM-HM525» (Thermo Scientific, США). Срезы изготавливали толщиной 14 мкм (по три среза от каждого кусочка), монтировали на стекла Menzel-Glaser (Thermo Scientific, США) и окрашивали гематоксилином Эрлиха (Биовитрум, Россия) и 1%-ым водно-спиртовым раствором эозина (BioVitrum, Россия) по общепринятой методике [240]. Изучение гистологических препаратов и их фотографирование осуществляли на световом микроскопе «AxioImager A1» (Carl Zeiss, Германия) с применением программы анализа изображений «AxioVision 4.7.1.0» (Carl Zeiss, Германия).

*Определение концентрации этанола* в мясных паштетах проводили в соответствии с методикой [241]. Для проведения анализа 0,5 г образца переносили в пробирку на 15 мл и смешивали с 8,5 мл дистиллированной воды. К смеси добавляли 3 мл гексана (Реахим, Россия) для обезжиривания пробы. Пробирку плотно закрывали, ставили на ультразвуковую баню (Branson-5510 E-DTH, США) и обрабатывали при частоте 40 кГц в течение 60 мин при 22±2°C. Затем смесь центрифугировали в течение 2 мин при 4100 об/мин для разделения слоев. Верхний водный слой отбирали, переносил в хроматографическую вialsу через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,45 мкм и использовали для анализа.

Количественный анализ этанола в образцах проводили с использованием Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies Inc, США) с колонкой HP-INNOWAX (30 м (L) × 0,25 мм (ID) × 0,25 мкм толщина пленки; Agilent Technologies Inc., США). Каждый образец (1 мкл) вводили в режиме разделения с соотношением разделения 13:1. Скорости газовых потоков: газ-носитель

(азот, 10 мл/мин), водород (30 мл/мин) и воздух (300 мл/мин). Температуры инжектора и детектора поддерживали на уровне 180°C и 250°C, соответственно. Температуру в печи первоначально поддерживали на уровне 50° С в течение 1 минуты, затем увеличили с 50°C до 160°C со скоростью 5°C / мин и выдерживали в течение 2 минут. Общее время анализа составило 25 минут. Концентрацию этанола в образцах определяли по калибровочному графику и выражали в мл/100 г продукта. Для построения графика использовали этанол в диапазоне концентраций 25 мкл/мл – 100 мкл/мл.

*Моделирование экспериментального пищеварения in vitro*

Для изучения переваримости разработанного мясного паштета и сохранности АО использовали модель переваримости по протоколу Покровского-Ертанова в соответствии с методикой [242]. Контрольный и опытный образцы паштетов измельчали с использованием фарфоровой ступки. Затем, для переваривания пепсином, 0,5 г паштета смешивали с 25 мл свежеприготовленного раствора 1 См пепсина, который готовили, растворяя 25 мг пепсина (Sigma, Китай) в 25 мл 0,02Н соляной кислоты (рН 1,2) («Компонент-Реактив», Россия). Полученную смесь тщательно перемешивали при 250 об/мин при 37±1°C в течение 3 часов с использованием термошейкера ImmunoChem-2200 (Helena Biosciences Europe, USA). По истечении инкубирования, при перемешивании смесь нейтрализовали добавлением 0,65 мл 2Н гидроксида натрия (PanReac, Испания). Затем вносили 25 мл 0,02 Н гидрокарбоната натрия (рН 8,2) (PanReac, Испания) и продолжали перемешивать при 300 об/мин при 37±1°C в течение 10 мин. По истечении указанного времени к смеси добавляли 25 мг панкреатина (PanReac, Испания) и инкубировали 37±1°C в течение 3 часов при перемешивании при 300 об/мин. Полученные продукты протеолиза (гидролизаты) центрифугировали для осаждения непереваренных частиц в течение 15 мин при 3000 об/мин с использованием центрифуги С 2201 (Liston, Россия). Надосадочную жидкость отбирали и хранили при минус 40°C более 12 часов для инактивации ферментов. Отбор проб проводили на 0, 180 и 360-й мин моделирования переваримости паштетов. В полученных образцах измеряли концентрацию белка методами Бредфорда и Лоури, определяли общие антиоксидантные емкости методами FRAP и DPPH. Одновременно с моделированием экспериментального пищеварения исследуемых образцов проводили аналогичный эксперимент, где вместо 0,5 г паштета вносили дистиллированную воду, для учета определяемых показателей вносимых реагентов (фон).

Определение концентрации белка методом Бредфорда в полученных гидролизатах паштета и фоновой пробе проводили в соответствии с методикой [243]] на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). Перед проведением эксперимента готовили реактив Бредфорда, смешивая 50 мг кумасси G-250 (Helicon, Россия), 25 мл 95 % этанола и 50 мл 85% фосфорной кислоты (Реактив-компонент, Россия). Для проведения анализа в стеклянную

пробирку вносили 1,5 мл реактива Бредфорда и 50 мкл образца или дистиллированной воды для приготовления холостой пробы, перемешивали и инкубировали при  $22\pm 2^\circ\text{C}$  в течение 10 мин. По истечении времени измеряли оптическую плотность опытных образцов при 595 нм, в качестве пробы сравнения использовали холостую пробу. Концентрацию белка определяли по калибровочному графику, для построения которого использовали стандартный раствор сывороточного альбумина (BSA) (Solarbio, Китай) в диапазоне концентраций 10-50 мкг/мл. Для каждого образца проводили не менее 3-х измерений, результаты выражали в мкг/мл за вычетом показателя фонового образца.

Определение концентрации белка методом Лоури в полученных гидролизатах паштета и фоновой пробе проводили в соответствии с методикой [244] на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). Для приготовления реактива смешивали 0,25 г сульфата меди (II) 5-водный (Реактив, Компонент, Россия), 0,5 г цитрата натрия (PanReas, Испания), 4 г карбоната натрия (PanReas, Испания), 0,8 г гидроксида натрия (PanReas, Испания) и 250 мл дистиллированной воды. Для проведения анализа в стеклянные пробирки вносили 1 мл приготовленного реактива и 200 мкл образца или дистиллированной воды для приготовления холостой пробы. Реакционную смесь инкубировали при  $22\pm 2^\circ\text{C}$  в течение 10 мин, затем добавляли 100 мкл 1Н реактива Фолина-Чокальтеу (PanReas, Испания), после чего смесь перемешивали и инкубировали при  $22\pm 2^\circ\text{C}$  в течение 30 мин, затем измеряли оптическую плотность при 690 нм. Концентрацию белка определяли по калибровочному графику, для построения которого использовали стандартный раствор сывороточного альбумина (BSA) (Solarbio, Китай) в диапазоне концентраций 10-100 мкг/мл. Для каждого образца проводили не менее 3-х измерений, результаты выражали в мкг/мл за вычетом показателя фонового образца.

Общие антиоксидантные емкости в гидролизатах паштета и фоновой пробе определяли методами FRAP и DPPH на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). Для измерения  $\text{OAE}_{\text{FRAP}}$  в пробирку вносили 1,45 мл свежеприготовленного реактива FRAP, 50 мкл образца или 50 мкл дистиллированной воды для измерения холостой пробы.  $\text{OAE}$  образцов считали по калибровочному графику, построенному для кверцетина (Sigma-aldrich, India) в диапазоне концентраций 140 мкМ -300 мкМ, и выражали в мкмоль-экв. кв. / л. Для определения  $\text{OAE}_{\text{DPPH}}$  в стеклянные пробирки вносили 1,52 мл рабочего раствора DPPH и 80 мкл образца или 96% этилового спирта в качестве холостой пробы.  $\text{OAE}_{\text{DPPH}}$  рассчитывали по калибровочному графику для кверцетина (Sigma-aldrich, India) в диапазоне концентраций 100 мкМ -250 мкМ и выражали в мкмоль-экв. кв. / л.

### 2.3.3 Дизайн исследования экстракта шелухи желтого лука репчатого и мясных паштетов *in vivo*

Исследование биологического эффекта водно-этанольного экстракта шелухи желтого лука репчатого и мясных паштетов без и с его добавлением на организм биообъектов проводили на крысах-самцах стока Wistar ( $n=40$ ), весом  $423\pm 39$  г и возрастом 17 месяцев, полученных из общества с ограниченной ответственностью "КролИнфо" (РФ, Московская обл., Орехово-Зуевский район, д. Новая (Горское с/п)). Содержание и все манипуляции проводили с соблюдением Приказа МЗ РФ (№ 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики», Директив Европейского сообщества 86/609ЕЕС, исследование одобрено биоэтической комиссией ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (протокол №01/2019 от 09.05.2019).

На протяжении всего периода эксперимента крыс содержали в клетках типа IV S (Tecniplast, Италия) по 10 голов, при стандартных условиях вивария: температуре  $21\pm 2^\circ\text{C}$ , влажности 50-60%, освещение в экспериментальных комнатах – искусственное (12 часов – день, 12 часов – ночь), световой день инвертирован, вода и корм давался животным *ad libitum*. В качестве стандартного общевиварного рациона использовали полнорационный комбикорм по ГОСТ Р 50258 [245] (Лабораторкорм, Россия). Ежедневно осуществлялся учет потребленного рациона и выпитой воды. При содержании крыс использовали гигиенический подстил для лабораторных животных Лигноцель БК 8-15/LIGNOCEL (J.Rettenmaier & Sohne GMBH + CO KG, Германия). После прохождения карантина (не менее 14 суток) крыс случайным образом распределяли на группы:

- группа 1 (интакт,  $n=10$ ,  $m = 405\pm 38$  г) – интактные животные, употреблявшие на протяжении всего эксперимента стандартный общевиварный рацион (24 г / гол);
- группа 2 (опытный продукт,  $n=10$ ,  $m = 445\pm 25$  г) – опытные крысы, потреблявшие на протяжении всего эксперимента стандартный общевиварный рацион (14 г/гол) и опытный продукт в количестве 10 г / гол, что эквивалентно  $\text{OAE}_{\text{FRAP}} 2$  мкмоль-экв. кв. в сутки;
- группа 3 (опыт экстракт,  $n=10$ ,  $m = 412\pm 51$  г) – опытные крысы, употреблявшие на протяжении всего эксперимента стандартный общевиварный рацион (24 г/гол), которым в течение всего эксперимента (начиная с 1-х суток исследования) ежедневно вводили внутривентрикулярно с использованием специального металлического зонда с закругленным концом разведенный дистиллированной водой экстракт луковой шелухи в объеме 2,7 мл/голову с  $\text{OAE}_{\text{FRAP}} 2$  мкмоль-экв. кв. Концентрация этилового спирта, употребляемого животными, не превышала 8%, что соответствует «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая» (д.м.н. Миронов А.Н.) [246];



- группа 4 (контрольный продукт, n=10, m = 431±26 г) – контрольные крысы, потреблявшие на протяжении всего эксперимента стандартный общевиварный рацион (14 г/гол) и контрольный продукт в количестве 10 г/гол.

В таблице 5 представлено потребление питательных веществ экспериментальными животными на протяжении всего эксперимента. Массу тела животных определяли каждые 3 дня.

Таблица 5 – Потребление питательных веществ одним животным в течение всего эксперимента

Питательное вещество	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Обменная энергия, Ккал	74,64	65,44	74,64	65,64
Влага, г	3,24	7,82	3,24	7,80
Белок, г	4,56	4,70	4,56	4,72
Жир, г	1,20	1,98	1,20	1,99
Клетчатка, г	0,96	0,56	0,96	0,56
Зола, г	1,68	1,17	1,68	1,16
Лизин, г	0,29	0,25	0,29	0,26
Метионин+цистеин, г	0,17	0,15	0,17	0,17
Кальций, г	0,22	0,13	0,22	0,13
Фосфор, г	0,14	0,08	0,14	0,08
Триптофан, г	0,05	0,03	0,05	0,03
Хлорид натрия, г	0,07	0,18	0,07	0,18
Крахмал, г	0,0	0,40	0,0	0,40
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , мкмоль-экв. кв	0,0	5,23*	2,02	2,98
Витамин А, тысМЕ	0,65	7,92	0,65	8,51
Витамин D3, тысМЕ	0,04	1,13	0,11	1,04
Витамин Е, мг	3,0	1,59	3,0	1,58
Витамин В1, мг	0,72	0,42	0,72	0,42
Витамин В2, мг	0,48	0,42	0,49	0,41
Витамин В3, мг	0,72	1,72	0,82	1,59
Витамин В4, мг	24,0	12,0	24,0	12,0
Витамин В5, мг	1,92	1,19	1,93	1,18
Витамин В6, мг	0,36	0,21	0,36	0,21
Витамин В9, мг	0,10	0,05	0,10	0,05
Витамин В12, мкг	1,2	468,6	1,2	576,6
Витамин С, мг	1,68	1,053	1,75	0,968
Витамин К3, мг	0,12	0,06	0,12	0,06
Витамин Н, мкг	0,96	0,48	0,96	0,48
Mg, мг	4,80	4,96	5,21	4,42
Fe, мг	2,40	1,55	2,46	1,48
Mn, мг	1,37	0,70	1,37	0,70
Zn, мг	1,28	1,25	1,31	1,22
Cu, мг	0,22	0,30	0,23	0,28
J, мг	0,02	0,01	0,02	0,01

Продолжение таблицы 5

Питательное вещество	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Se, мкг	1,68	3,84	1,68	3,0
Co, мг	0,03	0,00	0,03	0,02
Na, мг	0,0	76,60	6,09	68,61
K, мг	0,0	38,76	0,0	38,86
Ca, мг	0,0	1,77	0,29	1,39

\* ОАЕ опытного продукта состояла из 2,98 мкмоль-экв. кв. контрольного продукта и 2,25 мкмоль-экв. кв., полученных от ЭШЛ

В конце эксперимента (на 28-ые сутки) всех животных подвергали аутопсии, включая тщательное исследование внешней поверхности тела, всех отверстий, грудной и брюшной полостей и их содержимого. Животных усыпляли в камере для эвтаназии (VetTech, Великобритания) с помощью углекислого газа.

Абсолютную массу мозга, печени, почек, селезенки, сердца, тимуса определяли путем взвешивания на электронных весах («AcculabVicon», США) с точностью  $\pm 0,001$  г сразу после вскрытия с использованием фильтровальной бумаги или подложки. Интегральный показатель хронической интоксикации (ИПХИ) определяли по формуле 14.

$$\text{ИПХИ} = \frac{m_{\text{органа}}}{m_{\text{животного}}} \cdot 100\% \quad (14)$$

У животных осуществлялся отбор органов (печень, мозг), мышц (*M. longissimus dorsi* и *M. femoris*) и крови из сердца (до вскрытия грудной клетки) в пробирки с 0,5 мл ЭДТА (Aquisel, Испания) для анализа показателей цельной крови, в вакуумные пробирки с гепарином (Vacuette, Austria) для определения показателей антиоксидантной системы организма в плазме, в стеклянные пробирки для получения сыворотки. Органы промывали в физиологическом растворе, промачивали фильтровальной бумагой и замораживали при минус 80°C.

Для получения сыворотки кровь оставляли при комнатной температуре в течении 20 мин, центрифугировали в центрифуге СМ-6М (ELMI, Латвия) в течении 8 мин при 3500 об/мин, супернатант отбирали, замораживали и хранили при минус 40°C. Кровь центрифугировали в центрифуге СМ-6М (ELMI, Латвия) в течении 8 мин при 3500 об/мин для отделения плазмы, которую замораживали и хранили при минус 40°C. Непосредственно перед измерением показателей АОС образцы плазмы крови размораживали при 4°C и центрифугировали в течении 8 мин при 10000 об/мин при 4°C на центрифуге SIGMA 3 30KS (Sigma Laborzentrifugen, Germany).

Для исследования показателей антиоксидантной системы органов и мышц готовили экстракты. Ткани гомогенизировали с 50 мМ фосфатным буфером (pH 7,0) в соотношении 1:5 (г:мл) с помощью ручного гомогенизатора S10 (Stegler, Китай). Суспензию тканей центрифугировали в течении 5 мин при 10000 об/мин при 4°C на центрифуге SIGMA 3 30KS

(Sigma Laborzentrifugen, Germany). Надосадочную жидкость замораживали и хранили при минус 80°C до исследования. Непосредственно перед измерением показателей АОС образцы размораживали при 4°C и центрифугировали в течении 8 мин при 10000 об/мин при 4°C на центрифуге SIGMA 3 30KS.

Содержание общего белка, альбумина, креатинина, мочевины, общего и прямого билирубина, глюкозы, мочевой кислоты, кальция, магния, железа, холестерина, триглицеридов, холестерина липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП), активности аспартатаминотрансферазы (АсАт), аланинаминотрансферазы (АлАт), щелочной фосфатазы, гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) определяли на автоматическом биохимическом анализаторе BioChem FC-360 ("HTI", США), используя наборы реактивов ("HighTechnology", США). Индекс атерогенности сыворотки крови (ИА<sub>с</sub>), выраженного в относительных единицах (от. ед), рассчитывали по формуле 15 [191].

$$\text{ИА}_c = \frac{\text{Холестерин общий} - \text{ХС ЛПВП}}{\text{ХС ЛПВП}} \quad (15)$$

В крови животных определяли эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT), средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах (MCHC), ширину распределения эритроцитов (RDWc), тромбоциты (PLT), тромбоцит (PCT), средний объем тромбоцита (MPV) и распределение тромбоцитов (PDWc) на полностью автоматическом гематологическом анализаторе Abacus Junior Vet 2.7 (Diatron Messtechnik GmbH, Австрия), используя наборы реактивов компании ООО «Клиникал Диагностик Солюшнз».

Содержание лимфоцитов (LYM), гранулоцитов (GRA) и моноцитов (MON) определяли на проточном цитометре Guava Easy Cyte (Merck Millipore, Germany) посредством детектирования размера и гранулярности клеток. Содержание лейкоцитов определяли расчетным путем по формуле 16. Относительное содержание лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов определяли расчетным путем по формулам 17-19, соответственно.

$$\text{WBC} = \text{LYM} + \text{GRA} + \text{MON} \quad (16)$$

$$\text{LYM}_{\%} = \frac{\text{LYM}}{\text{WBC}} \cdot 100\% \quad (17)$$

$$\text{GRA}_{\%} = \frac{\text{GRA}}{\text{WBC}} \cdot 100\% \quad (18)$$

$$\text{MON}_{\%} = \frac{\text{MON}}{\text{WBC}} \cdot 100\% \quad (19)$$

В образцах плазмы крови и экстрактах органов и мышц животных определяли показатели АОС: активности глутатионпероксидазы на анализаторе BioChem SA (HTI, USA), супероксиддисмутазы и каталазы, концентрации восстановленного глутатиона, концентрацию

активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), ОАЕ методом FRAP на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия).

*Определение содержания активных продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой*, в плазме крови и экстрактах органов и тканей лабораторных животных проводили по методу Браже [193], как описано ранее. В стеклянные пробирки вносили 1,5 мл 2% раствора ортофосфорной кислоты и 0,1 мл исследуемого образца или дистиллированной воды для измерения холостой пробы, затем добавляли 0,5 мл 0,8% раствора 2-тиобарбитуровой кислоты. Реакционную смесь инкубировали на водяной бане при  $95 \pm 3^\circ\text{C}$  в течение 45 мин. По истечении времени пробирки охлаждали в проточной воде. Затем к реакционной смеси добавляли 2,0 мл н-бутанола и тщательно перемешивали. Полученные растворы центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость измерение на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия) при двух длинах волн 535 нм и 570 нм. Расчет концентрации ТБК-АП в плазме крови и экстрактах органов и мышц животных проводили по формулам 20 и 21, соответственно, и выражали нмоль/мл плазмы или в нмоль/г ткани, соответственно.

$$C_{\text{пл}} = \frac{(D_{535} - D_{570})}{\varepsilon} \cdot r \cdot 10^6 \quad (20)$$

$$C_{\text{т}} = \frac{(D_{535} - D_{570})}{\varepsilon \cdot C_2} \cdot r \cdot 10^6 \quad (21)$$

где  $C_{\text{пл}}$ ,  $C_{\text{т}}$  – концентрация ТБК-АП в плазме крови и тканях, соответственно;  $D_{535}$  – оптическая плотность пробы при длине волны 535 нм;  $D_{570}$  – оптическая плотность пробы при длине волны 570 нм;  $r$  – фактор разведения (41);  $\varepsilon$  – коэффициент молярной экстинкции триметинового комплекса малонового диальдегида с ТБК ( $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ );  $C_2$  – концентрация образца в экстракте (0,2 г/мл).

*Определение концентрации восстановленного глутатиона* в плазме крови и экстрактах органов и тканей лабораторных грызунов определяли на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). 0,25 мл образца переносили в стеклянные пробирки, добавляли 1,5 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивали. К 2 мл разбавленных в 8 раз образцов добавляли 0,5 мл 20% трихлоруксусной кислоты (PanReac AppliChem, Germany), реакционную смесь тщательно перемешивали и инкубировали при  $4^\circ\text{C}$  в течение 20 мин. По истечении времени пробирки центрифугировали при 3000 об/мин в течении 15 мин на центрифуге С 2201 (Liston, Россия). По 1 мл надосадочной жидкости переносили в две пробирки и добавляли по 0,5 мл 0,3 М фосфатного буфера (рН 8,0). К контрольной пробе добавляли 50 мкл метанола (Химмед, Россия), а к опытной – 50 мкл реактива Элмана, тщательно перемешивали и измеряли оптическую плотность при 412 нм. Реактив Элмана готовили путем растворения 5,5'-дितिобис-2-нитробензойной кислоты (Sigma-aldrich, USA) в метаноле. Концентрацию

восстановленного глутатиона рассчитывали по формуле 22 в случае плазмы крови и по формуле 23 – органов и тканей и выражали в нмоль / мл плазмы или нмоль / г ткани.

$$C_{\text{пл}} = \frac{(D_{\text{оп}} - D_{\text{конт}})}{\varepsilon} \cdot r \cdot 10^6 \quad (22)$$

$$C_{\text{т}} = \frac{(D_{\text{оп}} - D_{\text{конт}})}{\varepsilon \cdot C_2} \cdot r \cdot 10^6 \quad (23)$$

где  $C_{\text{пл}}$ ,  $C_{\text{т}}$  – концентрация восстановленного глутатиона в плазме крови и в тканях;  $D_{\text{оп}}$  – оптическая плотность опытной пробы;  $D_{\text{конт}}$  – оптическая плотность контрольной пробы;  $r$  – фактор разведения (18,6);  $\varepsilon$  – молярный коэффициент экстинкции ( $13,1 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ );  $C_2$  – концентрация образца в экстракте (0,2 г/мл).

*Определение активности каталазы* в плазме крови и экстрактах тканей лабораторных животных определяли на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). К 720 мкл 50 мМ фосфатного буфера (рН 7,0) добавляли 800 мкл 0,1% перекиси водорода (PanReas AppliChem, Germany) и измеряли оптическую плотность ( $D_0$ ) при длине волны 240 нм относительно холостой пробы, используя кюветы с расстоянием между рабочими гранями 1 см. Затем в пробирку вносили 40 мкл плазмы крови или 20 мкл экстракта мозга или мышц бедра или спины, или 5 мкл экстракта печени, предварительно разведенного фосфатным буфером в 30 раз. Через 1,5 минуты инкубации проводили повторное измерение оптической плотности ( $D_1$ ) при длине волны 240 нм. В качестве холостой пробы вместо перекиси водорода вносили 800 мкл фосфатного буфера. Активность каталазы рассчитывали по формуле 24 и пересчитывали на грамм белка, выражая результаты в  $U / \text{г}$  белка, где  $U = \text{ммоль } \text{H}_2\text{O}_2 / \text{мин}$ .

$$U/\Gamma = \frac{(D_0 - D_1) \cdot r \cdot 10^3}{\varepsilon \cdot t \cdot C_{\text{белка}}} \quad (24)$$

где  $r$  – фактор разведения: 39- для плазмы крови; 77-экстрактов мозга, мышц бедра и спины; 9150-экстрактов печени;  $\varepsilon$  – коэффициент молярной экстинкции перекиси водорода ( $39,4 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ );  $t$  – время инкубации (1,5 мин);  $C_{\text{белка}}$  – концентрация белка в образце (г/л).

*Определение активности супероксиддисмутазы* в плазме крови и экстрактах органов и мышц грызунов проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Россия). К 1,14 мл 50 мМ фосфатного буфера (рН 8,2) добавляли 30 мкл плазмы крови или экстракта мозга или мышц бедра или спины, или 5 мкл экстракта печени. Затем добавляли 30 мкл 10 мМ раствора пирогаллола (PanReas AppliChem, Germany), перемешивали и измеряли увеличение оптической плотности опытных проб в начале ( $D_0$ ) и через 2 минуты инкубации ( $D_1$ ) при длине волны 340 нм относительно 50 мМ фосфатного буфера. Автоокисление пирогаллола измеряли в холостой пробе в той же реакционной смеси, добавляя вместо образца 30 мкл 50 мМ фосфатного буфера. Расчет активности фермента проводили следующим образом. Вначале по формуле 25

определяли процент ингибирования окисления пирогаллола (П, %) за счет SOD по отношению к холостой пробе, для измерения которой вносили фосфатный буфер вместо образца.

$$\text{П}\% = \frac{(\Delta D_x - \Delta D_{\text{обр}})}{\Delta D_x} \cdot 100\% \quad (25)$$

За единицу активности SOD (U) принимали способность образца ингибировать автоокисление пирогаллола в минуту, так как SOD является ферментативной составляющей антиоксидантной системы организма и имеет белковую природу результаты пересчитывали на грамм белка и выражали в U/ мг белка по формуле 26.

$$\text{U}/\Gamma = \frac{\text{П}\%}{t \cdot V_{\text{обр}} \cdot C_{\text{белка}}} \quad (26)$$

где t – время инкубации (2 мин);  $V_{\text{обр}}$  – объем вносимого образца: 0,03 мл плазмы крови, экстрактов мозга, мышц бедра и спины; 0,005 мл экстракта печени;  $C_{\text{белка}}$  – концентрация белка в пробе (г/л).

*Определение активности глутатионпероксидазы* в плазме крови и экстрактах органов и мышц грызунов проводили на полуавтоматическом анализаторе BioChem SA (HTI, США). В стеклянные пробирки вносили 1,16 мл 75мМ фосфатного буфера (pH 7,0), 10 мкл 150 мМ восстановленного глутатиона (PanReac AppliChem, Germany), 10 мкл 46 U/мл глутатионредуктазы из пекарских дрожжей (Sigma-Aldrich, USA), 30 мкл 25 мМ ЭДТА (PanReac AppliChem, Germany), 30 мкл 5 мМ NADPH (PanReac AppliChem, Germany), 200 мкл образца (экстракт печени предварительно разбавляли фосфатным буфером в 4 раза) и 10 мкл 20% тритона X-100 (Helicon, Россия). Затем в реакционную смесь вносили 50 мкл 7,5 мМ перекиси водорода (PanReac AppliChem, Germany) для запуска реакции. Превращение NADPH в  $\text{NADP}^+$  непрерывно фиксировали при 340 нм в течение 3 мин. Для расчета концентрации NADPH использовали молярный коэффициент экстинкции  $6220 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Активность GPx выражали в E/г белка, где 1 E соответствует количеству образца, необходимого для окисления 1 мкмоль NADPH за 1 минуту при 22°C.

*Определение общей антиоксидантной емкости* в плазме крови и экстрактах органов и тканей лабораторных грызунов проводили методом FRAP на спектрофотометре СФ-2000, как описано выше. В пробирку вносили 1,45 мл свежеприготовленного реактива FRAP, 50 мкл образца (экстракт печени предварительно разбавляли дистиллированной водой в 2 раза) или 50 мкл дистиллированной воды для измерения холостой пробы. ОАЕ образцов считали по калибровочному графику, построенному для кверцетина (Sigma-aldrich, India) в диапазоне концентраций 140 мкМ -300 мкМ, и выражали в нмоль-экв. кв. / мл плазмы крови или в нмоль-экв. кв. / г ткани.

### *Статистическая обработка*

Результаты экспериментов рассчитывали с использованием программы STATISTICA 10.0 и представлялись в виде среднего значения и стандартного отклонения «Mean  $\pm$  SD» или медианы «Median» и межквартильного размаха «P 25/75». Значимые различия были проверены с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни для независимых переменных; для зависимых переменных использовали критерий Фридмана; для определения достоверности различий средних величин использовали Дисперсионный анализ (ANOVA) с применением критерием Тьюки или Дункана. Вероятности 0,1 и 0,05 были выбраны в качестве значимого уровня.

Оценку изменчивости показателей функционального состояния организма и антиоксидантной системы определяли методом главных компонент (principal component analysis, PCA). Единицы измерения показателей приводили к единообразию. Вычисления проведены в программном обеспечении R Studio 2022.07.2 Build 576. Программное обеспечение R представляет собой свободно распространяемый кроссплатформенный программный инструмент, используемый для статистических расчетов и визуализации данных. Дистрибутивы R доступны на веб-сайтах The Comprehensive R Archive Network [247].

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Результаты определения антиоксидантного потенциала шелухи репчатого лука

Для определения антиоксидантного потенциала вторичного растительного сырья переработки репчатого лука измеряли общую антиоксидантную емкость водно-этанольных и водных экстрактов шелухи красного, желтого и белого лука репчатого, сушеного базилика и розмарина. Методом UPLC-ESI-Q-TOF-MS идентифицировали основные антиоксиданты, методом хемилюминесценции определяли характер взаимодействия антиоксидантов шелухи лука со свободными радикалами. Клеточную антиоксидантную активность водно-этанольных экстрактов шелухи лука измеряли с использованием стандартной клеточной культурой НТ-29.

Результаты определения общей антиоксидантной емкости 70% водно-этанольных и водных экстрактов шелухи красного, желтого и белого лука репчатого и сушеных базилика и розмарина в отношении кислородосодержащих СР (ОАЕ<sub>ORAC</sub>) и ионов переходных металлом (ОАЕ<sub>FRAP</sub>) представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Общие антиоксидантные емкости растительных экстрактов

Образец	ОАЕ <sub>ORAC</sub> , мкмоль-экв. Trolox / г сырья, Mean ± SD		ОАЕ <sub>FRAP</sub> , мкмоль-экв. кв / г сырья, Mean ± SD	
	Водный	Спиртовой	Водный	Спиртовой
Шелуха желтого лука	81,4±3,7 <sup>a</sup>	941,4±32,7 <sup>a*</sup>	57,2±2,9 <sup>a</sup>	167,4±16,4 <sup>b*</sup>
Шелуха красного лука	527,5±13,5 <sup>b,c</sup>	2005,6±16,8 <sup>b,c*</sup>	146,9±2,4 <sup>b,c</sup>	455,2±20,4 <sup>b,c*</sup>
Шелуха белого лука	4,75±0,40 <sup>b,d,e</sup>	16,66±0,20 <sup>b,d,e</sup>	0,6±0,01 <sup>b,d,e</sup>	1,13±0,08 <sup>b,d,e</sup>
Розмарин сушеный	307,2± 9,9 <sup>b,d,f,n</sup>	707,9±20,3 <sup>b,d,f,n*</sup>	103,2±2,8 <sup>b,d,f,n</sup>	137,4±7,4 <sup>d,f</sup>
Базилик сушеный	488,7±15,4 <sup>b,f,p</sup>	540,2±9,1 <sup>b,d,f,p*</sup>	220,3±2,0 <sup>b,d,f,p</sup>	119,5±5,3 <sup>b,d,f</sup>

a-b, c-d, e-f, n-p – значимые отличия между водными или этанольными экстрактами разных образцов, ANOVA, критерий Тьюки (P<0,05); \* - значимые отличия между водными и спиртовыми экстрактами одного образца, критерий Манна-Уитни (P<0,05)

На основании проведенных исследований установлено, что водно-спиртовые экстракты растений обладали большей ОАЕ в сравнении с водными, за исключением ОАЕ<sub>FRAP</sub> базилика, где не было разницы между показателями водного и этанольного экстрактов (P>0,05). Наибольшими значениями ОАЕ характеризовалась шелуха красного лука, в то время как белый лук существенно уступал аналогичным показателям остальных образцов и обладал несоизмеримо низкими величинами. ОАЕ<sub>ORAC</sub> и ОАЕ<sub>FRAP</sub> водного и этанольного экстрактов красного лука были выше аналогичных показателей желтого более, чем в 2,1 раза (P<0,05). При этом значения ОАЕ экстрактов шелухи красного лука были больше показателей розмарина и базилика более, чем в 2,8 раза (P<0,05). Несмотря на то, что показатели ОАЕ шелухи желтого лука существенно уступали красному, отмечалось, что ее спиртовой экстракт превышал



значения  $OAE_{ORAC}$  розмарина и базилика в 1,3 раза ( $P < 0,05$ ) и в 1,7 раз ( $P < 0,05$ ), соответственно, а величины  $OAE_{FRAP}$  были выше в 1,2 раза ( $P < 0,05$ ) и в 1,4 раза ( $P < 0,05$ ) соответственно, что наглядно продемонстрировано на рисунке 16.

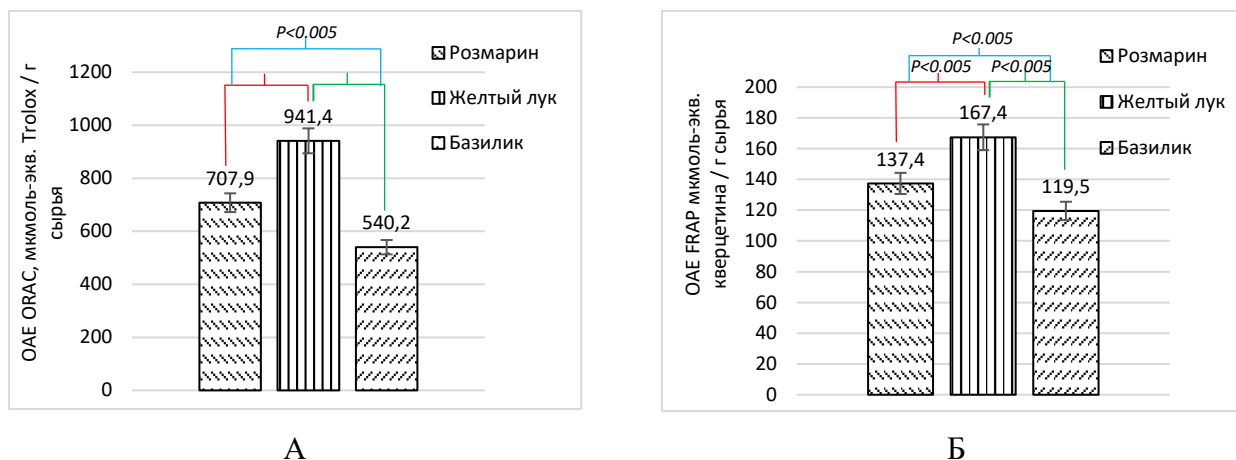


Рисунок 16. Сравнение показателей ОАЕ этанольных экстрактов шелухи желтого лука, розмарина и базилика, где А – ОАЕ, определенная методом ORAC; Б – ОАЕ методом FRAP

Идентификацию АО в водных и водно-этанольных экстрактах шелухи различных видов лука проводили методом UPLC-ESI-Q-TOF-MS с использованием программы MS-DIAL. Было получено более 100 соединений. Вручную было отобрано 30 веществ, в том числе органические ( $n=3$ ), сераорганические ( $n=1$ ), фенольные кислоты ( $n=6$ ), 1,4-бензодиазепины ( $n=2$ ), флавоноиды ( $n=10$ ) и другие менее изученные полифенольные соединения ( $n=8$ ). В таблице 7 представлено количественное определение основных флавоноидов, идентифицированных в водных и водно-этанольных экстрактах шелухи красного, желтого и белого лука репчатого. В работе [99] продемонстрированы все соединения, обнаруженные в исследуемых экстрактах, с использованием метода UPLC-ESI-Q-TOF-MS.

По результатам количественного определения фенольных соединений в экстрактах шелухи лука было установлено, что общее содержание полифенольных соединений было выше в спиртовых экстрактах, что согласовывалось с результатами определения ОАЕ. Кверцетин и спиреозид были основными флавоноидами, обнаруженными в экстрактах луковой шелухи. Концентрация кверцетина в этанольных экстрактах шелухи красного и желтого лука составляла не менее 53% от общего количества флавоноидов. Кверцетин, растительный пигмент и, в частности, флавонол, является мощным антиоксидантным флавоноидом. Считается, что он оказывает множество полезных эффектов на здоровье, включая защиту от различных заболеваний, таких как остеопороз, рак легких и сердечно-сосудистые заболевания [248]. Kwak, J.H. et al. обнаружили, что кверцетин был преобладающим соединением в красном луке, в то время как в желтом количество 3-глюкозида кверцетина было намного выше [249]. Содержание спиреозида в спиртовом экстракте из шелухи красного лука было самым высоким и превышало

значения водной группы и спиртового экстракта из шелухи желтого лука в 4,1 раза ( $P < 0,05$ ) и 4,3 раза ( $P < 0,05$ ), соответственно. В работе Nile, A. было показано, что этанол является наиболее подходящим растворителем для экстракции спиреозидов из отходов кожуры красного лука [250]. Кроме того, спиреозид характеризуется противораковым эффектом в отношении клеток HeLa и стимулировал их апоптоз путем активации экспрессии каспазы-3 и каспазы-9 [251].

Таблица 7 – Идентификация основных антиоксидантов шелухи лука

Соединение	Концентрация, мкг / г сырья (Mean $\pm$ SD)					
	Этанольный			Водный		
	Красный	Желтый	Белый	Красный	Желтый	Белый
Флавонолы						
Кверцетин	1021,84 $\pm$ 4,07	320,86 $\pm$ 1,05*	нпо	83,15 $\pm$ 1,14 <sup>#</sup>	10,66 $\pm$ 2,27* <sup>^</sup>	нпо
3'-метокси-4',5,7-три-гидроксифлавонол	140,93 $\pm$ 2,04	12,05 $\pm$ 0,50*	нпо	4,85 $\pm$ 0,10 <sup>#</sup>	0,37 $\pm$ 0,04* <sup>^</sup>	нпо
Мирицетин	155,84 $\pm$ 2,60	80,77 $\pm$ 1,26*	нпо	87,26 $\pm$ 1,05 <sup>#</sup>	45,07 $\pm$ 0,23* <sup>^</sup>	нпо
Ларицитрин	16,66 $\pm$ 0,65	12,31 $\pm$ 0,15*	нпо	10,43 $\pm$ 0,44 <sup>#</sup>	9,09 $\pm$ 0,35* <sup>^</sup>	нпо
Флавононолы						
Таксифолин	18,70 $\pm$ 1,00	1,56 $\pm$ 0,60*	нпо	10,95 $\pm$ 0,18 <sup>#</sup>	0,53 $\pm$ 0,11* <sup>^</sup>	нпо
Флавоноид-О-гликозиды						
Кверцетин 3,4'- $\beta$ -диглюкозид	18,49 $\pm$ 1,66	1,50 $\pm$ 0,09*	нпо	3,26 $\pm$ 1,56 <sup>#</sup>	0,43 $\pm$ 0,20* <sup>^</sup>	нпо
Кверцетин-3-О-D-галактозид (гиперозид)	47,26 $\pm$ 0,08	0,96 $\pm$ 0,07*	нпо	1,06 $\pm$ 0,08 <sup>#</sup>	н.о.	нпо
Кверцетин 3-О- $\beta$ -D-глюкопиранозид (изокверцитрин)	9,51 $\pm$ 0,48	0,92 $\pm$ 0,31*	нпо	2,61 $\pm$ 0,32 <sup>#</sup>	0,34 $\pm$ 0,15* <sup>^</sup>	нпо
Кверцетин-4-О- $\beta$ -D-глюкозид (спиреозид)	485,37 $\pm$ 5,26	112,33 $\pm$ 0,59*	нпо	117,8 $\pm$ 0,86 <sup>#</sup>	22,92 $\pm$ 0,32* <sup>^</sup>	нпо
Изофлавоны						
Текторигенин	1,31 $\pm$ 0,59	0,78 $\pm$ 0,27	нпо	н.о.	н.о.	нпо
Общее количество флавоноидов	1915,90 $\pm$ 9,92	544,06 $\pm$ 2,73*	нпо	321,42 $\pm$ 2,61 <sup>#</sup>	89,41 $\pm$ 2,08* <sup>^</sup>	нпо

нпо – ниже предела обнаружения; \* - значимые отличия между показателями шелухи желтого и красного лука, критерий Манна-Уитни ( $P$ -value $<$ 0,05); # - значимые отличия между показателями этанольных и водных экстрактов шелухи красного лука, критерий Манна-Уитни ( $P$ -value $<$ 0,05); ^ - значимые отличия между показателями этанольных и водных экстрактов шелухи желтого лука, критерий Манна-Уитни ( $P$ -value $<$ 0,05)

Известно, что гиперозид (кверцетин-3-О-D-галактозид) обладает различными фармакологическими действиями, такими как противовоспалительное, антидепрессивное, нейропротекторное, кардиозащитное, противодиабетическое, противораковое, противогрибковое, радиозащитное, гастрозащитное. и антиоксидантное [252]. Интересно, что данное фенольное соединение было обнаружено в этанольном экстракте шелухи красного лука, тогда как в остальных его количество было низким или было ниже предела обнаружения.

Мирицетин также был обнаружен как в водно-этанольных, так и в водных экстрактах шелухи красного и желтого лука, занимая третье место по количеству. Так, его концентрация в обоих экстрактах шелухи красного лука была больше в 1,93 раза ( $P < 0,05$ ) чем в аналогичных желтого лука. Аналогичные результаты были продемонстрированы в работе Venito-Román, O. et al. [73]. Мирицетин является распространенным флавоноидом растительного происхождения, который проявляет широкий спектр биологических свойств, включая антиоксидантное, противораковое, противодиабетическое и противовоспалительное действие. Кроме того, он эффективен в профилактике болезней Паркинсона и Альцгеймера [253].

Известно, что наиболее распространенными растворителями для извлечения фенольных соединения являются метанол, вода, хлороформ, н-гексан, этанол, пропанол, этилацетат и ацетон [254]. Однако, водные смеси, содержащие этанол, метанол, ацетон и этилацетат являются более эффективными, чем чистые растворители, и проявляют большие антиоксидантный потенциал [107]. По полученным данным было продемонстрировано, что водно-этанольные экстракты позволяли извлечь большее количество АО, чем водные (рисунок 17), что объясняется промежуточной полярностью водно-спиртовых растворов, которая аналогична полярности фенольных соединений, где этанол увеличивает растворимость фенольных АО, тогда как вода способствует их десорбции из сырья [111].

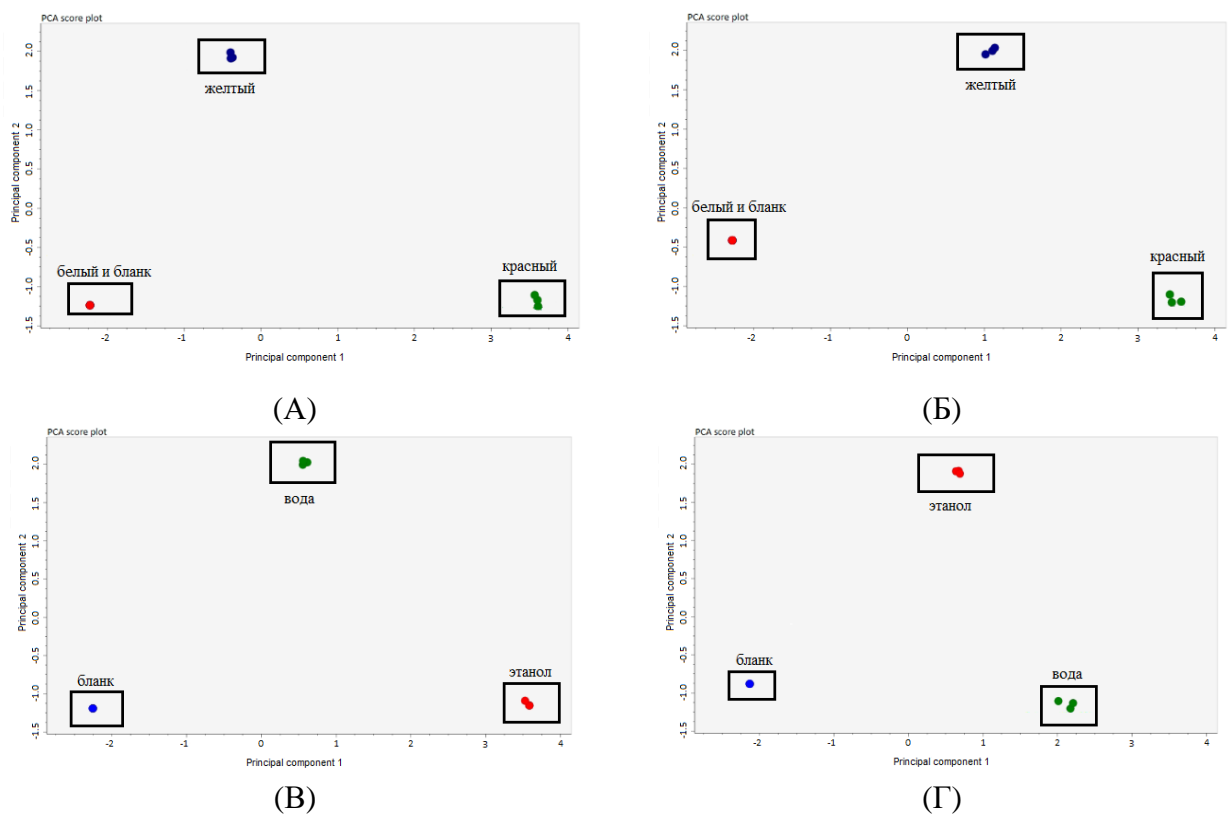


Рисунок 17. Результаты PCA-анализа, где: (А) - этанольные экстракты шелухи красного, желтого и белого лука; (Б) водные экстракты шелухи красного, желтого и белого лука; (В) водные и спиртовые экстракты шелухи красного лука; (Г) водные и спиртовые экстракты шелухи желтого лука

Суммарное содержание флавоноидов в водно-спиртовом экстракте шелухи красного лука было самым высоким и превышало значения шелухи желтого лука в 3,5 раза ( $P < 0,05$ ). Более того, использование этанола, который считается нетоксичным и биоразлагаемым растворителем, в некоторой степени позволяет снизить воздействие на окружающую среду [255] и при этом приемлем для потребления человеком [256]. В работе Viera V.B. et al. [257] было изучено влияние концентраций этанола (20%, 40%, 60% и 80%) на выход антиоксидантов из экстракта шелухи красного лука. Авторы обнаружили, что использование 80% водно-этанольного экстрагента способствовало лучшему извлечению фенольных соединений и общих антоцианов, обеспечивая самую высокую антиоксидантную активность. Аналогичные результаты было продемонстрированы в работе [258]. Однако, другие исследователи обнаружили, что использование более низкой концентрацией этанола (50%) для экстрагирования АО из луковой шелухи способствовало более высокому выходу БАВ, чем дистиллированная вода или 70% и 95% водно-этанольные растворы [259]. В целом для экстракции фенольных соединений из разного растительного сырья принято использовать 50-80% водные растворы этанола [256,260–262].

Методом хемилюминесценции были исследованы типы взаимодействия стандартных АО со свободными радикалами путем получения кинетических кривых изменения интенсивности ХЛ во времени. Для изучения антиоксидантной активности аскорбата натрия, токоферола и кверцетина были получены кинетические кривые ХЛ в системе люминол – пероксидаза корней хрена – перекись водорода не менее чем для шести концентраций, приготовленных из стокового раствора. Полученные графики представлены на рисунке 18.

В ходе исследования кинетических кривых ХЛ было установлено, что нейтрализация кислородосодержащих свободных радикалов имеет как минимум три типа, разделяя вещества на сильные, средние и слабые антиоксиданты, что также соответствует данным, представленным в работе Г.К. Владимирова и др. [173]. Красным пунктиром на рисунке 18 выделены характерные изменения кинетики ХЛ, вызванные внесением в систему антиоксидантов определенной силы действия.

Отмечалось, что внесение аскорбата натрия в систему приводило к практически полному моментальному тушению интенсивности ХЛ с последующим резким возрастанием значения и выходом на плато, соответствующего бланку (рисунок 18А). Снижение интенсивности ХЛ практически до нуля свидетельствовало о том, что аскорбат натрия нейтрализует все СР в системе, в том числе радикалы люминола, причем такое тушение пропорционально концентрации вносимого АО и заканчивается только после окисления всех молекул аскорбата натрия. Исследование кинетических кривых на рисунке 18Б показало, что тушение СР токоферолом характеризуется снижением интенсивности ХЛ на плато, однако имеет более

продолжительный эффект. Такое плавное гашение СР характерно для слабых АО несмотря на то, что токоферол считается одним из самых мощных АО. В работе [173] было сделано предположение, что такое несоответствие антиоксидантной активности токоферола связано с тем, что СР в данной системе находились в водной среде, в то время как изучать свойства токоферола принято в неполярных средах.

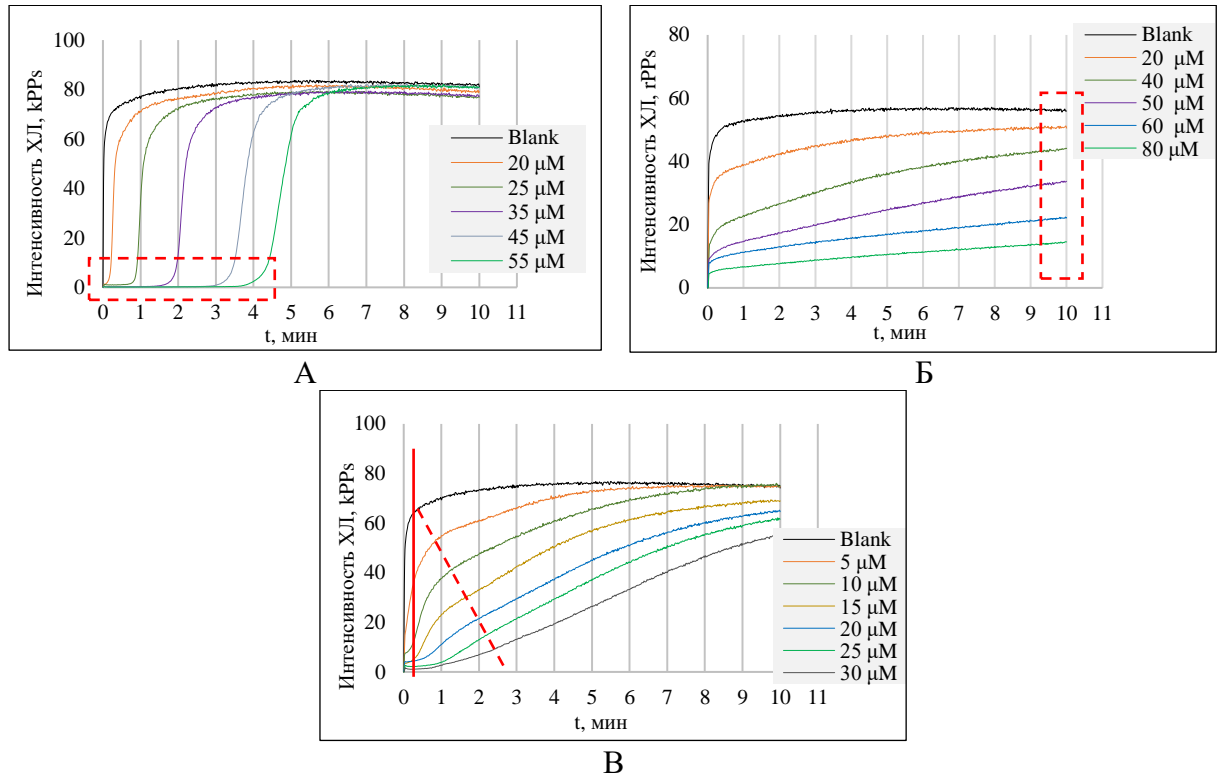


Рисунок 18. Зависимость интенсивности ХЛ от концентрации стандартного антиоксиданта, где А – аскорбат натрия, Б – токоферол, В – кверцетин

Анализ полученных кинетических кривых ХЛ для системы с кверцетином (рисунок 18В) не выявил латентного периода или существенного снижения интенсивности ХЛ на плато, однако отмечалось изменение наклона кривых, то есть скорости развития ХЛ. Такой тип взаимодействия АО со СР характерен для АО средней силы. Увеличение наклона или уменьшение скорости ХЛ было пропорционально возрастанию концентрации кверцетина.

Изучено влияние водных и 70% водно-этанольных экстрактов шелухи желтого, красного и белого лука на кинетику ХЛ при различных разведениях (рисунок 19). Анализ кинетических кривых ХЛ показал, что все экстракты шелухи красного (рисунок 19А и 19Б) и желтого (рисунок 19В и 19Г) лука репчатого содержат три типа АО. Продолжительность ингибирования интенсивности ХЛ, характерного для сильных АО, при внесении в систему этанольного экстракта шелухи красного лука была аналогична длительности латентного периода для обоих экстрактов лука желтого и меньше, чем у водного экстракта шелухи красного лука. Кроме того, водные экстракты красного (рисунок 19Б) и желтого (рисунок 19Г) лука продемонстрировали более выраженное снижение интенсивности хемилюминесценции на плато, чем аналогичные этанольные экстракты. Важно отметить, что в случае экстрактов шелухи желтого и красного

лука снижение интенсивности ХЛ на плато было аналогично результатам, полученными для кверцетина (рисунок 18В), однако даже при наименьшем разведении экстрактов интенсивность ХЛ не достигала контрольных значений и была существенно ниже бланка, что указывало на наличие слабых АО, но в низких концентрациях [99].

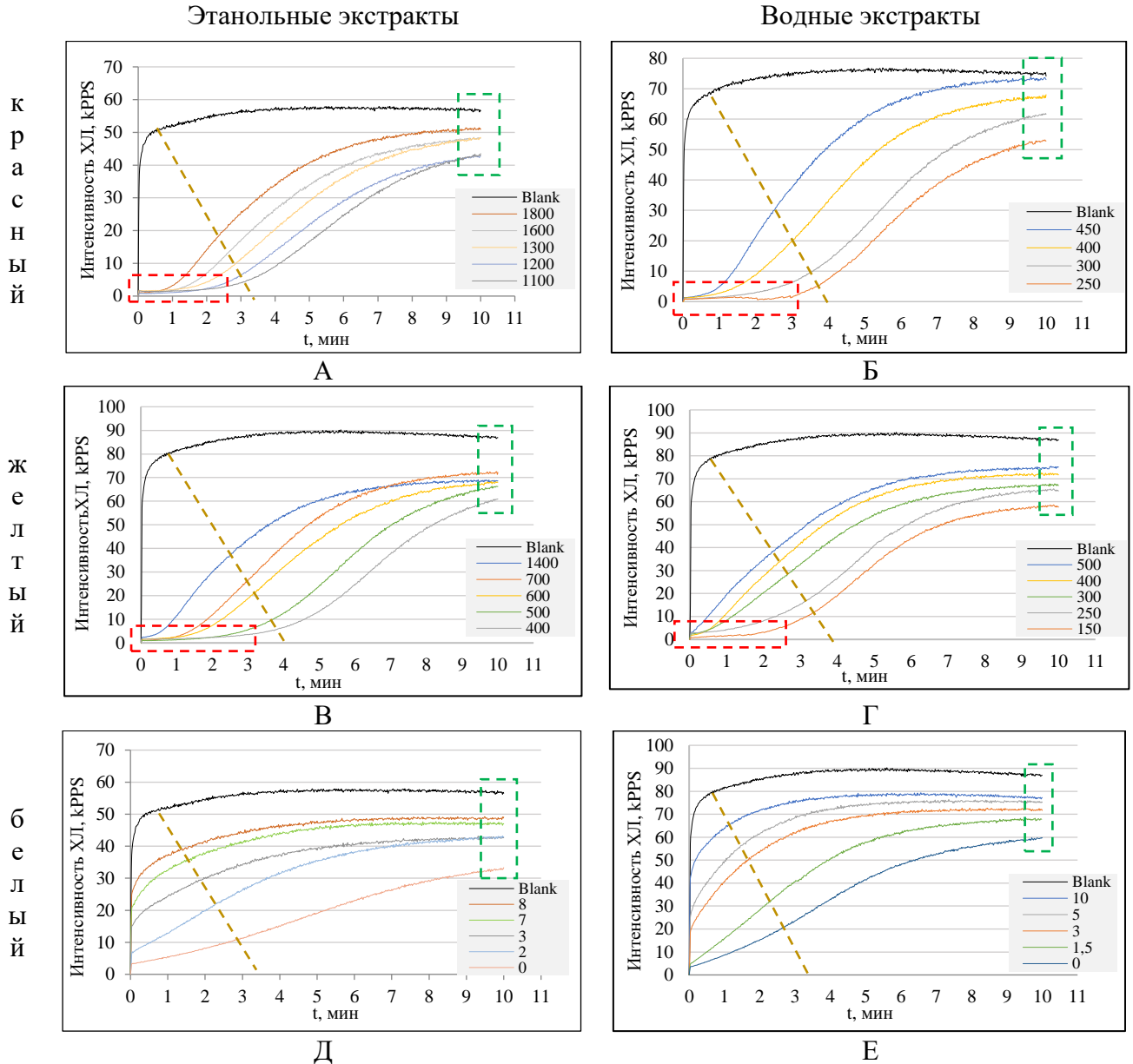


Рисунок 19. Зависимость интенсивности ХЛ от концентрации экстрактов шелухи лука, где А – этанольный экстракт красного лука, Б – водный экстракт красного лука, В – этанольный экстракт желтого лука; Г – водный экстракт желтого лука; Д – этанольный экстракт белого лука; Е – водный экстракт белого лука

При анализе кинетических кривых спиртового (рисунок 19Д) и водного (рисунок 19Е) экстрактов шелухи белого лука наблюдалось изменение наклона кривых, соответствующее наличию средних АО, и снижение интенсивности ХЛ на плато (слабые АО), при этом полностью отсутствовали изменения ХЛ, характерные для сильных АО. Отмечалось, что для этанольных экстрактов шелухи желтого (рисунок 19В) и красного (рисунок 19А) лука

разведения были значительно больше, чем для аналогичных водных, тогда как между экстрактами шелухи белого лука разница была незначительной. Такое наблюдение свидетельствовало о большем количестве АО в этанольных экстрактах шелухи желтого и красного лука по сравнению с водными, тогда как в случае белого лука содержание АО в обоих экстрактах различалось незначительно, что коррелировало со значениями ОАЕ, полученными методами FRAP и ORAC. Таким образом, методом ХЛ было установлено, что вклад в величину ОАЕ экстрактов шелухи красного и желтого лука вносят три типа АО, тогда как экстракты шелухи белого лука содержат только средние и слабые. Кроме того, методом ХЛ удалось определить, что шелуха желтого лука характеризовалась более равномерным распределением АО по типам, о чем свидетельствует большее количество слабых АО (снижение интенсивности ХЛ на плато) при одинаковой длительности тушения ХЛ, характерной для сильных АО, в экстрактах желтого и красного лука.

Методом клеточной антиоксидантной активности с использованием стандартной клеточной культуры НТ-29 были определены проценты свободно-радикального окисления (СРО) для 70% водно-этанольных экстрактов шелухи репчатого лука в зависимости от их разведения и времени инкубации 30, 60 и 90 минут для оценки изменчивости КАА в динамике (таблица 8).

Таблица 8 – Процент СРО для спиртовых экстрактов шелухи лука

Разведение	Красный лук			Желтый лук			Белый лук		
	30 мин	60 мин	90 мин	30 мин	60 мин	90 мин	30 мин	60 мин	90 мин
27	2,8 ±0,4 <sup>b</sup>	9,0 ±0,9 <sup>b</sup>	14,7 ±1,2 <sup>b</sup>	1,8 ±0,2 <sup>b</sup>	6,6 ±0,5 <sup>b</sup>	10,6 ±0,8 <sup>b</sup>	37,3 ±2,1 <sup>a</sup>	68,0 ±5,9 <sup>a</sup>	82,1 ±5,2 <sup>a</sup>
47	4,3 ±0,8 <sup>b</sup>	13,2 ±2,5 <sup>b</sup>	21,8 ±4,3 <sup>b</sup>	2,8 ±0,3 <sup>b</sup>	9,5 ±0,8 <sup>b</sup>	15,6 ±1,2 <sup>b</sup>	36,8 ±0,7 <sup>a</sup>	70,9 ±2,4 <sup>a</sup>	86,1 ±3,5 <sup>a</sup>
67	5,4 ±0,6 <sup>b</sup>	17,5 ±2,1 <sup>b</sup>	30,5 ±4,4 <sup>b</sup>	4,7 ±0,8 <sup>b</sup>	17,0 ±1,9 <sup>b</sup>	30,3 ±2,5 <sup>b</sup>	34,2 ±0,3 <sup>a</sup>	66,7 ±2,7 <sup>a</sup>	81,5 ±4,5 <sup>a</sup>
87	6,9 ±0,9 <sup>b</sup>	25,3 ±3,6 <sup>b</sup>	47,7 ±7,5 <sup>b</sup>	5,9 ±0,4 <sup>b</sup>	23,0 ±1,4 <sup>b</sup>	43,2 ±1,4 <sup>b</sup>	78,9 ±5,0 <sup>a</sup>	91,7 ±4,6 <sup>a</sup>	113,7 ±6,3 <sup>a</sup>
127	48,2 ±4,8 <sup>b,d</sup>	70,8 ±5,3 <sup>d</sup>	93,3 ±6,6 <sup>d</sup>	8,5 ±0,5 <sup>b,c</sup>	27,6 ±1,1 <sup>b,c</sup>	36,6 ±1,0 <sup>b,c</sup>	71,7 ±3,5 <sup>a</sup>	82,7 ±3,4 <sup>a</sup>	102,0 ±4,6 <sup>a</sup>
167	53,5 ±4,3 <sup>b</sup>	72,4 ±5,1 <sup>b</sup>	95,9 ±4,7 <sup>b</sup>	61,4 ±0,9 <sup>b</sup>	79,9 ±15 <sup>b</sup>	106,7 ±20,3 <sup>b</sup>	84,5 ±4,3 <sup>a</sup>	104,6 ±5,1 <sup>a</sup>	133,2 ±4,7 <sup>a</sup>
P-value	0,023	0,019	0,012	0,016	0,019	0,019	0,001	0,019	0,019

a-b, c-d – достоверная разница между красным, желтым и белым луком в соответствующем разведении при 30, 60 и 90 минутах инкубации, критерий Краскела-Уоллеса ( $P < 0,05$ )

При анализе результатов СРО отмечалось, что для спиртовых экстрактов красного, желтого и белого лука вне зависимости от разведения с увеличением времени инкубации процент СРО увеличивался. Данная зависимость связана с тем, что с увеличением времени инкубации количество антиоксидантов в образцах уменьшалось за счет тушения СР. Аналогичная тенденция наблюдалась в зависимости величины СРО от разведения вносимого образца. Отмечалось, что изменения процентов СРО в зависимости от времени инкубации и

разведения образцов были идентичны для спиртовых экстрактов красного, желтого и белого лука, при этом % СРО для экстракта шелухи белого лука были значительно выше, чем для красного и желтого лука. Так, при разведении в 27 раз на 30 минутах инкубирования % СРО желтого лука был в 21 раз ниже белого ( $P<0,05$ ), а на 60 и 90 минуты в 10 ( $P<0,05$ ) и 7,7 раз ( $P<0,05$ ), соответственно. При разведении в 47 раз наблюдались статистически значимые отличия белого лука от желтого на всех минутах инкубации, на 30, 60 и 90 минуты инкубирования % СРО для белого лука были выше в 13,0 ( $P<0,05$ ), 7,5 ( $P<0,05$ ) и 5,5 раз ( $P<0,05$ ), соответственно. При разведении образцов в 67 раз % СРО красного и желтого лука были аналогичными и при этом существенно ниже, чем для белого. При разведении в 87 раз наблюдались статистически значимые отличия величины СРО желтого лука от белого на всех минутах инкубации: для 30, 60 и 90 минут % СРО увеличился в 13,4 раз ( $P<0,05$ ), 4,0 раз ( $P<0,05$ ) и 2,6 раз ( $P<0,05$ ), соответственно. % СРО красного лука был ниже белого на 60 минутах в 3,6 раз ( $P<0,05$ ), а на 90 минуте в 2,4 раза ( $P<0,05$ ). При разведении экстрактов в 127 раз у красного лука наблюдался резкий скачок % СРО и значения приближались к показателям белого лука в то время, как величины экстракта желтого лука оставались низкими. Резкий скачок увеличения %СРО наблюдался в отношении желтого лука при разведении в 167 раз и не отличался статистически значимо от величин белого лука.

Результаты определения процента клеточной антиоксидантной активности 70% водно-этанольных экстрактов шелухи лука в зависимости от разведения с использованием стандартной клеточной культуры НТ-29 представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Процент клеточной антиоксидантной активности экстрактов шелухи лука

Разведение	Клеточная антиоксидантная активность, %		
	Красный	Желтый	Белый
27	87,4±1,4 <sup>b</sup>	90,2±0,6 <sup>b</sup>	21,2±8,5 <sup>a</sup>
47	80,3±5,6 <sup>b</sup>	85,1±3,6 <sup>b</sup>	19,4±1,5 <sup>a</sup>
67	78,6±3,5 <sup>b</sup>	73,2±10,8 <sup>b</sup>	23,0±2,6 <sup>a</sup>
87	69,8±2,3	67,3±8,0	нпо
127	26,0±0,9 <sup>a</sup>	68,7±3,6 <sup>b</sup>	нпо
167	21,9±4,6	нпо	нпо
p-value	0,019	0,019	0,027

a-b – достоверная разница между значениями экстрактов шелухи красного, желтого и белого лука в соответствующем разведении, критерий Краскела-Уоллеса ( $P<0,05$ ); нпо-ниже предела обнаружения

Установлено, что показатели КАА при разведении образцов изменялись аналогично развитию интенсивности СРО. При разведениях в 27, 47 и 67 раз проценты КАА экстрактов красного и желтого лука были схожи между собой, в то время как показатели белого лука были меньше более чем в 3,2 раза ( $P<0,05$ ), а при разведении в 87 раз – значения КАА белого лука были ниже предела обнаружения. При разведении в 127 раз наблюдалось резкое снижение %



КАА для красного лука, уступая желтому в 2,6 раз ( $P < 0,05$ ), а при разведении в 167 раз активностью обладала только шелуха красного лука, однако значения находились в зоне нелинейности. Клеточную антиоксидантную активность экстрактов шелухи лука выражали в эквиваленте стандартного антиоксиданта (рисунок 20Б), используя для этого калибровочный график, построенный по кверцетину в диапазоне концентраций от 50 до 150 мкМ (рисунок 20А).

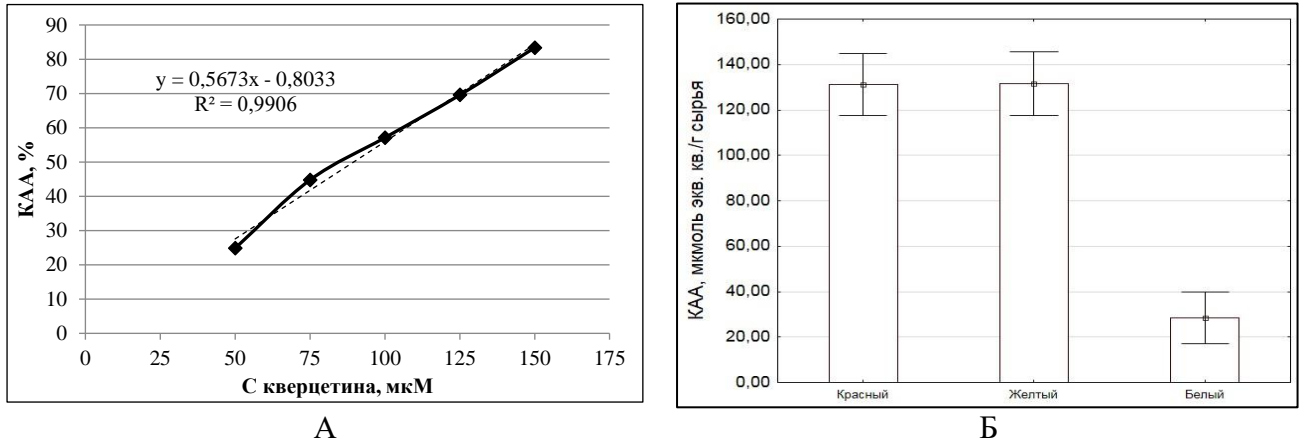


Рисунок 20. А - Калибровочный график КАА по кверцетину;  
Б – значения КАА экстрактов шелухи лука в эквиваленте кверцетина

Установлено, что значения КАА экстрактов красного и желтого лука были схожи и составили  $132,8 \pm 28,5$  и  $137,8 \pm 28,1$  мкмоль-экв. кв. / г сырья ( $P > 0,05$ ), соответственно, превышая величину белого лука примерно в 4 раза ( $P < 0,05$ ). Интересно, что величины КАА и СРО для красного и желтого лука отличались между собой незначительно, более того, желтый лук проявлял высокую активность даже при разведении в 127 раз, что не соответствовало результатам, полученным при изучении ОАЕ и общего содержания фенольных соединений в экстрактах, где значения красного лука существенно превышали аналогичные показатели желтого. Полученные результаты свидетельствуют о том, что химические методы не способны учитывать распределение сложных смесей антиоксидантов в живой системе и не информативны в оценке антиоксидантной активности. Важно отметить, что изучение характера взаимодействия АО со СР и определение соотношения типов АО в исследуемом растительном сырье методом хемилюминесценции позволяет оценить антиоксидантную активность и тем самым прогнозировать эффективность и перспективность применения сырья для живых объектов.

### 3.2 Результаты изучения показателей качества и безопасности, сохранности антиоксидантных свойств экстракта шелухи желтого репчатого лука

Технологическая схема получения 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого лука репчатого (ЭШЛ) представлена на рисунке 21.

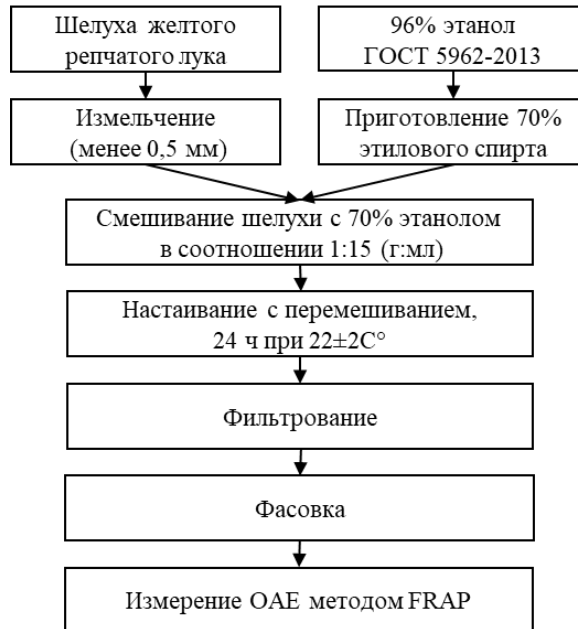
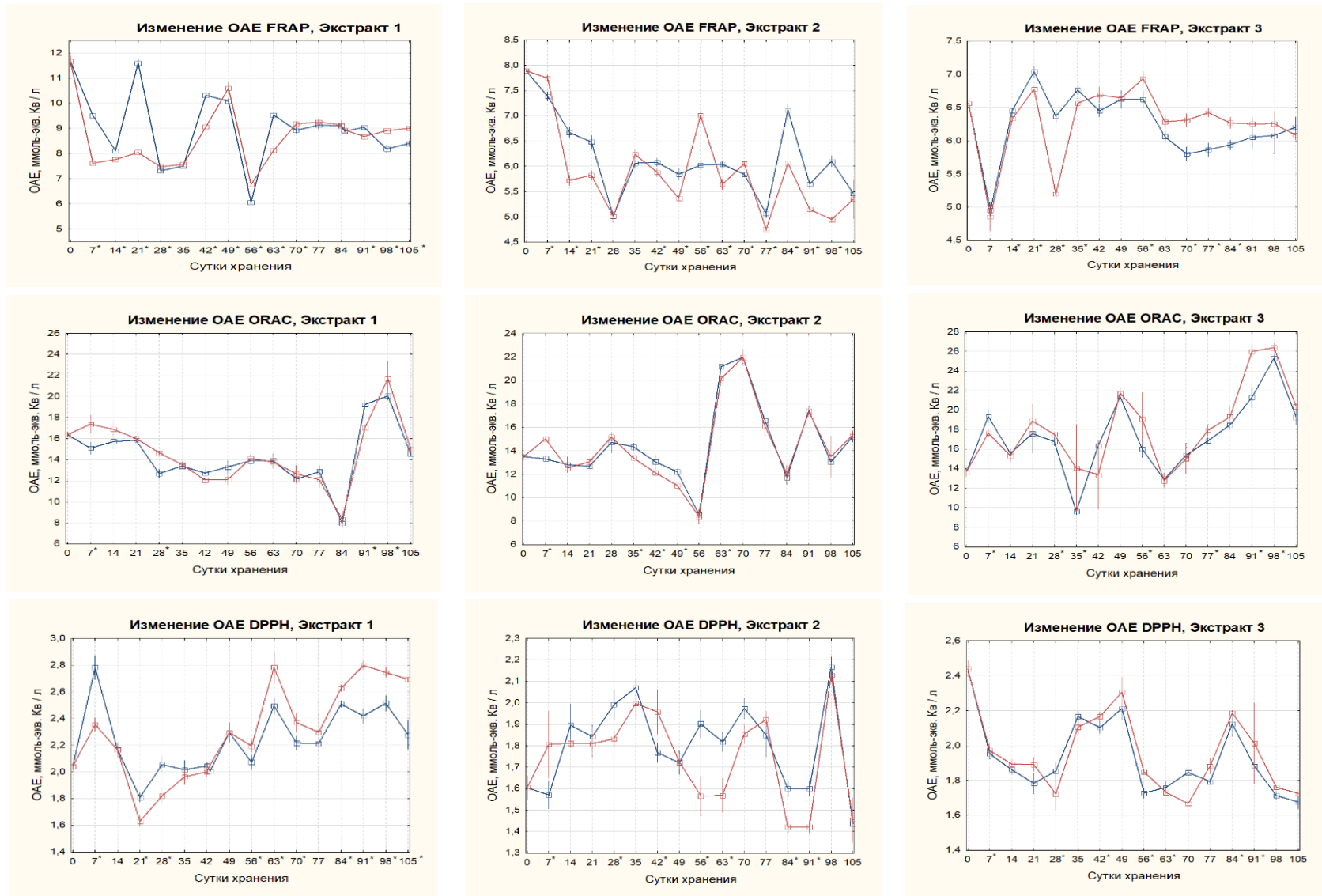


Рисунок 21. Технологическая схема получения экстракта шелухи желтого репчатого лука

Для производства ЭШЛ используют шелуху от желтого лука репчатого первого или второго товарного сорта по ГОСТ 34306 [263], этиловый ректификованный спирт из пищевого сырья с объемной долей спирта этилового не менее 96,0 % по ГОСТ 5962 [264] и воду питьевую по ГОСТ Р 51232 [265]. Экстракт шелухи лука представляет собой продукт, приготовленный путем смешивания измельченной шелухи желтого репчатого лука и 70% этилового ректификованного спирта из пищевого сырья в соотношении 1:15 (г:мл). Затем смесь настаивают при 22±2°C в течение 24 часов с периодическим перемешиванием, после чего фильтруют. Готовый экстракт предназначен для обогащения пищевой продукции функциональными ингредиентами антиоксидантного эффекта и эффекта поддержания деятельности сердечно-сосудистой системы, имеющий кодировку Б-І-4-В по ГОСТ 54059 [266].

Для изучения сохранности антиоксидантного потенциала ЭШЛ в процессе хранения, готовили три экстракта из разного сырья, приобретенного в марте (№1), мае (№2) и августе (№3) 2023 года, и измеряли ОАЕ методами ORAC, FRAP и DPPH в день приготовления (0 сутки) и каждые последующие 7 суток в течение 15 недель. На рисунке 22 продемонстрировано изменение значений ОАЕ всех экстрактов, а в таблицах 10-12 представлены проценты сохранности ОАЕ.



\* достоверное различие между образцами, хранившихся при  $4\pm 2^\circ\text{C}$  и  $22\pm 2^\circ\text{C}$ , критерий Манна-Уитни,  $P < 0,05$

Рисунок 22. Изменение OAE экстрактов шелухи желтого лука №1, №2 и №3 в процессе хранения при  $4\pm 2^\circ\text{C}$  (синяя) и  $22\pm 2^\circ\text{C}$  (красная)

Таблица 10 – Процент сохранности ОАЕ экстракта №1 в процессе хранения

ОАЕ, ммоль-экв. кверцетина / л экстракта						
Метод	FRAP		ORAC		DPPH	
0 сутки	11,68 ± 0,22		16,36 ± 0,26		2,04 ± 0,02	
% сохранности ОАЕ от 0 суток						
T, °C	4°C	22°C	4°C	22°C	4°C	22°C
7	81,43±1,21*	65,25±0,59	92,24±3,52*	106,16±5,42	136,35±4,38*	115,44±2,55
14	69,47±0,01*	66,49±0,89	96,05±4,17	103,19±5,33	106,32±2,45	106,07±2,79
21	99,37±1,48*	68,84±0,26	96,81±1,51	97,78±1,51	88,64±1,74*	79,88±1,90
28	62,61±0,84*	63,98±0,43	77,46±2,45*	89,65±1,18	100,74±2,89*	89,25±2,84
35	64,28±1,24	64,83±1,15	81,87±1,17	82,76±1,81	98,79±3,40	96,23±2,90
42	88,37±1,75*	77,58±0,90	77,80±3,34	73,78±2,74	99,78±1,41	98,71±1,89
49	86,33±0,97*	90,77±1,90	81,30±3,58	74,01±3,02	112,47±2,34	112,48±3,55
56	51,90±0,57*	57,99±0,80	84,99±3,34	86,26±2,42	101,54±2,62*	107,52±2,23
63	81,65±0,84*	69,59±1,09	84,86±4,19	84,19±2,83	122,30±3,07*	136,35±5,88
70	76,40±0,99*	78,58±0,76	74,30±1,49	77,30±5,0	108,65±2,52*	116,20±3,49
77	78,19±1,45	79,23±1,05	78,48±3,80	73,88±4,28	108,44±1,74	112,54±7,29
84	77,43±1,23	77,80±1,46	48,71±2,70	51,17±4,61	122,95±1,29*	128,71±1,19
91	77,42±0,22*	74,28±0,64	117,68±2,35*	104,11±1,41	118,55±2,82*	137,11±1,65
98	70,04±1,23*	76,29±0,62	122,53±2,32*	132,64±10,22	123,25±2,84*	134,55±1,72
105	71,96±0,95*	77,06±0,14	88,81±1,25	91,65±1,53	111,59±5,21*	132,04±0,67

\* достоверное различие между показателями ОАЕ образцов, хранящихся при 4°C и 22°C, критерий Манна-Уитни, P<0,05

Таблица 11 – Процент сохранности ОАЕ экстракта №2 в процессе хранения

ОАЕ, ммоль-экв. кверцетина / л экстракта						
Метод	FRAP		ORAC		DPPH	
0 сутки	7,89 ± 0,02		13,50 ± 0,22		1,60 ± 0,05	
% сохранности ОАЕ от 0 суток						
T, °C	4°C	22°C	4°C	22°C	4°C	22°C
7	93,53±1,12*	98,08±0,78	98,49±1,50*	111,12±1,59	97,88±4,04*	112,61±9,76
14	84,48±1,22*	72,49±1,34	94,89±4,93	92,72±2,00	118,14±6,14	112,94±1,12
21	82,07±1,60*	73,78±1,12	93,88±4,05	96,76±1,80	114,85±3,27	112,79±3,83
28	63,54±1,20	63,40±1,36	108,93±6,47	112,25±3,11	124,16±4,35*	114,24±2,26
35	76,80±1,42	79,03±1,34	106,29±2,28*	99,24±0,69	129,04±2,35	124,46±4,34
42	77,02±1,0*	74,52±1,14	96,79±4,44*	89,88±1,81	110,22±2,72*	122,06±6,46
49	74,02±1,36*	67,99±0,53	90,33±2,09*	81,77±0,56	107,24±3,33	107,61±2,27
56	76,31±1,30*	88,77±1,41	63,29±2,42	62,01±4,55	118,59±4,04*	97,58±5,70
63	76,51±0,66*	71,48±1,31	156,79±1,17*	149,28±1,48	113,26±2,85*	97,76±4,99
70	73,97±0,39*	76,67±0,39	162,68±3,88	162,68±5,17	123,06±2,97	115,63±2,68
77	64,23±1,10*	60,24±0,37	122,74±3,85	119,24±5,74	115,34±6,46	119,79±2,45
84	90,13±1,21*	76,73±0,30	86,71±4,22	89,10±5,39	98,13±2,29*	87,62±1,92
91	71,58±1,05*	65,22±0,80	129,05±2,16	128,26±3,23	99,73±2,25*	88,57±1,77
98	77,29±1,35*	62,66±0,65	96,61±5,87	99,92±13,07	134,98±3,07	132,70±1,92
105	69,17±2,57	67,78±0,94	112,55±3,22	113,69±2,62	89,53±1,46	90,64±6,50

\* достоверное различие между показателями ОАЕ образцов, хранящихся при 4°C и 22°C, критерий Манна-Уитни, P<0,05

По полученным данным для ЭШЛ №1, хранившегося при 4°C (холод) и при 22±2°C (тепло) (таблица 10), к 105 суткам (15 недель) хранения, было отмечено снижение ОАЕ<sub>FRAP</sub> примерно на 28,0% (холод) и 22,9% (тепло), при этом значения ОАЕ<sub>ORAC</sub> уменьшались всего на 11,19% при 4°C и 8,35% при 22±2°C, одновременно было отмечено увеличение ОАЕ<sub>DPPH</sub> на

11,59% и 32,04%, соответственно. В зависимости от температуры хранения ( $4\pm 2^\circ\text{C}$  и  $22\pm 2^\circ\text{C}$ ) величины ОАЕ экстракта №1 по всем методам статистически отличались на 7, 28, 91 и 98 сутки хранения ( $P<0,05$ ). В остальной период ОАЕ<sub>ORAC</sub> для обоих образцов не имели значительной разницы от температуры хранения, тогда как ОАЕ<sub>FRAP</sub> и ОАЕ<sub>DPPH</sub> одновременно характеризовались статистическими отличиями показателей экстрактов, хранившихся в холоде и тепле, на 3, 8, 9, 10 и 15 недели хранения ( $P<0,05$ ). Кроме того, значительная разница ОАЕ отмечалась на 14, 42 и 49 сутки хранения ( $P<0,05$ ) по методу FRAP.

При анализе данных для ЭШЛ №2 (таблица 11) было установлено, что к 105 суткам хранения ОАЕ<sub>FRAP</sub> ЭШЛ №2 снижалась на 30,83% и 32,22% для экстрактов, хранившихся при  $4\pm 2^\circ\text{C}$  и при  $22\pm 2^\circ\text{C}$ , соответственно, ОАЕ<sub>DPPH</sub> уменьшалась всего на 10,47% и 9,36%, соответственно, одновременно с увеличением ОАЕ<sub>ORAC</sub> на 12,55% и 13,69%, соответственно. В зависимости от температуры хранения емкости ЭШЛ №2 по всем методам статистически отличались между собой только на 7, 42 и 63 сутки хранения ( $P<0,05$ ). Аналогично ЭШЛ №1, изменения ОАЕ<sub>ORAC</sub> для экстракта №2 минимально зависели от температуры хранения, тогда как ОАЕ<sub>FRAP</sub> демонстрировала большее количество статистически значимых различий.

Таблица 12 – Процент сохранности ОАЕ экстракта №3 в процессе хранения

ОАЕ, ммоль-экв. кверцетина / л экстракта						
Метод	FRAP		ORAC		DPPH	
0 сутки	6,56±0,07		13,68±0,53		2,44±0,05	
% сохранности ОАЕ от 0 суток						
T, °C	4°C	22°C	4°C	22°C	4°C	22°C
7	75,49±1,73	73,90±3,06	141,50±4,49*	128,80±2,49	80,03±1,14*	80,81±1,61
14	98,33±0,64*	96,47±0,74	113,68±1,79	112,07±4,98	76,32±1,18	77,65±1,06
21	107,28±1,34*	103,25±0,19	128,55±14,23	138,05±12,57	73,10±2,45	77,54±1,63
28	97,02±1,49*	79,19±1,09	122,61±3,22*	127,95±0,65	76,03±2,18*	70,61±3,67
35	103,05±1,01*	100,04±1,07	70,49±2,31*	102,75±32,49	88,82±1,23	86,32±1,81
42	98,26±1,42	101,90±1,77	119,62±3,14	97,72±25,97	86,19±1,40*	88,82±1,12
49	100,94±1,92	101,21±0,94	156,15±3,04	158,92±4,38	90,72±2,73	94,54±3,50
56	100,91±1,88*	105,64±1,64	117,06±6,21*	139,52±19,70	70,86±1,22*	75,79±0,46
63	92,35±1,15	95,75±1,67	94,25±4,68	93,36±4,91	72,14±1,49*	70,98±0,34
70	88,41±1,56*	96,14±1,54	112,57±5,97	109,87±11,61	75,70±1,14	68,38±4,63
77	89,37±1,51*	97,85±0,99	123,19±2,35*	131,02±4,13	73,51±0,70	77,19±1,81
84	90,49±1,16*	95,47±1,29	135,11±3,43	141,20±7,27	87,08±2,95*	89,62±0,59
91	92,23±2,60	95,27±1,49	155,80±7,91*	190,06±5,03	77,21±0,22*	82,53±9,54
98	92,62±4,13	95,34±2,84	184,94±2,97*	192,88±3,13	70,26±0,96	72,18±0,47
105	94,52±2,37	92,68±1,04	141,06±6,06	148,96±2,29	68,72±1,57	70,74±0,29

\* достоверное различие между показателями ОАЕ образцов, хранившихся при  $4^\circ\text{C}$  и  $22^\circ\text{C}$ , критерий Манна-Уитни,  $P<0,05$

Из полученных данных для ЭШЛ №3 было установлено, что к 105 суткам ОАЕ<sub>FRAP</sub> снижалась всего на 5,48% (холод) и 7,32% (тепло), тогда как ОАЕ<sub>DPPH</sub> уменьшалась на 31,28% и 29,26%, соответственно, а ОАЕ<sub>ORAC</sub> увеличивалась на 41,06% и 48,96%, соответственно. Кроме того, в отличие от ЭШЛ №1 и №2, для ЭШЛ №3 было зафиксировано одинаковое количество

отличий между значениями ОАЕ в зависимости от температуры хранения экстракта по всем методам исследований ( $P < 0,05$ ).

В ходе изучения сохранности ОАЕ трех экстрактов шелухи репчатого лука было установлено, что все экстракты в течение 3-х месяцев хранения как при  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , так и при  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , обладали высоким АОП. Диапазон процента сохранности  $\text{OAE}_{\text{FRAP}}$  составил от  $51,90 \pm 0,57\%$  до  $107,28 \pm 1,34\%$ , для  $\text{OAE}_{\text{ORAC}}$  – от  $48,71 \pm 2,70\%$  до  $192,88 \pm 3,13\%$ , для  $\text{OAE}_{\text{DPPH}}$  – от  $68,38 \pm 4,63\%$  до  $137,11 \pm 1,65\%$ . Изменение ОАЕ экстрактов шелухи лука по всем методам исследования имели волнообразный характер с явно выраженными экстремумами в разный период времени в независимости от температуры хранения. Волнообразное изменение ОАЕ экстрактов шелухи лука можно объяснить физико-химическими процессами, которые происходят в водно-этанольном экстракте растительных АО. Ранее нами было установлено, что экстракт шелухи лука богат фенольными соединениями, в особенности кверцетином и его гликозидами. Также известно, что шелуха лука содержит такие гликозиды, как кверцетин-3,4'-О-ди-бета-глюкозид, 3,4'-О-диглюкозид, кверцетин 3-О-глюкозид, кверцетин 4'-О-глюкозид, изорамнетин, 4'-О-глюкозид, агликон кверцетина [267]. Известно, что фенольные соединения охватывают большую группу веществ, обладающих антиоксидантными свойствами за счет наличия ненасыщенных связей и ОН-групп, однако это делает их чувствительными к реакциям, опосредованным повышением температуры, световым воздействием, изменениями рН, а также присутствием ионов металлов, ферментов или кислорода [268–270]. Так, в процессе хранения фенольные соединения могут разлагаться и/или полимеризоваться, а также подвергаться окислению и гидролизу, что может приводить к появлению новых фенольных соединений, которые в свою очередь могут влиять на антиоксидантный потенциал объекта исследований [270–273]. Упоминается, что кверцетин может выступать в качестве строительного блока для синтеза других флавоноидов [274], а высокие температуры могут вызывать эписмеризацию (-)-эпикатехина в (-)-катехин и (+)-катехина в (+)-эпикатехин [275]. Таким образом, на основании полученных результатов и литературных данных было показано, что температура хранения не будет существенно влиять на антиоксидантный потенциал ЭШЛ, однако, она не должна превышать 25 градусов.

Кроме того, при анализе экспериментальных данных было отмечено, что каждый экстракт шелухи желтого репчатого лука к окончанию срока хранения характеризовался сильным и умеренным снижением одних ОАЕ и увеличением показателей ОАЕ, определенной другим методом. Так, ЭШЛ №1 имел сильное уменьшение  $\text{OAE}_{\text{FRAP}}$ , небольшое в отношении нейтрализации кислородосодержащих СР ( $\text{OAE}_{\text{ORAC}}$ ) и увеличение  $\text{OAE}_{\text{DPPH}}$ . ЭШЛ №2 и ЭШЛ №3 характеризовались увеличением  $\text{OAE}_{\text{ORAC}}$ , однако ОАЕ по восстановлению металлов ( $\text{OAE}_{\text{FRAP}}$ ) во втором экстракте снижалась существенно, а  $\text{OAE}_{\text{DPPH}}$  всего примерно на 10%,

тогда как ЭШЛ №3 сохранял около 93% ОАЕ<sub>FRAP</sub> и терял около 30% емкости в отношении азотосодержащих СР (ОАЕ<sub>DPH</sub>). Данное наблюдение можно объяснить тем, что в зависимости от используемого растительного сырья, изменяется количество основных АО и их соотношение, о чем также свидетельствуют разные значения общих антиоксидантных емкостей трех экстрактов в день их приготовления (0 сутки). Таким образом, было продемонстрировано, что ЭШЛ в зависимости от региона произрастания и сбора урожая будет одновременно характеризоваться различными величинами снижения и увеличения ОАЕ в отношении разных механизмов действия.

Безопасность ЭШЛ определяли в соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011 (Приложение 1; Приложение 2: «1.9 Биологически активные добавки к пище»; Приложение 3: «6. Плодоовощная продукция, чай, кофе» и «10. Биологически активные добавки к пище») [203]. Результаты определения микробиологических показателей и измерения концентраций токсичных элементов и пестицидов в шелухе желтого лука и приготовленного из нее экстракта представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Показатели безопасности шелухи лука и экстракта

Показатели	Шелуха лука		Экстракт шелухи лука	
	Допустимый уровень	Фактическое значение	Допустимый уровень	Фактическое значение
Токсичные элементы, мг/кг, не более				
Свинец	0,5	<0,01	0,5	<0,01
Мышьяк	0,2	<0,01	0,05	<0,01
Кадмий	0,03	<0,01	0,03	<0,01
Ртуть	0,02	<0,002	0,01	<0,002
Пестициды, мг/кг, не более				
ГХЦГ (α, β, γ-изомеры)	0,5	0,004±0,001	0,1	<0,001
ДДТ и его метаболиты	0,1	0,003±0,001	0,1	<0,001
Гептахлор	-	-	не допускается (<0,002)	<0,002
Алдрин	-	-	не допускается (<0,002)	<0,002
Микробиологические				
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются в массе продукта, (г)	25 г	н/о	25 г	н/о
КМАФАнМ, КОЕ/г, не более	-	-	5·10 <sup>3</sup>	н/о
БГКП (колиформы), не допускаются в массе продукта, (г)	-	-	1,0 г	н/о
Плесени и дрожжи, КОЕ/г, не более	-	-	50	н/о

КМАФАнМ - Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов; БГКП - Бактерии группы кишечных палочек; н/о – не обнаружено

Содержание токсичных элементов (свинец, кадмий, мышьяк, ртуть) и пестицидов не превышало допустимых уровней, установленных требованиями, как в сырье, так и в приготовленном экстракте шелухи желтого репчатого лука. КМАФАнМ не превышало установленных показателей  $5 \cdot 10^3$  КОЕ/г, БГКП, сальмонеллы, дрожжи и плесени не были обнаружены в водно-этанольном экстракте шелухи лука.

Экстракт шелухи желтого репчатого лука, получаемый в соответствии с предложенной технологической схемой (рисунок 21), характеризуется общей антиоксидантной емкостью, определенной методом FRAP в диапазоне 6,5-8,5 ммоль-экв. кв. / л, причем в зависимости от используемого сырья, данный показатель может достигать 12 ммоль-экв. кв. / л.

По результатам экспериментов были разработаны ТИ и ТУ 10.89.15-000-00419779 по производству этанольного экстракта шелухи желтого лука репчатого, предназначенного для применения в пищевой промышленности с целью обогащения пищевой продукции функциональными ингредиентами антиоксидантного эффекта и эффекта поддержания деятельности сердечно-сосудистой системы, имеющий кодировку Б-І-4-В по ГОСТ 54059 [266].



### **3.3 Научное обоснование применения экстракта шелухи желтого репчатого лука в производстве мясного паштета антиоксидантного действия**

Внесение 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого лука репчатого (ЭШЛ) в мясной паштет осуществляли на основании расчетов, проведенных в соответствии с Приложением 5 «Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований к продукции (товарам), подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» (Единые санитарные требования) [276]. Адекватный уровень потребления (АУП) и верхний допустимый уровень потребления (ВДУП) флавоноидов из продуктов растительного происхождения составляют 250 мг и 500 мг в сутки, соответственно. В том числе АУП и ВДУП флавонолов и их гликозидов (кверцетин, кемферол, мирицетин, изорамнетин, рутин) в пересчете на рутин составляют 30 мг и 100 мг в сутки, соответственно [276]. Содержание БАВ в суточной дозе БАД к пище, указанной в рекомендациях по применению, должно составлять не менее 15% от АУП и не превышать ВДУП согласно приложению 5 Единых санитарных требований [276].

Для пересчета концентраций АУП и ВДУП флавонолов и их гликозидов в эквиваленты кверцетина, использовали молекулярные массы рутина (610,517 г/моль) и кверцетина (302,236 г/моль). Тогда, АУП и ВДУП по кверцетину составили 14,81 мг и 49,5 мг кверцетина в сутки, соответственно. Тогда, 15% от адекватного уровня потребления флавонолов и их гликозидов составил 2,22 мг кверцетина в сутки или 7,35 мкмоль кверцетина / сутки.

Порция мясного паштета была принята за 100 г, тогда она должна содержать 7,35-163,78 мкмоль кверцетина / 100 г продукта для предполагаемого воздействия антиоксидантного эффекта на организм. Ранее в работе [102] было выявлено, что ЭШЛ оказывает антиоксидантный эффект на организм лабораторных животных при его употреблении в концентрации 1,34 мг кверцетина в сутки / голову (4,4 мкмоль кверцетина / голову). Так как взрослая крыса в сутки может съесть 10 г паштета, то 4,4 мкмоль кверцетина должно содержаться в 10 г продукта, поэтому минимальная концентрация внесения ЭШЛ должно соответствовать 44,0 мкмоль кверцетина / 100 г продукта (13,4 мг кверцетина / 100 г продукта). Тогда теоретический рабочий диапазон ЭШЛ для внесения в мясной паштет составил 44,0-163,78 мкмоль кверцетина / 100 г продукта (13,4-49,5 мг кверцетина / 100 г продукта), где 163,78 мкмоль кверцетин это ВДУП. Для расчета объема экстракта шелухи лука, необходимого для внесения в опытный паштет, определяли ОАЕ используемого ЭШЛ за сутки до производства продукта.

### 3.3.1 Исследование сохранности антиоксидантных свойств экстракта шелухи желтого репчатого лука в мясной матрице

При разработке технологии мясного паштета антиоксидантного действия с внесением 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого лука репчатого (ЭШЛ) первым этапом являлось изучение сохранности антиоксидантных свойств ЭШЛ в мясной матрице и его влияния на свойства продукта. Поскольку кверцетин (основной антиоксидант ЭШЛ) является эффективным ингибитором перекисного окисления липидов, для изучения сохранности АО ЭШЛ были приготовлены образцы модельных мясных паштетов с низким содержанием жира в соответствии с рецептурой, представленной в таблице 14. В качестве основного сырья использовали говядину жилованную второго сорта с массовой долей жировой и соединительной ткани не более 20% (пашина), печень говяжью, свинину нежирную, сердце свиное, муку пшеничную высшего сорта, молоко коровье сухое цельное и лук репчатый жареный.  $ОАЕ_{FRAP}$  используемого ЭШЛ равнялась  $6,53 \pm 0,18$  мкмоль-экв. кверцетина / л экстракта.

Таблица 14 – Рецептура модельных мясных паштетов

Ингредиенты рецептуры	Образцы паштетов		
	Контроль (без ЭШЛ)	Образец 1 (max)	Образец 2 (1/2 max)
Основное сырье, кг на 100 кг бланшированных продуктов			
Говядина второго сорта (пашина) жилованная, бланшированная	35	35	35
Печень говяжья жилованная, бланшированная	23	23	23
Свинина нежирная, бланшированная	20	20	20
Сердце свиное, бланшированное	10	10	10
Мука пшеничная, высший сорт	5	5	5
Молоко коровье сухое цельное	2	2	2
Лук репчатый жареный	5	5	5
Пряности и материалы, г на 100 кг несоленого сырья			
Соль пищевая	1400	1400	1400
Сахар белый	300	300	300
Перец черный молотый	100	100	100
Перец душистый молотый	50	50	50
Горчица молотая	500	500	500
Орех мускатный молотый	50	50	50
Жидкость, л / 100 кг основного сырья			
Бульон говяжий	20,0	13,2	16,6
ЭШЛ	-	6,8	3,4

В качестве жидкости в паштеты добавляли говяжий бульон, полученный после варки пашины говяжьей. В образцы 2 и 3 вносили ЭШЛ в соответствии с его  $OAE_{FRAP}$  и говяжий бульон так, чтобы общий объем жидкости соответствовал контрольному, не содержащего ЭШЛ. Технологическая схема приготовления паштетов соответствовала ТИ по производству мясных и мясосодержащих паштетов по ГОСТ Р 55334 [188].

Субпродукты готовили следующим образом: печень освобождали от крупных кровеносных сосудов, лимфатических узлов, желчных подтеков; сердце разрезали пополам для удаления сгустков крови, промывали в холодной воде; пащину очищали от загрязнений и промывали проточной водой. Печень говяжьую нарезали на куски 200-300 г и бланшировали при соотношении печени и воды 1:3 при температуре  $95\pm 5^\circ\text{C}$  в течение 15-20 мин. Сердце варили до полной готовности (размягчения) в течение 2 ч при температуре  $98-100^\circ\text{C}$ . Пащину говяжьую нарезали на куски 200-300 г и бланшировали в течение 40 мин. Мясо сырье нарезали на куски по 200-300 г и бланшировали в воде при температуре  $95\pm 5^\circ\text{C}$  в течение 15-20 мин. Свежий репчатый лук очищали, промывали в проточной воде и измельчали, используя комбайн (Bosch MSM3501M мощностью 800 Вт, Словения). Лук жарили с добавлением растительного масла до золотистого цвета. Термически обработанные мясное сырье и репчатый лук каждый ингредиент отдельно измельчали в волчке (Hurakan HKN-12SC, Китай) с диаметром отверстия решетки 2-3 мм.

Фарш для паштетов изготавливали горячим способом. Для этого в куттер (Robot Cook; Франция) закладывали бланшированную печень и часть бульона, обрабатывали их до получения однородной гомогенной массы. Полученную массу выгружали из куттера. Затем оставшееся мясное сырье в горячем виде (пашина, свинина нежирная и сердце) загружали в куттер и измельчали до однородной массы, после чего добавляли раскуттерованную печень. Жаренный лук, сухие ингредиенты (мука пшеничная, молоко коровье сухое, молотые орех мускатный, перец черный, перец душистый и горчица), оставшуюся часть бульона и ЭШЛ для образцов 1 и 2 вносили в готовую смесь и обрабатывали до получения однородной массы. Куттерование проводили при 3000 об/мин в течение 5 мин. Температура продукта в конце измельчения составляла не менее  $40^\circ\text{C}$ . Горячую смесь фасовали по  $100\pm 1$  г в вакуумные пакеты (ВакумПак-М, Россия), предназначенные для герметичной упаковки продуктов питания под вакуумом (состав пакетов ПА/ПЭ, размер - 150x200 мм, толщина 70 мкм), с использованием машины для вакуумной упаковки EASY-PACK (Webomatic, Германия). Размер пакетов подбирали с учетом массы готового продукта. Тепловую обработку проводили в водяной бане ЭКРОС 4310 (Экротхим, Россия) в течение 20-30 мин до достижения в центре продукта  $72^\circ\text{C}$ . Контроль температуры осуществляли при помощи цифрового термометра (WT-1, Китай). Сразу после тепловой обработки продукты охлаждали холодной проточной водой до

достижения температуры внутри изделия не выше 15°C. Дальнейшее охлаждение паштетов осуществляли при температуре 4±2°C.

В ходе эксперимента были получены три образца модельного мясного паштета: образец 1, содержащий максимально допустимое количество АО (ВДУП флавонолов и их гликозидов в пересчете на кверцетин), образец 2 - 50% от ВДУП и контрольный образец, не содержащий ЭШЛ. В образец 1 ЭШЛ вносили вместо 34% бульона, что составило 6,8 л ЭШЛ / 100 кг сырья и соответствовало значениям  $OAE_{FRAP}$  44,4 ммоль-экв. кв. / 100 кг сырья. В образец 2 мясного паштета ЭШЛ вносили вместо 17% бульона, а именно 3,4 л ЭШЛ / 100 кг сырья, что соответствовало значениям  $OAE_{FRAP}$  22,2 ммоль-экв. кв / 100 кг сырья.

В полученных образцах паштетов определяли химический состав и рассчитывали пищевую ценность (таблица 15), измеряли концентрации фенольных соединений (таблица 16), проводили протеомный (рисунок 23) и микроструктурный (рисунок 24) анализы, определяли содержание этанола. Паштеты хранили в течение 14 суток при температуре 4±2°C и определяли ОАЕ методами FRAP и DPPH (таблица 17), концентрацию ТБК-АП (таблица 18) в день приготовления (0 сутки) и на 3, 5, 7 и 14 сутки. Органолептическую оценку мясных паштетов проводили по истечении 24 часов хранения.

Таблица 15 –Химический состав и пищевая ценность мясных паштетов

Массовая доля, %	Контроль (без ЭШЛ)	Образец 1 (max)	Образец 2 (1/2 max)
Белок	21,27 ± 0,06	28,03 ± 0,15*	24,0 ± 0,10*.#
Жир	9,33 ± 0,06	8,00 ± 0,20*	8,93 ± 0,15*.#
Зола	1,95 ± 0,04	2,11 ± 0,06*	2,10 ± 0,06*
Влага	57,17 ± 0,21	53,0 ± 0,17*	55,7 ± 0,20*.#
Углеводы	10,29 ± 0,12	8,85 ± 0,43*	9,27 ± 0,34*
Пищевая ценность, Ккал / 100 г	228,1 ± 2,8	226,8 ± 1,5	226,8 ± 1,5

\* - достоверная разница между контрольным и опытными образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10; # - достоверная разница между опытными образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10

Из таблицы видно, что внесение ЭШЛ в мясные паштеты способствовало статистическому увеличению количества белка и снижению жира и углеводов, причем большее добавление ЭШЛ (образец 1) приводило к большим изменениям. Так, массовая доля белка в контрольном паштете уступала образцам 1 и 2 на 6,76% (P<0,10) и на 2,73% (P<0,10), соответственно. Концентрация углеводов в опытных паштетах №1 и №2 уменьшалась не менее чем на 1,04% (P<0,10), а жира не менее, чем на 0,4% (P<0,10). Отмеченные изменения состава паштетов были связаны с заменой 34% говяжьего бульона в образце 1 и 17% бульона в образце 2 на ЭШЛ. Известно, что этиловый спирт является летучим соединением, парообразование которого усиливается с увеличением температуры. Так как технология приготовления паштетов включала этап куттерования горячим способом в течение 5 минут при температуре выше 40°C,

то этанол, входящий в состав ЭШЛ, испарялся. Снижение массовой доли влаги в паштетах, содержащих ЭШЛ составило 4,17% (образец 1) ( $P < 0,10$ ) и на 1,47% (образец 2) ( $P < 0,10$ ) по сравнению с контролем.

Полученные этанольные экстракты мясных паштетов и ЭШЛ были исследованы с помощью анализа UPLC-ESI-Q-TOF-MS. Более 100 веществ было обнаружено, вручную было отобрано 69 соединений, включая фосфоэтаноламины ( $n = 4$ ), другие липиды ( $n = 10$ ), ацилкарнитины ( $n = 5$ ); альфа-аминокислоты и их производные ( $n = 5$ ), витамины группы В и родственные соединения ( $n = 5$ ), бензодиоксолы ( $n = 5$ ), флавоноиды ( $n = 10$ ), тригидроксикоричные кислоты, спирты, их производные ( $n = 4$ ) и другие органические и полифенольные соединения ( $n = 21$ ). В таблице 20 представлены основные антиоксиданты шелухи желтого лука, количественно определенные в ЭШЛ и мясных паштетах. Расчетные значения АО в паштетах, содержащих ЭШЛ, были рассчитаны на основе рецептуры. Предполагалось, что рассчитанные концентрации АО в образце 1 и образце 2 будут соответствовать  $\Delta$  (Образец 1-Контроль) и  $\Delta$  (Образец 2-Контроль), соответственно.

Контрольный мясной паштет содержал достаточно большое количество фенольных соединений, что обусловлено внесением в рецептуру около 2,4 кг/100 кг сырья таких пряностей, как перец черный, перец душистый, горчица и мускатный орех, которые также считаются источниками растительных АО. Так, перец черный содержит флавоноиды, такие как катехин, кверцетин, мирицетин, каротиноиды [277], а также различные гликозиды фенольных соединений [278], а общее содержание флавоноидов в нем может достигать 2149 мкг-экв. кверцетина / 100 г [279]. Душистый перец также содержит кверцетин [280] и другие фенольные соединения и их гликозиды [281]. В образцах горчицы было обнаружено в общей сложности 26 соединений (фенольные кислоты, флавоноиды и глюкозинолаты) [282], а среди флавоноидов наиболее распространенными были кверцетин и эпикатехин [283]. Известно, что флавоны, флавонолы и антоцианидины в большом количестве содержатся в мускатном орехе [284], кроме того, данная пряность может содержать сапонин, алкалоиды, танин, флавоноиды и другие антиоксиданты [285,286].

Таблица 16 – Результаты определения концентраций основных аниоксидантов шелухи желтого лука в ЭШЛ и в мясных паштетах

Наименование соединения	ЭШЛ, мкг-экв. кв / мл	Концентрация, мкг-экв. кв. / 100 г продукта						
		Расчетные значения		Фактические значения				
		Образец 1 (max)	Образец 2 (1/2 max)	Контроль (без ЭШЛ)	Образец 1 (max)	Образец 2 (1/2 max)	Δ (O1-K) (max)	Δ (O2-K) (1/2 max)
Дельфинидин 3-галактозид	9,56±059	65,0±4,0	32,5±3,0	18,8±2,6	80,4±34,2*	35,7±3,1 <sup>*,#</sup>	61,6	17,0
Петунидин 3-галактозид	2,94±0,20	20,0±1,4	10,0 ± 0,7	13,1±4,6	15,6±3,5	19,1±5,9	2,5	6,0
Лютеолин-4'-О-глюкозид	8,05±0,57	53,7±3,9	27,4±1,9	30,9±2,2	61,8±8,2*	43,3±8,9*	30,9	12,5
Спиреозид	3652,0±0,0	24833,6±0,0	12416,8±0,0	11041,1±158,1	20809,7±372,8*	16447,7±504,1 <sup>*,#</sup>	9768,6	5406,7
Мирицитрин	65,34±3,45	444,3±23,4	222,2±11,7	254,9±0,0	656,7±8,1*	506,9±32,4*	402,1	252,0
Изорамнетин-3-О-бета-D-глюкозид	27,90±053	189,7±3,6	94,9±1,8	180,5±25,8	259,0±6,3*	273,4±21,0*	78,4	92,8
Кверцетин 3-О-малонил-глюкозид	4,41±0,17	30,0±1,2	15,0±0,6	0,0±0,0	15,0±6,4*	8,4±1,7*	15,0	8,4
Кверцетин-3,4'-О-ди-бета-глюкозид	17,97±1,21	122,2±8,3	61,1±4,1	0,1±0,2	73,7±3,8*	40,0±9,2 <sup>*,#</sup>	73,5	39,9
Баймазид	4,50±0,34	30,6±2,3	15,3±1,2	0,4±0,8	19,4±10,2*	11,4±0,3*	19,0	11,0
Изорамнетин	18,31±1,33	124,5±9,0	62,3±4,5	24,2±6,7	144,0±7,7*	80,1±11,3 <sup>*,#</sup>	119,8	55,9
Кемпферол	10,57±0,29	71,9±2,0	36,0±1,0	3,0±1,9	53,8±10,4*	22,1±1,8 <sup>*,#</sup>	50,8	19,1
Кверцетин	1745,47±35,97	11869,2 ±244,6	5934,6±122,3	77,9±10,1	10279,0±389,8*	4563,6±76,8 <sup>*,#</sup>	10201,0	4485,7
Общее количество флавоноидов	5567,01±34,95	37855,6±237,8	18927,8±118,8	11644,9±164,3	32468,2±664,1*	21949,4±417,5 <sup>*,#</sup>	20823,3	10304,5

\*- значимые отличия между контрольным и опытными образцами (Манна-Уитни, P-value &lt; 0,10);

#- достоверная разница между опытными образцами (Манна-Уитни, P-value &lt; 0,10)

Общее количество флавоноидов в образце 1 (max) и образце 2 (1/2 max) было достоверно выше, чем в контрольном в 2,8 раза ( $P < 0,1$ ) и в 1,9 раза ( $P < 0,1$ ), соответственно, в то время как разница между образцом 1 и образцом 2 составила в среднем 1,5 раза ( $P < 0,1$ ). Содержание всех видов флавоноидов в образце 1 и образце 2 превышало значения контрольного паштета, за исключением петунидин-3-галактозида. Таким образом, концентрации соединений в образце 1 были выше, чем в контрольном паштете: дельфинидин-3-галактозида в 4,3 раза ( $P < 0,1$ ), лютеолин-4'-О-глюкозида в 2,0 раза ( $P < 0,1$ ), спиреозида в 1,9 раз ( $P < 0,1$ ), мирицитрина в 2,6 раза ( $P < 0,1$ ), изорамнетин-3-О-бета-D-глюкозида в 1,4 раза ( $P < 0,1$ ), изорамнетина в 6,0 раз ( $P < 0,1$ ), кемпферола в 18,0 раз ( $P < 0,1$ ) и кверцетина 131,9 раза ( $P < 0,1$ ). При этом показатели образца 2 превышали аналогичные концентрации контрольного продукта в 1,9 раз ( $P < 0,1$ ), 1,4 раза ( $P < 0,1$ ), 1,5 раза ( $P < 0,1$ ), 2,0 раза ( $P < 0,1$ ), 1,5 раза ( $P < 0,1$ ), 3,3 раза ( $P < 0,1$ ), 7,4 раза ( $P < 0,1$ ) и в 58,5 раз ( $P < 0,1$ ), соответственно. Кверцетин-3-О-малонилглюкозид, кверцетин-3,4'-О-ди-бета-глюкозид и баймазид присутствовали в контрольном паштете в следовых количествах, в то время как содержание этих соединений в образцах №1 и №2 находилось в диапазоне 8,37–73,66 мкг-экв. / 100 г продукта. Содержание всех флавоноидов в образце 1, за исключением петунидин-3-галактозида и изорамнетин-3-О-бета-D-глюкозида, превышало значения образца 2 в 1,3-2,4 раза ( $P < 0,10$ ).

По результатам определения основных соединений в ЭШЛ было рассчитано прогнозируемое содержание аналогичных АО в паштетах, содержащих ЭШЛ. Расчитанные разницы концентраций между образцами паштетов с ЭШЛ (образец 1 и образец 2) и контрольным продуктом ( $\Delta(O1-K)$  и  $\Delta(O2-K)$ ) были ниже, чем прогнозируемые значения, что свидетельствовало о потере антиоксидантов ЭШЛ при производстве паштетов. Однако отношение  $\Delta(O1-K)$  и  $\Delta(O2-K)$  составило в среднем 1,9 раза, что соответствовало соотношению вносимых объемов ЭШЛ в образец 1 и образец 2.

Сохранность антиоксидантных свойств ЭШЛ при внесении его в рецептуру мясного паштета оценивали путем измерения ОАЕ этанольных экстрактов выработанных паштетов методами FRAP и DPPH (таблица 17). На протяжении 14 суток хранения наблюдалось снижение общей антиоксидантной емкости во всех образцах, при этом ОАЕ образцов с ЭШЛ на протяжении всего срока статистически превышали аналогичные показатели контрольного паштета. Так,  $ОАЕ_{DPPH}$  опытного продукта с максимальной концентрацией ЭШЛ (образец 1) в течение 14 суток превышали показатели контрольного на  $34,64 \pm 3,15$  мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта, а опытного паштета с 50% концентрацией ЭШЛ (образец 2) – на  $18,10 \pm 3,02$  мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта.

Таблица 17 – Изменение ОАЕ в мясных паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	ОАЕ <sub>ДРРН</sub> , мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта				
	Контроль (без ЭШЛ)	Образец 1 (max)	Образец 2 (1/2 max)	Δ (O1-K)	Δ (O2-K)
0	15,46±1,05	49,60±2,67*	35,84±1,91*.#	34,14	20,39
3	4,36±0,63	44,33±3,20*	25,45±5,75*.#	39,96	21,08
5	7,22±0,67	41,18±3,22*	21,13±1,89*.#	33,97	13,92
7	6,51±0,59	38,09±2,09*	25,54±0,84*.#	31,58	19,03
14	8,24±0,51	41,79±1,31*	24,34±0,25*.#	33,55	16,10
Сутки хранения	ОАЕ <sub>ФРАР</sub> , мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта				
	Контроль (без ЭШЛ)	Образец 1 (max)	Образец 2 (1/2 max)	Δ (O1-K)	Δ (O2-K)
0	32,83±1,19	72,94±1,85*	50,52±1,27*.#	40,11	17,69
3	29,96±0,79	73,35±0,30*	49,88±0,67*.#	43,39	19,92
5	26,19±1,21	64,25±1,03*	42,97±0,20*.#	38,06	16,78
7	25,06±0,20	58,42±0,29*	37,73±0,29*.#	33,36	12,67
14	21,69±0,44	50,13±0,97*	36,59±0,14*.#	28,44	14,90

\*- значимые отличия между контрольным и опытными образцами (Манна-Уитни, P-value < 0,10);  
 #- достоверная разница между опытными образцами (Манна-Уитни, P-value < 0,10)

В опытных образцах паштета №1 и №2 ОАЕ<sub>ФРАР</sub> на протяжении всего срока хранения были выше контрольного на 36,67±5,86 мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта и на 16,39±2,75 мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта, соответственно. Значение ОАЕ<sub>ДРРН</sub> Δ(O1-K) в 0 сутки превышало показатели Δ(O2-K) примерно в 1,7 раз, а в случае ОАЕ<sub>ФРАР</sub> - в 2,3 раза. По результатам эксперимента было определено, что внесение ЭШЛ в рецептуру мясного паштета обеспечивало в течение 14 суток хранения существенное увеличение ОАЕ в сравнении с контрольным образцом, не содержащего ЭШЛ.

Таблица 18 – Концентрации ТБК-АП в мясных паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки	ТБК-АП, мкмоль / 100 г продукта		
	Контроль (без ЭШЛ)	Образец 1 (max)	Образец 2 (1/2 max)
0	2,27±0,30	1,96±0,19	1,94±0,36
3	4,57±0,32	1,89±0,33*	2,20±0,35*
5	5,83±0,38	2,11±0,13*	2,96±0,73*
7	6,07±0,17	2,80±0,57*	2,26±0,34*
14	4,79±0,73	2,29±0,69*	2,83±0,53*
P-value (0-14 сутки)	0,009*	0,114	0,027*

P-value - достоверная разница, критерий Фридмана, P-value < 0,10; \* - достоверная разница между контрольным и опытными образцами, U-критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10; # - достоверная разница между опытными образцами, U-критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10



По окончании технологического процесса в паштетах (0 сутки) не наблюдалось статистической разницы в концентрации ТБК-АП между контрольным продуктом и образцами №1 и №2. При хранении мясных паштетов при 4°C наблюдалась существенная разница в количестве вторичных продуктов перекисного окисления липидов между контрольным и опытными образцами, тогда как статистической разницы между образцом 1 и образцом 2 не было. На 3 сутки хранения концентрация ТБК-АП в контрольном образце паштета превышала аналогичные показатели образца 1 и образца 2 в 2,42 и в 2,1 раза ( $P < 0,10$ ), соответственно. На протяжении всего срока хранения наблюдалось статистическое изменение концентрации в контрольном образце и образце 2 ( $P < 0,10$ ), тогда как в образце 1 (max) концентрация ТБК-АП изменялась незначительно. Кроме того, при добавлении максимального количества ЭШЛ в мясной паштет (образец 1), количество вторичных продуктов ПОЛ оставалось неизменным в течение 5 суток, а при внесении 50% от максимально допустимого (образец 2) – в течение 3 суток.

В результате исследования образцов мясного паштета методом одномерного электрофореза с равным нанесением (все образцы вносили по 15 мкл) с различными вариантами окрашивания, были получены электрофореграммы, представленные на рисунке 23.

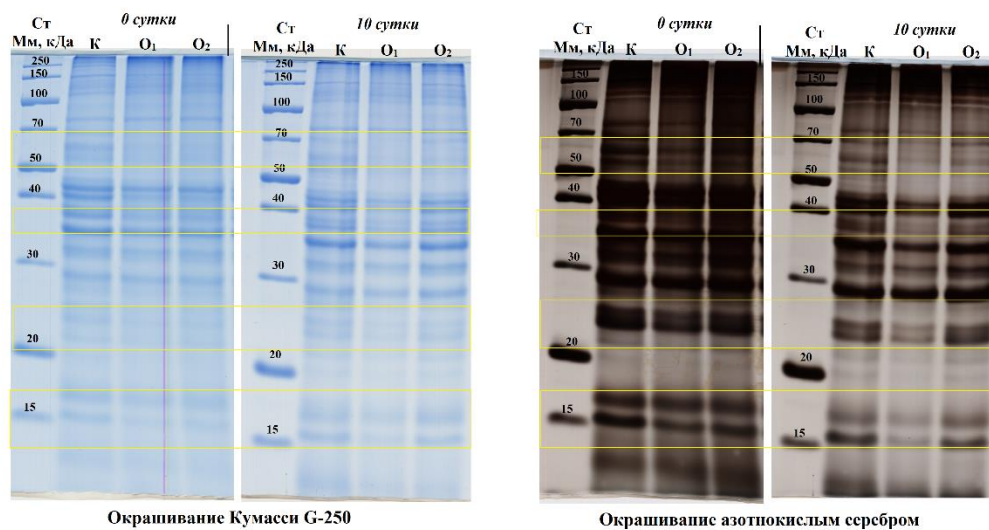


Рисунок 23 – Электрофореграммы 10% ПААГ мясных паштетов на 0 и 10 сутки хранения:  
 Ст – стандарт молекулярных масс: 250, 150, 100, 70, 50, 40, 30, 20, 15 (сверху вниз);  
 К – контроль; O<sub>1</sub> – образец 1; O<sub>2</sub> – образец 2

Разница в проявлении белков между контрольным и опытными образцами была незначительной. Принципиальных отличий таких, как отсутствие или, наоборот, появления белковых фракций *de novo* между образцами не выявлено, сохранялись все основные мышечные белки. В рецептуре паштета использовали свиное сердце, свинину нежирную, печень говяжью и пашину. Наибольшая интенсивность белков выявлена у контрольного образца, менее выражены у образца 2 и наименьшая концентрация белков у образца 1. Такое

проявление белков на электрофореграмме связано с тем, что в образце 1 наибольшее содержание спиртового экстракта (6,8 мл на 100 г продукта) вместо говяжьего бульона, что приводило к снижению количества белков, имеющих в бульоне. При проведении биоинформационного анализа электрофореграмм были выявлены различия в интенсивности окрашивания белков, присутствующих в скелетно-мышечной мускулатуре, с молекулярной массой в диапазоне 15-17 кДа и 23-25 кДа, вероятно являющиеся фракциями гемоглобина (15,4 кДа), миозиновых легких цепей (16,9 кДа), миоглобина (17,0 кДа), триозофосфатизомеразы 1 (23,0 кДа), тропонина Т (23,0 кДа) и тропонина I (25,0 кДа).

Также обнаружены различия в белковых фракциях в диапазоне 37-38 кДа, предположительно являющимися фракциями катепсина Б (36,9 кДа) и бета-2-гликопротеином 1 (38,2 кДа), которые присутствуют в свином сердце и говяжьей печени, соответственно. Интенсивность фракций белков с молекулярными массами 55 кДа, 61 кДа, 68 кДа отличались между контролем и опытными образцами и, предположительно, могут соответствовать альдегиддегидрогеназе 1A1 (54,8 кДа), белку 1, богатым лейцином (61,1 кДа) и 2-гидроксиацилом-КоА-лиазой 2 (68,1 кДа), которые экспрессируются в пашине и печени говяжьей. Отмечалось значительное снижение интенсивности проявления перечисленных белков к 10 суткам хранения продуктов, а также наблюдалась тенденция на общее уменьшение концентрации всех выявленных белков, что вероятно, связано с процессами их деградации.

При гистологическом анализе было установлено, что все образцы характеризовались однотипной структурой и высокой степенью измельчения входящих в состав компонентов. Основная часть была представлена отдельными фрагментами поперечно-полосатых мышечных волокон и гепатоцитами, расположенными одиночно или небольшими группами по 2-20 штук, между которыми располагалось незначительное количество мелкозернистой белковой массы (рисунок 24). В составе образцов также присутствовали сохранившие свою структурную организацию фрагменты печени и рыхлой волокнистой соединительной ткани, отдельные жировые капли, равномерно распределенные в массе фарша, единичные фрагменты сердечной мышечной ткани и растительные компоненты, относящиеся к пшеничной муке, натуральным пряностям (горчица, черный и душистый перец, мускатный орех) и луку. Дисперсность основной части образцов составила 10-170 мкм.

Все образцы паштета характеризовались плотной компоновкой структурных элементов, различий в микроструктурной организации выявлено не было. Таким образом, проведенный гистологический анализ опытных образцов показал, что введение ЭШЛ в рецептуру паштета не привело к изменению его основных структурных характеристик и не оказывало влияние на микроструктуру входящих в состав компонентов. При этом выявленное отсутствие

потенциального различия в структуре фрагментов животных тканей, как основного источника белка, подтверждает полученные результаты протеомного анализа.

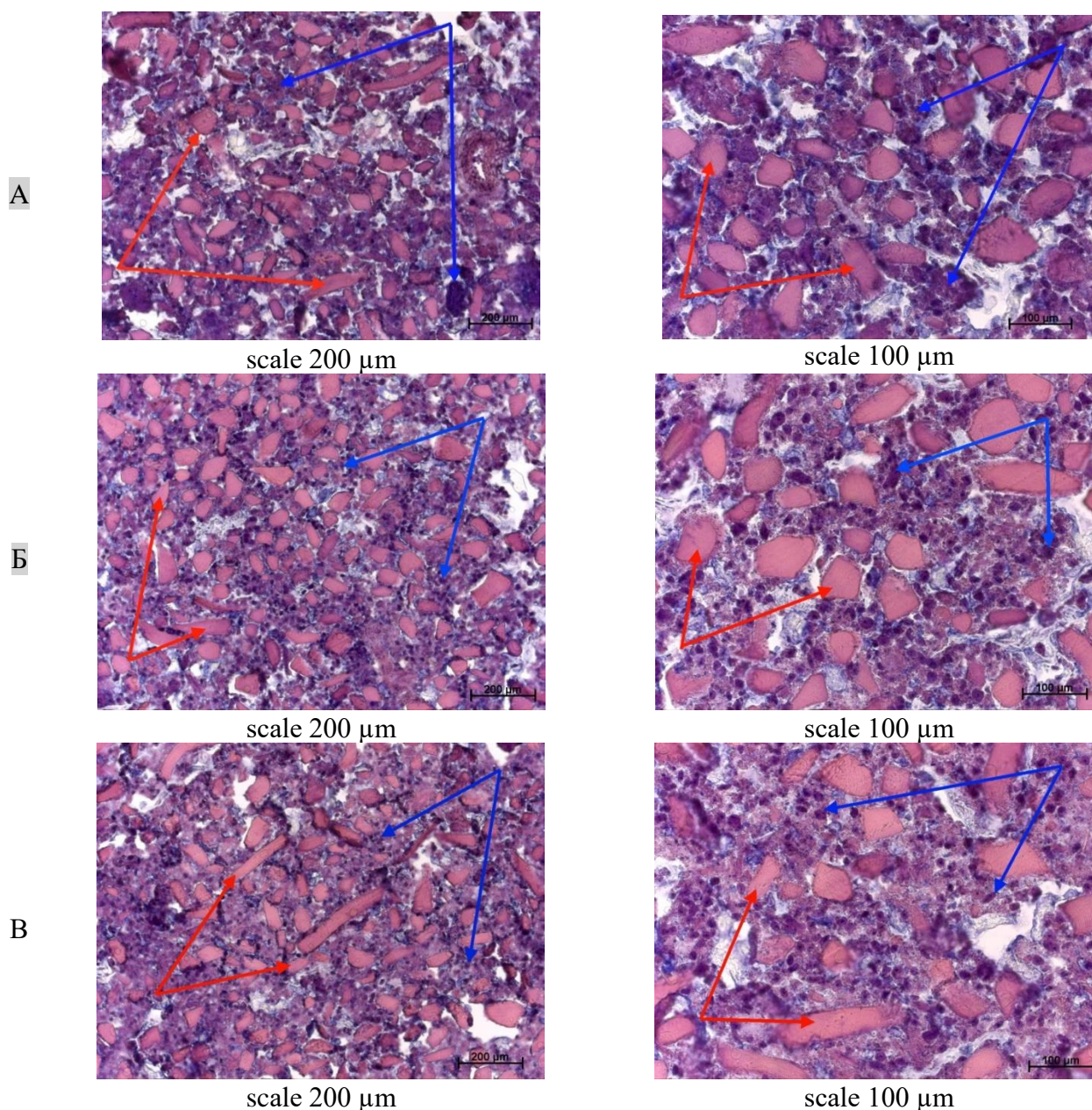


Рисунок 24. Микроструктура исследуемых образцов (А – контрольный образец, Б – образец 1 (max), В – образец 2 (1/2 max)). Окрашивание гематоксилином и эозином. Фрагменты мышечных волокон – красная стрелка; фрагменты печени и отдельные гепатоциты – синяя стрелка.

По истечении 24 часов хранения паштетов была проведена их органолептическая оценка. Во вкусе образца 1 и образца 2 присутствовала нота, характерная для ЭШЛ. Отмечалось, что в опытном образце 2 с меньшей концентрацией растительных АО внесение ЭШЛ в рецептуру не мешало восприятию вкуса и аромата основных компонентов паштета. Кроме того, отмечалось сохранение гармоничности вкуса всех компонентов с присутствием ноты ЭШЛ. Одновременно в опытном образце 1 с максимальным объемом ЭШЛ был отмечен излишний вкус ЭШЛ, который мешал восприятию других компонентов паштета. В ходе определения концентрации

этанол в готовых опытных паштетах было установлено, что образец 1 и образец 2 характеризовались наличием этанола в количестве  $3,67 \pm 0,26$  мл/100 г продукта и  $2,37 \pm 0,17$  мл/100 г продукта, соответственно. В связи с обнаружением спирта в модельных образцах паштета, в технологию производства паштетов были внесены изменения в части получения паштетного фарша. А именно, после внесения в готовую массу жаренного лука, сухих компонентов, оставшейся части бульона и ЭШЛ паштетный фарш обрабатывали до получения однородной массы с применением вакуума в течение 7 минут, для более эффективного испарения этанола. Температура массы в конце гомогенизации составляла не менее  $45^{\circ}\text{C}$ . Дальнейшие этапы технологического процесса (фасовка, тепловая обработка и охлаждение) оставались неизменными.

По результатам эксперимента было установлено, что ЭШЛ необходимо вносить в мясной паштет в количестве 30 ммоль-экв. кверцетина / 100 кг основного сырья, что соответствует 9,067 г-экв. кв. /100 кг или 60,9% от АУП флавонолов и их гликозидов в 100 г порции. Внесение ЭШЛ в данном количестве позволяет обеспечить повышенное содержание ОАЕ мясного паштета в течение 14 суток на фоне снижения перекисного окисления липидов, а также минимизировать количество остаточного этанола в продукте.

### 3.3.2 Технология производства мясного паштета антиоксидантного действия и результаты определения характеристик готового продукта

Технологическая схема производства мясного паштета с внесением ЭШЛ представлена на рисунке 25 и предназначена для выпуска продукции в искусственных непроницаемых оболочках. Технология соответствовала ТИ по производству мясных и мясосодержащих паштетов по ГОСТ Р 55334 [188] и имела изменения в части приготовления паштетного фарша.

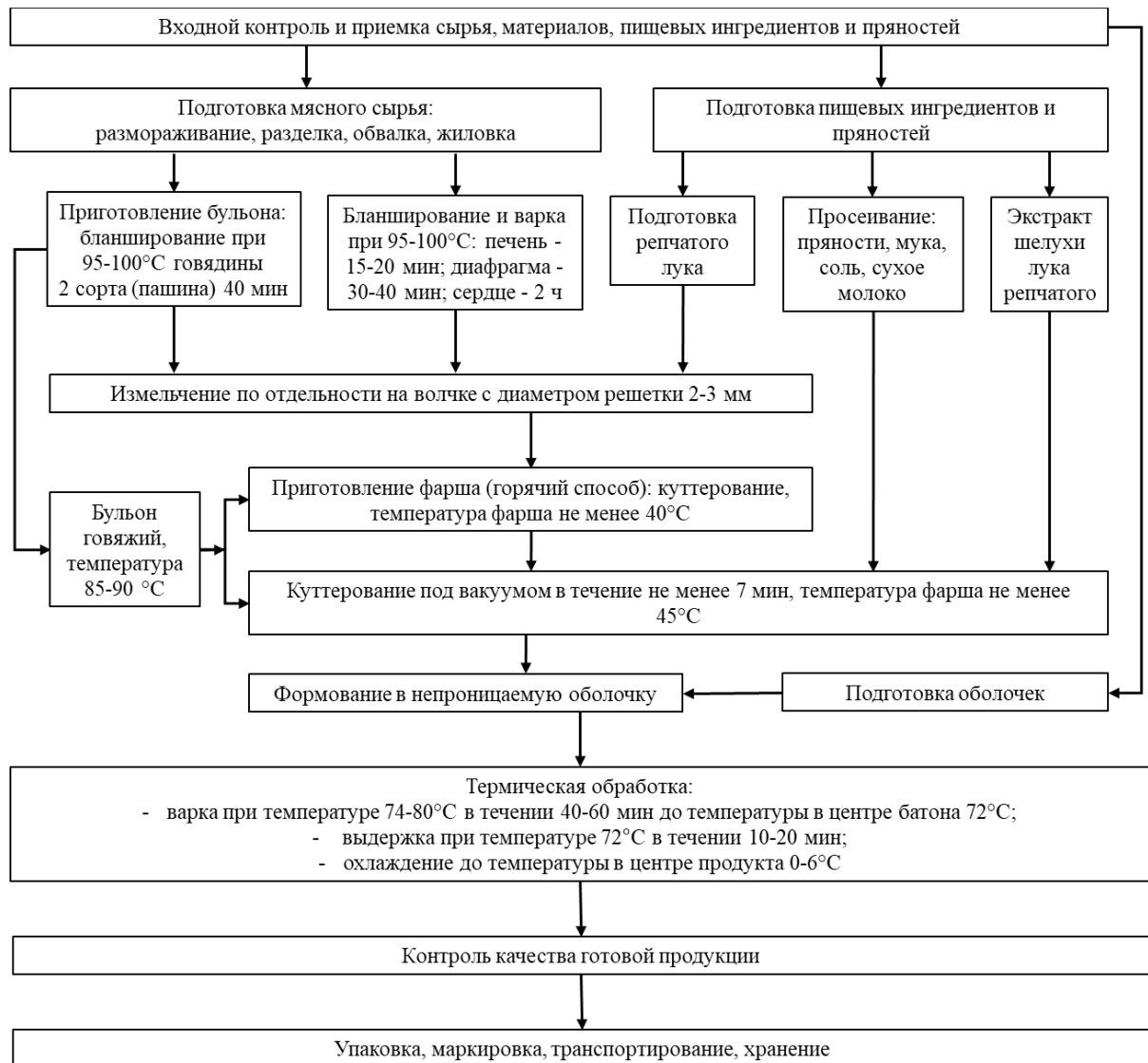


Рисунок 25. Технологическая схема производства мясного паштета с внесением ЭШЛ

В качестве жидкости в паштеты добавляли говяжий бульон, полученный после варки пашины говяжьей. Субпродукты готовят следующим образом: печень освобождают от крупных кровеносных сосудов, лимфатических узлов, желчных подтеков; сердце разрезают пополам для удаления сгустков крови, промывали в холодной воде; пашину очищают от загрязнений и промывают проточной водой. Печень говяжью нарезают на куски 200-300 г и бланшируют при соотношении печени и воды 1:3 при температуре  $95 \pm 5^\circ\text{C}$  в течение 15-20 мин.

Сердце варят до полной готовности (размягчения) в течение 2 ч при температуре 98-100°C. Пашины говяжью нарезают на куски 200-300 г и бланшируют в течение 40 мин. Диафрагму промывают проточной холодной водой, очищают от загрязнений и кровоподтеков, затем варят в течение 30-40 минут. Свежий репчатый лук очищают, промывают в проточной холодной воде и измельчают, используя комбайн. Лук жарят с добавлением растительного масла до золотистого цвета. Термически обработанные мясное сырье и репчатый лук каждый ингредиент отдельно измельчают в волчке с диаметром отверстия решетки 2-3 мм. Фарш для паштетов изготавливают горячим способом. Для этого в куттер закладывают бланшированную печень и часть бульона говяжьего температурой 85-90°C, обрабатывают их до получения однородной гомогенной массы. Отдельно оставшееся мясное сырье в горячем виде (пашина, диафрагма и сердце) загружают в куттер и измельчают до однородной массы, после чего добавляют раскуттерованную печень. Жаренный лук, сухие ингредиенты (мука пшеничная, молоко коровье сухое, молотые орех мускатный, перец черный, перец душистый и горчица), оставшуюся часть бульона и ЭШЛ вносят в готовую смесь и обрабатывают до получения однородной массы в куттере с применением вакуума в течение не менее 7 минут до получения однородной массы. Данный этап позволяет обеспечить эффективное испарение этанола, содержащегося в ЭШЛ. Температура продукта в конце измельчения должна составлять не менее 45°C. Горячую смесь фасуют в искусственные непроницаемые оболочки. Тепловую обработку проводят в течение 40-60 мин до достижения в центре продукта 72°C. Сразу после тепловой обработки продукты охлаждают до достижения температуры в центре изделия 0-6°C.

Вносимый объем ЭШЛ должен обеспечивать 30 ммоль-экв. кверцетина /100 кг основного сырья, в связи с чем, он будет меняться в зависимости от значения  $OAE_{FRAP}$  используемого ЭШЛ и рассчитываться по формуле 27.

$$V_{\text{ЭШЛ}} = \frac{30}{OAE_{FRAP}} \quad (27)$$

где 30 – необходимая концентрация в ммоль-экв. кв / 100 кг основного сырья;  $OAE_{FRAP}$  – лбщая антиоксидантная емкость, определенная методом FRAP, ммоль-экв. кверцетина / л экстракта.

Так как ОАЕ получаемого ЭШЛ варьируется в пределах 6,5-8,5 ммоль-экв. кв. / л, то объем вносимого экстракта будет меняться в диапазоне от 3,53 и до 4,62 л / 100 кг основного сырья.

Для определения характеристик готового мясного паштета антиоксидантного действия, определения показателей безопасности и установление его сроков годности были приготовлены 2 образца по рецептуре, представленной в таблице 19, и в соответствии с технологической схемой, изображенной на рисунке 25.

Таблица 19 – Финальная рецептура мясных паштетов

Наименование сырья	Контроль	Опыт
Основное сырье, кг / 100 кг		
Пашина говяжья, бланшированная	35	35
Печень жилованная говяжья, бланшированная	23	23
Диафрагма говяжья, бланшированная	20	20
Сердце свиное, бланшированное	10	10
Мука пшеничная	5	5
Молоко коровье сухое цельное	2	2
Лук репчатый жареный	5	5
Пряности и материалы, г на 100 кг основного сырья		
Соль поваренная пищевая	1400	1400
Сахар-песок	300	300
Перец черный молотый	100	100
Перец душистый молотый	50	50
Горчица молотая	500	500
Орех мускатный молотые	50	50
Жидкость, л на 100 кг основного сырья		
Бульон говяжий	200	16,1
Экстракт шелухи лука репчатого	0	3,9

Контрольный образец не содержал ЭШЛ и соответствовал рецептуре паштета «Говяжий» категории А по ГОСТ Р 55334 [188]. Опытный образец паштета содержал ЭШЛ с  $OAE_{FRAP} 7,7 \pm 0,1$  ммоль-экв. кв. / л, исходя из чего объем вносимого экстракта составил 3,9 л / 100 кг основного сырья, заменив 19,5% говяжьего бульона. Горячую смесь фасовали по  $100 \pm 1$  г в вакуумные пакеты (ВакумПак-М, Россия), предназначенные для герметичной упаковки продуктов питания под вакуумом (состав пакетов ПА/ПЭ, размер - 150x200 мм, толщина 70 мкм), с использованием машины для вакуумной упаковки EASY-PACK (Webomatic, Германия).

В полученных паштетах по истечении 24 часов хранения при  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  определяли химический состав и рассчитана пищевая ценность (таблица 20), органолептические показатели (таблица 21), ОАЕ методом FRAP (таблица 22), концентрации основных АО шелухи лука (таблица 23), жирно- и водорастворимых витаминов (таблица 24), микро- и макроэлементов (таблица 25), а также были определены жирнокислотный (таблица 26) и аминокислотный (таблица 27) составы, рассчитаны индекс атерогенности и биологическая ценность. Продукты были переданы для оценки биологических эффектов и заложены на хранение для определения сроков годности.

По показателям химического состава существенной разницы между контрольным и опытными образцами выявлено не было. Основные показатели для паштета с ЭШЛ соответствовали нормам, установленных для паштета «Говяжьего» категории А ГОСТ Р 55334

[188]. Кроме того, разработанный продукт характеризовался высоким содержанием белка  $20,43 \pm 0,06\%$  при достаточно низкой массовой доле жира  $12,80 \pm 0,17\%$ .

Таблица 20 – Химический состав, пищевая ценность паштетов и нормы по ГОСТ Р 55334

Массовая доля, %	Норма, ГОСТ Р 55334	Контроль	Опыт
Белок	$\geq 10,0$	$20,64 \pm 0,06$	$20,43 \pm 0,06$
Жир	$\leq 19,0$	$12,87 \pm 0,23$	$12,80 \pm 0,17$
Зола	-	$1,75 \pm 0,03$	$1,87 \pm 0,02$ *
Влага	-	$59,07 \pm 0,45$	$59,30 \pm 0,30$
Хлориды	$\leq 1,4$	$1,35 \pm 0,06$	$1,35 \pm 0,06$
Крахмал	$\leq 5,0$	$4,0 \pm 0,20$	$4,0 \pm 0,17$
Пищевая ценность, Ккал / 100 г	$\leq 233,0$	$228,1 \pm 2,8$	$226,8 \pm 1,5$

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10

Разработанный мясной паштет с внесением ЭШЛ характеризовался высокими органолептическими показателями, о чем свидетельствовал общий бал  $4,94 \pm 0,10$ , при этом не уступая контрольному продукту. Этанол в опытном мясном паштете не был обнаружен.

Таблица 21 – Результаты органолептической оценки мясных паштетов

Характеристики	Контроль	Опыт
Внешний вид	$5,0 \pm 0,0$	$5,0 \pm 0,0$
Цвет и вид на разрезе	$5,0 \pm 0,0$	$5,0 \pm 0,0$
Консистенция	$4,80 \pm 0,30$	$4,80 \pm 0,30$
Запах	$5,0 \pm 0,0$	$5,0 \pm 0,0$
Вкус	$4,90 \pm 0,10$	$4,90 \pm 0,10$
Общий балл	$4,94 \pm 0,08$	$4,94 \pm 0,10$

Результаты определения  $OAE_{FRAP}$  в этанольных экстрактах мясных паштетов и их разница между контрольным и опытным образцами представлены в таблице 23.

Таблица 22 – Показатели  $OAE_{FRAP}$  мясных паштетов в день приготовления

Общая антиоксидантная емкость FRAP					% потери OAE
МКМоль-экв. кв. / мл	МКМоль-экв. кверцетина / 100 г продукта				
ЭШЛ	Контроль	Опыт		$\Delta(O-K)$	
		Расчетное	Фактическое		
$7,7 \pm 0,1$	$23,25 \pm 0,16$	30,0	$38,62 \pm 0,96$	15,37	48,77

Разработанный мясной паштет характеризовался  $OAE_{FRAP}$ , превышающей показатели контрольного образца на 66,1% ( $P < 0,05$ ). Определено, что при внесении экстракта в мясной паштет потеря OAE экстракта составила около 48,77%. При этом, внесение ЭШЛ обогащало



паштет примерно на 15,37 мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта, что соответствует 4,65 мг-экв. кв. / 100 г и обеспечивает не менее 30% от АУП в сутки.

В таблице 23 показаны основные соединения, определенные в ЭШЛ и мясных паштетах. Прогнозируемые значения соединений в опытном продукте были рассчитаны на основе рецептуры, и ожидалось, что они будут соответствовать с  $\Delta$  (опытный продукт – контрольный продукт). Фактические значения были ниже расчетных, что обуславливается потерями в процессе производства и тратой АО на продукты окисления пищевых нутриентов, о чем также свидетельствуют потери  $ОАЕ_{FRAP}$ .

Таблица 23 – Результаты количественного определения основных флавоноидов

Соединение	ЭШЛ, мкг-экв. кв / мл	Концентрация, мкг-экв. кв. / 100 г продукта			$\Delta$ (О-К)	% сохран- ности
		Контроль	Опыт			
			Расчетные	Фактические		
Кверцетин-3,4'-О-ди-бета- глюкозид	319,62 ±95,91	769,63 ±42,29	1246,5 ±374,04	1635,15 ± 91,88*	891,13 ± 82,94	71,49 ± 6,65
Кверцетин 3-О-β-D- глюкопиранозид (изокверцитрин)	31,81 ±1,80	35,71 ±11,13	8124,11 ±7,0	79,67 ± 8,76*	43,96 ± 8,76	35,42 ± 7,06
Спиреозид	729,14 ±19,18	203,74 ±28,43	2843,65 ±74,80	1828,80 ± 146,86*	1625,06 ± 146,86	57,15 ± 5,16
Изорамнетин-3-О-бета-D- глюкозид	88,49 ±5,45	11,14 ±3,34	345,12 ±21,26	50,74 ± 14,26*	39,61 ± 14,26	11,48 ± 4,13
Кверцетин	906,62 ±70,16	1,92 ±0,0	3535,82 ±273,63	4515,49 ± 226,33*	4513,57 ± 226,33	127,65 ± 6,40
Общее количество флавоноидов	5567,01 ±34,95	1030,14 ±49,98	8084,13 ±638,45	8105,44 ± 209,58*	7083,29 ± 209,58	87,62 ± 2,59

\* - значимое отличие между показателями контрольного и фактическим значением опытного образца паштетов, критерий Манна-Уитни,  $P < 0,05$

Интересно отметить, что содержание общего количества флавоноидов  $\Delta$ (О-К) отличалось от расчетных всего на 12,38%, а в случае кверцетина наблюдалось увеличение концентрации на 27,7%. Такие изменения в составе АО объясняются сильным падением содержания кверцетин-3,4'-О-ди-бета-глюкозид и спиреозида на 71,49% и 57,15%, соответственно, по сравнению с внесенным количеством (расчетная величина). Важно отметить, что количество всех флавоноидов в опытном продукте по сравнению с контролем было статистически значимо выше, причем наибольшее увеличение отмечалось в отношении кверцетина, количество которого в контроле было следовым. Спиреозид (кверцетин 3,4'-диглюкозид) является одним из преобладающих флавоноидов, присутствующих в шелухе лука [287], наряду с кверцетином (наиболее распространенным в луковой шелухе) и его гликозидами [99,288]. По полученным данным можно сделать предположение, что в ходе термической обработки паштета (не менее 72°C происходит) часть гликозидов экстракта распадаются на фенольную и углеводную части под действием термической обработки, о чем свидетельствует существенное снижение их концентрации и увеличение количества кверцетина. Несмотря на

небольшое снижение общего количества флавоноидов (на 12,3%),  $OAE_{FRAP}$ , то есть способность восстанавливать ионы переходных металлов, антиоксидантов из экстракта снижалась на 48,77%. Полученные данные наглядно демонстрируют важность оценки ОАЕ, а не только количества соединений.

Результаты определения концентраций жиро- и водорастворимых витаминов в контрольном и опытном мясных паштетах, а также рассчитанные проценты от АУП этих витаминов в соответствии с величинами суточного потребления пищевых и биологически активных веществ для взрослых в составе специализированных пищевых продуктов (СПП) и биологически активных добавок БАД к пище Приложения 5 Единых санитарных требований [276], представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Содержание витаминов в паштетах и процент от АУП

Витамин	Потребление в сутки		Контроль		Опыт	
	АУП	ВДУП	С, в 100 г	% от АУП	С, в 100 г	% от АУП
А, мкг	900	3000	81,83 ± 0,03	9,09	75,92 ± 0,02 *	8,44
Д3, мкг	10	15	10,18 ± 0,01	101,80	11,12 ± 0,02 *	111,2
Е, мг	15	150	0,77 ± 0,0	5,13	0,93 ± 0,01 *	6,2
В1, мг	1,5	5,0	0,59 ± 0,01	39,33	0,62 ± 0,01 *	41,33
В2, мг	1,8	6,0	1,66 ± 0,01	92,22	1,84 ± 0,01 *	102,22
В3 (РР), мг	20	60	12,31 ± 0,05	61,55	13,62 ± 0,06 *	68,1
В5, мг	5	15	2,22 ± 0,06	44,40	2,29 ± 0,05	45,8
В6, мг	2,0	6,0	0,26 ± 0,01	13,0	0,25 ± 0,01	12,5
В7 (Н), мкг	50	150	Менее 1,0	-	Менее 1,0	-
В9, мкг	400	600	Менее 10	-	Менее 10	-
В12, мкг	3,0	9,0	5,76 ± 0,07	192,0	4,68 ± 0,03 *	156
С, мг	90	900	1,28 ± 0,04	1,42	2,13 ± 0,02 *	2,37

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10

Было определено, что внесение ЭШЛ способствовало увеличению концентраций витаминов Д3, Е, В1, В2, В3 и С не менее, чем на 9,2%, 20,8%, 5,1%, 10,8%, 10,6% и 66,0% (P<0,10), соответственно. Однако, в опытном паштете было отмечено снижение содержания витаминов А на 7% (P<0,10) и В12 на 18,75% (P<0,10). Несмотря на снижение концентрации В12 в продукте с ЭШЛ, 100 г как контрольного, так и опытного продукта характеризовались высоким содержанием витаминов Д3, В2, В3, В5 и В12, обеспечивая не менее 44,40% от АУП, а в случае витамина В12 контрольный и опытный паштеты содержали 192% и 156% от АУП, соответственно, при этом не превышая верхний допустимый уровень потребления. Известно, что для продуктов животного происхождения, в частности печени, которая являлась основным компонентом мясных паштетов характерно высокое содержание витаминов группы В, особенно В12, который является важным питательным веществом для когнитивных и неврологических

функций организма [289]. Кроме того, говяжья печень богата такими компонентами, как белок, гемовое железо, цинк и др. [289]. Печень содержит более 10 мкг витамина В12 на 100 г, но эффективность его всасывания заметно снижается, когда его концентрация в продукте превышает 2 мкг, при этом всего около 20% витамина будет эффективно усваиваться [290]. Так, существенное превышение процента АУП витамина В12 в паштетах будет способствовать усвоению около 1 мкг / 100 г продукта, что составляет примерно 33% от АУП.

Результаты определения концентраций макро- и микроэлементов в паштетах, а также рассчитанный процент от АУП в соответствии с величинами суточного потребления пищевых и биологически активных веществ для взрослых в составе специализированных пищевых продуктов (СПП) и биологически активных добавок (БАД) к пище Приложения 5 Единых санитарных требований [276], представлены в таблица 25.

Таблица 25 – Макро- и микроэлементный состав паштетов и процент от АУП

Элемент	Потребление в сутки		Контроль		Опыт	
	АУП	ВДУП	С, в 100 г	% от АУП	С, в 100 г	% от АУП
Железо, мг	18 / 10 <sup>^</sup>	40 / 20 <sup>^</sup>	2,80 ± 0,30	15,56 / 28,0 <sup>^</sup>	3,54 ± 0,99 *	19,67 / 35,4 <sup>^</sup>
Магний, мг	400	800	20,19 ± 8,35	5,05	25,61 ± 4,65 *	6,4
Натрий, мг	1300 <sup>**</sup>	-	686,09 ± 75,47	52,78	766,03 ± 88,39 *	58,93
Калий, мг	2500	3500	388,64 ± 11,57	15,55	387,59 ± 168,83	15,5
Цинк, мг	12	25	5,82 ± 1,17	48,5	6,11 ± 2,46	50,92
Медь, мг	1	3	1,68 ± 0,45	168,0	1,88 ± 0,58 *	188,0
Кальций, мг	1000	2500	13,86 ± 7,80	1,39	17,70 ± 7,63 *	1,77
Селен, мг	55 / 75 <sup>^</sup>	150	0,03 ± 0,03	0,05 / 0,04 <sup>^</sup>	0,03 ± 0,02	0,05 / 0,04 <sup>^</sup>
Марганец, мг	2	5	0,12 ± 0,06	6,0	0,12 ± 0,04	6,0

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10; <sup>^</sup> - нормы для женщин / мужчин; С – концентрация элементов, мг или мкг; <sup>\*\*</sup> - только в СПП для питания спортсменов

Внесение ЭШЛ в мясной паштет способствовал увеличению концентраций железа, магния, натрия, меди и кальция на 26,4%, 26,8%, 11,7%, 11,9% и 27,7% (P<0,10), соответственно. В работе Shabir, I. et al. [291] сообщается, что вторичное сырье переработки репчатого лука является богатым источником кальция (1,8-16,5 мг / г), магния (0,6-1,5 мг / г), железа (0,0196-0,8889 мг / г) и других элементов, что объясняется увеличением показателей в опытном паштете. Стоит отметить, что исследуемые мясные продукты характеризовались высоким содержанием цинка и меди, однако, их значения не превышали верхний допустимый уровень. Медь считается окислительно-восстановительным металлом и является важным питательным веществом для всех изученных на сегодняшний день видов. Известно, что дефицит этого элемента может способствовать развитию и прогрессированию ряда болезненных состояний, включая сердечно-сосудистые и диабет [292]. Кроме того,

биологическая роль меди заключается в сшивании коллагена с помощью Cu-зависимой лизилоксидазы и поддержании активности супероксиддисмутазы (CuZn SOD) [293,294]. Высокое содержание меди в экспериментальных паштетах обусловлено использованием в рецептуре говяжьей печени в количестве 23% от всего основного сырья, которая характеризуется большим содержанием не только белка и железа, но и меди и витаминов [295].

В таблице 26 представлены результаты определения жирно-кислотного состава мясных паштетов. Между показателями контрольного и опытного образцами наблюдались небольшие различия в составе.

Таблица 26 – Жирно-кислотный состав мясных паштетов

№	Наименование кислоты	Контроль	Опыт
1	Миристиновая C <sub>14:0</sub>	3,23±0,05	3,59±0,0 *
2	Миристолеиновая C <sub>14:1</sub>	0,84±0,0	0,98±0,01 *
3	Пентадекановая C <sub>15:0</sub>	0,48±0,01	0,46±0,0 *
4	Цис-10-пентадеценная C <sub>15:1</sub>	0,23±0,01	0,0±0,0 *
5	Пальмитиновая C <sub>16:0</sub>	23,4±0,12	24,5±0,13 *
6	Пальмитолеиновая C <sub>16:1</sub>	4,11±0,09	4,48±0,08 *
7	Маргариновая C <sub>17:0</sub>	2,77±0,11	2,58±0,11 *
8	Гептадеценная C <sub>17:1</sub>	0,80±0,02	0,77±0,02
9	Стеариновая C <sub>18:0</sub>	16,47±0,21	15,87±0,16 *
10	Олеиновая C <sub>18:1</sub>	37,17±0,12	36,48±0,23 *
11	Элаидиновая C <sub>18:1</sub>	3,78±0,04	3,48±0,02 *
12	Линолевая C <sub>18:2ω6</sub>	5,32±0,12	5,66±0,10 *
13	Линолелаидиновая C <sub>18:2ω6</sub>	0,11±0,0	0,0±0,0 *
14	Линоленовая C <sub>18:3ω3</sub>	0,76±0,02	0,63±0,0 *
15	Арахидиновая C <sub>20:0</sub>	0,15±0,0	0,0±0,0 *
16	Эйкозатриеновая C <sub>20:3ω3</sub>	0,14±0,01	0,29±0,01 *
17	Гондоиновая C <sub>20:1ω9</sub>	0,24±0,01	0,24±0,0

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10

Расчитанные индексы атерогенности составили 0,32±0,01 в случае паштета, полученного по ГОСТ Р 55334 [188], и 0,34±0,01 для опытного образца. Стоит отметить, что ИА исследуемых паштетов на 56,8% для контрольного и 54,1% для опыта ниже среднего ИА рациона человека, который равен 0,74, по данным Лисицына А.Б. и др. [296].

Полученные данные определения аминокислотного состава контрольного и опытного паштетов представлены в таблице 27. В показателях исследуемых продуктов наблюдалась статистическая разница по всем аминокислотам (АК) кроме аргинина и триптофана. В опытном паштете отмечалось увеличение концентраций аспарагиновой кислоты, серина, валина, фенилаланина, изолейцина, пролина и оксипролина на 20,8%, 10,3%, 27,5%, 5,3%, 14,2%, 12,1% и 25,0% (P<0,10), соответственно. Суммарное содержание АК между исследуемыми паштетами

существенно не отличалось. На основании полученных данных была рассчитана биологическая ценность белка контрольного и опытного продуктов относительно стандартной шкалы ФАО/ВОЗ (таблицы 28, 29).

Таблица 27 – Аминокислотный состав мясных паштетов

№	Наименование аминокислот	Содержание связанных аминокислот (г/100 г)	
		Контроль	Опыт
1	Аспарагиновая кислота	0,96±0,01	1,16±0,01 *
2	Глутаминовая кислота	0,64±0,0	0,32±0,0 *
3	Серин	1,64±0,01	1,81±0,01 *
4	Гистидин	0,30±0,0	0,28±0,0 *
5	Глицин	0,95±0,01	0,84±0,01 *
6	Треонин	1,82±0,01	1,48±0,01 *
7	Аргинин	1,53±0,01	1,53±0,01
8	Аланин	1,84±0,01	1,80±0,01 *
9	Тирозин	1,21±0,01	1,06±0,01 *
10	Цистин	0,05±0,0	0,04±0,0 *
11	Валин	0,91±0,0	1,16±0,0 *
12	Метионин	0,65±0,0	0,52±0,0 *
13	Фенилаланин	0,76±0,0	0,80±0,0 *
14	Изолейцин	1,83±0,01	2,09±0,01 *
15	Лейцин	3,21±0,01	3,11±0,0 *
16	Лизин	0,93±0,01	0,85±0,0 *
17	Пролин	1,40±0,01	1,57±0,01 *
18	Оксипролин	0,16±0,01	0,20±0,01 *
19	Триптофан	0,28±0,02	0,29±0,01
Суммарное содержание		21,09±0,05	20,91±0,08

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10

По результатам расчета аминокислотных скоров (АС), представленных в таблице 28, было выявлено, что контрольный продукт имеет 3 лимитирующие незаменимые аминокислоты (НАК), тогда как опытный только 2. Для всех образцов лизин являлся 1-ой лимитирующей АК. Для опытного образца 2-ой лимитирующей кислотой был метионин + цистеин. В случае контрольного образца пашета 2-ой лимитирующей кислотой был валин, а 3-ей - метионин + цистеин. Отмечалось, что АС лейцина, лизина, метионина + цистеина, фенилаланина + тирозина и треонина в опытном паштете снижались в сравнении с контрольным, тогда как АС остальных АК увеличивались, что свидетельствовало о перераспределении НАК в белке продукта с ЭШЛ. Аминокислотные скоры незаменимых аминокислот использовали для расчета показателей биологической ценности паштетов (таблица 29).

Таблица 28 – Аминокислотный скор незаменимых аминокислот в паштетах

Наименование аминокислот	Концентрация аминокислоты, г / 100 г белка			Аминокислотный скор, %	
	Эталонный белок, ФАО/ВОЗ	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Изолейцин	4	1,83	2,09	221,75	255,75
Лейцин	7	3,21	3,11	222,14	217,43
Лизин	5,5	0,93	0,85	82,0	75,64
Метионин + цистеин	3,5	0,7	0,56	96,86	78,29
Фенилаланин + тирозин	6	1,97	1,86	159	151,67
Треонин	4	1,82	1,48	220,5	181
Триптофан	1	0,28	0,29	136	142
Валин	5	0,91	1,16	88,2	113,6

Было установлено, что внесение ЭШЛ в рецептуру мясного паштета снижало минимальный АС вместе с уменьшением количества лимитирующих аминокислот. Отмечалось, что опытный паштет характеризовался меньшим избыточным количеством незаменимых аминокислот, не используемых на пластические нужды, о чем свидетельствовало снижение коэффициента различия АС (КРАС, %). Кроме того, биологическая ценность паштета с ЭШЛ увеличивалась на 1,39%.

Таблица 29 – Расчётные показатели биологической ценности мясных паштетов

Показатель	Контроль	Опыт
Минимальный аминокислотный скор, $C_{min}$	0,82	0,76
Коэффициент различия аминокислотных скоров, КРАС, %	53,31	51,92
Биологическая ценности паштета, БЦ, %	46,69	48,08
Коэффициент рациональности аминокислотного состава, $R_c$ , доли ед.	0,52	0,49
Показатель сопоставимой избыточности содержания НАК, $\sigma$ , мг/г белка эталона	121,44	138,50

Коэффициент сбалансированности незаменимых аминокислот ( $R_c$ ) контрольного паштета был выше на 0,03 доли ед., а показатель сопоставимой избыточности содержания НАК ниже на 17,06 мг/г белка эталона. Стоит отметить, что оба продукта характеризовались достаточно низкой суммарной массой незаменимых аминокислот, которая не используется на анаболические нужды. Для контрольного и опытного образцов паштета величина  $\sigma$  составила 121,44 мг/г белка эталона и 138,50 мг/г белка эталона, соответственно, тогда как аналогичный показатель коровьего молока 152,2 мг/г белка эталона [216].

Переваримость паштетов оценивали путем измерения количества белка методами Лоури и Бредфорда (таблица 30) и определения общей антиоксидантной емкости методами FRAP и DPPH (таблица 31) в гидролизатах, полученных в процессе моделирования переваримости по протоколу Покровского-Ертанова. 0 точка – 0 мин, 1 точка – 180 мин, 2 точка – 360 мин проведения эксперимента *in vitro*.

Таблица 30 – Концентрации белка в гидролизатах паштета

Метод Бредфорда, С белка, мкг/мл					
Контроль			Опыт		
0 точка	1 точка	2 точка	0 точка	1 точка	2 точка
4,74±0,78	8,55±0,53	5,05±0,27	6,07±0,36*	10,14±1,31	5,33±0,76
Метод Лоури, С белка, мг/мл					
Контроль			Опыт		
0 точка	1 точка	2 точка	0 точка	1 точка	2 точка
0,60±0,06	1,10±0,05	0,55±0,04	0,66±0,06	1,06±0,09	0,56±0,03

\* - статистическая разница между контрольным и опытным образцами в 0, 1 или 2 точку исследования, критерий Манна-Уитни ( $P < 0,1$ )

По результатам определения концентрации белка в отобранных пробах существенная разница между контрольным и опытным паштетами наблюдалась только в 0 точке при определении методом Бредфорда. Так, концентрация белка в пробе на 0 точке опытного паштета была больше контрольного на 28,1% ( $P < 0,1$ ). Отмечалась тенденция к увеличению показателей белка (метод Бредфорд) в разработанном паштете (Опыт) через 180 мин моделирования переваримости, однако статистической разницы выявлено не было.

Результаты определения значений ОАЕ методами FRAP и DPPH в гидролизатах контрольного и опытного паштетов с учетом показателей холостой пробы (фона) представлены в таблице 31, а на рисунке 26 - значения образцов фона и исследуемых продуктов. В начале проведения эксперимента (0 точка) как контрольный, так и опытный образцы характеризовались высокими значениями ОАЕ и в отношении азотсодержащих СР (ОАЕ<sub>DPPH</sub>), и в ОАЕ<sub>FRAP</sub>. При этом показатели опытного образца статистически превышали контрольного в 2,25 раза ( $P < 0,05$ ) по методу DPPH и в 1,45 раз ( $P < 0,05$ ) по методу FRAP. Отмечалось, что ОАЕ<sub>FRAP</sub> обоих гидролизатов в 0 точке были выше, чем ОАЕ по методу DPPH. Изучение ОАЕ гидролизатов паштетов через 180 мин проведения моделирования переваримости продемонстрировало, что ОАЕ в отношении азотсодержащих СР (DPPH) существенно снизилась как для контрольного, так и для опытного продуктов на 96,56% и 84,23%, соответственно, а через 360 мин (2 точка) показатели были ниже предела обнаружения.

Таблица 31 – Значения ОАЕ в гидролизатах паштета за вычетом холостой пробы (фона)

ОАЕ <sub>ДРРН</sub> , мкмоль-экв. кв / л								
Контроль			Опыт			Δ (Опыт-Контроль)		
0 точка	1 точка	2 точка	0 точка	1 точка	2 точка	0 точка	1 точка	2 точка
4,65±0,59	0,16±0,15	нпо	10,46±1,21*	1,65±0,83*	нпо	5,81±0,69	1,49±0,94	нпо
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , мкмоль-экв. кв / л								
Контроль			Опыт			Δ (Опыт-Контроль)		
0 точка	1 точка	2 точка	0 точка	1 точка	2 точка	0 точка	1 точка	2 точка
10,0±0,14	27,0±0,57	8,27±0,49	14,5±0,58*	29,53±0,43*	10,94±0,43*	4,50±0,61	2,54±0,65	2,67±0,50

нпо – ниже предела обнаружения; \* - статистическая разница между ОАЕ контрольного и опытного образцов, критерий Манна-Уитни (P<0,05)

Интересно отметить, что в случае ОАЕ в отношении переходных металлов (ОАЕ<sub>FRAP</sub>) наблюдалось сильное увеличение значений в контрольном образце в 2,7 раза, а в опытном - в 2,04 раза. Кроме того, при изучении вклада экстракта шелухи лука в ОАЕ<sub>FRAP</sub> (Δ(Опыт-Контроль)) было обнаружено снижение в 1,77 раз через 180 мин эксперимента, однако данный показатель оставался неизменным через 360 мин (2 точка), что свидетельствовало о сохранности АО из экстракта шелухи репчатого лука.

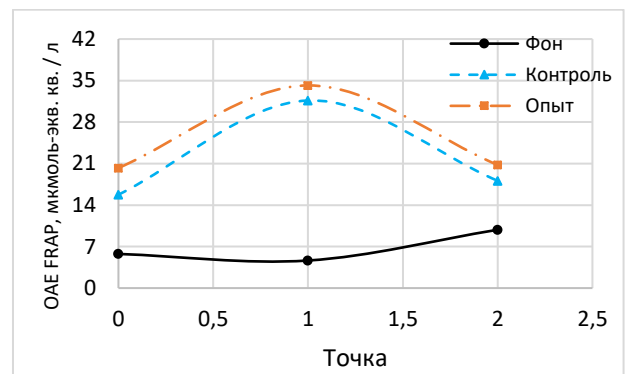
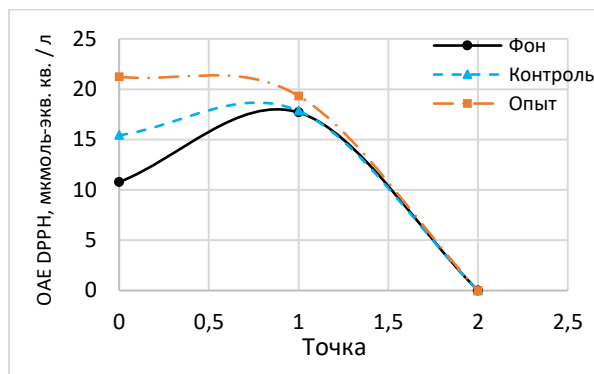


Рисунок 26. Изменение значений ОАЕ гидролизаторов паштетов и холостой пробы

Из графика, на котором представлены значения без вычета фоновой или контрольной проб, наглядно видно изменение вклада экстракта шелухи лука в ОАЕ паштетов при перевариваемости. Стоит отметить, что начальные значения (0 точка) ОАЕ гидролизаторов паштетов по обоим методам близки друг к другу. В случае ОАЕ<sub>ДРРН</sub> отмечался больший вклад, чем в ОАЕ<sub>FRAP</sub>, однако способность нейтрализовать азотосодержащие СР как самого паштета, так и АО из экстракта практически равнялась значению холостой пробы на 2 точке. При этом вклад ЭШЛ в способность восстанавливать ионы переходных металлов (ОАЕ<sub>FRAP</sub>) сохранялся на протяжении всего моделированного пищеварения, что свидетельствует о сохранности растительных АО, которыми был обогащен мясной паштет.



### 3.3.3 Результаты определения показателей безопасности и установление сроков годности мясного паштета

Безопасность и сроки годности разработанного мясного паштета антиоксидантного действия оценивали в соответствии с ТР ТС 034/2013 [297], Единых санитарных требований [276] и ГОСТ Р 70354 [235] соответственно, используя образцы контрольного и опытного паштета, выработанные по рецептуре, представленной в таблице 19, по технологической схеме, изображенной на рисунке 25. Содержание токсичных элементов (таблица 32) определяли в свежеприготовленных образцах. Паштеты хранили при  $4\pm 2^\circ\text{C}$  в течение 21 суток с учетом коэффициента запаса и определяли ОАЕ методом FRAP (таблица 33), концентрации ТБК-АП (таблица 34), показатели микробиологической (таблица 35) и окислительной порчи (таблицы 36-41) в день приготовления (0 сутки) и на 3, 7, 10, 14 и 21 сутки.

Таблица 32 – Содержание токсичных элементов в мясных паштетах

Элемент	Нормы*, не более	Контроль	Опыт
Свинец, мг/кг	0,6	<0,01	<0,01
Кадмий, мг/кг	0,3	<0,01	<0,01
Мышьяк, мг/кг	1,0	<0,01	<0,01
Ртуть, мг/кг	0,1	<0,002	<0,002

\* Единые санитарные требования. 1.5. Продукты мясные с использованием субпродуктов

Нормы для содержания токсичных элементов в мясном паштете определяли в соответствии с пунктом 1.5. «Продукты мясные с использованием субпродуктов (паштеты и др.)» Единых санитарных требований [276]. Содержание кадмия, свинца, мышьяка и ртути в обоих паштетах не превышало максимально допустимых концентраций, указанных в нормативных документах.

Результаты определения  $\text{OAE}_{\text{FRAP}}$  в этанольных экстрактах паштетов, хранившихся при  $4^\circ\text{C}$ , рассчитанные проценты от АУП и потери ОАЕ в опытном паштете, представлены в таблице 33. Концентрации вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ТБК-АП) представлены в таблице 34. Значения  $\text{OAE}_{\text{FRAP}}$  опытного паштета во все дни хранения превышали аналогичные показатели контрольного образца более, чем в 1,51 раз ( $P < 0,05$ ), при этом характер изменений ОАЕ был идентичный для обоих продуктов. В первые 3-е суток  $\text{OAE}_{\text{FRAP}}$  практически не изменялась, затем наблюдалось резкое увеличение значений на 7-ые сутки с последующим плавным снижением с 10-х суток. Процент потери ОАЕ рассчитывали от 30 мкмоль-экв. кв / 100 г продукта, которые вносили в соответствии с рецептурой. Было определено, что при производстве паштета потеря ОАЕ составляет около 48,8%.

Таблица 33 – Показатели ОАЕ паштетов в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	ОАЕ <sub>FRAP</sub> , мкмоль-экв кверцетина / 100 г продукта				% потери ОАЕ
	Контроль	Опыт	Δ (О-К)	% от АУП**	
1	23,250,16	38,62±0,96 *	15,37	31,21	48,8
3	22,78±0,22	38,55±0,81 *	15,77	32,01	47,4
7	31,29±0,33	47,25±0,76 *	15,96	32,35	46,8
10	21,51±0,23	34,56±0,47 *	13,05	26,44	56,5
14	19,96±0,23	33,09±0,71 *	13,13	26,64	56,2
21	15,92±0,19	28,42±0,50 *	12,50	25,37	58,3
P-value (0-7 сутки)	0,0000	0,0000	-	-	-
P-value (0-10 сутки)	0,0001	0,0001	-	-	-
P-value (0-14 сутки)	0,0007	0,0009	-	-	-
P-value (0-21 сутки)	0,0057	0,0094	-	-	-

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10; \*\* - процент от адекватного уровня потребления флавонолов и их гликозидов в сутки, который обеспечивает внесение ЭШЛ; P-value - достоверная разница, критерий Фридмана, P-value < 0,05

Установлено, что в течение 7-ми суток опытный образец содержал примерно на 15,5 мкмоль-экв. кв / 100 г продукта больше, чем контрольный, что составляет около 31,5% от АУП, а в течение 21 суток внесение экстракта в продукт обеспечивает не менее 25% от АУП флавонолов и их гликозидов.

Таблица 34 – Концентрации ТБК-АП в паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	ТБК-АП, мкмоль / 100 г продукта	
	Контроль	Опыт
1	1,64±0,13	1,49±0,31
3	2,05±0,31	1,53±0,27
7	2,16±0,14	1,93±0,28
10	2,40±0,19	1,06±0,22*
14	2,42±0,07	1,33±0,16*
21	2,66±0,20	1,86±0,17*
P-value (0-21 сутки)	0,007	0,010
P-value (0-14 сутки)	0,010	0,023
P-value (0-10 сутки)	0,075	0,033
P-value (0-7 сутки)	0,105	0,057

P-value - достоверная разница, критерий Фридмана, P-value < 0,05; \* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, U-критерий Манна-Уитни, P-value < 0,05

Внесение ЭШЛ в мясной паштет способствовало снижению продуктов ПОЛ на протяжении всего срока хранения: в течение 3-х недель значение ТБК-АП для опытного продукта не превышали 2,2 мкмоль / 100 г продукта, тогда как уже после 7-ми суток контрольный паштет характеризовался значениями ТБК-АП выше 2,2 мкмоль / 100 г продукта. Во время хранения наблюдалось статистическое изменение ТБК-АП в контроле и опыте, однако, к 21 суткам хранения величина ТБК-АП в контроле возросла в 1,6 раз (P<0,10), в а опыте – только в 1,2 раза (P<0,10).

Таблица 35 – Показатели микробиологической порчи паштетов в процессе хранения при 4°C

Сутки	КМАФАнМ, не более КОЕ/г, (нормативы $1 \cdot 10^3$ г)		Сутки	Дрожжи + Плесени, не более КОЕ/г, (нормативы 100 г)		
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт	
0	$2,0 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^2$	0	$< 1 \cdot 10^1$	$< 1 \cdot 10^1$	
3	$3,0 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^2$	3	$< 1 \cdot 10^1$	$< 1 \cdot 10^1$	
7	$3,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^2$	7	$< 1 \cdot 10^1$	$< 1 \cdot 10^1$	
10	$9,0 \cdot 10^2$	$8,2 \cdot 10^2$	10	$< 1 \cdot 10^1$	$< 1 \cdot 10^1$	
14	$6,5 \cdot 10^2$	$8,5 \cdot 10^2$	14	$< 1 \cdot 10^1$	$< 1 \cdot 10^1$	
21	$7,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^2$	21	$< 1 \cdot 10^1$	$< 1 \cdot 10^1$	
Сутки	БГКП (колиформы), не допускаются в г, (нормативы 1,0 г)		Сутки	Enterobacteriaceas, не более КОЕ/г, (нормативы 1.0 г)		
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт	
0	н/о	н/о	0	н/о	н/о	
3	н/о	н/о	3	н/о	н/о	
7	н/о	н/о	7	н/о	н/о	
10	н/о	н/о	10	н/о	н/о	
14	н/о	н/о	14	н/о	н/о	
21	н/о	н/о	21	н/о	н/о	
Сутки	Сульфитредуцирующие клостридии, не допускаются в г, (нормативы 0,1 г)		Сутки	Микроорганизмы рода Salmonella, не допускаются в г, (нормативы 25,0 г))		
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт	
0	н/о	н/о	0	н/о	н/о	
3	н/о	н/о	3	н/о	н/о	
7	н/о	н/о	7	н/о	н/о	
10	н/о	н/о	10	н/о	н/о	
14	н/о	н/о	14	н/о	н/о	
21	н/о	н/о	21	н/о	н/о	
Сутки	S. Aureus, не допускаются в г, (нормативы 1,0 г)		Сутки	Бактерии рода Enterococcus, не более КОЕ/г, (нормативы 1,0 г)		
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт	
0	н/о	н/о	0	н/о	н/о	
3	н/о	н/о	3	н/о	н/о	
7	н/о	н/о	7	н/о	н/о	
10	н/о	н/о	10	н/о	н/о	
14	н/о	н/о	14	н/о	н/о	
21	н/о	н/о	21	н/о	н/о	
Сутки	E. Coli., не допускаются в г, (нормативы 1,0 г)		Сутки	B. Cereus, (нормативы 1,0 г)		
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт	
0	н/о	н/о	0	н/о	н/о	
3	н/о	н/о	3	н/о	н/о	
7	н/о	н/о	7	н/о	н/о	
10	н/о	н/о	10	н/о	обн	
14	н/о	н/о	14	н/о	н/о	
21	н/о	н/о	21	н/о	н/о	
Сутки	L. monocytogenes, не допускаются в г, (нормативы 25,0 г)		Сутки	Бактерии рода Pseudomonas, (нормативы 1,0 г)		
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт	
0	н/о	н/о	0	н/о	н/о	
3	н/о	н/о	3	н/о	н/о	
7	н/о	н/о	7	н/о	н/о	
10	н/о	н/о	10	н/о	н/о	
14	н/о	н/о	14	н/о	н/о	
21	н/о	н/о	21	н/о	н/о	
Сутки	Бактерии рода Proteus, не допускаются в г, (нормативы 0,1 г)				Сутки	Опыт
	Контроль	Опыт	Сутки	Контроль		
0	н/о	н/о	10	н/о	н/о	
3	н/о	н/о	14	н/о	н/о	
7	н/о	н/о	21	н/о	н/о	

По результатам определения микробиологических показателей разработанного паштета и контрольного образца в течение 21 суток хранения при  $4\pm 2^\circ\text{C}$  не были обнаружены: БГКП (колиформы), сульфитредуцирующие клостридии, *S. Aureus*, микроорганизмы рода *Salmonella*, *L. Monocytogenes*, бактерии рода *Proteus*, *Enterobacteriaceae*, *E. Coli*, *Enterococcus*, *B. Cereus* и *Pseudomona*. КМАФАнМ было ниже  $1\cdot 10^3$  КОЕ/г, количество дрожжей и плесени не превышало  $1\cdot 10^1$  КОЕ/100 г, что соответствовало установленным нормам.

Для установления сроков годности в соответствии с ГОСТ Р 70354 [235] в мясных паштетах были определены следующие показатели окислительной порчи: концентрация аминокислотного азота (ААА), перекисное (ПЧ) и кислотное (КЧ) число, максимально допустимые значения которых 60 мг/100 г, 10 ммоль активного кислорода/кг жира и 6,0 мг КОН/г жира, соответственно. Кроме того, в выработанных паштетах определяли значение pH, тиобарбитуровое число (ТЧ) и концентрацию летучих жирных кислот (ЛЖК).

Концентрация ААА имела тенденцию к увеличению как в контрольном, так и в опытном образцах, но не превышала 49,0 мг/100 г, что существенно ниже установленной нормы в 60 мг/100 г. Статистически достоверная разница между образцами наблюдалась только на 14-ые сутки, где концентрация ААА в контрольном образце была выше на 6,23% ( $P < 0,1$ ).

Таблица 36– Концентрации аминокислотного азота в паштетах в процессе хранения при  $4^\circ\text{C}$

Сутки хранения	ААА, мг / 100 г	
	Контроль	Опыт
1	26,37±0,40	26,37±1,07
3	28,07±0,70	29,17±0,81
7	30,80±0,70	29,87±1,07
10	39,67±1,0	37,57±1,07
14	43,63±1,07	41,07±0,40*
21	48,07±1,07	46,20±0,70
P-value (0-21 сутки)	0,010	0,012
P-value (0-14 сутки)	0,018	0,021
P-value (0-10 сутки)	0,029	0,042
P-value (0-7 сутки)	0,050	0,097

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни,  $P\text{-value} < 0,10$ ; P-value - достоверная разница, критерий Фридмана,  $P\text{-value} < 0,05$ ;

Показатели перекисного числа в обоих образцах статистически значимо возрастали в течение 21 суток хранения ( $P < 0,05$ ), при этом значения как контрольного так и опытного паштетов не превышали установленной нормы в 10 ммоль активного кислорода/кг жира. Существенные различия между контрольным и опытным образцами были отмечены на 7, 10 и 21 сутки хранения, где перекисное число контрольного паштета было больше на 11,5%, 11,96% и 5,38% ( $P < 0,10$ ), соответственно.

Таблица 37 – Значения перекисного числа в паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	Перекисное число, ммоль активного кислорода / кг жира	
	Контроль	Опыт
1	2,08±0,10	1,91±0,24
3	3,84±0,17	3,74±0,09
7	5,15±0,15	4,62±0,04*
10	5,87±0,08	5,29±0,05*
14	6,81±0,09	6,72±0,08
21	8,42±0,03	7,99±0,06*
P-value (0-21 сутки)	0,017	0,010
P-value (0-14 сутки)	0,022	0,017
P-value (0-10 сутки)	0,029	0,029
P-value (0-7 сутки)	0,050	0,050

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10; P-value - достоверная разница, критерий Фридмана, P-value < 0,05;

Значение кислотного числа продуктов на протяжении 21-х суток увеличивалось, при этом к окончанию 3-х недель показатель КЧ контрольного паштета превышал установленную норму в 6,0 мг КОН/г жира, тогда как КЧ опытного продукта составила 5,99±0,03 мг КОН / г жира, что было ниже контрольного на 0,23 мг КОН / г жира (P<0,10). Достоверные различия между образцами наблюдались с 7-х суток хранения в сторону увеличения значений в контрольном паштете. Так, разница на 7-ые сутки между показателями контрольного и опытного образцов составила 0,33 мг КОН / г жира (P<0,10), на 10-ые сутки – 0,40 мг КОН / г жира (P<0,10), на 14-ые – 0,74 мг КОН / г жира (P<0,10), а на 21-ые – только 0,23 мг КОН / г жира (P<0,10).

Таблица 38 – Значения кислотного числа в паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	Кислотное число, мг КОН / г жира	
	Контроль	Опыт
1	1,62±0,12	1,57±0,08
3	2,37±0,06	2,25±0,07
7	3,51±0,07	3,18±0,04*
10	4,93±0,05	4,53±0,05*
14	5,76±0,06	5,02±0,06*
21	6,22±0,03	5,99±0,03*
P-value (0-21 сутки)	0,010	0,010
P-value (0-14 сутки)	0,017	0,017
P-value (0-10 сутки)	0,029	0,029
P-value (0-7 сутки)	0,050	0,050

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10; P-value - достоверная разница, критерий Фридмана, P-value < 0,05;

В первые сутки хранения рН контрольного образца был статистически ниже на 0,28 единиц, однако на 3-ьи и 7-ые сутки значения были одинаковыми. Начиная с 10-х суток хранения величина рН контрольного образца была статистически выше опытного на 0,35 ед, 0,39 ед. и 0,20 ед. ( $P < 0,10$ ), соответственно. Несмотря на наблюдаемые различия, в течение 21 суток хранения рН контрольного образца варьировал в пределах 6,48-7,08, а опытного в диапазоне от 6,71 до 6,84. Установлено, что внесение ЭШЛ в мясной продукт способствовало меньшей изменчивости рН в процессе хранения. Так, разницы между максимальным и минимальным значениями контрольного образца составляла 0,60, а для опытного – 0,13.

Таблица 39 – Значения рН в паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	рН, ед.	
	Контроль	Опыт 1
1	6,48±0,08	6,76±0,10*
3	6,61±0,14	6,72±0,11
7	6,83±0,05	6,77±0,04
10	7,06±0,08	6,71±0,04*
14	7,08±0,08	6,69±0,04*
21	7,04±0,06	6,84±0,04*
P-value (0-21 сутки)	0,019	0,233
P-value (0-14 сутки)	0,023	0,572
P-value (0-10 сутки)	0,042	0,580
P-value (0-7 сутки)	0,097	0,717

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10; P-value - достоверная разница, критерий Фридмана, P-value < 0,05;

Значение ТБЧ обоих продуктов в течение 10 суток было менее 0,039 мг МА/100 г. На 14-ые и 21-ые сутки ТБЧ контрольного образца выросло и статистически превышало аналогичные показатели опытного паштета в 1,34 раз и в 1,17 раз ( $P < 0,10$ ), соответственно.

Таблица 40 – Значения тиобарбитурового числа в паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	ТБЧ, мг малонового альдегида / кг продукта (мг МА/кг)	
	Контроль	Опыт 1
1	< 0,039	< 0,039
3	< 0,039	< 0,039
7	< 0,039	< 0,039
10	0,044±0,005	0,039±0,0
14	0,067±0,005	0,050±0,005 *
21	0,913±0,046	0,780±0,0 *

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни, P-value < 0,10

Концентрация ЛЖК в обоих продуктах не менялась в течение трех суток, причем опытный паштет незначительно превышал показатели контрольного на 0,04 мг КОН. Однако, на

10-е, 14-е и 21-е сутки хранения количество летучих жирных кислот в контрольном образце было статистически выше, чем в опыте, на 7,39%, 6,93% и 10,43% ( $P < 0,1$ ), соответственно.

Таблица 41 – Концентрация летучих жирных кислот в паштетах в процессе хранения при 4°C

Сутки хранения	ЛЖК, мг КОН	
	Контроль	Опыт
0	1,03±0,09	1,07±0,10
3	1,03±0,09	1,07±0,10
7	1,51±0,06	1,39±0,06
10	1,89±0,03	1,76±0,03*
14	2,16±0,06	2,02±0,06*
21	2,54±0,03	2,30±0,06*
P-value (0-21 сутки)	0,050	0,010
P-value (0-14 сутки)	0,017	0,017
P-value (0-10 сутки)	0,029	0,029
P-value (0-7 сутки)	0,050	0,050

\* - достоверная разница между контрольным и опытным образцами, критерий Манна-Уитни,  $P\text{-value} < 0,10$ ; P-value - достоверная разница, критерий Фридмана,  $P\text{-value} < 0,05$

В результате проведенных экспериментов было установлено, что рекомендованный срок годности разработанного мясного паштета антиоксидантного действия составляет 15 суток с учетом коэффициента запаса в соответствии с ГОСТ Р 70354 [235]. В течение 15 суток данный продукт будет характеризоваться повышенной  $OAE_{FRAP}$ , увеличение которой обеспечено наличием таких растительных антиоксидантов, как кверцетин и его гликозиды. При этом 100 г паштета будет обеспечивать не менее 25% флавонолов и их гликозидов от адекватного уровня потребления в сутки. На основании выполненных работ были разработаны ТИ и ТУ 10.13.14-151-00419779 по производству мясного паштета антиоксидантного действия.

### 3.3.4 Оценка экономической эффективности разработанного мясного паштета антиоксидантного действия

Для оценки экономической эффективности мясного паштета антиоксидантного действия рассчитывали себестоимость производства партии продукции с использованием в качестве источника растительных антиоксидантов разработанный 70% водно-этанольный экстракт шелухи желтого репчатого лука и коммерческий дигидрокверцетин (ДК) очистки 92% в виде БАД «АЛЕОКС-Х» (ЗАО «НПФ «Флавит», Россия), получаемый из лиственницы сибирской (*Larix*), и предназначенный для пищевой промышленности.

В соответствии с разработанными ТИ и ТУ 10.13.14-151-00419779 по производству мясного паштета антиоксидантного действия, рецептура продукта должна содержать 30 ммоль-экв. кв. / 100 кг основного несоленого сырья.

Содержание основного вещества (дигидрокверцетина) в БАДе «АЛЕОКС-Х» составляет не менее 92% [298], то есть 1 г БАДа содержит 0,92 г ДК (или 3,02 ммоль ДК). Так, для придания мясному паштету антиоксидантных свойств, необходимо внести 9,93 г БАДа / 100 кг основного несоленого сырья, цена которого составляет по данным на 15.02.2024 г составляет 2880 руб / 10 г [299].

В соответствии с ТИ и ТУ 10.89.15-000-00419779 по производству 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого репчатого лука его  $ОАЕ_{FRAP}$  варьируется от 6,5 до 8,5 ммоль-экв. кв / л. Тогда, минимальный и максимальный объем ЭШЛ, который необходимо внести в рецептуру паштета составят 3,5 л и 4,6 л на 100 кг основного сырья, одновременно с этим ЭШЛ будет замещать 16,5 л или 15,4 л говяжьего бульона, соответственно. Расчет себестоимости сырья, необходимого для получения этанольного экстракта шелухи желтого репчатого лука, на момент 15.02.2024 г представлен в таблице 42.

Таблица 42 – Затраты на сырье для производства ЭШЛ

Наименование сырья	Норма на 1 л	Стоимость ед. сырья, руб	Общая стоимость 1 л, руб
Шелуха лука репчатого	0,09 кг	10,0	0,9
Этанол пищевой, 96%	0,97 л	504	488,88
Вода питьевая	0,36 л	24,5	8,82
ИТОГО	-	-	498,6

Расчет стоимости мясного сырья был произведен на основании Методики расчета цен на вновь разрабатываемую мясную продукцию [300]. Цены на мясное сырье определены с помощью коэффициентов потребительских свойств по отношению к фактическим средним



ценам производителей на мясо. Стоимость говядины на кости 1 кг составляет 361 руб., свинины на кости – 194 руб. Данные Росстата за сентябрь 2023 г. [301].

Цены на мясное сырье за 1 кг:

- пашины говяжьей – 339,34 руб.;
- печени говяжьей – 361,0 руб.;
- диафрагмы говяжьей – 144,40 руб.;
- свиных сердец – 155,20 руб.

Был проведен расчет стоимости сырья и основных материалов для производства мясного паштета с учетом рецептуры и выхода готового продукта без внесения АО, с добавлением ЭШЛ или коммерческого дигидрохлоридина в виде БАДа «АЛЕОКС-Х» (таблица 43). Расчет вели на максимальный и минимальный объемы внесения экстракта.

Таблица 43 – Расчет сырья и вспомогательных материалов паштетов.

Выход – 102% (непроницаемая оболочка)

Наименование сырья и материалов	Норма расхода на 1 т готовой продукции, кг				Цена за 1 кг, руб	Общая стоимость, тыс. руб			
	Без АО	ЭШЛ V <sub>min</sub>	ЭШЛ V <sub>max</sub>	БАД		Без АО	ЭШЛ V <sub>min</sub>	ЭШЛ V <sub>max</sub>	БАД
<b>Основное сырье</b>									
Пашина говяжья	343,14	343,14	343,14	343,14	339,64	116,54	116,54	116,54	116,54
Печень говяжья	225,49	225,49	225,49	225,49	361	81,4	81,4	81,4	81,4
Диафрагма говяжья	196,08	196,08	196,08	196,08	144,4	28,31	28,31	28,31	28,31
Сердце свиное	98,04	98,04	98,04	98,04	155,2	15,22	15,22	15,22	15,22
Мука пшеничная	49,02	49,02	49,02	49,02	18	0,88	0,88	0,88	0,88
Молоко коровье сухое цельное	19,61	19,61	19,61	19,61	180	3,53	3,53	3,53	3,53
Лук репчатый	49,02	49,02	49,02	49,02	10	0,49	0,49	0,49	0,49
<b>Пряности и материалы</b>									
Соль поваренная пищевая	13,73	13,73	13,73	13,73	10,5	0,14	0,14	0,14	0,14
Сахар-песок	2,94	2,94	2,94	2,94	47	0,14	0,14	0,14	0,14
Перец черный молотый	0,98	0,98	0,98	0,98	100	0,1	0,1	0,1	0,1
Перец душистый молотый	0,49	0,49	0,49	0,49	170	0,08	0,08	0,08	0,08
Горчица молотая	4,9	4,9	4,9	4,9	90	0,44	0,44	0,44	0,44
Орех мускатный молотый	0,49	0,49	0,49	0,49	250	0,12	0,12	0,12	0,12
Вода питьевая	196,08	161,76	150,98	196,08	24,5	4,8	3,96	3,7	4,8
ЭШЛ	0	34,31	45,1	0	498,6	0	17,11	22,49	0
БАД «АЛЕОКС-Х»	-	-	-	-	288000	0	0	0	28,8
<b>ИТОГО:</b>	-	-	-	-	-	<b>252,19</b>	<b>268,46</b>	<b>273,58</b>	<b>280,99</b>

Внесение ЭШЛ увеличивает стоимость паштета на 6,45-8,48% в зависимости от его  $OAE_{FRAP}$ . Внесение коммерческого ДК увеличивает стоимость контрольного образца без АО на 11,42%. Стоит отметить, что при внесении в рецептуру ЭШЛ остается от 17,5% до 23,0% или от 34 л до 45 л говяжьего бульона. Оставшийся бульон можно реализовать на рынке в сухом, жидком или замороженном виде, а также в составе других пищевых продуктов. Так, средняя розничная стоимость замороженного говяжьего бульона составляет не менее 180 руб / кг. При реализации 34 л или 45 л оставшегося бульона от производства паштета с ЭШЛ, себестоимость паштета будет уменьшаться примерно на 6,1 тыс. руб или 8,1 тыс. руб в зависимости от количества используемого экстракта. Тогда, увеличение стоимости паштета от внесения ЭШЛ в сравнении с паштетом без АО будет на 4,03% при внесении в рецептуру минимального объема и на 5,27% при максимальном объеме ЭШЛ. Полученные данные позволяют рекомендовать использование экстракта шелухи желтого репчатого лука для обогащения мясного паштета растительными антиоксидантами.

### 3.4 Результаты изучения экстракта шелухи лука и мясных паштетов *in vivo*

Для изучения биологического действия 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого репчатого лука (ЭШЛ) и разработанного продукта с его добавлением *in vivo*, лабораторные грызуны стока *Wistar* (n=40), возрастом 17 месяцев и массой  $423 \pm 39$  г ежедневно в течение 28 суток получали опытный паштет (группа 2) и ЭШЛ (группа 3) в количестве, эквивалентном  $0,4 \text{ АЕ}_{\text{FRAP}} 2 \text{ мкмоль-экв. кв. / сут / гол}$ , контрольный продукт (группа 4) и общевиварный рацион (группа 1).

В течение всего эксперимента животные, получавшие мясные паштеты (группа 2 и 4), поедали весь рацион. Средняя поедаемость корма в интактной группе животных (группа 1) и получавших ЭШЛ (группа 3) составила  $24,0 \pm 2,5$  и  $21,7 \pm 2,9$  г/сут/гол, соответственно, и статистически не отличалась ( $P=0,924$ , критерий Манна-Уитни). Животные группы 3 (ЭШЛ) поедали на 9,6% меньше рациона, чем интактные (группа 1). Изменчивость масс тела животных в течение всего эксперимента представлена на рисунке 44.

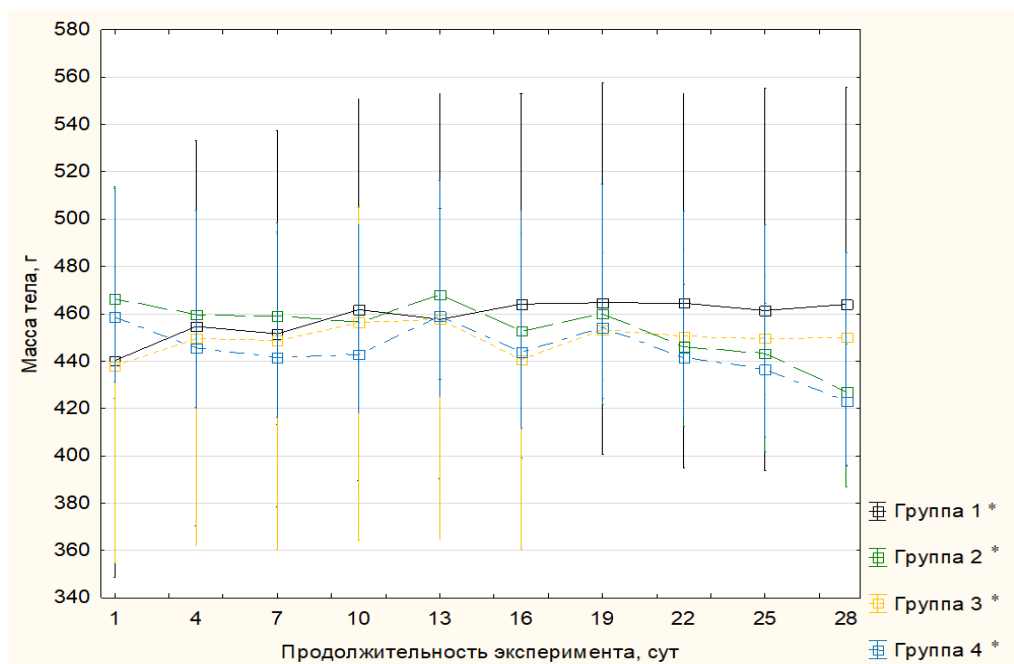


Рисунок 44. Динамика изменчивости масс тела крыс в течение эксперимента;

\* – достоверное изменение масс тела в течение эксперимента, критерий Фридмана,  $P < 0,05$

Было установлено, что животные группы 1 (интакт) набирали массу в течение эксперимента (на 16,7%). Также увеличением массы тела характеризовалась группа животных, получавших ЭШЛ (группа 3), где рост составил только 6,8%. Массы тел крыс, в чей рацион были добавлены продукты, содержащие жир и белок животного происхождения (группы 2 и 4), снижались. Так, медиана масс тел грызунов группы 4 через 28 суток была ниже начальной примерно на 1,1%. К завершению эксперимента медиана массы тела животных группы 2 была

ниже начальной на 3,96%, межквартильный размах показателей имел тенденцию к сокращению и снижению от 430/461 (0 сутки) до 413/439 (28 сутки).

Результаты интегрального показателя хронической интоксикации представлены в таблице 45. Были отмечены статистические изменения в значениях ИПХИ некоторых органов опытных животных. Отмечалось снижение показателя интоксикации печени животных, в чей рацион был внесен мясной паштет, в сравнении с интактными крысами (группа 1) на 8,05% ( $P<0,05$ ) для группы 2 (опытный паштет) и на 13,31% для группы 4 (контрольный продукт). ИПХИ обеих почек были статистически увеличены для групп 2 и 4 (опытный и контрольный паштеты) в сравнении с интактной группой не менее чем на 9,4% ( $P<0,05$ ), но не более чем на 16,7% ( $P<0,05$ ). Значения ИПХИ тимуса и селезенки животных всех опытных групп (группы 2, 3 и 4) имели тенденцию к снижению одновременно с увеличением показателей ИПХИ мозга. Интересно, что снижение ИПХИ тимуса и возрастание значения для мозга статистическим было для группы 2 (опытный паштет). Так, показатели в сравнении с группой 1 (интакт) изменялись на 30,8% ( $P<0,05$ ) для тимуса и на 8,9% ( $P<0,05$ ) в случае мозга животных. Для животных, получавших этанольный экстракт шелухи лука, было установлено только статистическое снижение ИПХИ селезенки на 10,8% ( $P<0,05$ ).

Таблица 45 – Значения ИПХИ органов лабораторных животных

Орган		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный паштет)
Печень	Median	3,23 <sup>b,d</sup>	2,97 <sup>a</sup>	3,14 <sup>d</sup>	2,80 <sup>b,c</sup>
	P 25 / 75	3,14-3,39	2,83 / 3,27	3,04-3,33	2,62 / 2,91
	Mean±SD	3,29±0,21	3,02±0,26	3,15±0,19	2,79±0,19
Почка левая	Median	0,30 <sup>b,d</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,30 <sup>b,d</sup>	0,35 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	0,29-0,34	0,34 / 0,35	0,29-0,32	0,32 / 0,37
	Mean±SD	0,31±0,03	0,35±0,02	0,30±0,03	0,35±0,03
Почка правая	Median	0,32 <sup>d</sup>	0,35 <sup>a</sup>	0,31 <sup>b,d</sup>	0,36 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	0,29-0,33	0,34 / 0,37	0,29-0,32	0,33 / 0,39
	Mean±SD	0,32±0,04	0,35±0,02	0,31±0,04	0,36±0,04
Сердце	Median	0,33	0,35	0,35	0,30
	P 25 / 75	0,32-0,36	0,32 / 0,37	0,33-0,36	0,30 / 0,36
	Mean±SD	0,34±0,03	0,35±0,04	0,35±0,03	0,33±0,04
Тимус	Median	0,13 <sup>a</sup>	0,09 <sup>b</sup>	0,12	0,10
	P 25 / 75	0,1-0,16	0,07 / 0,12	0,1-0,13	0,09 / 0,11
	Mean±SD	0,13±0,05	0,09±0,03	0,11±0,02	0,10±0,03
Селезенка	Median	0,37 <sup>a</sup>	0,33	0,31 <sup>b</sup>	0,34
	P 25 / 75	0,35-0,41	0,32 / 0,36	0,29-0,35	0,32 / 0,39
	Mean±SD	0,38±0,06	0,35±0,07	0,32±0,04	0,35±0,05
Мозг	Median	0,45 <sup>a</sup>	0,49 <sup>b</sup>	0,47	0,48
	P 25 / 75	0,43-0,45	0,48 / 0,51	0,44-0,48	0,47 / 0
	Mean±SD	0,44±0,04	0,49±0,02	0,47±0,07	0,48±0,02

a-b, c-d – достоверная разница, критерий Дункана,  $P<0,05$

По полученным данным было установлено, что ЭШЛ не оказывал токсичного воздействия, кроме того, организм грызунов сильнее реагировал на внесение в рацион ингредиентов животного происхождения, причем снижение ИПХИ печени свидетельствовало о положительном влиянии такого изменения диеты.

Показатели цитометрического анализа крови, функциональных показателей цельной крови и биохимического анализа представлены в таблицах 46-48. Результаты определения показателей АОС в плазме крови, печени, мозге и мышцах животных представлены в таблицах 49-53, соответственно.

Таблица 46 – Цитометрический анализ крови животных

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контроль й паштет)
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Median	15,42 <sup>a</sup>	12,94 <sup>b</sup>	14,95	15,79
	P 25 / 75	3,45/21,13	9,12/15,30	12,66/15,28	11,85/18,45
	Mean±SD	16,60±4,28	12,29±3,74	13,43±3,02	15,30±5,44
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	Median	12,27	9,36	10,49	13,01
	P 25 / 75	9,71/15,75	7,70/11,63	8,79/11,85	9,46/15,17
	Mean±SD	12,61±3,34	9,41±2,77	9,77±2,28	12,39±4,23
Моноциты, $10^9/\text{л}$	Median	0,60 <sup>a</sup>	0,30 <sup>b</sup>	0,41 <sup>b</sup>	0,50 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	0,47/0,78	0,21/0,36	0,33/0,45	0,30/0,58
	Mean±SD	0,65±0,26	0,29±0,11	0,39±0,12	0,45±0,20
Гранулоциты, $10^9/\text{л}$	Median	3,04	2,58	3,50	2,46
	P 25 / 75	2,45/4,34	1,26/3,20	2,86/3,75	1,99/2,72
	Mean±SD	334±1,11	2,59±1,38	3,27±0,89	2,46±1,10
Относительное содержание лимфоцитов, %	Median	75,65 <sup>b</sup>	78,38	73,48 <sup>b</sup>	81,26 <sup>a</sup>
	P 25 / 75	73,21/79,82	73,98/83,85	69,12/74,90	79,62/83,62
	Mean±SD	75,92±5,06	77,38±7,05	72,82±3,68	81,42±2,51
Относительное содержание моноцитов, %	Median	3,55 <sup>a</sup>	2,30 <sup>b,c</sup>	2,84 <sup>b,d</sup>	2,83 <sup>b,d</sup>
	P 25 / 75	3,26/4,36	2,15/2,46	2,53/3,09	2,56/3,20
	Mean±SD	3,85±0,78	2,28±0,42	2,81±0,42	2,86±0,41
Относительное содержание гранулоцитов, %	Median	20,88	19,68	25,51 <sup>b</sup>	15,77 <sup>a</sup>
	P 25 / 75	16,63/22,55	13,37/24,14	22,68/28,16	13,97/17,60
	Mean±SD	20,23±4,57	20,35±7,23	24,36±3,84	15,72±2,43

a-b, c-d – достоверная разница, критерий Дункана,  $P < 0,05$

Концентрация лейкоцитов в крови крыс, получавших опытный продукт (группа 2), была снижена на 16,1% ( $P < 0,05$ ) по сравнению с группой 1 (интакт), преимущественно, за счет снижения количества лимфоцитов на 23,7% ( $P > 0,05$ ), число моноцитов также было снижено на 50,0 % ( $P < 0,05$ ). Аналогичная тенденция была отмечена для животных группы 3 (экстракт), однако значимых изменений обнаружено не было. Содержание гранулоцитов статистически значимо не изменялось между группами. Отмеченные наблюдения не отразились на относительном содержании лимфоцитов и гранулоцитов в группах 2 и 3. Однако, в группе 4

(контрольный пащтет) статистически увеличивалось относительное содержание лимфоцитов в сравнении с группами 1 и 3 на 7,4% ( $P<0,05$ ) и на 10,6% ( $P<0,05$ ), соответственно. Во всех группах опытных животных наблюдалось снижение относительного содержания моноцитов в крови в сравнении с интактными животными (группа 1). Так, в группе крыс, получавших опытный продукт (группа 2) показатель уменьшался на 35,2% ( $P<0,05$ ), в группе 3 (ЭШЛ) на 20,0% ( $P<0,05$ ), а в группе 4 (контрольный пащтет) на 20,3% ( $P<0,05$ ). При этом наибольшим снижением характеризовалась группа 2 (опытный пащтет).

Таблица 47 – Функциональные показатели цельной крови животных

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный пащтет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный пащтет)
Эритроциты, $10^{12}/л$	Median	8,34	8,47	8,31	8,26
	P 25 / 75	8,21/8,49	7,95/8,78	8,04/8,52	8,18/8,69
	Mean±SD	8,27±0,39	8,40±0,45	8,18±0,76	8,34±0,40
Гемоглобин, г/л	Median	143,8	148,8	142,0	147,75
	P 25 / 75	135,0/149,5	145,0/151,0	138,0/144,0	143,75/150,88
	Mean±SD	143,3±9,3	147,7±5,0	140,1±10,3	147,40±5,71
Гематокрит, %	Median	41,09	42,20	40,35	41,74
	P 25 / 75	38,49/42,58	41,33/43,16	39,35/42,30	41,09/42,92
	Mean±SD	40,71±2,8	42,08±1,22	40,18±2,84	42,19±1,48
Средний объем эритроцита, $мкм^3$	Median	49,50	50,00	48,75	50,0
	P 25 / 75	48,00/50,50	49,00/51,00	48,00/51,00	49,63/51,75
	Mean±SD	49,30±2,18	50,10±1,96	49,15±2,31	50,7±2,5
Ср. содержание гемоглобина в эритроците, пг	Median	17,40	17,60	17,05	17,73
	P 25 / 75	16,95/17,60	17,20/17,95	16,80/17,60	17,55/18,09
	Mean±SD	17,34±0,59	17,61±0,54	17,17±0,86	17,70±0,63
Ср. концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л	Median	350,3	351,5	349,8	350,5
	P 25 / 75	347,5/357,5	347,0/356,5	343,0/353,0	347,0/354,38
	Mean±SD	352,2±6,4	351,0±7,1	348,7±5,5	349,5±8,03
Ширина распределения эритроцитов, %	Median	17,33	17,25	17,23	17,60
	P 25 / 75	17,10/17,70	16,90/18,60	16,70/18,15	16,60/18,09
	Mean±SD	17,50±0,56	17,69±1,26	17,85±2,10	17,51±1,03
Тромбоциты, $10^9/л$	Median	836,0	743,3	832,5	815,0
	P 25 / 75	797,0/879,0	661,5/827,0	798,5/977,5	682,75/914,13
	Mean±SD	839,0±70,4	754,0±120,0	866,0±163,0	800,6±130,6
Тромбокрит, %	Median	0,54 <sup>b</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,57 <sup>b,c</sup>	0,51 <sup>d</sup>
	P 25 / 75	0,51/0,55	0,41/0,50	0,53/0,65	0,43/0,57
	Mean±SD	0,54±0,05	0,46±0,07	0,59±0,11	0,50±0,08
Средний объем тромбоцита, $мкм^3$	Median	6,45 <sup>b,d</sup>	6,13 <sup>a</sup>	6,75 <sup>b,c</sup>	6,18 <sup>d</sup>
	P 25 / 75	6,20/6,60	5,85/6,15	6,50/6,90	6,11/6,33
	Mean±SD	6,44±0,22	6,08±0,24	6,79±0,37	6,20±0,20
Распределение тромбоцитов, %	Median	34,00 <sup>b</sup>	33,15 <sup>b</sup>	34,90 <sup>a</sup>	33,35 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	33,45/34,90	32,90/33,80	34,35/35,95	32,80/33,60
	Mean±SD	34,07±0,81	33,21±1,04	35,39±1,47	33,22±0,77

a-b, c-d – достоверная разница, критерий Дункана,  $P<0,05$

По результатам определения функциональных показателей цельной крови животных (таблица 47) статистически значимые изменения были отмечены только в значениях тромбокрита, среднего объема тромбоцита и распределении тромбоцитов. В крови крыс, получавших опытный продукт (группа 2), наблюдалась тенденция к снижению концентрации тромбоцитов по сравнению с группами 1 (интакт) и 3 (ЭШЛ) на 11,1% ( $P>0,05$ ) и на 10,7% ( $P>0,05$ ), соответственно, которое не было достоверным ввиду значительно межквартильного размаха этого показателя в экспериментальных группах, однако, этому снижению сопутствовало статистически значимое уменьшение уровня тромбокрита и среднего объема тромбоцита на 17,5% ( $P<0,05$ ) и 5,0% ( $P<0,05$ ), соответственно, по сравнению с группой 1 (интакт).

Интересно, что межквартильный размах концентрации тромбоцитов в крови животных, получавших ЭШЛ (группа 3), был наиболее значимым, но смещенным в сторону роста этого показателя. Так, у 20% животных содержание тромбоцитов было  $1000 \times 10^9/\text{л}$ , чему сопутствовало статистически значимое увеличение среднего объема тромбоцита на 4,7% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группой 1 (интакт), на 10,1% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группой 2 (опытный продукт) и на 9,22% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группой 3 (контрольный продукт). Кроме того, у крыс из группы 3 процент распределения тромбоцитов статистически превышала аналогичные показатели животных из групп 1 (интакт), 2 (опытный паштет) и 4 (контрольный паштет) на 2,6% ( $P<0,05$ ), 5,3% ( $P<0,05$ ) и на 4,6% ( $P<0,05$ ), соответственно.

Результаты проведения биохимического анализа сыворотки крови лабораторных животных представлены в таблице 48. В сыворотке крови крыс, получавших опытный или контрольный продукт (группа 2 и 4, соответственно), наблюдалось снижение концентрации общего белка по сравнению с группой 1 (интакт) на 9,0% ( $P<0,05$ ) и 5,3% ( $P<0,05$ ), в то же время, как в группе 3 (экстракт) концентрация увеличивалась в сравнении с группами 2 и 4 на 13,9% ( $P<0,05$ ) и на 9,4% ( $P<0,05$ ), соответственно. При этом содержание альбумина во всех группах оставалось неизменным. Статистически значимых изменений концентрации креатинина не наблюдалось между экспериментальными группами, содержание же мочевины, напротив, снизилось в сыворотке крови животных, получавших опытный продукт (группа 2) и ЭШЛ (группа 3) на 13,8% ( $p<0,05$ ) и 7,9% ( $p<0,05$ ), соответственно, по сравнению с группой 1 (интакт). Кроме того, отмечалась значимое снижение мочевины в группе 2 (опытный паштет) по сравнению с группой 4 (контрольный продукт) на 11,5% ( $P<0,05$ ).

Содержание общего билирубина увеличивалось в сыворотке крови крыс всех опытных групп по сравнению с группой 1 (интакт) на 29,0% ( $P<0,05$ ) в группе 2, на 34,1% ( $P<0,05$ ) в группе 3 и на 26,6% в группе 4 ( $P<0,05$ ). Концентрация прямого билирубина возросла только в сыворотке кроки крыс группы 3 (ЭШЛ) на 12,7% ( $P<0,05$ ) и группы 4 (контрольный продукт) на

9,5% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группой 1 (интакт). Активность АсАт в сыворотке крови крыс, получавших опытный продукт (группа 2), снизилась на 13,1% ( $P<0,05$ ) и 15,2% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группами 1 (интакт) и 3 (ЭШЛ), соответственно. Также активность АсАт снижалась в сыворотке крови крыс, получавших контрольный продукт (группа 4), на 11,2% ( $P<0,05$ ) и на 13,3% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группами 1 (интакт) и 3 (ЭШЛ), соответственно. Внутрижелудочное введение ЭШЛ привело к росту активности АлАт на 37,0% ( $p<0,05$ ) по сравнению с группой 1 (интакт) и на 26,0% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группой 4 (контрольный продукт). Отмечалась тенденция к снижению активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс, получавших опытный продукт (группа 2) и ЭШЛ (группа 3) на 32,9% и 31,1%, соответственно, по сравнению с группой 1 (интакт), тогда как для группы 4 (контрольный пащтет) снижение было значимым и составило 61,4% ( $P<0,05$ ). Снижение активности ЛДГ не было значимым в сыворотке крови крыс ввиду значительного межквартильного размаха.

Таблица 48 – Биохимический анализ сыворотки крови животных

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный пащтет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный пащтет)
Общий белок, г/л	Median	76,95 <sup>b,d</sup>	70,00 <sup>a</sup>	79,75 <sup>b,d</sup>	72,90 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	75,50/80,90	69,55/73,30	77,90/82,80	71,33/74,69
	Mean±SD	77,82±3,40	71,16±2,46	79,89±3,69	73,59±2,97
Альбумин, г/л	Median	32,15	32,90	34,30	32,55
	P 25 / 75	31,40/34,00	31,60/35,00	33,50/35,20	31,90/34,90
	Mean±SD	32,64±1,86	33,23±1,75	34,21±1,64	33,20±1,88
Креатинин, мкмоль/л	Median	68,40	67,10	67,85	65,20
	P 25 / 75	66,40/73,60	62,60/72,30	62,70/72,90	62,25/66,23
	Mean±SD	70,17±7,05	67,50±4,48	67,15±5,86	64,76±4,25
Мочевина, ммоль/л	Median	7,60 <sup>b,d</sup>	6,55 <sup>a</sup>	7,00 <sup>c</sup>	7,40 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	7,30/7,90	6,30/6,90	6,80/7,30	6,85/7,68
	Mean±SD	7,61±0,37	6,66±0,45	7,06±0,40	7,38±0,69
Билирубин (общ.), мкмоль/л	Median	2,52 <sup>a</sup>	3,25 <sup>b</sup>	3,38 <sup>b</sup>	3,19 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	2,40/3,17	2,76/3,57	2,88/3,58	2,86/3,95
	Mean±SD	2,68±0,39	3,20±0,42	3,32±0,44	3,38±0,68
Билирубин (пр.), мкмоль/л	Median	0,63 <sup>a</sup>	0,67	0,71 <sup>b</sup>	0,69 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	0,60/0,64	0,62/0,74	0,63/0,77	0,63/0,76
	Mean±SD	0,62±0,03	0,67±0,07	0,71±0,08	0,73±0,12
АсАт, Е/л	Median	95,15 <sup>b,d</sup>	82,70 <sup>a</sup>	97,50 <sup>b,d</sup>	84,50 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	87,80/107,00	80,30/90,80	95,10/109,50	80,35/94,0
	Mean±SD	99,42±14,71	85,90±9,29	101,05±8,82	86,83±8,53
АлАт, Е/л	Median	28,33 <sup>b</sup>	33,85	38,80 <sup>a</sup>	30,80 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	26,30/36,50	29,70/34,30	36,00/37,20	27,08/35,78
	Mean±SD	31,20±7,96	32,82±3,02	38,48±6,89	32,13±6,60
Щелочная фосфатаза, Е/л	Median	194,9 <sup>b</sup>	130,7	134,2	119,70 <sup>a</sup>
	P 25 / 75	154,5/222,4	105,6/160,0	115,6/166,8	104,25/145,90
	Mean±SD	184,96±47,0	141,68±45,62	156,33±71,52	123,06±27,26
ГГТ, Е/л	Median	2,55	2,50	2,10	3,95
	P 25 / 75	1,60/4,40	1,90/3,70	1,85/2,90	2,45/4,35
	Mean±SD	2,87±1,50	2,74±0,86	2,59±1,23	3,44±1,56



Продолжение таблицы 48

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный паштет)
ЛДГ, Е/л	Median	100,50	74,0	79,50	82,0
	P 25 / 75	75,00/144,00	67,00/107,00	65,00/102,00	69,75/92,50
	Mean±SD	105,10±32,53	106,1±72,4	87,40±28,90	86,20±21,09
Глюкоза, ммоль/л	Median	7,35 <sup>b</sup>	6,40 <sup>a</sup>	6,90	7,80
	P 25 / 75	7,00/8,90	5,55/8,00	6,70/7,80	6,40/9,48
	Mean±SD	8,31±2,03	6,75±1,31	7,36±0,95	8,01±1,80
Мочевая кислота, мкмоль/л	Median	120,0	98,00	94,00	132,0
	P 25 / 75	86,00/161,00	67,00/146,00	60,00/119,00	86,50/166,75
	Mean±SD	133,05±63,72	104,40±41,37	92,05±38,15	129,5±51,94
Кальций, ммоль/л	Median	2,82 <sup>a</sup>	2,63	2,48 <sup>b</sup>	2,53 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	2,67/3,07	2,41/2,99	2,45/2,80	2,43/2,76
	Mean±SD	2,86±0,22	2,66±0,26	2,59±0,22	2,58±0,24
Магний, ммоль/л	Median	0,93 <sup>a</sup>	0,82 <sup>b</sup>	0,79 <sup>b</sup>	0,84 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	0,85/1,03	0,73/0,86	0,74/0,81	0,75/0,90
	Mean±SD	0,93±0,12	0,81±0,09	0,78±0,05	0,83±0,09
Железо, мкмоль/л	Median	28,07 <sup>b,d</sup>	35,96 <sup>a</sup>	33,81 <sup>b</sup>	35,74 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	22,71/31,51	33,51/42,46	29,10/35,49	33,18/37,25
	Mean±SD	28,21±5,75	37,47±4,70	31,97±4,86	35,63±3,33
Холестерин, ммоль/л	Median	1,68 <sup>b</sup>	2,04 <sup>a</sup>	1,61 <sup>b,d</sup>	1,85 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	1,42/1,96	1,88/2,16	1,39/1,85	1,75/2,09
	Mean±SD	1,71±0,40	2,05±0,26	1,62±0,25	1,93±0,37
Триглицериды, ммоль/л	Median	1,38 <sup>b,d</sup>	0,93 <sup>a</sup>	1,46 <sup>b,d</sup>	0,57 <sup>b,c</sup>
	P 25 / 75	1,06/1,65	0,77/1,12	0,95/1,64	0,49/0,67
	Mean±SD	1,45±0,39	0,97±0,21	1,43±0,45	0,57±0,10
ХС ЛПВП, ммоль/л	Median	0,93 <sup>b</sup>	1,21 <sup>a</sup>	0,98 <sup>b</sup>	1,11
	P 25 / 75	0,79/1,08	1,15/1,30	0,92/1,11	1,0/1,21
	Mean±SD	0,96±0,24	1,21±0,13	1,01±0,11	1,12±0,15
ХС ЛПНП, ммоль/л	Median	0,23 <sup>b,d</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,23 <sup>b,d</sup>	0,19 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	0,21/0,27	0,18/0,22	0,22/0,24	0,18/0,20
	Mean±SD	0,233±0,24	0,20±0,03	0,24±0,04	0,19±0,03
Остаточный ХС, ммоль/л	Median	0,44	0,58 <sup>b</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,54 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	0,32/0,71	0,44/0,80	0,22/0,51	0,40/0,82
	Mean±SD	0,51±0,24	0,64±0,23	0,37±0,17	0,62±0,25
Индекс атерогенности, отн. ед	Median	0,73	0,66	0,63	0,69
	P 25 / 75	0,62/1,02	0,54/0,78	0,51/0,67	0,56/0,90
	Mean±SD	0,79±0,25	0,70±0,21	0,60±0,13	0,72±0,18

a-b, c-d – достоверная разница, критерий Дункана, P<0,05

Снижение кальция по сравнению с группой 1 (интакт) было отмечено в группе 3 (экстракт) и группе 4 (контрольный продукт) на 12,1% (P<0,05) и на 10,3% (P<0,05), соответственно. Содержание магния в сыворотке крови крыс всех опытных групп снизилось по сравнению с группой 1 (интакт) на 11,8% (P<0,05) в группе 2. На 15,1% (P<0,05) в группе 3 и на 9,7% (P<0,05) в группе 4. Одновременно в группе 2 (опытный продукт) возрастала концентрация железа по сравнению с группами 1 и 3 на 28,1% (P<0,05) и 20,4% (P<0,05), соответственно. Кроме того, в группе 4 (контрольный продукт) отмечалось увеличение количества железа в сравнении с интактными животными (группа 1) на 27,3% (P<0,05).

Содержание триглицеридов в сыворотке крови животных, получавших опытный (группа 2) или контрольный паштет (группа 4) снижались на 32,6% (P<0,05) и на 58,7% (P<0,05) в

сравнении с группой 1 и на 36,3% ( $P<0,05$ ) и на 61,0% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группой 3 (экстракт). Кроме того, показатель группы 2 (опытный паштет) был выше чем в группе 4 (контрольный продукт) на 63,2% ( $P<0,05$ ). Содержания общего холестерина в сыворотке крови животных, получавших опытный продукт (группа 2), напротив, возросло на 21,4% ( $P<0,05$ ) и 26,7% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группами 1 (интакт) и 3 (ЭШЛ), соответственно, преимущественно за счет роста концентрации холестерина ЛПВП на 30,1% ( $P<0,05$ ) и 23,5% ( $P<0,05$ ), соответственно, а холестерин ЛПНП, напротив, снизился на 13,0% ( $P<0,05$ ). В случае животных, получавших контрольный продукт (группа 4) холестерин увеличивался на 14,9% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группой 3 (экстракт), одновременно со снижением количества ХС ЛПНП на 14,4% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группами 1 и 3. Внутривенное введение ЭШЛ способствовало снижению остаточного холестерина на 36,2% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группой 2 (опытный продукт) и на 27,8% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группой 4 (контрольный паштет). Отмеченные наблюдения перераспределения фракций липопротеинов проявилось в тенденции к снижению индексу атерогенности сыворотки крови крыс, получавших опытный продукт (группа 2). ЭШЛ (группа 3) или контрольный продукт (группа 4), на 9,6%, 13,7% и 5,5%, соответственно, по сравнению с группой 1 (интакт).

Таблица 49 – Результаты определения показателей АОС в плазме крови крыс

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный паштет)
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , нмоль- экв. кв. / мл	Median	92,83 <sup>a</sup>	94,71	102,70 <sup>b</sup>	106,18 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	86,70 / 130,99	82,42 / 97,46	99,94 / 105,90	95,61 / 120,91
	Mean±SD	105,51±28,72	94,44±13,32	103,14±7,25	109,76±16,52
ТБК-АП, нмоль / мл	Median	3,57	3,57	3,23	3,56
	P 25 / 75	3,10 / 3,78	3,05 / 4,36	3,0 / 3,42	2,97 / 4,39
	Mean±SD	3,58±0,53	3,64±0,95	3,24±0,43	3,83±1,02
GSH, нмоль / мл	Median	83,63	71,27	76,32	76,74
	P 25 / 75	75,25 / 91,86	69,15 / 74,26	69,71 / 87,18	74,83 / 77,81
	Mean±SD	88,39±18,80	69,98±6,94	79,01±9,81	76,54±3,30
GPx, U / г белка	Median	8,73 <sup>a</sup>	9,83 <sup>b</sup>	9,52 <sup>b</sup>	9,16
	P 25 / 75	8,07 / 9,35	9,22 / 10,22	8,66 / 10,23	8,92 / 9,47
	Mean±SD	8,11±2,25	9,76±0,54	9,89±2,01	9,08±0,69
CAT, U / г белка	Median	1,57	1,73	1,85	1,46
	P 25 / 75	1,27 / 2,02	1,58 / 2,09	1,59 / 2,05	1,22 / 1,80
	Mean±SD	1,65±0,51	1,82±0,39	1,83±0,31	1,49±0,46
SOD, U / мг белка	Median	4,16	3,72 <sup>b</sup>	4,45 <sup>a</sup>	3,87 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	3,72 / 4,63	3,61 / 4,05	4,25 / 5,04	3,56 / 4,14
	Mean±SD	4,11±0,59	3,93±0,52	4,58±0,67	3,94±0,58

a-b - достоверная разница, критерий Дункана,  $P<0,05$

По результатам определения показателей АОС в плазме крови грызунов (таблица 49) существенных изменений выявлено не было. Общая антиоксидантная емкость в отношении ионов переходных металлов (FRAP) в группах 3 и 4 (экстракт и контрольный продукт) увеличивалась по сравнению с группой 1 (интакт) на 10,6% и на 14,4%, соответственно. Статистически значимых изменений ТБК-АП, не наблюдалось, однако внутрижелудочное введение ЭШЛ способствовало снижению величины этого показателя по сравнению с группами 1 (интакт), 2 (опытный продукт) и 4 (контрольный продукт) на более чем 9 % ( $P>0,05$ ). Интересно, что содержание GSH в плазме крови животных, получавших опытный продукт (группа 2) и ЭШЛ (группа 3), было на 13,7% ( $P<0,05$ ) и 7,6% ( $P>0,05$ ), соответственно, ниже по сравнению с группой 1 (интакт), а активность GPx, напротив, возросла на 10,7% ( $P<0,05$ ) и 7,2% ( $P>0,05$ ), соответственно. Наблюдалось увеличение активности супероксиддисмутазы (SOD) в группе 3 (экстракт) в сравнении с группами 2 и 4 (опытный и контрольный паштеты) на 13,6% ( $P<0,05$ ) и на 15,0% ( $P<0,05$ ), соответственно, а также незначительное увеличение в сравнении с интактными животными (группа 1) на 7,0% ( $P>0,05$ ). Статистически значимых изменений активности САТ отмечено не было.

Таблица 50 – Результаты определения показателей АОС в печени крыс

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный паштет)
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , нмоль- экв. кверцетина / г ткани	Median	1520,58 <sup>b,d</sup>	1881,60 <sup>a</sup>	1527,10 <sup>b,d</sup>	1692,25 <sup>b,c</sup>
	P 25 / 75	1474,78 / 1573,33	1732,46 / 1972,03	1496,23 / 1568,55	1650,44 / 1801,59
	Mean±SD	1529,04±62,94	1880,68±227,69	1526,26±64,89	1703,22±137,18
ТБК-АП, нмоль / г ткани	Median	29,83 <sup>b</sup>	34,04 <sup>b</sup>	33,71 <sup>b</sup>	38,11 <sup>a</sup>
	P 25 / 75	28,25 / 33,90	32,20 / 37,85	32,46 / 36,01	36,80 / 43,23
	Mean±SD	32,53±4,10	35,07±4,92	34,67±4,78	39,99±4,26
GSH, нмоль / г ткани	Median	478,13	451,51	455,42	465,71
	P 25 / 75	451,51 / 484,17	437,31 / 468,55	447,96 / 477,07	443,70 / 488,43
	Mean±SD	495,88±83,48	457,33±29,52	461,73±21,35	485,80±76,45
GPx, Е/г белка	Median	83,04	72,82	77,48	73,44
	P 25 / 75	81,75 / 90,43	63,30 / 86,49	73,20 / 102,47	70,39 / 90,74
	Mean±SD	87,56±14,09	75,10±12,81	86,08±18,72	82,73±16,85
САТ, ммоль/мин/г белка	Median	522,66	580,05	498,10	549,02
	P 25 / 75	441,81 / 569,72	521,40 / 613,31	472,58 / 641,29	508,70 / 623,59
	Mean±SD	493,03±99,0	564,26±61,22	537,52±119,06	557,68±59,84
SOD, П%/мин/мг белка	Median	321,91 <sup>b,d</sup>	256,46 <sup>a</sup>	297,64 <sup>b,d</sup>	283,79 <sup>b,c</sup>
	P 25 / 75	292,29 / 336,92	249,86 / 270,44	291,32 / 317,91	274,79 / 303,20
	Mean±SD	314,72±27,26	257,55±11,41	308,25±23,33	284,58±20,88

a-b, c-d - достоверная разница, критерий Дункана,  $P<0,05$

В печени животных групп 2 и 4 (опытный и контрольный паштеты) статистически увеличивалась ОАЕ<sub>FRAP</sub> на 23,7% ( $P<0,05$ ) и 11,3% ( $P<0,05$ ), соответственно, причем в группе 2 ОАЕ<sub>FRAP</sub> была на 11,19% ( $P<0,05$ ) больше, чем в группе 4. При этом значение емкости в печени

животных группы 3 (экстракт) практически не отличалось от интактных животных. Во всех опытных группах отмечалась тенденция к увеличению концентрации продуктов перекисного окисления липидов (ТБК-АП), однако в группе 4 содержание ТБК-АП статистически превышало показатели группы 1 (интакт) на 23,8% ( $P < 0,05$ ), группы 2 на 12,0% ( $P < 0,05$ ) и группы 3 (экстракт) на 13,1% ( $P < 0,05$ ). Содержание восстановленного глутатиона (GSH) и активность GPx статистически значимо не изменялись в экспериментальных группах, однако отмечалась тенденция к снижению этих показателей. Так, наименьшей концентрацией GSH и активностью глутатионпероксидазы (GPx) в тканях печени характеризовалась группа 2 (опытный паштет), уступая интактной группе (группа 1) на 5,6% ( $P > 0,05$ ) и на 12,3% ( $P > 0,05$ ), соответственно. Статистически значимых изменений активности CAT не наблюдалось, но отмечалась тенденция к увеличению ее активности в сравнении с группой 1 (интакт) на 11,0% ( $P > 0,05$ ) и на 5,0% ( $P > 0,05$ ) в тканях печени крыс, получавших опытный продукт (группа 2), или контрольный (группа 4), соответственно. При этом активность SOD группы 2 (опытный паштет), напротив, снизилась на 20,3% ( $P < 0,05$ ) и 13,8% ( $P < 0,05$ ), соответственно, по сравнению с группами 1 (интакт) и 3 (ЭШЛ), а в случае группы 4 (контрольный паштет) снижения составили 11,8% ( $P < 0,05$ ) и 2,7% ( $P < 0,05$ ), соответственно.

Таблица 51 – Результаты определения показателей АОС в мозге крыс

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный паштет)
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , нмоль- экв. кверцетина / г ткани	Median	412,32 <sup>b,d</sup>	370,62 <sup>a</sup>	408,88 <sup>b,d</sup>	349,06 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	386,09 / 423,99	365,22 / 403,70	398,41 / 422,25	327,83 / 369,49
	Mean±SD	408,41±26,57	381,99±24,06	413,09±17,87	349,15±28,22
ТБК-АП, нмоль / г ткани	Median	18,59±2,71 <sup>b,d</sup>	8,21±3,30 <sup>a,d</sup>	16,62±5,39 <sup>d</sup>	10,05±3,01 <sup>b,c</sup>
	P 25 / 75	16,16 / 20,11	7,89 / 12,22	14,19 / 23,65	7,82 / 11,30
	Mean±SD	18,48±2,71	9,49±3,30	18,59±5,39	9,72±3,01
GSH, нмоль / г ткани	Median	452,58	452,93	437,67	452,58
	P 25 / 75	445,12 / 469,26	437,31 / 486,30	420,99 / 456,48	444,41 / 466,42
	Mean±SD	456,91±14,48	453,36±49,82	435,54±33,56	456,69±27,86
GPx, Е/г белка	Median	141,68	148,17	150,93	143,12
	P 25 / 75	129,65 / 156,68	135,25 / 153,35	142,54 / 154,45	135,50 / 148,74
	Mean±SD	144,0±16,23	145,13±12,56	149,36±8,84	141,11±11,60
CAT, ммоль/мин/г белка	Median	10,69	9,04	10,05	10,58
	P 25 / 75	9,05 / 11,89	8,69 / 9,87	9,17 / 12,41	9,57 / 11,40
	Mean±SD	10,54±1,71	9,41±1,19	10,49±1,57	10,46±1,59
SOD, П%/мин/мг белка	Median	216,51	215,03 <sup>a</sup>	230,57 <sup>b</sup>	222,03
	P 25 / 75	206,32 / 228,69	206,95 / 220,93	219,36 / 238,67	206,34 / 234,33
	Mean±SD	216,62±23,42	210,44±15,34	229,23±13,68	220,30±15,86

a-b, c-d - достоверная разница, критерий Дункана,  $P < 0,05$

Согласно таблице 51, потребление экспериментальными животными опытного продукта (группа 2) способствовало снижению  $ОАЕ_{FRAP}$  в ткани мозга на 10,1% ( $P<0,05$ ) и 9,4% ( $P<0,05$ ), соответственно, по сравнению с группами 1 (интакт) и 3 (ЭШЛ), на фоне резкого снижения концентрации ТБК-АП в 2,3 раза ( $P<0,05$ ) и 2,0 раз ( $P<0,05$ ), соответственно. Аналогичные изменения были характерны и для ткани мозга крыс, получавших контрольный продукт (группа 4). Однако, снижение  $ОАЕ_{FRAP}$  было больше, чем в группе 2, и составило 15,3% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группой 1 (интакт) и 14,6% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группой 3 (экстракт). При этом, концентрация ТБК-АП в группе 4 снижалась только в 1,8 раз ( $P<0,05$ ) по сравнению с интактными животными. Содержание GSH и активность GPx статистически значимо не изменялись в экспериментальных группах, как и активность CAT. Внутрижелудочное введение ЭШЛ (группа 3) способствовало росту активности SOD в ткани мозга на 6,5% (недостаточно), 7,2% ( $P<0,05$ ) и на 3,7% по сравнению с группами 1 (интакт), 2 (опытный продукт) и 3 (контрольный паштет), соответственно.

Таблица 52 – Результаты определения показателей АОС в мышцах спины (*M. Longissimus dorsi*)

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный паштет)
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , нмоль- экв. кверцетина / г ткани	Median	186,34	176,99	181,59	189,17
	P 25 / 75	160,0 / 233,99	153,41 / 198,19	155,44 / 208,70	166,16 / 241,09
	Mean±SD	196,34±43,89	181,14±28,97	182,54±27,79	199,16±42,82
ТБК-АП, нмоль / г ткани	Median	19,19	22,08	19,12	21,81
	P 25 / 75	13,80 / 25,36	18,66 / 26,15	15,77 / 24,31	19,71 / 26,15
	Mean±SD	19,65±6,41	22,50±5,74	19,86±4,11	22,79±5,41
GSH, нмоль / г ткани	Median	421,7 <sup>a</sup>	447,96 <sup>b</sup>	440,86 <sup>b</sup>	442,28 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	405,37 / 425,24	442,28 / 452,22	439,44 / 466,42	435,18 / 478,49
	Mean±SD	415,66±15,25	444,55±15,24	452,01±30,54	453,43±28,37
GPx, Е/г белка	Median	89,66	82,96	91,66	82,6
	P 25 / 75	86,78 / 93,13	76,24 / 87,0	82,26 / 95,09	76,91 / 91,88
	Mean±SD	89,47±7,18	81,45±10,28	88,80±6,92	82,56±9,01
CAT, ммоль/мин/г белка	Median	8,44	8,29	8,62	7,88
	P 25 / 75	7,31 / 10,26	7,10 / 8,44	8,28 / 9,64	7,03 / 10,03
	Mean±SD	8,66±1,88	8,41±2,25	9,05±1,33	8,38±2,11
SOD, П%/мин/мг белка	Median	102,25	114,65	111,2	100,48
	P 25 / 75	98,10 / 114,0	102,55 / 120,39	100,96 / 118,46	95,51 / 108,41
	Mean±SD	104,84±9,55	113,47±10,44	109,31±10,68	101,17±6,90

a-b - достоверная разница, критерий Дункана,  $P<0,05$

Содержание ТБК-АП и  $ОАЕ_{FRAP}$  в ткани *L. dorsi* (таблица 52) статистически значимо не изменялись в экспериментальных группах. Интересно, что потребление экспериментальными животными опытного продукта (группа 2), внутрижелудочное введение ЭШЛ (группа 3) и потребление контрольного продукта (группа 4) способствовало росту GSH на 6,2% ( $P<0,05$ ),

4,5% ( $P < 0,05$ ) и 4,9% ( $P < 0,05$ ), соответственно, по сравнению с группой 1 (интакт), причем в ткани *L. Dorsi* крыс группы 2 (опытный продукт) и группы 4 (контрольный продукт) наблюдалась тенденция к снижению активности GPx на 7,5% ( $P > 0,05$ ) и на 7,9% ( $P > 0,05$ ), соответственно по сравнению с группой 1 (интакт).

Активность САТ статистически значимо не изменялась в экспериментальных группах. В то время, как активность супероксиддисмутазы в *L. Dorsi* животных, получавших опытный продукт (группа 2) и ЭШЛ (группа 3) увеличилась на 12,1% (недостаточно) и 7,3% (недостаточно), соответственно, по сравнению с группой 1 (интакт).

Таблица 53 – Результаты определения показателей АОС в мышцах бедра (*M. Femoris*)

Показатель		Группа 1 (интакт)	Группа 2 (опытный паштет)	Группа 3 (экстракт)	Группа 4 (контрольный паштет)
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , нмоль- экв. кверцетина / г ткани	Median	166,81	142,5	163,73	168,01
	P 25 / 75	152,10 / 179,93	141,88 / 158,55	155,73 / 183,55	151,96 / 171,96
	Mean±SD	168,41±30,22	150,63±18,87	165,14±23,05	162,28±22,08
ТБК-АП, нмоль / г ткани	Median	28,98 <sup>b,d</sup>	21,88 <sup>a</sup>	27,93 <sup>d</sup>	19,51 <sup>c</sup>
	P 25 / 75	25,23 / 40,08	17,74 / 26,55	26,55 / 31,54	13,93 / 22,87
	Mean±SD	35,30±14,95	23,40±9,02	28,60±4,20	18,99±6,28
GSH, нмоль / г ткани	Median	436,96	425,05	440,51	463,23
	P 25 / 75	401,11 / 450,80	416,73 / 454,35	384,78 / 461,45	452,93 / 483,46
	Mean±SD	436,04±33,92	435,04±45,05	430,36±40,10	463,23±63,79
GPx, Е/г белка	Median	68,4 <sup>a</sup>	80,29 <sup>b</sup>	81,93 <sup>b</sup>	76,21 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	65,37 / 76,06	77,09 / 84,75	80,35 / 90,98	74,15 / 85,25
	Mean±SD	70,17±6,72	80,94±4,50	83,91±7,08	80,55±8,44
САТ, ммоль/мин/г белка	Median	7,58	7,58	8,44	8,14
	P 25 / 75	6,54 / 8,46	7,05 / 8,39	7,23 / 9,21	6,78 / 8,72
	Mean±SD	7,48±1,30	7,91±1,49	8,22±1,44	7,85±2,15
SOD, П%/мин/мг белка	Median	94,45 <sup>b</sup>	108,28 <sup>a</sup>	102,33	96,51 <sup>b</sup>
	P 25 / 75	89,85 / 103,01	102,55 / 117,67	97,77 / 106,36	91,60 / 100,69
	Mean±SD	95,51±7,96	110,71±11,85	103,76±7,27	98,50±11,25

a-b, c-d - достоверная разница, критерий Дункана,  $P < 0,05$

Из таблицы 53 видно, что потребление экспериментальными животными опытного продукта (группа 2) приводило к снижению ОАЕ<sub>FRAP</sub> в ткани *M. femoris* на 14,6% (недостаточно) и 13,0% (недостаточно), соответственно, по сравнению с группами 1 (интакт) и 3 (ЭШЛ), на фоне снижения ТБК-АП на 22,2% ( $P < 0,05$ ) и 21,7% (недостаточно), соответственно. Интересно, что в группе 4, животные в которой получали контрольный продукт, ОАЕ<sub>FRAP</sub> незначимо превышала показатели других групп, одновременно, характеризуясь наибольшим снижением продуктов перекисного окисления липидов на 32,7% ( $P < 0,05$ ), 10,9% ( $P < 0,05$ ) и 30,1% ( $P < 0,05$ ) в сравнении с группами 1 (интакт), 2 (опытный продукт) и 3 (экстракт), соответственно. Интересно, что в группе 4, животные в которой

получали контрольный продукт, отмечалось наибольшее снижение продуктов перекисного окисления липидов на 32,7% ( $P<0,05$ ), 10,9% ( $P>0,05$ ) и 30,1% ( $P<0,05$ ) в сравнении с группами 1 (интакт), 2 (опытный продукт) и 3 (экстракт), соответственно.

Содержание GSH значимо не изменялось в экспериментальных группах, однако отмечалась тенденция к его увеличению в группах 3 (экстракт) и 4 (опытный паштет) в сравнении с интактными животными на 0,8% ( $P>0,05$ ) и 6,0% ( $P>0,05$ ), соответственно. Активность GPx статистически возрастала во всех опытных группах животных, превышая показатели интактных животных (группа 1) на 17,4% ( $P<0,05$ ) в группе 2, на 19,8% ( $P<0,05$ ) в группе 3 и на 11,4% ( $P<0,05$ ) в группе 4.

Активность CAT статистически значимо не изменялась в экспериментальных группах, но стоит отметить тенденцию к ее росту в ткани *M. Femoris* по сравнению с группами 1 (интакт) у крыс группы 3 (ЭШЛ) на 11,3 % (недостаточно) и группы 4 (опытный паштет) на 7,4% (недостаточно). Активность SOD в ткани *M. Femoris* животных, получавших опытный продукт (группа 2), возрастала на 14,6% ( $P<0,05$ ) и 12,2% ( $P<0,05$ ) по сравнению с группой 1 (интакт) и группой 4 (контрольный продукт), соответственно.

Полученные результаты оценки показателей состояния организма лабораторных крыс продемонстрировали не только влияние внесения АО в рацион животных, но и реакцию на смену рациона животных. Обнаруженные тенденции продемонстрировали влияние экстракта шелухи лука и мясного паштета как с внесением антиоксидантов, так и без них на маркеры функционирования печени и мозга животных, меньшее воздействие было отмечено на мышцы. Однако, отмеченные изменения в показателях крови, органах и тканях неоднозначны.

В таблицах 54-56 представлены аббревиатуры показателей АОС, клинических и биохимических показателей, которые использовали в методе главных компонент (РСА).

Таблица 54. – Обозначение показателей АОС для РСА

Обозначение	Показатель	Объект исследования	Обозначение	Показатель	Объект исследования
Неферментативные показатели антиоксидантной системы животных			Ферментативные показатели антиоксидантной системы животных		
FRAP_P	Общая антиоксидантная емкость методом FRAP	Плазма крови	SOD_P	Активность супероксид-дисмутазы	Плазма крови
FRAP_L		Печень	SOD_L		Печень
FRAP_B		Мозг	SOD_B		Мозг
FRAP_D		<i>L. Dorsi</i>	SOD_D		<i>L. Dorsi</i>
FRAP_F		<i>M. Femoris</i>	SOD_F		<i>M. Femoris</i>
TBARS_P	Концентрация вторичных продуктов перекисного окисления	Плазма крови	CAT_P	Активность каталазы	Плазма крови
TBARS_L		Печень	CAT_L		Печень
TBARS_B		Мозг	CAT_B		Мозг
TBARS_D		<i>L. Dorsi</i>	CAT_D		<i>L. Dorsi</i>
TBARS_F		<i>M. Femoris</i>	CAT_F		<i>M. Femoris</i>

Продолжение таблицы 54

Обозначение	Показатель	Объект исследования	Обозначение	Показатель	Объект исследования
Неферментативные показатели антиоксидантной системы животных			Ферментативные показатели антиоксидантной системы животных		
GSH_P	Концентрация восстановленного глутатиона	Плазма крови	GPx_P	Активность глутатион-пероксидазы	Плазма крови
GSH_L		Печень	GPx_L		Печень
GSH_B		Мозг	GPx_B		Мозг
GSH_D		<i>L. Dorsi</i>	GPx_D		<i>L. Dorsi</i>
GSH_F		<i>M. Femoris</i>	GPx_F		<i>M. Femoris</i>

Таблица 55 – Обозначение функциональных показателей и цитометрического анализа крови

Обозначение	Показатель	Обозначение	Показатель
Функциональные показатели цельной крови		Цитометрический анализ крови	
RBC	Эритроциты, $10^{12}/л$	GRAN	Гранулоциты, $10^9/л$
PLT	Тромбоциты, $10^9/л$		
HGB	Гемоглобин, г/л	WBC	Лейкоциты, $10^9/л$
MPV	Ср. объем тромбоцита, $мкм^3$	LYM	Лимфоциты, $10^9/л$
MCV	Ср. объем эритроцита, $мкм^3$	MON	Моноциты, $10^9/л$
MCH	Ср. сод-е гемоглобина в эритроците, пг	LYM_%	Относит. сод-е лимфоцитов, %
MCHC	Ср. концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л	MON_%	Относит. сод-е моноцитов, %
RDWc	Ширина распр-я эритроцитов, %	GRAN_%	Относит. сод-е гранулоцитов, %
HCT	Гематокрит, %	-	-
PCT	Тромбокрит, %	-	-
PDWc	Распределение тромбоцитов, %	-	-

Таблица 56 – Обозначение биохимических показателей сыворотки крови для РСА

Обозначение	Ферментативные показатели		
AST	Активность аспартатаминотрансферазы, АсАт		
ALT	Активность аланинаминотрансферазы, АлАт		
AlpP	Активность щелочной фосфатазы		
GGT	Активность гамма-глутамилтрансферазы, ГГТ		
LDH	Активность лактатдегидрогеназы, ЛДГ		
Неферментативные показатели			
Обозначение	Показатель	Обозначение	Показатель
Prot	Общий белок	Ca	Кальций
Alb	Альбумин	Mg	Магний
Creat	Креатинин	Fe	Железо
BUN	Мочевина	CL	Холестерин
T_Bill	Билирубин общий	TG	Триглицериды
D_Bill	Билирубин прямой	HDL	ЛПВП
Glu	Глюкоза	LDL	ЛПНП
Uric_Acid	Мочевая кислота	-	-



Метод главных компонент (PCA) был применен для сокращения размерности данных и выделения наиболее значимых переменных, выявления связей в определяемых показателях организма грызунов, а также с целью установлена взаимосвязи в изменчивости маркеров антиоксидантной системы в совокупности с показателями клинического и биохимического анализов крови. Анализ проводили как для всего массива данных, так и разбивая показатели на несколько категорий, в соответствии с их единицами измерения. Показатели антиоксидантной системы и биохимического анализа сыворотки крови делили на ферментативную и неферментативную составляющие.

Две главные компоненты во всех расчетах описывали не более 49,8%, а PC1-PC3 не более 64,9%, что характерно для экспериментов *in vivo* с большим количеством определяемых показателей. На рисунке 27 представлены результаты анализа главных компонент для всех показателей, которые были определены в крови, органах и мышцах, полученных от лабораторных животных.

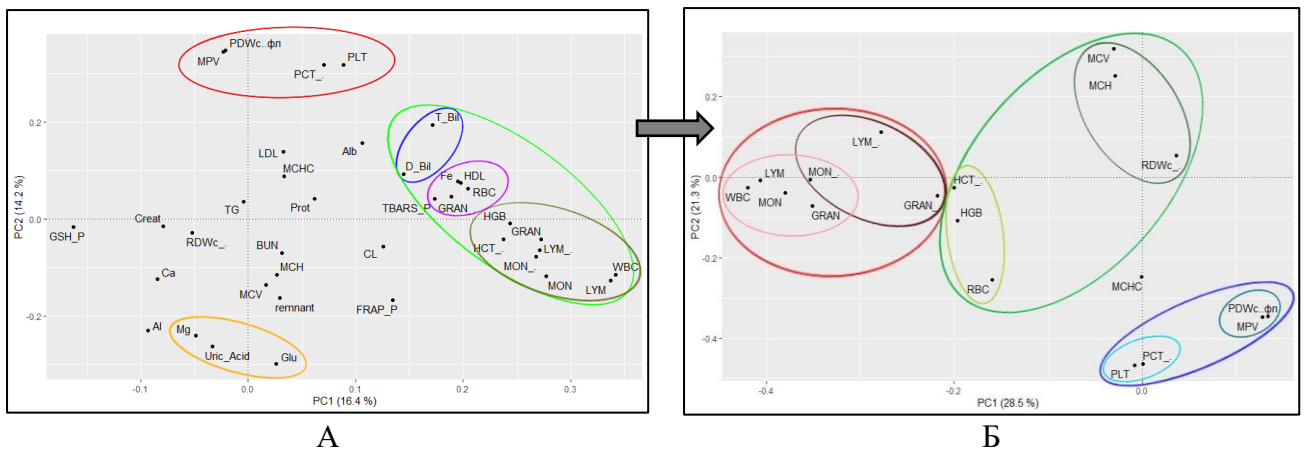
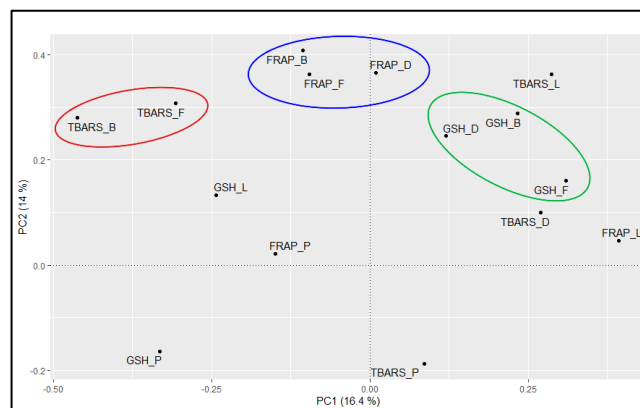


Рисунок 27. Результаты PCA, где А – все измеряемые показатели крови, органов и мышц; Б – параметры цитометрического анализа и функциональные показатели крови

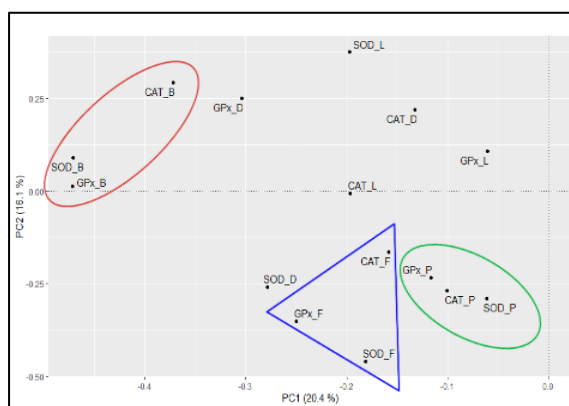
По результатам анализа всех измеряемых показателей крови и тканей животных методом главных компонент (рисунок 27А) были обозначены 3 основные группы. Ярко-красная выделенная группа содержит показатели оценки состояния кроветворной системы. Другая большая группа (ярко-зелёная) включала в себя три другие: зависимость между прямым и общим билирубинами (синяя); железом, ЛПВП, эритроцитами и относительным содержанием гранулоцитов (фиолетовая); показатели состава крови и иммунной системы (темно-зеленая). Третья группа включала глюкозу, мочевую кислоту и магний. Стоит отметить, что многообразие показателей, к тому же имеющих принципиально разные единицы измерения, затрудняет выявление четких корреляционных групп. Так, методом главных компонент были изучены зависимости параметров цитометрического анализа и функциональных показателей крови (рисунок 27Б.). По результатам расчетов было обнаружено формирование трех больших

групп, которые содержат подгруппы показателей с близкой функциональностью. Красным выделена группа показателей клеточного иммунитета, а зеленым цветом сформирована зависимость между показателями эритроцитарной компоненты крови, в которой темно-зеленым цветом была выделена группа показателей, характеризующих эритроциты, а салатовым – содержание эритроцитов, гемоглобина и гематокрит. Также отдельную корреляционную группу образовали показатели состояния тромбоцитов и их характеристик (темно-синий цвет), внутри которой синим цветом была выделена группа показателей, характеризующих тромбоциты, а голубым – содержание тромбоцитов и тромбокрит. По анализу PC1, все весовые коэффициенты показателей, представленные на рисунке 27Б, за исключением MPV, PDWc, RDWc и PCT\_%, имели отрицательное значение, что свидетельствовало об их снижении. Для тромбоцитов (PLT) и тромбокрита (PCT) весовые коэффициенты по второй компоненте (PC2) составили -0,467 и -0,463, превышая значения других показателей, что может свидетельствовать о снижении этих показателей.

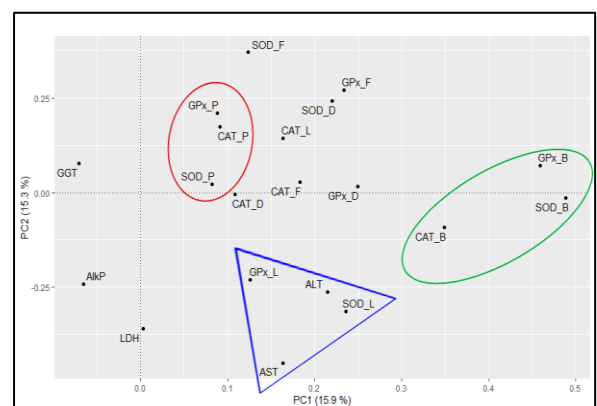
Для изучения связей между показателями антиоксидантной системы методом главных компонент было изучено отдельно распределение ферментативной (рисунок 28А) и неферментативной (рисунок 28Б) составляющих АОС.



А



Б



В

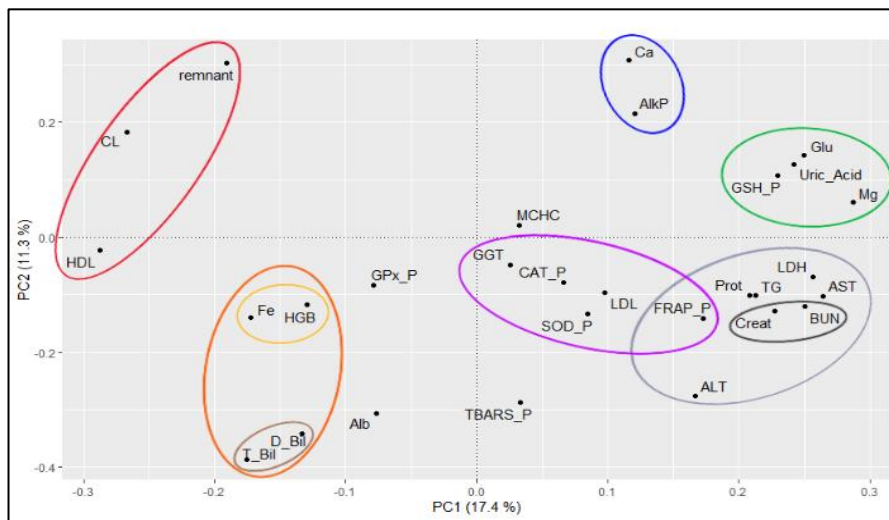
Рисунок 28. Результаты PCA, где А – распределение неферментативных показателей АОС; Б – распределение ферментативных показателей АОС; В – все ферментативные показатели крови, органов и тканей

Из полученных данных видно, что показатели неферментативной составляющей АОС образуют группы, объединяющие определенный показатель в некоторых органах и тканях. Так, было выделено три группы: показатели перекисного окисления липидов в мозге и мышцах бедра (рисунок 28А – красный), общая антиоксидантная емкость в отношении ионов переходных металлов в мозге, мышцах бедра и спины (синий) и третья группа состоит из величины восстановленного глутатиона аналогичных тканей (зеленый). При анализе весовых коэффициентов переменных PC1 было установлено, что TBARS\_B и TBARS\_F имеют самые большие показатели причем отрицательные (-0,461 и -0,306, соответственно), что является важным биологическим эффектом, свидетельствующим о снижении величины ПОЛ. Отмечалось, что весовые коэффициенты переменных PC1 для восстановленного глутатиона мозга, мышц бедра и спины имели положительный знак, что свидетельствовало об их увеличении, и составили 0,233, 0,310 и 0,120, соответственно. Однако весовые коэффициенты переменных PC1 для FRAP\_B, FRAP\_F и FRAP\_D составили -0,106, -0,096 и 0,01, соответственно. По полученным данным можно предположить, что снижение  $ОАЕ_{FRAP}$  в мозге и мышцах бедра, обусловлено активной нейтрализацией продуктов ПОЛ.

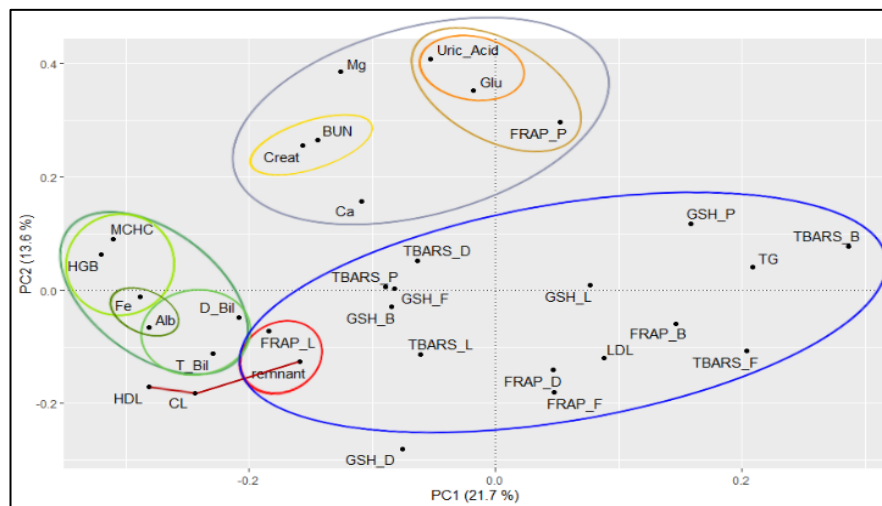
Результаты, полученные для ферментативной составляющей АОС, продемонстрировали формирование трех групп, однако они были образованы не по показателям, а по объекту исследования (рисунок 28Б). Так, первая группа включала в себя все ферменты мозга (красный), вторая – мышц бедра (синий), третья – плазмы крови (зеленый). Для подтверждения предположения о формировании групп ферментативных показателей в зависимости от объекта исследования, был проведен расчет PCA для всех ферментативных величин, как АОС, так и биохимического анализа сыворотки крови. Результаты представлены на рисунке 28В, где было показано формирование групп показателей мозга (зеленый) и плазмы крови (красный), причем входящие в эти группы показатели остались неизменными и совпадали с Рисуноком 28Б. Интересно отметить, что образовалась группа показателей печени, включающая не только антиоксидантные (GPx\_L, SOD\_L), но и биохимические (AST, ALT) ферменты, которые являются важными маркерами функционирования печени.

Результаты анализа метода главных компонент неферментативных биохимических и антиоксидантных показателей крови представлены на рисунке 29А. Отмечалась связь между кальцием и активностью щелочной фосфатазы (синий), которые являются маркерами при обследовании на остеопороз [302]. Группа, выделенная зеленым цветом, формировалась из показателей глюкозы (Glu), восстановленного глутатиона плазмы крови (GSH\_P), мочевой кислоты (Uric\_Acid) и магния (Mg). Известно, что глюкоза, мочевая кислота и магний связаны через инсулин. Так, при избыточном уровне инсулина по сравнению с концентрацией глюкозы (гиперинсулинемии) характерно снижение экскреции почек, что приводит к повышению

реабсорбции мочевой кислоты в почках [303]. В это же время, магний играет важную роль в метаболизме глюкозы и чувствительности к действию инсулина, а также вовлечен в развитие инсулинорезистентности [304]. Интересно, что в данной группе (зеленая) присутствует восстановленный глутатион плазмы крови, который при изучении взаимодействий между неферментативными показателями АОС (рисунок 28А) не входил ни в одну из групп. Данное наблюдению позволяет сделать предположение, что снижение GSH\_P связано с обнаруженной тенденцией к уменьшению глюкозы и мочевой кислоты в сыворотке крови лабораторных животных групп 2 (опытный пащтет) и 3 (ЭШЛ).



А



Б

Рисунок 29. Результаты PCA, где А – распределение всех показателей биохимического и антиоксидантного анализов крови; Б – распределение всех показателей биохимического анализа сыворотки крови и антиоксидантных показателей плазмы крови, органов и тканей

Группа, образованная железом, гемоглобином и метаболитами гемоглобина, выделена оранжевым цветом и является логично взаимосвязанными показателями функционирования кровеносной системы. Железо играет ключевую роль в процессе образования гемоглобина, а

его конечные метаболиты, такие как билирубин, образуются в результате разрушения старых красных кровяных клеток и переносятся в печень для разложения и выведения из организма. Билирубин является маркером холестаза при клинической оценке функции печени [305]. Добавление субстратов в анализ, привело к включению в данную группу альбумина и средней концентрации гемоглобина (рисунок 29Б, темно-зеленый). Обычно альбумин не связывает железо, однако при различных патологиях уровень не-трансферин-связанного железа может повышаться [306].

Другой важной функциональной группой, выделенной на рисунке 29А, является взаимосвязь между креатинином и мочевиной (темно-серый), которые характеризуют обменные процессы, так как считаются азотистыми конечными продуктами обмена пищевого белка. Кроме того, данная корреляция входит в большую группу (рисунок 29А, светло-серый), включающую ALT и AST – показатели функционирования почек и печени. Интересно, что в данной группе присутствует показатель общей антиоксидантной емкости плазмы (FRAP\_P), который аналогично GSH\_P не входил ни в одну из группы на рисунке 28А. При изучении показателей плазмы крови животных, получавших опытный паштет (группа 2) или экстракт шелухи лука (группа 3), которые содержали в большом количестве растительные АО, наблюдалось меньшее увеличение  $ОАЕ_{FRAP}$  плазмы крови по сравнению с животными, употреблявшими контрольный продукт. При этом у животных из групп 2 и 3 наблюдалось большее снижение мочевины в сыворотке крови. Можно сделать предположение, что поступающие растительные АО способствовали усвоению белка пищи.

Наиболее интересной является группа, состоящая из GGT, CAT\_P, SOD\_P, LDL и FRAP\_P (рисунок 29А, фиолетовый цвет). При изучении биохимических показателей сыворотки крови было отмечено перераспределение фракций липопротеинов у животных, получавших опытный паштет (группа 2) или экстракт шелухи лука (группа 3), что к снижению индекса атерогенности. Также было отмечено снижение триглицеридов в сыворотке крови животных, получавших паштеты (группы 2 и 4). Можно предположить, что данный эффект обусловлен направленностью АО на уменьшение окисления атерогенных фракций липопротеинов. Кроме того, при добавлении показателей АОС тканей, данная группа увеличивалась (рисунок 29Б, синий цвет) за счет восстановленного глутатиона печени, плазмы, мышц бедра и мозга,  $ОАЕ_{FRAP}$  мышц спины и бедра и ТБК-АП плазмы, мозга, печени, мышц, а также охватывает триглицериды. Кроме того, такое окружение атерогенных липопротеинов и триглицеридов показателями АОС организма может быть, в целом, связано с процессами ПОЛ, которые интенсивно протекают в том числе в мозге при старении [307], что может объяснить снижение  $ОАЕ_{FRAP}$  в мозге опытных животных на фоне резкого падения ТБК-АП.

Группа показателей, сформированная холестерином, остаточным холестерином липопroteинов и липопroteинами высокой плотности, обозначены красным, как на рисунке 29А, так и на рисунке 29Б. Важно отметить, что  $remnant$  и HDL находятся на одинаковом расстоянии от холестерина (рисунке 29А), что свидетельствует об равноценной взаимосвязи CL с обоими показателями. Однако, на рисунке 29Б продемонстрировано, что при учете всех показателей АОС, данная корреляция смещается в сторону взаимодействия HDL-CL, что можно объяснить приближением общей антиоксидантной емкости печени (FRAP<sub>L</sub>) к атерогенным фракциям остаточного холестерина, основная доля конечного катаболизма которых приходится на печень [308,309]. Можно сделать предположение, что ОАЕ<sub>FRAP</sub> тканей печени расходовалась на снижение окисления в том числе атерогенных липопroteинов промежуточного метаболизма холестерина. Кроме того, это подтверждает, что рост холестерина в сыворотке крови опытных животных был обусловлен увеличением холестерина ЛПВП и снижением холестерина ЛПНП.

По результатам работы было установлено, что изменчивость показателей функционирования антиоксидантной системы и организма в целом является динамической и зависимой от множества факторов, таких как возраст, рацион и др. Методом главных компонент было определено, что стимулирование антиоксидантной системы внесением антиоксидантов шелухи лука в качестве экстракта или мясного паштета с его содержанием преимущественно оказывает влияние на липидный профиль и уровень глюкозы. Важно отметить, что участвовала антиоксидантная система не только крови, но и мозга, печени и мышц, что свидетельствует о комплексном эффекте экзогенных антиоксидантов на организм лабораторных крыс.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Результаты аналитических данных показали, что использование вторичного растительного сырья в качестве источника натуральных антиоксидантов для производства технических вспомогательных средств и функциональных ингредиентов для пищевой, косметической и фармацевтической промышленности стремительно увеличивается во всем мире, что обусловлено социальными и экономическими факторами.

2. Были апробированы и систематизированы современные методы определения антиоксидантного потенциала на примере вторичного сырья переработки репчатого лука. Данный подход включал 4 основных этапа: I - определение общей антиоксидантной емкости с учетом механизма действия антиоксидантов; II – изучение качественно-количественного химического состава; III – установление соотношения типов антиоксидантов по силе их действия и определение клеточной антиоксидантной активности *in vitro*; IV - изучение влияния антиоксидантов *in vivo*.

3. Шелуха красного лука характеризовалась большими значениями общей антиоксидантной емкости и содержанием фенольных АО, однако при этом желтый лук характеризовался более сбалансированным составом антиоксидантов разной силы. Клеточная антиоксидантная активность красного и желтого лука были равны ( $132,8 \pm 28,5$  и  $137,8 \pm 28,1$  мкмоль-экв. кв./г сырья), соответственно, превышая значение белого лука примерно в 4 раза ( $P < 0,05$ ). Температура хранения экстракта шелухи желтого репчатого лука в течение 3-х месяцев не влияла на общую антиоксидантную емкость. Диапазон сохранности  $ОАЕ_{FRAP}$  составил от  $51,90 \pm 0,57\%$  до  $107,28 \pm 1,34\%$ , для  $ОАЕ_{ORAC}$  – от  $48,71 \pm 2,70\%$  до  $192,88 \pm 3,13$ , для  $ОАЕ_{DPPH}$  – от  $68,38 \pm 4,63\%$  до  $137,11 \pm 1,65\%$ . Согласно разработанным ТИ и ТУ 10.89.15-000-00419779 по производству экстракта шелухи желтого репчатого лука показатель его  $ОАЕ_{FRAP}$  составляет 6,5-8,5 ммоль-экв. кв. / л.

4. Определено оптимальное количество внесения экстракта шелухи лука в мясной паштет ( $30,0$  ммоль-экв. кв /  $100$  кг основного сырья ( $ОАЕ_{FRAP}$ ), которое обеспечивает повышенные значения  $ОАЕ_{FRAP}$  на протяжении 21 суток хранения. Мясной паштет антиоксидантного действия соответствует требованиям паштета «Говяжий» ГОСТ Р 55334 [188] и содержит в течение 7 суток около 31,5% от адекватного уровня потребления флавонолов и их гликозидов, а в течение 21 суток не менее 25%. Рекомендованный срок годности паштета, установленный в соответствии с ГОСТ Р 70354 составляет 15 суток. Внесение экстракта шелухи увеличивает стоимость паштета на 6,45-8,48% в зависимости от его  $ОАЕ_{FRAP}$ , а коммерческого дигидрокверцетина - на 11,42%. Разработаны ТИ и ТУ 10.13.14-151-0041977 по производству мясного паштета антиоксидантного действия.

5. Антиоксиданты шелухи лука оказывали комплексное влияние на антиоксидантную систему не только крови, но и мозга, печени и мышц лабораторных животных. Отмечалось увеличение ОАЕ в печени на 23,74% ( $P < 0,05$ ), уменьшение уровня перекисного окисления липидов в мозге в 2,26 раза ( $P < 0,05$ ), снижение глюкозы на 12,9% ( $P < 0,05$ ) и тенденция к снижению индекса атерогенности сыворотки крови на 9,6%. Было установлено, что стимулирование антиоксидантной системы организма животных экзогенными антиоксидантами связано с изменением липидного профиля и уровня глюкозы в сыворотке крови.



**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ААА	амино-аммиачный азот
АО	антиоксидант
АОА	антиоксидантная активность
АОП	антиоксидантный потенциал
АОС	антиоксидантная система
АЛТ	аланинаминотрансфераза
АС	аминокислотный скор
АСТ	аспартатаминотрансфераза
АУП	адекватный уровень потребления
АФК	активные формы кислорода
БАД	биологически активная добавка
БГА	бутилированный гидроанизол
БГТ	бутилированный гидротолуол
ВДУП	верхний допустимый уровень потребления
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
ГГТ	гамма-глутамилтрансфераза
ГХ	газовая хроматография
ДК	дигидрокверцетин
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
Единые санитарные требования	Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)
ИА <sub>п</sub>	индекс атерогенности паштетов
ИА <sub>с</sub>	индекс атерогенности сыворотки крови
ИПХИ	интегральный показатель хронической интоксикации
КАА	клеточная антиоксидантная активность
КРАС	коэффициент различия аминокислотных скоров
КЧ	кислотное число
ЛДГ	лактатдегидрогеназа
ЛЖК	летучие жирные кислоты
МДА	малонового диальдегида
МС	масс-детектор
НАК	незаменимая амнокислота
ОАЕ	общая антиоксидантная емкость

ОАЕ <sub>FRAP</sub>	общая антиоксидантная емкость методом Ferric Reducing Antioxidant Power
ОАЕ <sub>ORAC</sub>	общая антиоксидантная емкость методом Oxygen Radical Absorbance Capacity
ОАЕ <sub>DPPH</sub>	общая антиоксидантная емкость методом радикала DPPH
ОВР	окислительно-восстановительная реакция
ПИ	потенциал ионизации
ПНЖК	полиненасыщенные жирные кислоты
ПОЛ	перекисное окисление липидов
ПЧ	перекисное число
СР	свободный радикал
СРО	свободно-радикальное окисление
ТБГХ	трет-бутилгидрохинон
ТБК-АП	активные продукты, реагирующие с 2-тиобарбитуровой кислотой
ТБЧ	тиобарбитуровое число
ХЛ	хемилюминесценция
ХС ЛПВП	холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС ЛПНП	холестерин липопротеинов низкой плотности
ЭДС	энтальпия диссоциации связей
ЭДТК	этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭЗЦ	экономика замкнутого цикла
ЭШЛ	70% водно-этанольный экстракт шелухи желтого репчатого лука
$\alpha$ -АА	$\alpha$ -аминоадипиновая кислота
АВТС	2,2'-азино-бис 3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота
САТ	каталаза
CUPRAC	Cupric Reducing Antioxidant Power
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FADH	формальдегиддегидрогеназа
FAO	продовольственная и сельскохозяйственная организация
FRAP	Ferric Reducing/Antioxidant Power
GLO	глиоксалаза
GPx	глутитаонпероксидаза
GR	глутатионредуктаза
GRA	гранулоциты
GSH	восстановленный глутатион
GST	глутатионтиотрансфераза
НАТ	hydrogen atom transfer - перенос атома водорода

HCT	гематокрит
HGB	гемоглобин
IC50	концентрация полумаксимального ингибирования
LYM	лимфоциты
MCH	среднее содержание гемоглобина в эритроците
MCHC	средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах
MCV	средний объем эритроцита
MON	Моноциты
MPV	средний объем тромбоцита
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PCA	метод главных компонент
PCT	тромбокрит
PDWc	распределение тромбоцитов
PLT	тромбоциты
RBC	эритроциты
RDWc	ширина распределения эритроцитов
SET	single electron transfer - переноса одного электрона
SOD	супероксиддисмутаза
TPTZ	трипиридилтриазин
WBC	лейкоциты

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Halliwell, B. Free Radicals in Biology and Medicine (fifth edition) / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge – UK: OUP Oxford, 2015.
2. Spiegel, M. Antioxidant activity of selected phenolic acids–ferric reducing antioxidant power assay and QSAR analysis of the structural features / M. Spiegel, K. Kapusta, W. Kołodziejczyk et al. // *Molecules*. – 2020. – V. 25. – № 13. – 3088.
3. Tirzitis, G. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights / G. Tirzitis, G. Bartosz // *Acta Biochim. Pol.* – 2010. – V. – 57. – № 2. – P. 139-142.
4. Kang, K.A. Luteolin induces apoptotic cell death via antioxidant activity in human colon cancer cells / K.A. Kang, M.G. Piao, Y.S. Ryu et al. // *International Journal of Oncology*. – 2017. – V. 51. – № 4, – P. 1169-1178.
5. Ji, M. Advanced research on the antioxidant activity and mechanism of polyphenols from hippophae species-a review / M. Ji, X. Gong, X. Li et al. // *Molecules*. – 2020. – V. 25. – 4. – 917.
6. Zeng, Z. Nuclear factor erythroid 2 (NF-E2)-related factor 2 (Nrf2) in non-small cell lung cancer / Z. Zeng, Z.Y. Wang, Y.K. Li et al. // *Life Sciences*. – 2020. – V. 254. – 117325.
7. Milenković, D. Free radical scavenging potency of dihydroxybenzoic acids / D. Milenković, J. Dorović, S. Jeremić et a. // *Journal of Chemistry*. – 2017. – V. 2017. – 5936239.
8. Chen, Y. Structure-thermodynamics-antioxidant activity relationships of selected natural phenolic acids and derivatives: An experimental and theoretical evaluation / Y. Chen, H. Xiao, J. Zheng et al. // *PLoS One*. – 2015. – V. 10. – № 3. – e0121276.
9. Marković, Z. и др. Comparative density functional study of antioxidative activity of the hydroxybenzoic acids and their anions / Z. Marković, J. Dorović, M. Dimitrić // *Turkish Journal of Chemistry*. – 2016. – V. 40. – № 3. – P. 499-509.
10. Francenia, Santos-Sánchez N. Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism / N. Santos-Sánchez Francenia, R. Salas-Coronado, C. Villanueva-Cañongo, B. Hernández-Carlos. IntechOpen, 2019. – 418 p.
11. Soeur, J. Skin resistance to oxidative stress induced by resveratrol: From Nrf2 activation to GSH biosynthesis / J. Soeur, J. Eilstein, G. Léreaux, C. Jones, L. Marrot // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2015. – V. 78. – P. 213-223.
12. Liang, N. Antioxidant property of coffee components: Assessment of methods that define mechanism of action / D.D. Kitts, N. Liang // *Molecules*. – 2014. – V. 19. – № 11. – P. 19180-19208
13. Mader, E.A. Large ground-state entropy changes for hydrogen atom transfer reactions of iron complexes / E.A. Mader, E.R. Davidson, J.M. Mayer // *Journal of the American Chemical*

Society. – 2007. – V. 129. – №16. – P. 5153–5166.

14. Shalaby, A. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action / E.A. Shalaby, S.M. Shanab // *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2013. – V. 7. – №10. – P. 528-539.

15. Flieger, J. Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles / J. Flieger, W. Flieger, J. Baj, R. Maciejewski // *Materials*. – 2021. – V. 14. – №15. – P. 4135.

16. Хабаров, С.Н. Актуальные подходы к разработке чайной продукции антиоксидантной направленности / С.Н. Хабаров, О.В. Чугунова, Е.В. Пастушкова, А.В. Вяткин // *АПК России*. – 2017. – Т. 24. – С. 864–872.

17. Гудков, С.В. Биоантиоксиданты Часть.1. / С.В. Гудков, В.И. Брусков, А.В. Куликов, А.Г. Бобылев, Д.А. Куликов, А.В. Молочков // *Альманах Клинической Медицины*. – 2014. – Т. 31. – №1. – С. 61–65.

18. Mirończuk-Chodakowska, I. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body / I. Mirończuk-Chodakowska, A.M. Witkowska, M.E. Zujko // *Advances in Medical Sciences*. – 2018. – V. 63. – № 1. – P. 68-78.

19. Raudenska, M. Metallothionein polymorphisms in pathological processes / M. Raudenska, J. Gumulec, O. Podlaha, M. Sztalmachova, P. Babula, T. Eckschlager, V. Adam, R. Kizek, M. Masarik // *Metallomics*. – 2014. – V. 6. – №1. – P. 55-68.

20. Lobo, V. и др. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health / V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra // *Pharmacognosy Reviews*. – 2010. – V. 4. – №8. – P. 118-126.

21. Terao, J. Prenylation modulates the bioavailability and bioaccumulation of dietary flavonoids / J. Terao, R. Mukai // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 2014. – V. 559. – P. 12-16.

22. Шахмарданова, С.А. Антиоксиданты: классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине / С.А. Шахмарданова, О.Н. Гулевская, В.В. Селецкая, А.В. Зеленская, Я.А. Хананашвили, Д.А. Нефедов, П.А. Галенко-Ярошевский // *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. – 2016. – Т. 3. – С. 4–15.

23. El-Bahr, S.M. Biochemistry of Free Radicals and Oxidative Stress // *Science International*. – 2013. – V. 1. – № 5. – P. 111-117.

24. Gins, M.S. Characteristics of green and spiced haromatic crops / M.S. Gins, V.A. Kharchenko, V.K. Gins, A.A. Baykov, P.F. Kononkov, I.T. Ushakova // *Vegetable crops of Russi*. – 2014. – № 2. – P. 42-45.

25. Dasgupta, A. Antioxidants in food, vitamins and supplements: prevention and treatment

of disease / A. Dasgupta, K. Klein. - Elsevier, 2014. - 360 p.

26. Laher, I. Systems biology of free radicals and antioxidants / Editors Ismail Lahe.- Springer Berlin, Heidelberg, 2014. - 4178 p.

27. Shahidi, F. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review / F. Shahidi, P. Ambigaipalan // Journal of Functional Foods. – 2015. – V. 18. – P. 820-897.

28. Vuolo, M.M. Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications / M.M. Vuolo, V.S. Lima, M.R. Maróstica. Editors M.R.S. Campos. - Elsevier Inc. All, 2019. - 294 p.

29. Shen, N. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity / N. Shen, T. Wang, Q. Gan, S. Liu, L. Wang, B. Jin // Food Chemistry. – 2022. – V. 383. – P. 132531.

30. Зенков, Н.К. Редокс-чувствительная система Keap1/Nrf2/ARE как фармакологическая мишень при сердечно-сосудистой патологии / Н.К. Зенков, А.Р. Колпаков, Е.Б. Меньщикова // Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – Т. 5. – № 35. – С. 5–25.

31. Гольдфейн, М.Д. Свободные радикалы и органические парамагнетики / М.Д. Гольдфейн, Э.Г. Розанцев // Известия ВУЗ. Поволжский регион. – 2014. – Т. 5. – № 1. – С. 60–72.

32. Tena, N. State of the art of anthocyanins: Antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health / N. Tena, J. Martín, A.G. Asuero // Antioxidants. – 2020. – V. 9. – № 5. – P. 451.

33. Семенов, А.В. Актуальность хемилюминесцентного метода исследования в медицине. Часть 1: свободные радикалы (классификация, образование, характеристика) // Клинико-лабораторный консилиум. – 2011. - Т. 40. – №4. – С. 55-65.

34. Карбышев, М.С. Биохимия оксидативного стресса: учебно-методическое пособие / М.С. Карбышев, Ш.П. Абдуллаев; под ред. Шестопалова А.В. - Москва: Минздрав России, 2018. - 60 с.

35. Mittler, R. ROS Are Good // Trends in Plant Science. – 2017. – V. 22. – № 1. – P. 11-19.

36. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6. – № 12. – С. 13–19.

37. Khudyakov, I.V. Oxidation-reduction Reactions of Free Radicals / I.V. Khudyakov, V.A. Kuz'min // Russ. Chem. Rev. – 1978. – V. 47. – № 1.

38. Гончаренко, И.В. Вода-это жизнь / И.В. Гончаренко, А.Л. Трофименко, В.Д. Кучин // Первый независимый научный вестник. – 2015. – Т. 1. – С. 23–26.

39. Басов, А.А. Мониторинг и коррекция свободнорадикальных процессов в экспериментальной и клинической практике: монография / А.А. Басов, С.С. Джимаков, Н.И. Быкова. - Краснодар, 2013. - 169 с.
40. Ayala, A. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal / A. Ayala, M.F. Muñoz, S. Argüelles // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2014. – V. 2014. – P. 360438.
41. Gaschler, M.M. Lipid peroxidation in cell death / M.M. Gaschler, B.R. Stockwell // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2017. – V. 482. – № 3. – P. 419-425.
42. Reed, T.T. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2011. – V. 51. – № 7. – P. 1302-1319.
43. Sultana, R., Lipid peroxidation triggers neurodegeneration: A redox proteomics view into the Alzheimer disease brain / R. Sultana, M. Perluigi, D.A. Butterfield // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2013. – V. 62. – P. 157-169.
44. Цапок, П.И. Изучение влияния курения табака на показатели оксидантно-антиоксидантного баланса ротовой жидкости / П.И. Цапок, В.А. Разумный, М.Р. Чучкова // *Стоматология*. – 2012. – Т. 2. – С. 14–15.
45. Jakubczyk, K. Antioxidant properties of small-molecule non-enzymatic compounds / K. Jakubczyk, J. Kałduńska, K. Dec, D. Kawczuga, K. Janda // *Pol. Merkur. Lekarski*. – 2020. – V. 48. – № 284. – P. 128–132.
46. Кулинский, В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В.И. Кулинский, Л.С. Колиснеченко // *Соросовский образовательный журнал*. – 1999. – V. 5. – P. 2–7.
47. Raina, R. Effect of repeated dermal application of  $\alpha$ -cypermethrin on lipid peroxidation and antioxidant system in rats / R. Raina, P.K. Verma, K. Kant, V. Kant // *Toxicol. Int*. – 2009. – V. 16. – № 1. – P. 27–30.
48. Oyewole, A.O. Comparing the effects of mitochondrial targeted and localized antioxidants with cellular antioxidants in human skin cells exposed to UVA and hydrogen peroxide / A.O. Oyewole, M.C. Wilmot, M. Fowler, M.A. Birch-Machin // *FASEB J*. – 2014. – V. 28. – № 1.
49. Герасев, А.Д., Современное представление об антиоксидантной системе организма человека / А.Д. Герасев, Е.А. Чанчаева, Р.И. Айзман // *Экологическая физиология*. – 2013. – Т. 7. – С. 50–58.
50. Galadari, S. Reactive oxygen species and cancer paradox: To promote or to suppress? / S. Galadari, A. Rahman, S. Pallichankandy, F. Thayyullathil // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2017. – V. 104. – P. 144-164.
51. Sharapov, M.G. Enzymatic antioxidant system of endotheliocytes / M.G. Sharapov,

R.G. Goncharov, A.E. Gordeeva, V.I. Novoselov, O.A. Antonova, A.K. Tikhaze, V.Z. Lankin // *Dokl. Biochem. Biophys.* – 2016. – V. 471. – № 1. – P. 410-412.

52. Abreu, I.A. Superoxide dismutases-a review of the metal-associated mechanistic variations / I.A. Abreu, D.E. Cabelli // *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics.* – 2010. – V. 1804, – № 2. – P. 263-274.

53. Potente, M. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis / M. Potente, H. Gerhardt, P. Carmeliet // *Cell.* – 2011. – V. 146. – № 6. – P. 873-887.

54. Lubrano, V. Enzymatic antioxidant system in vascular inflammation and coronary artery disease // *World Journal of Experimental Medicine.* – 2015. – V. 5. – № 4. – P. 218-224.

55. Couto, N. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network / N. Couto, J. Wood, J. Barber // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2016. – V. 95. – P. 27-42.

56. Kalinina, E.V. Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes / E.V. Kalinina, N.N. Chernov, M.D. Novichkova // *Biochemistry.* – 2014. – V. 79. – № 13. – P. 1562–1583.

57. Struzyńska, L. The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity / L. Struzyńska, M. Chalimoniuk, G. Sulkowski // *Toxicology.* – 2005. – V. 21. – № 2-3. – P. 185-194.

58. Разыграев, А.В. Роль глутатионпероксидаз в ткани эндометрия: факты, гипотезы, перспективы изучения / А.В. Разыграев, М.О. Матросова, И.А. Титович // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2017. – Т. 66. – № 2. – С. 104–111.

59. Коляскина, М.М. Глутатион-S-трансфераза в патогенезе профессиональных заболеваний кожи // *Здравоохранение Российской Федерации.* – 2013. – Т. 5. – С. 45-46.

60. Ighodaro, O.M. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid / O.M. Ighodaro, O.A. Akinloye // *Alexandria Journal of Medicine.* – 2018. – V. 54. – № 4. – P. 287-293.

61. Kurutas, E.B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state // *Nutrition Journal.* – 2016. – V. 15. – P. 71.

62. Brigelius-Flohé, R. Vitamin E: function and metabolism / R. Brigelius-Flohé, M.G. Traber // *The FASEB Journal.* – 1999. – V. 13. – № 10. – P. 1145-1155.

63. Traber, M.G. Vitamin E, antioxidant and nothing more / M.G. Traber, J. Atkinson // *Free Radical Biology and Medicine.* – 2007. – V. 43. – № 1. – P. 4-15.

64. Hadidi, M. Plant by-product antioxidants: Control of protein-lipid oxidation in meat and meat products / M. Hadidi, J.C. Orellana-Palacios, F. Aghababaei, J.D. Gonzalez-Serrano, A. Moreno,



J.M. Lorenzo // LWT. – 2022. – V. 169. – P. 114003.

65. Федеральная служба государственной статистики. Бюллетени о состоянии сельского хозяйства (электронные версии) [Электронный источник]. - Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13277>

66. Агапкин, А.М. Переработка сельскохозяйственных отходов: рынок органических удобрений и производство органических пищевых продуктов / А.М. Агапкин, И.А. Махотина // ХИПС. – 2021. – Т. 3. – С. 212–225.

67. Scarano, P. Circular economy and secondary raw materials from fruits as sustainable source for recovery and reuse. A review / P. Scarano, R. Sciarrillo, M. Tartaglia, D. Zuzolo, C. Guarino // Trends in Food Science and Technology. – 2022. – V. 122. – P. 157-170.

68. Korhonen, J. Circular Economy: The Concept and its Limitations / J. Korhonen, A. Honkasalo, J. Seppälä // Ecol. Econ. – 2018. – V. 143. – P. 37-46.

69. Velenturf, A.P.M. Principles for a sustainable circular economy / A.P.M. Velenturf, P. Purnell // Sustain. Prod. Consum. – 2021. – V. 27. – P. 1437-1457.

70. Ассоциация содействия экономике замкнутого цикла «Ресурс» [Электронный источник]. - Режим доступа: <https://resurs2030.ru/page28215532.html#:~:text=C>

71. Celano, R. Onion peel: Turning a food waste into a resource / R. Celano, T. Docimo, A.L. Piccinelli, P. Gazzerro, M. Tucci, R. Di Sanzo, S. Carabetta, L. Campone, M. Russo, L. Rastrelli // Antioxidants. – 2021. – V. 10. – № 2. – P. 304.

72. Milea-Ştefania, A. Whey protein isolate-xylose maillard-based conjugates with tailored microencapsulation capacity of flavonoids from yellow onions skins / A. Milea-Ştefania, L. Aprodu, E. Enachi, V. Barbu, G. Răpeanu, G.E. Bahrin, N. Stănciuc // Antioxidants. – 2021. – V. 10. – № 11. – P. 1708.

73. Benito-román, Ó. Subcritical water extraction of phenolic compounds from onion skin wastes (*Allium cepa* cv. horcal): Effect of temperature and solvent properties / Ó. Benito-román, B. Blanco, M.T. Sanz, S. Beltrán // Antioxidants. – 2020. – V. 9. – № 12. – P. 1233.

74. Ravindran, R. Exploitation of Food Industry Waste for High-Value Products / R. Ravindran, A.K. Jaiswal // Trends in Biotechnology. – 2016. – V. 34. – № 1. – P. 58-69.

75. Global cereal supplies in 2023/24 remain comfortable; early production prospects of wheat in 2024 favourable [Электронный источник]. - Режим доступа: <https://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/>

76. Fărcaş, A. Cereal processing by-products as rich sources of phenolic compounds and their potential bioactivities / A. Fărcaş, G. Dreţcanu, T.D. Pop, B. Enaru, S. Socaci, Z. Diaconeasa // Nutrients. – 2021. – V. 13. – № 11. – P. 3934.

77. Tlais, A.Z.A. High-value compounds in fruit, vegetable and cereal byproducts: An

overview of potential sustainable reuse and exploitation / A.Z.A. Tlais, G.M. Fiorino, A. Polo, P. Filannino, R.D. Cagno // *Molecules*. – 2020. – V. 25. – № 13. – P. 2987.

78. European Commission. Agriculture and rural development. Sugar [Электронный источник]. - Режим доступа: [https://agriculture.ec.europa.eu/data-and-analysis/markets/price-data/price-monitoring-sector/sugar\\_en](https://agriculture.ec.europa.eu/data-and-analysis/markets/price-data/price-monitoring-sector/sugar_en)

79. Caliceti, C. Agri-food waste from apple, pear, and sugar beet as a source of protective bioactive molecules for endothelial dysfunction and its major complications / C. Caliceti, M. Malaguti, L. Marracino, M.C. Barbalace, P. Rizzo, S. Hrelia // *Antioxidants*. – 2022. – V. 11. – № 9. – P. 1786.

80. Kushwaha, R. Optimization of different variable for eco-friendly extraction of betalains and phytochemicals from beetroot pomace / R. Kushwaha, V. Kumar, G. Vyas, J. Kaur // *Waste and Biomass Valorization*. – 2018. – V. 9. – № 9. – P. 1485–1494.

81. Chen, M. Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses / M. Chen, Y. Zhao, S. Yu // *Food Chem.* – 2015. – V. 172. – P. 543-550.

82. Amado, I.R. Optimisation of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology / I.R. Amado, Y. Zhao, S. Yu // *Food Chemistry*. – 2014. – V. 165. – P. 543-550.

83. Venturi, F. Potato peels as a source of novel green extracts suitable as antioxidant additives for fresh-cut fruits / F. Venturi, S. Bartolini, C. Sanmartin, M. Orlando, I. Taglieri, M. Macaluso, M. Lucchesini, A. Trivellini, A. Zinnai, A. Mensuali // *Applied Sciences*. – 2019. – V. 9. – № 12. – P. 2431.

84. Deußer, H. Polyphenol and glycoalkaloid contents in potato cultivars grown in Luxembourg / H. Deußer, C. Guignard, L. Hoffmann, D. Evers // *Food Chemistry*. – 2012. – V. 135. – № 4. – P. 2814-2824.

85. Akyol, H. Phenolic compounds in the potato and its byproducts: An overview / H. Akyol, Y. Riciputi, E. Capanoglu, M.F. Caboni, V. Verardo // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2016. – V. 17. – № 6. – P. 835.

86. Strati, I.F. Recovery of carotenoids from tomato processing by-products - A review / I.F. Strati, V. Oreopoulou // *Food Research International*. – 2014. – V. 65. – № PC. – P. 311-321.

87. Kalogeropoulos, N. Bioactive phytochemicals in industrial tomatoes and their processing byproducts / N. Kalogeropoulos, A. Chiou, V. Pyriochou, A. Peristeraki, V.T. Karathanos // *LWT - Food Science and Technology*. – 2012. – V. 49. – № 2. – P. 213-216.

88. Food and Agriculture Organization (FAO). FAOSTAT. Compare Data [Электронный источник]. - Режим доступа: <https://www.fao.org/faostat/en/#compare>

89. Peter, K. V. 23-Onion Handbook of Herbs and Spices (Second edition) // *Handbook of*

Herbs and Spices, 2006. - 609 p.

90. РГАУ-МСХА. Очистка плодоовощного сырья перед сушкой [Электронный источник]. - Режим доступа: <https://www.activestudy.info/ochistka-plodoovoshhnogo-syrya-pered-sushkoj/>
91. Osojnik Črnivec, I.G. Waste streams in onion production: Bioactive compounds, quercetin and use of antimicrobial and antioxidative properties / I.G. Osojnik Črnivec, M. Skrt, D. Šeremet, M. Sterniša, D. Farčnik, E. Štrumbelj, A. Poljanšek, N. Cebin, L. Pogačnik, S. Smole Možina // *Waste Management*. – 2021. – V. 126. – P. 476-486.
92. González-de-peredo, A.V. Flavonol composition and antioxidant activity of onions (*Allium cepa* L.) based on the development of new analytical ultrasound-assisted extraction methods / A.V. González-de-peredo, M. Vázquez-espinoza, E. Espada-bellido, C. Carrera, M. Ferreiro-gonzález, G.F. Barbero, M. Palma // *Antioxidants*. – 2021. – V. 10. – № 2. – P. 273.
93. González-De-peredo, A.V. Development of optimized ultrasound-assisted extraction methods for the recovery of total phenolic compounds and anthocyanins from onion bulbs / A.V. González-De-peredo, M. Vázquez-Espinoza, E. Espada-Bellido, M. Ferreiro-González, C. Carrera, G.F. Barbero, M. Palma // *Antioxidants*. – 2021. – V. 10. – № 11. – P. 1755.
94. Marrelli, M. Biological properties and bioactive components of *allium cepa* L.: Focus on potential benefits in the treatment of obesity and related comorbidities / M. Marrelli, V. Amodeo, G. Statti, F. Conforti // *Molecules*. – 2019. – V. 24. – № 1. – P. 119.
95. Ouyang, H. Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of total polyphenols from onion / H. Ouyang, K. Hou, W. Peng, Z. Liu, H. Deng // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2018. – V. 25. – № 7. – P. 1509-1513.
96. Van Hung, P. Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2016. – V. 56. – № 1. – P. 25-35.
97. Cebin, A.V. Onion solid waste as a potential source of functional food ingredients: Roots, tubers, and bulb crop wastes: management by biorefinery approaches / A.V. Cebin, D. Šeremet, A. Mandura, A. Martinić, D. Komes; Editors R.C. Ray. - Springer Singapore, 2020. - 374 p.
98. Sagar, N.A. Onion (*Allium cepa* L.) bioactives: Chemistry, pharmacotherapeutic functions, and industrial applications / N.A. Sagar, S. Pareek, N. Benkeblia, J. Xiao // *Food Frontiers*. – 2022. – V. 3. – № 3. – P. 380-412.
99. Chernukha, I. Differences in antioxidant potential of *allium cepa* husk of red, yellow, and white varieties / I. Chernukha, N. Kupaeva, E. Kotenkova, D. Khvostov // *Antioxidants*. – 2022. – V. 11. – № 7. – P. 1243.
100. Lee, Y.J. Diallyl disulphide-loaded spherical gold nanoparticles and acorn-like silver nanoparticles synthesised using onion extract: catalytic activity and cytotoxicity / Y.J. Lee, S.H. Cha,

H. Kim, S.E. Choi, S. Cho, Y. Park // *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.* – 2020. – V. 48. – № 1. – P. 948-960.

101. Bedrníček, J. Onion peel powder as an antioxidant-rich material for sausages prepared from mechanically separated fish meat / J. Bedrníček, J. Kadlec, I. Laknerová, J. Mráz, E. Samková, E. Petrášková, L. Hasoňová, F. Vácha, V. Kron, P. Smetana // *Antioxidants*. 2020. – V. 9. – № 10. – P. 974.

102. Chernukha, I. Antioxidant effect of ethanolic onion (*Allium cepa*) husk extract in ageing rats / I. Chernukha, L. Fedulova, E. Vasilevskaya, A. Kulikovskii, N. Kupaeva, E. Kotenkova // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2021. – V. 28. – № 5. – P. 2877-2885.

103. Lourenço, S.C. Antioxidants of natural plant origins: From sources to food industry applications / S.C. Lourenço, M. Moldão-Martins, V.D. Alves // *Molecules*. – 2019. – V. 24. – № 22. – P. 4132.

104. Rodríguez De Luna, S.L. Environmentally friendly methods for flavonoid extraction from plant material: impact of their operating conditions on yield and antioxidant properties / S.L. Rodríguez, De Luna, R.E. Ramírez-Garza, S.O. Serna Saldívar // *Scientific World Journal*. – 2020. – V. 2020. – P. 6792069.

105. Khan, M.K. Polyphenols as natural antioxidants: sources, extraction and applications in food / M.K. Khan, L. Paniwnyk, S. Hassan; Editors Y. Li, F. Chemat. - Singapore: Springer, - 2019. - 235 p.

106. Peschel, W. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes / W. Peschel, F. Sánchez-Rabaneda, W. Diekmann, A. Plescher, I. Gartzía, D. Jiménez, R. Lamuela-Raventós, S. Buxaderas, C. Codina // *Food Chemistry*. – 2006. – V. 97. – № 1. – P. 137-150.

107. Do, Q.D. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica* / Q.D. Do, A.E. Angkawijaya, P.L. Tran-Nguyen, L.H. Huynh, F.E. Soetaredjo, S. Ismadji, Y.H. Ju // *Journal of Food and Drug Analysis*. – 2014. – V. 22. – № 3. – P. 296-302.

108. Lapornik, B. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time / B. Lapornik, M. Prošek, A.G. Wondra // *Journal of Food Engineering*. – 2005. – V. 71. – № 2. – P. 214-222.

109. Boulekbache-Makhlouf, L. Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant / L. Boulekbache-Makhlouf, L. Medouni, S. Medouni-Adrar, L. Arkoub, K. Madani // *Industrial Crops and Products*. – 2013. – V. 49. – P. 668-674.

110. Fu, Z.F. Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities / Z.F. Fu, Z.C. Tu, L. Zhang, H. Wang, Q.H. Wen,

T. Huang // *Food Bioscience*. – 2016. – V. 15. – P. 11-18.

111. Osorio-Tobón, J.F. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds // *Journal of Food Science and Technology*. – 2020. – V. 57. – № 12. – P. 4299–4315.

112. Mokrani, A. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit / A. Mokrani, K. Madani // *Separation and Purification Technology*. – 2016. – V. 162. – P. 68-76.

113. Alara, O.R. Extraction of phenolic compounds: A review / O.R. Alara, N.H. Abdurahman, C.I. Ukaegbu // *Current Research in Food Science*. – 2021. – V. 4. – P. 200-214.

114. Oroian, M. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis / M. Oroian, I. Escriche // *Food Research International*. – 2015. – V. 74. – P. 10-36.

115. Fierascu, R.C. Recovery of natural antioxidants from agro-industrial side streams through advanced extraction techniques / R.C. Fierascu, I. Fierascu, S.M. Avramescu, E. Sieniawska // *Molecules*. – 2019. – V. 24. – № 23. – P. 4212.

116. Gligor, O. Enzyme-assisted extractions of polyphenols – A comprehensive review / O. Gligor, A. Mocan, C. Moldovan, M. Locatelli, G. Crişan, I.C.F.R. Ferreira // *Trends in Food Science and Technology*. – 2019. – V. 88. – P. 302-315.

117. Selvamuthukumar, M. Recent advances in extraction of antioxidants from plant by-products processing industries / M. Selvamuthukumar, J. Shi // *Food Quality and Safety*. – 2017. – V. 1. – № 1. – P. 61–81.

118. Manassi, C.F. Functional meat products: Trends in pro-, pre-, syn-, para- and post-biotic use / C.F. Manassi, S.S. De Souza, G.D. Hassemer, S. Sartor, C.M.G. Lima, M. Miotto, J. De Dea Lindner, K. Rezzadori, T.C. Pimentel, G.L. Ramos, E. Esmerino, M.C.K. Holanda Duarte, E.T. Marsico, S. Verruck // *Food Research International*. – 2022. – V. 154. – P. 111035.

119. Ravani, A. Meat Based Functional Foods / A. Ravani, H.P. Sharma // *Functional Foods*. – 2021.

120. Nazarova, N.E. The use of plant raw materials in the production of meat pate / N.E. Nazarova, A.L. Lazutina, T.E. Lebedeva, Y.V. Batsyna, A.A. Statuev // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2022. – V. 1052. – № 1. – P. 012063.

121. Domínguez, R. A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products / R. Domínguez, M. Pateiro, M. Gagaoua, F.J. Barba, W. Zhang, J.M. Lorenzo // *Antioxidants*. – 2019. – V. 8. – № 10. – P. 429.

122. Doolaege, E.H.A. Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver pâtés / E.H.A. Doolaege, E. Vossen, K. Raes, B. De Meulenaer, R. Verhé, H. Paelinck, S. De Smet // *Meat Science*. – 2012. – V. 90. – № 4. – P. 925-

931.

123. Echegaray, N. Chestnuts and by-products as source of natural antioxidants in meat and meat products: A review / N. Echegaray, B. Gómez, F.J. Barba, D. Franco, M. Estévez, J. Carballo, K. Marszałek, J.M. Lorenzo // *Trends in Food Science and Technology*. – 2018. – V. 82. – P. 110-121.

124. Fernandes, R.P.P. Evaluation of oxidative stability of lamb burger with *Origanum vulgare* extract / R.P.P. Fernandes, M.A. Trindade, F.G. Tonin, S.M.P. Pugine, C.G. Lima, J.M. Lorenzo, M.P. de Melo // *Food Chem.* – 2017. – V. 233. – P. 101-109.

125. Martín-Sánchez, A.M. Date palm by-products as a new ingredient for the meat industry: Application to pork liver pâté / A.M. Martín-Sánchez, G. Ciro-Gómez, E. Sayas, J. Vilella-Esplá, J. Ben-Abda, J.A. Pérez-Álvarez // *Meat Science*. – 2013. – V. 93. – № 4. – P. 880-887.

126. Gallo, M. Antioxidant addition to prevent lipid and protein oxidation in chicken meat mixed with supercritical extracts of *Echinacea angustifolia* / M. Gallo, R. Ferracane, D. Naviglio // *Journal of Supercritical Fluids*. – 2012. – V. 72. – P. 198-204.

127. Lúcia, F. Lipid Peroxidation in Meat and Meat Products / F. Lúcia, A. Pereira, G. Kelly, V. Abreu. - IntechOpen, 2018. - 340 p.

128. Alfaia, C.M.M. Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat / C.M.M. Alfaia, S.P. Alves, A.F. Lopes, M.J.E. Fernandes, A.S.H. Costa, C.M.G.A. Fontes, M.L.F. Castro, R.G.B. Bessa, J.A.M. Prates // *Meat Science*. – 2010. – V. 84. – № 4. – P. 769-777.

129. Broncano, J.M. Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in *Latissimus dorsi* muscle of Iberian pigs / J.M. Broncano, M.J. Petró, V. Parra, M.L. Timón // *Meat Science*. – 2009. – V. 83. – № 3. – P. 431-437.

130. Estévez, M. Critical overview of the use of plant antioxidants in the meat industry: Opportunities, innovative applications and future perspectives // *Meat Science*. – 2021. – V. 181. – P. 108610.

131. Shah, M.A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products / M.A. Shah, S.J.D. Bosco, S.A. Mir // *Meat Science*. – 2014. – V. 98. – № 1. – P. 21-33.

132. Nikmaram, N. Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products / N. Nikmaram, S. Budaraju, F.J. Barba, J.M. Lorenzo, R.B. Cox, K. Mallikarjunan, S. Roohinejad // *Meat Science*. – 2018. – V. 145. – P. 245-255.

133. Franco, D. Optimization of antioxidants extraction from peanut skin to prevent oxidative processes during soybean oil storage / D. Franco, I. Rodríguez-Amado, R. Agregán, P.E.S. Munekata, J.A. Vázquez, F.J. Barba, J.M. Lorenzo // *LWT*. – 2018. – V. 88. – P. 1-8.

134. Kumar, Y. Recent Trends in the Use of Natural Antioxidants for Meat and Meat Products / Y. Kumar, D.N. Yadav, T. Ahmad, K. Narsaiah // *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* – 2015.

– V. 14. – № 6. – P. 796-812.

135. Calliste, C.A. Castanea sativa Mill. leaves as new sources of natural antioxidant: An electronic spin resonance study / C.A. Calliste, P. Trouillas, D.P. Allais, J.L. Duroux // J. Agric. Food Chem. – 2005. – V. 53. – № 2. – P. 282–288.

136. Estévez, M. Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pâté / M. Estévez, R. Ramírez, S. Ventanas, R. Cava // LWT. – 2007. – V. 40. – № 1. – P. 58-65.

137. Mariutti, L.R.B. Lipid and Cholesterol Oxidation in Chicken Meat Are Inhibited by Sage but Not by Garlic / L.R.B. Mariutti, G.C. Nogueira, N. Bragagnolo // Journal of Food Science. – 2011. – V. 76. – № 6. – P. C909-C915.

138. Kim, S.J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation / S.J. Kim, A.R. Cho, J. Han // Food Control. – 2013. – V. 29. – № 1. – P. 112-120.

139. Das, A.K. Moringa oleifera leaves extract: A natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties / A.K. Das, V. Rajkumar, A.K. Verma, D. Swarup // International Journal of Food Science and Technology. – 2012. – V. 47. – № 3. – P. 585-591.

140. Özcan, M.M. Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils / M.M. Özcan, D. Arslan // Food Chemistry. – 2011. – V. 129. – № 1. – P. 171-174.

141. Galanakis, C.M. Polyphenols recovered from olive mill wastewater as natural preservatives in extra virgin olive oils and refined olive kernel oils / C.M. Galanakis, P. Tsatalas, Z. Charalambous, I.M. Galanakis // Environ. Technol. Innov. – 2018. – V. 10. – P. 62-70.

142. Bodoira, R.M. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants / R.M. Bodoira, M.C. Penci, P.D. Ribotta, M.L. Martínez // LWT. – 2017. – V. 75. – P. 107-113.

143. Caleja, C. A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits / C. Caleja, L. Barros, A.L. Antonio, M.B.P.P. Oliveira, I.C.F.R. Ferreira // Food Chemistry. – 2017. – V. 216. – P. 342-346.

144. Wibowo, S. Colour and carotenoid changes of pasteurised orange juice during storage / S. Wibowo, L. Vervoort, J. Tomic, J.S. Santiago, L. Lemmens, A. Panozzo, T. Grauwet, M. Hendrickx, A. Van Loey // Food Chemistry. – 2015. – V. 171. – P. 330-340.

145. Caleja, C. *Foeniculum vulgare* Mill. As natural conservation enhancer and health promoter by incorporation in cottage cheese / C. Caleja, L. Barros, A.L. Antonio, A. Ciric, M. Soković, M.B.P.P. Oliveira, C. Santos-Buelga, I.C.F.R. Ferreira // Journal of Functional Foods. – 2015. – V. 12. – P. 428-438.

146. Andersen, M.L. Optimising the use of phenolic compounds in foods / M.L. Andersen, R.K. Lauridsen, L.H. Skibsted // *Phytochemical Functional Foods*. – 2003. – V. – P. 315-346.
147. Heinonen, M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics - A Finnish perspective // *Molecular Nutrition and Food Research*. – 2007. – V. 51. – № 6. – P. 684-691.
148. Gorlov, I. Meat product innovative formula of the functional use / I. Gorlov, M. Slozhenkina, G. Fedotova, A. Natyrov, A. Slozhenkin, M. Erendzhenova // *Food Ind.* – 2020. – V. 5. – № 2. – P. 44–52.
149. Ursachi, C. Strategies to improve meat products' quality / C. Ursachi, S. Perța-Crișan, F.D. Munteanu // *Foods*. – 2020. – V. 9. – № 12. – P. 1883.
150. Heck, R.T. Hydrogelled emulsion from chia and linseed oils: A promising strategy to produce low-fat burgers with a healthier lipid profile / R.T. Heck, E. Saldaña, J.M. Lorenzo, L.P. Correa, M.B. Fagundes, A.J. Cichoski, C.R. de Menezes, R. Wagner, P.C.B. Campagnol // *Meat Science*. – 2019. – V. 156. – P. 174-182.
151. Lizárraga-Velázquez, C.E. Antioxidant molecules from plant waste: Extraction techniques and biological properties / C.E. Lizárraga-Velázquez, N. Leyva-López, C. Hernández, E.P. Gutiérrez-Grijalva, J.A. Salazar-Leyva, I. Osuna-Ruíz, E. Martínez-Montaño, J. Arrizon, A. Guerrero, A. Benitez-Hernández, A. Ávalos-Soriano // *Processes*. – 2020. – V. 8. – № 12. – P. 1566.
152. Uttara, B. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options / B. Uttara, A. Singh, P. Zamboni, R. Mahajan // *Curr. Neuropharmacol.* – 2009. – V. 7. – № 1. – P. 65 - 74.
153. Sen, S. The role of antioxidants in human health, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy / S. Sen, R. Chakraborty // *ACS Symposium Series*. – 2011. – V. 1083. – P. 311-321.
154. Shukla, G. Astashine capsules: Worlds most powerful antioxidant on earth / G. Shukla, N. Yaparthy, S.D. Rao, C.J.S. Kumar // *10TH Asia-Pacific Pharma Congress*. – 2017. – V. – P. 34-39.
155. Adefegha, S.A. Functional Foods and Nutraceuticals as Dietary Intervention in Chronic Diseases; Novel Perspectives for Health Promotion and Disease Prevention // *Journal of Dietary Supplements*. – 2018. – V. 15. – № 6. – P. 977–1009.
156. Sofi, F. Importance of diet on disease prevention / F. Sofi, R. Abbate, G.F. Gensini, A. Casini // *International Journal of Medicine and Medical Sciences*. – 2013. – V. 5. – № 2.
157. Shahidi, F. Nutraceuticals, functional foods and dietary supplements in health and disease // *Journal of Food and Drug Analysis*. – 2012. – V. 20. – № 1. – P. 78.
158. Bharat Helkar, P. Review: Food Industry By-Products used as a Functional Food Ingredients / P. Bharat Helkar, A.K. Sahoo // *International Journal of Waste Resources*. – 2016. – V. 6. – № 3. – P. 1000248.



159. Miller, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidants // *J. Am. Oil Chem. Soc.* – 1971. – V. 48. – № 2. – P. 91-91.
160. Chupka, E.I. A comparison of the antioxidant properties of some natural antioxidants and lignin / E.I. Chupka, V.V. Vershal, V.M. Burlakov, V.N. Gvozdev // *Chem. Nat. Compd.* – 1980. – V. 16. – № 5. – P. 513–516.
161. Haque, E. Synthesis of some deoxy, unsaturated, and dideoxy sugars via regioselective thioacylation of glycopyranosides by the dibutyltin oxide method / E. Haque, K. Kanemitsu, T. Kikuchi, Y. Tsuda // *Chem. Pharm. Bull.* – 1986. – V. 34. – № 1. – P. 430-433.
162. Хасанов, В.В. Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева // *Химия Растительного Сырья.* – 2004. – V. 3. С. 63–75.
163. Kupaeva, N.V. Current view on the assessment of antioxidant and antiradical activities: A mini review / N.V. Kupaeva, E.A. Kotenkova // *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* – 2021. – V. 854. – P. 012048.
164. Zhong, Y. Methods for the assessment of antioxidant activity in foods / Y. Zhong, F. Shahidi // *Handbook of Antioxidants for Food Preservation.* – 2015. – V. – P. 287-333.
165. Kesić, A. PPhytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health / A. Kesić, N. Ibrišimović-Mehmedinović, A. Šestan. - IntechOpen, 2015. - 350 p.
166. Цюпко, Т.Г. Определение суммарного содержания антиоксидантов методом FRAP / Т.Г. Цюпко, И.С. Петракова, Н.С. Бриленок, Н.А. Николаева, Д.А. Чупрынина, З.А. Темердашев, В.И. Вершинин // *Аналитика и контроль.* – 2011. – V. 15. – № 3. – P. 287–298.
167. Merola, E.T. Determination of total antioxidant capacity of commercial beverage samples by capillary electrophoresis via inline reaction with 2,6- dichlorophenolindophenol / E.T. Merola, A.D. Catherman, J.B. Yehi, T.G. Strein // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2009. – V. 57. – № 15. – P. 6518–6523.
168. Özyürek, M. The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement / M. Özyürek, K. Güçlü, R. Apak // *TrAC - Trends in Analytical Chemistry.* – 2011. – V. 30. – № 4. – P. 652-664.
169. Kedare, S.B. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay / S.B. Kedare, R.P. Singh // *Journal of Food Science and Technology.* – 2011. – V. 48. – № 4. – P. 412–422.
170. Gülçin, I. Antioxidant activity of food constituents: An overview // *Archives of Toxicology.* – 2012. – V. 86. – № 3. – P. 345–391.
171. Kupaeva, N.V. Application of the thin-layer chromatography method for analysis of plant antioxidant activity / N.V. Kupaeva, E.R. Vasilevskaya, L.V. Fedulova, E.A. Kotenkova // *Food systems.* – 2021. – V. 4. – № 1. – P. 26-30.
172. Алексеев, А.В. Определение активности антиоксидантов методом измерения

кинетики хемилюминесценции / А.В. Алексеев, Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия. – 2012. Т. 53. – № 3. С. 187–193.

173. Владимиров, Г.К. Хемилюминесцентная методика определения общей антиоксидантной емкости в лекарственном растительном сырье / Г.К. Владимиров, Е.В. Сергунова, Д.Ю. Измайлов // Вестник РГМУ. – 2016. Т. 2. С. 65–72.

174. Алексеев, А.В., Определение антиоксидантов методом активированной хемилюминесценции с использованием 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана) / А.В. Алексеев, Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров // Вестник Москв. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2012. – Т. 23. – № 3. – С. 187–193.

175. Ou, B. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe / B. Ou, M. Hampsch-Woodill, R.L. Prior // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2001. – V. 49. – № 10. – P. 4619–4626.

176. Fu, Y. Structural elucidation and antioxidant activities of proanthocyanidins from Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) leaves / Y. Fu, L. Qiao, Y. Cao, X. Zhou, Y. Liu, X. Ye // PLoS One. – 2014. – V. 9. – № 5. – P. e96162.

177. Pisoschi, A.M. Antioxidant capacity determination in plants and plant-derived products: A review / A.M. Pisoschi, A. Pop, C. Cimpeanu, G. Predoi // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2016. – V. 2016. – P. 9130976.

178. Pchelkina, V.A. Analysis of antioxidant potential and study of the features of the microstructure in certain types of spices and herbs used in the meat processing industry / V.A. Pchelkina, N.V. Kupaeva // Theory Pract. meat Process. – 2024. – V. 8. – № 4. – P. 289–301.

179. Blainski, A. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L. / A. Blainski, G.C. Lopes, J.C.P. De Mello // Molecules. – 2013. – V. 18. – № 6. – P. 6852-6865.

180. Musci, M. Optimization and validation of Folin–Ciocalteu method for the determination of total polyphenol content of Pu-erh tea / M. Musci, S. Yao // International Journal of Food Sciences and Nutrition. – 2017. – V. 68. – № 8. – P. 913-918.

181. Ramirez-Sanchez, I. Fluorescent detection of (-)-epicatechin in microsamples from cacao seeds and cocoa products: Comparison with Folin-Ciocalteu method / I. Ramirez-Sanchez, L. Maya, G. Ceballos, F. Villarreal // Journal of Food Composition and Analysis – 2010. – V. 23. – № 8. – P. 790-793.

182. C V, A.S. Qualitative Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Selected from Temperate, Tropical and Hill Regions / A.S. C V, D.T. Angayarkanni // Int. J. Pharm. Bio-Medical Sci. – 2023. – V. 3. – № 1. – P. 11-17.

183. Senthilkumar, R. Free radical scavenging property and antiproliferative activity of

Rhodiola imbricata Edgew extracts in HT-29 human colon cancer cells / R. Senthilkumar, T. Parimelazhagan, O.P. Chaurasia, R.V. Srivastava // Asian Pac. J. Trop. Med. – 2013. – V. 6. – № 1. – P. 11-19.

184. Лисицкая, К.В. Цитопротективный и антиоксидантный эффект препарата «Мексидол-Вет» на культивируемых клетках человека и собаки (доклинические исследования) // РВЖ. – 2017. Т. 3. С. 35–38.

185. Смирнова, Ю.А. Изучение клеточной антиоксидантной активности спиртовых экстрактов шелухи красного, желтого и белого репчатого лука / Ю.А. Смирнова, Н.В. Купаева, Е.А. Котенкова // Пищевая биотехнология. – 2023. Т. 3. С. 56–61.

186. Определение внутриклеточной концентрации восстановленного глутатиона при окислительном стрессе [Электронный ресурс] / В.И. Резяпкин, В.С. Слышенков, И.Б. Заводник, В.Н. Бурдь, Л.И. Сушко, Е.И. Романчук, Л.М. Караедова // Лабораторный практикум по биохимии и биофизики. Режим доступа: [https://ebooks.grsu.by/lab\\_pr\\_bio/](https://ebooks.grsu.by/lab_pr_bio/)

187. Богачева, Е.В. Определение концентрации малонового диальдегида в сыворотке крыс, облученных электромагнитным полем метрового диапазона / Е.В. Богачева, В.В. Алабовский, С.Ю. Перов // Химия. Биология. Экология. – 2016. – Т. 16. – № 1. – С. 70–74.

188. ГОСТ Р 55334-2012 Паштеты мясные и мясосодержащие. Технические условия. – М: Стандартинформ. 2014. - 18 с.

189. ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия. – М: Стандартинформ. 2014. - 7 с.

190. Kumar, M. Onion (*Allium cepa* L.) peels: A review on bioactive compounds and biomedical activities / M. Kumar, M.D. Barbhai, M. Hasan, S. Punia, S. Dhumal, N. Rais, D. Chandran, R. Pandiselvam, A. Kothakota, M. Tomar, V. Satankar, M. Mekhemar // Biomedicine and Pharmacotherapy. – 2022. – V. 146. – P. 112498.

191. Chernukha, I. Bioactive compounds of porcine hearts and aortas may improve cardiovascular disorders in humans / I. Chernukha, E. Kotenkova, S. Derbeneva, D. Khvostov // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2021. – V. 18. – № 14. – P.

192. Tsugawa, H. и др. A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms // Nat. Methods. – 2019. – V. 16. – № 4. – P. 7330.

193. Браже, Н.А. Исследование состояния антиоксидантной системы крови и кислородтранспортных свойств эритроцитов человека в условиях 105-суточной изоляции / Н.А. Браже, А.А. Байжуманов, Е.Ю. Паршина // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2011. – Т. 45. – № 1. – С. 40–45.

194. ГОСТ 30349-96 Плоды, овощи и продукты их переработки. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов. - М: Стандартинформ. 1995. - 12 с.

195. ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. – М: Стандартинформ. 2010. - 8 с.
196. ГОСТ Р 51766-2001 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка. – М: Стандартинформ. 2011. - 10 с.
197. ГОСТ Р 53183-2008 Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Определение ртути методом атомно-абсорбционной спектроскопии холодного пара с предварительной минерализацией пробы под давлением. – М: Стандартинформ. 2010. - 8 с.
198. ГОСТ Р 55484-2013 Мясо и мясные продукты. Определение содержания натрия, калия, магния и марганца методом пламенной атомной абсорбции. – М: Стандартинформ. 2014. - 9 с.
199. ГОСТ Р 55573-2013 Мясо и мясные продукты. Определение кальция атомно-абсорбционным и титриметрическим методами. – М: Стандартинформ. 2020. - 10 с.
200. ГОСТ 31707-2012 Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Определение общего мышьяка и селена методом атомно-абсорбционной спектроскопии с генерацией гидридов с предварительной минерализацией пробы под давлением. – М: Стандартинформ. 2014. - 14 с.
201. ГОСТ Р 55482-2013 Мясо и мясные продукты. Метод определения содержания водорастворимых витаминов. – М: Стандартинформ. 2019. - 10 с.
202. ГОСТ 32307-2013 Мясо и мясные продукты. Определение содержания жирорастворимых витаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. – М: Стандартинформ. 2019. – 8 с.
203. ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (с изменениями на 25 ноября 2022 года) Технический регламент Таможенного союза от 09.12.2011 N021/2011. - 172 с.
204. Санитарные правила и нормы СанПиН 2.3.2.560-96 «Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов» от 24.10.1996 N27.
205. ГОСТ 9793-2016 Мясо и мясные продукты. Методы определения влаги. – М: Стандартинформ. 2014. – 4 с.
206. ГОСТ 23042-2015 Мясо и мясные продукты. Методы определения жира. – М: Стандартинформ. 2019. – 9 с.
207. ГОСТ 25011-2017 Мясо и мясные продукты. Методы определения белка. – М: Стандартинформ. 2018. – 14 с.
208. МУ 1-40-3805 Методические указания по лабораторному контролю качества продукции общественного питания. «Порядок отбора проб и физико-химические методы испытаний» от 23.10.1991 N122-5/72.

209. ГОСТ 9957-2015 Мясо и мясные продукты. Методы определения содержания хлористого натрия. – М: Стандартинформ. 2016. – 9 с.
210. ГОСТ 31727-2012 Мясо и мясные продукты. Метод определения массовой доли общей золы. – М: Стандартинформ. 2019. – 8 с.
211. ГОСТ 10574-2016 Продукты мясные. Методы определения крахмала. – М: Стандартинформ. 2019. – 10 с.
212. ГОСТ Р 55483-2013 Мясо и мясные продукты. Определение жирно-кислотного состава методом газовой хроматографии. – М: Стандартинформ. 2019. – 13 с.
213. Ulbricht, T.L.V. Coronary heart disease: seven dietary factors / T.L.V. Ulbricht, D.A.T. Southgate // *Lancet*. – 1991. – V. 338. – № 8773. – P. 985-992.
214. ГОСТ 34132-2017 Мясо и мясные продукты. Метод определения аминокислотного состава животного белка. – М: Стандартинформ. 2017. – 16 с.
215. ГОСТ 23041-2015 Мясо и мясные продукты. Метод определения оксипролина. – М: Стандартинформ. 2019. – 8 с.
216. Лакиза, Н.В. Анализ пищевых продуктов: учебное пособие / Н.В. Лакиза, Л.К. Неудачина. - Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2015. - 184 с.
217. ГОСТ 10444.15-94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. – М: Стандартинформ. 2010. – 5 с.
218. ГОСТ 31747-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – М: Стандартинформ. 2013. – 16 с.
219. ГОСТ 29185-91 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий. – М: Стандартинформ. 2010. – 6 с.
220. ГОСТ 31746-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. – М: Стандартинформ. 2013. – 23 с.
221. ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. – М: Стандартинформ. 2014. – 20 с.
222. ГОСТ 32031-2012 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*. – М: Стандартинформ. 2014. – 26 с.
223. ГОСТ 28560-90 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*. – М: Стандартинформ. 2010. – 7 с.
224. ГОСТ 10444.12-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов. – М:

Стандартинформ. 2014. – 10 с.

225. ГОСТ 30726-2001 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Escherichia coli*. – М: Стандартинформ. 2010. – 8 с.

226. ГОСТ 28566-90 Продукты пищевые. Метод выявления и определения количества энтерококков. – М: Стандартинформ. 2001. – 6 с.

227. ГОСТ 10444.8-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод подсчета презумптивных бактерий *Bacillus cereus*. Метод подсчета колоний при температуре 30 (С). – М: Стандартинформ. 2014. – 16 с.

228. ГОСТ 13720-2011 Мясо и мясные продукты. Подсчет количества презумптивных *Pseudomonas spp.* – М: Стандартинформ. 2014. – 8 с.

229. ГОСТ Р 55479-2013 Мясо и мясные продукты. Методы определения аминокислотного азота. – М: Стандартинформ. 2019. – 6 с.

230. ГОСТ Р 55810-2013 Мясо и мясные продукты. Метод определения тиобарбитурового числа. – М: Стандартинформ. 2019. – 6 с.

231. ГОСТ 51478-99 Мясо и мясные продукты. Контрольный метод определения концентрации водородных ионов (рН). – М: Стандартинформ. 2018. – 4 с.

232. ГОСТ Р 55480-2013 Мясо и мясные продукты. Метод определения кислотного числа. – М: Стандартинформ. 2019. – 6 с.

233. ГОСТ 34118-2017 Мясо и мясные продукты. Метод определения перекисного числа. – М: Стандартинформ. 2018. – 10 с.

234. ГОСТ 23392-2016 Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести. – М: Стандартинформ. 2019. – 8 с.

235. ГОСТ Р 70354-2022 Мясо и мясные продукты. Общие требования и порядок проведения испытаний для обоснования сроков годности. – М: Стандартинформ. 2022. – 18 с.

236. ГОСТ 9959-2015 Мясо и мясные продукты. Общие условия проведения органолептической оценки. – М: Стандартинформ. 2016. – 20 с.

237. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. – 1970. – V. 227. – № 5259. – P. 680–685.

238. Nesterenko, M.V. A simple modification of Blum's silver stain method allows for 30 minute detection of proteins in polyacrylamide gels / M.V. Nesterenko, M. Tilley, S.J. Upton // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. – 1994. – V. 28. – № 3. – P. 239-242.

239. UniProt [Электронный ресурс] - Режим доступа: <https://www.uniprot.org/>

240. Aesch, E. Romeis - mikroskopische technik / E. Aesch, M. Mulisch, U. Welsch; Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch. - Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2015. - 215 p.

241. Mansur, A.R. Determination of ethanol in foods and beverages by magnetic stirring-

assisted aqueous extraction coupled with GC-FID: A validated method for halal verification / A.R. Mansur, J. Oh, H.S. Lee, S.Y. Oh // *Food Chemistry*. – 2022. – V. 366. – P. 130526.

242. Покровский, А.А. Атакуемость белков пищевых продуктов протеолитическими ферментами *in vitro* / А.А. Покровский, И.Д. Ертанов // *Вопросы питания*. – 1965. – Т. 3. – С. 33.

243. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* – 1976. – V. 72. – № 1–2. – P. 248-254.

244. Waterborg, J.H. The lowry method for protein quantitation / J.H. Waterborg, H.R. Matthews // *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*. – 1994. – V. 32. – P. 1-4.

245. ГОСТ Р 50258-92 Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия. – Госстандарт России. 1992. – 8 с.

246. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая: монография / А.Н. Миронов; под общ. ред. Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев, О.Л. Верстакова, М.В. Журавлева, В.К. Лепехин, Н.В. Коробов, В.А. Меркулов, С.Н. Орехов, И.В. Макаева, Д.Б. Утешев, А.Н. Яворский - Москва: Гриф и К, 2012. - 944 с.

247. The Comprehensive R Archive Network [Электронный ресурс] - Режим доступа: <https://cran.r-project.org/>

248. Anand David, A.V. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid / A.V. Anand David, R. Arulmoli, S. Parasuraman // *Pharmacognosy Reviews*. – 2016. – V. 10. – № 20. – P. 84-89.

249. Kwak, J.H. Variation of quercetin glycoside derivatives in three onion (*Allium cepa* L.) varieties / J.H. Kwak, J.M. Seo, N.H. Kim, M.V. Arasu, S. Kim, M.F. Yoon, S.J. Kim // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2017. – V. 24. – P. 6. 1387-1391.

250. Nile, A. Spiraeoside extracted from red onion skin ameliorates apoptosis and exerts potent antitumor, antioxidant and enzyme inhibitory effects / A. Nile, S.H. Nile, C.L. Cespedes-Acuña, J.W. Oh // *Food and Chemical Toxicology*. – 2021. – V. 154. – P. 112327.

251. Zhao, X.X. Recent Advances in Bioactive Compounds, Health Functions, and Safety Concerns of Onion (*Allium cepa* L.) / X.X. Zhao, F.J. Lin, H. Li, H.B. Li, D.T. Wu, F. Geng, W. Ma, Y. Wang, B.H. Miao, R.Y. Gan // *Frontiers in Nutrition*. – 2021. – V. 8.

252. Raza, A. Pharmacological activities and pharmacokinetic study of hyperoside: A short review / A. Raza, X. Xu, H. Sun, J. Tang, Z. Ouyang // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. – 2017. – V. 16. – № 2. – P. 483-489.

253. Semwal, D.K. Myricetin: A dietary molecule with diverse biological activities / D.K. Semwal, R.B. Semwal, S. Combrinck, A. Viljoen // *Nutrients*. – 2016. – V. 8. – № 2. – P. 90.

254. Boeing, J.S. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and

antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis / J.S. Boeing, E.O. Barizão, B.C. e Silva, P.F. Montanher, V. de Cinque Almeida, J.V. Visentainer // *Chemistry Central Journal*. – 2014. – V. 8. – № 1. – P. 48.

255. Chaves, J.O. Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques / J.O. Chaves, M.C. de Souza, L.C. da Silva, D. Lachos-Perez, P.C. Torres-Mayanga, A.P.F. Machado, T. Forster-Carneiro, M. Vázquez-Espinosa, A.V. González-de-Peredo, G.F. Barbero, M.A. Rostagno // *Frontiers in Chemistry*. – 2020. – V. 8.

256. Waszkowiak, K. Binary ethanol–water solvents affect phenolic profile and antioxidant capacity of flaxseed extracts / K. Waszkowiak, A. Gliszczynska-Świgło // *European Food Research and Technology*. – 2016. – V. 242. – № 5. – P. 777–786.

257. Viera, V.B. Extraction of phenolic compounds and evaluation of the antioxidant and antimicrobial capacity of red onion skin (*Allium cepa* L.) / V.B. Viera, N. Piovesan, J.B. Rodrigues, Mello, R. de O. R.C. Prestes, R.C.V. dos Santos, R. de A. Vaucher, T.P. Hautrive, E.H. Kubota // *International Food Research Journal*. – 2017. – V. 24. – № 3. – P. 990-999.

258. Savic-Gajic, I.M. Modelling and optimization of quercetin extraction and biological activity of quercetin-rich red onion skin extract from Southeastern Serbia / I.M. Savic-Gajic, I.M. Savic, V.D. Nikolic // *J. Food Nutr. Res.* – 2018. – V. 57. – № 1.

259. Shim, S.Y. Antioxidative properties of onion peel extracts against lipid oxidation in raw ground pork / S.Y. Shim, Y.S. Choi, H.Y. Kim, H.W. Kim, K.E. Hwang, D.H. Song, M.A. Lee, J.W. Lee, C.J. Kim // *Food Science and Biotechnology*. – 2012. – V. 21. – № 2. – P. 565–572.

260. Sun, C. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing propolis extracts / C. Sun, Z. Wu, Z. Wang, H. Zhang // *Evidence-based Complement. Altern. Med.* – 2015. – V. 2015. – P. 595393.

261. Gharaati Jahromi, S. Extraction techniques of phenolic compounds from plants: Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds / S. Gharaati Jahromi, M. Soto-Hernández, R. García-Mateos, M. Palma-Tenango. - IntechOpen, 2019. - 120 p.

262. Jokić, S. The effect of solvent and temperature on extraction yield of phenolic compounds from soybeans, antioxidant activity and colour of extracts / S. Jokić, A. Bucić-Kojić, M. Planinić, D. Velić, S. Tomas, M. Bilić, Bešvir // *Proceedings of 5th International Congress FLOUR-BREAD 2009 - 7th Croatian Congress of Cereal Technologists*. – 2009.

263. ГОСТ 34306-2017 Лук репчатый свежий. Технические условия. – М: Стандартинформ. 2018. – 14 с.

264. ГОСТ 5962-2013 Спирт этиловый ректифицированный из пищевого сырья. Технические условия. – М: Стандартинформ. 2014. – 9 с.

265. ГОСТ Р 51232-98 Вода питьевая. Общие требования к организации и методам



контроля качества. – М: Стандартиформ. 2018. – 21 с.

266. ГОСТ 54059-2010 Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования. – М: Стандартиформ. 2019. – 8 с.

267. Lee, J. Quercetin and isorhamnetin glycosides in onion (*Allium cepa* L.): Varietal comparison, physical distribution, coproduct evaluation, and long-term storage stability / J. Lee, A.E. Mitchell // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2011. – V. 59. – № 3. – P. 857–863.

268. Ferreyra, S. Temperature and light conditions affect stability of phenolic compounds of stored grape cane extracts / S. Ferreyra, R. Bottini, A. Fontana // *Food Chemistry*. – 2023. – V. 405. – P. 134718.

269. Esparza, I. Stability of phenolic compounds in grape stem extracts / I. Esparza, M.J. Cimminelli, J.A. Moler, N. Jiménez-Moreno, C. Ancín-Azpilicueta // *Antioxidants*. – 2020. – V. 9. – № 8. – P. 720.

270. Ali, A. Impact of storage conditions on the stability of predominant phenolic constituents and antioxidant activity of dried piper betle extracts / A. Ali, C.H. Chong, S.H. Mah, L.C. Abdullah, T.S.Y. Choong, B.L. Chua // *Molecules*. – 2018. – V. 23. – № 2. – P. 484.

271. Gomes, Sá S.H. Evaluation of the release, stability and antioxidant activity of Brazilian red propolis extract encapsulated by spray-drying, spray-chilling and using the combination of both techniques / Sá S.H. Gomes, M. Chalella Mazzocato, A.S.M.C. Saliba, S.M. Alencar, C. Sílvia Favaro-Trindade // *Food Research International*. – 2023. – V. 164. – P. 112423.

272. Zhang, J. Effect of spray drying on phenolic compounds of cranberry juice and their stability during storage / J. Zhang, C. Zhang, X. Chen, S.Y. Quek // *Journal of Food Engineering*. – 2020. – V. 269. – P. 109744.

273. Lončarić, A. Thermal stability of catechin and epicatechin upon disaccharides addition / A. Lončarić, J. Pablo Lamas, E. Guerra, M. Kopjar, M. Lores // *International Journal of Food Science and Technology*. – 2018. – V. 53. – № 5. – P. 1195-1202.

274. Kumar, R. Health benefits of quercetin / R. Kumar, S. Vijayalakshmi, S. Nadanasabapathi // *Def. Life Sci. J.* – 2017. – V. 2. – № 2. – P. 142.

275. Hurst, W.J. Impact of fermentation, drying, roasting and Dutch processing on flavan-3-ol stereochemistry in cacao beans and cocoa ingredients / W.J. Hurst, S.H. Krake, S.C. Bergmeier, M.J. Payne, K.B. Miller, D.A. Stuart // *Chemistry Central Journal*. – 2011. – V. 5. – № 1. – P. 53.

276. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (с изменениями на 27 февраля 2024 года) от 28.05.2010 N 299.

277. Ashokkumar, K. Phytochemistry and therapeutic potential of black pepper [*Piper nigrum* (L.)] essential oil and piperine: a review / K. Ashokkumar, M. Murugan, M.K. Dhanya, A.

Pandian, T.D. Warkentin // *Clinical Phytoscience*. – 2021. – V. 7. – № 1. – P. 52.

278. Feng, Y. LC-ESI-QTOF/MS characterization of bioactive compounds from black spices and their potential antioxidant activities / Y. Feng, F.R. Dunshea, H.A.R. Suleria // *Journal of Food Science and Technology*. – 2020. – V. 57. – № 12. – P. 4671–4687.

279. Lee, J.G. Chemical composition and antioxidant capacity of black pepper pericarp / J.G. Lee, Y. Chae, Y. Shin, Y.J. Kim // *Applied Biological Chemistry*. – 2020. – V. 63. – № 1. – P. 35.

280. Zhang, L. Medicinal Properties of the Jamaican Pepper Plant *Pimenta dioica* and Allspice / L. Zhang, B. L. Lokeshwar // *Current Drug Targets*. – 2012. – V. 13. – № 14. – P. 1900 - 1906.

281. Miyajima, Y. Antioxidative polyphenols from berries of *Pimenta dioica* / Y. Miyajima, H. Kikuzaki, M. Hisamoto, N. Nakatani // *BioFactors*. – 2004. – V. 22. – № 1-4. – P. 301-303.

282. Torrijos, R. Phytochemical profiling of volatile and bioactive compounds in yellow mustard (*Sinapis alba*) and oriental mustard (*Brassica juncea*) seed flour and bran / R. Torrijos, L. Righetti, M. Cirlini, L. Calani, J. Mañes, G. Meca, C. Dall'Asta // *LWT*. – 2023. – V. 173. – P. 114221.

283. Martinović, N. Mustard seed: phenolic composition and effects on lipid oxidation in oil, oil-in-water emulsion and oleogel / N. Martinović, T. Polak, N.P. Ulrih, H. Abramovič // *Industrial Crops and Products*. – 2020. – V. 156. – P. 112851.

284. Reddy, B.C. Preliminary screening of potential flavonoid-subclasses in *Myristica fragrans* and *Cordyline terminalis* by LC-ESI-MS / B.C. Reddy, A. Noor, V. Sabareesh, M.A. Vijayalakshmi // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. – 2016. – V. 5. – № 6. C. 437–350.

285. Antasionasti, I. Correlation analysis of antioxidant activities with tannin, total flavonoid, and total phenolic contents of nutmeg (*myristica fragrans* houtt) fruit precipitated by egg white / I. Antasionasti, O.S. Datu, U.S. Lestari, S.S. Abdullah, I. Jayanto // *Borneo Journal of Pharmacy*. – 2021. – V. 4. – № 4.

286. Gupta, A.D. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) / A.D. Gupta, V.K. Bansal, V. Babu, N. Maithil // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. – 2013. – V. 11. – № 1. – P. 25-31.

287. Karna, K.K. The ameliorative effect of monotropein, astragaloside, and spiraeoside on oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and mitochondrial signaling pathway in varicocelized rats / K.K. Karna, B.R. Choi, J.H. You, Y.S. Shin, W.S. Cui, S.W. Lee, J.H. Kim, C.Y. Kim, H.K. Kim, J.K. Park // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. – 2019. – V. 19. – № 1. – P. 333.

288. Pal, C.B.T. Deep eutectic solvent-based extraction of polyphenolic antioxidants from onion (*Allium cepa* L.) peel / C.B.T. Pal, G.C. Jadeja // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2019. – V. 99. – № 4. – P. 1969-1979.

289. Shen, R. Preparation of complementary food for infants and young children with beef liver: process optimization and storage quality / R. Shen, D. Yang, L. Zhang, Q. Yu, X. Ma, G. Ma, Z. Guo, C. Chen // *Foods*. – 2023. – V. 12. – № 14. – P. 2689.
290. Allen, L.H. Vitamin B-12 // *Advances in Nutrition*. – 2012. – V. 3. – № 1.
291. Shabir, I. Nutritional profile, phytochemical compounds, biological activities, and utilisation of onion peel for food applications: a review / I. Shabir, V.K. Pandey, A.H. Dar, R. Pandiselvam, S. Manzoor, S.A. Mir, R. Shams, K.K. Dash, U. Fayaz, S.A. Khan, G. Jeevarathinam, Y. Zhang, A.V. Rusu, M. Trif // *Sustainability*. – 2022. – V. 14. – № 19. – P. 11958.
292. Uriu-Adams, J.Y. Copper, oxidative stress, and human health / J.Y. Uriu-Adams, C.L. Keen // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2005. – V. 26. – № 4-5. – P. 268-298.
293. Zhao, Y. Inhibition of the expression of lysyl oxidase and its substrates in cadmium-resistant rat Fetal lung fibroblasts / Y. Zhao, S. Gao, I.N. Chou, P. Toselli, P. Stone, W. Li // *Toxicological Sciences*. – 2006. – V. 90. – № 2. – P. 478–489.
294. Harris, E.D. Copper as a cofactor and regulator of copper,zinc superoxide dismutase // *Journal of Nutrition*. – 1992. – V. 122. – № 3. – P. 636-640.
295. Насонова, В.В. Перспективные пути использования субпродуктов // *Теория и практика переработки мяса*. – 2018. – Т. 3. – № 3. – С. 64–73.
296. Лисицын, А.Б. Химический состав мяса: справочные таблицы общего химического, аминокислотного, жирнокислотного, витаминного, макро- и микроэлементного составов и пищевой (энергетической и биологической) ценности мяса / А.Б. Лисицын, И.М. Чернуха, Т.Г. Кузнецова, О.Н. Орлова, В.С. Мкртчян. - М.: ВНИИМП. 2011. - 114 с.
297. ТР ТС 034/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности мяса и мясной продукции». Технический регламент Таможенного союза от 09.10.2013 N68.
298. БАД «АЛЕОКС-Х» [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://npf-flavit.ru/#!/tproduct/449800350-1498486363994>
299. ЗАО НПФ «Флавит» [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://npf-flavit.ru/#rec305384380>
300. Методика расчета цен на вновь разрабатываемую мясную продукцию. М.: ВНИИМП. 2017.
301. Федеральная служба государственной статистики. «Цены, инфляция. Потребительские цены» [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/statistics/price>
302. Гребенникова, Т.А. Маркеры и генетические предикторы остеопороза в рутинной клинической практик / Т.А. Гребенникова, В.В. Трошина, Ж.Е. Белая // *Cons. medicum*. – 2019. – Т. 21. – № 4. – С. 97–102.

303. Барскова, В.Г. Влияние гипергликемии и гиперинсулинемии на уровень мочевой кислоты и течение артрита у больных подагрой с сахарным диабетом 2 типа / В.Г. Барскова, М.С. Елисеев, А.В. Зилов, Е.Л. Насонов // Оригинальные работы – 2007. – Т. 1. – С. 19–23.
304. Рогова, Н.В. Влияние фармакологической коррекции препаратом Магне В6 на состояние углеводного обмена у пациентов с сахарным диабетом типа 2 / Н.В. Рогова, И.В. Куликова, В.И. Стаценко, Е.В. Коровина, Е.И. Первий // Вестник ВолгГМУ. – 2013. – Т. 46. – № 2. – С. 68–70.
305. Chen, X. tian Exploring the relationship of peripheral total bilirubin, red blood cell, and hemoglobin with blood pressure during childhood and adolescence / X. Chen, S. Yang, Y.M. Yang, H.I. Zhao, Y.C. Chen, X.H. Zhao, J. bo Wen, Y. rui Tian, W.L. Yan, C. Shen // Jornal de Pediatria. – 2018. – V. 94. – № 5. – P. 532-538.
306. Шейбак, В.М. Транспортная функция сывороточного альбумина: цинк и жирные кислоты // Вестник ВГМУ. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 16–22.
307. Montine, T.J. Lipid peroxidation in aging brain and Alzheimer's disease / T.J. Montine, M.D. Neely, J.F. Quinn, M.F. Beal, W.R. Markesbery, L.J. Roberts, J.D. Morrow // Free Radical Biology and Medicine. – 2002. – V. 33. – № 5. – P. 620-626.
308. Havel, R.J. Role of the liver in lipoprotein catabolism // Methods Enzymol. – 1986. – V. 129. – № – P. 591-612.
309. Sniderman, A.D. Regulation of plasma LDL: The apoB paradigm / A.D. Sniderman, J. De Graaf, P. Couture, K. Williams, R.S. Kiss, G.F. Watts // Clinical Science. – 2010. – V. 118. – № 5. – P. 333–339.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

## Приложение 1

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
(ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

ОКПД2 10.89.15.110

ОКС 67.040, 67.220 (Группа Н54)

УТВЕРЖДАЮ

Директор  
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им.  
В.М. Горбатова» РАН



О.А. Кузнецова  
«29» мая 2024 г.

## ЭКСТРАКТ ШЕЛУХИ ЛУКА РЕПЧАТОГО ЖЕЛТОГО

Технические условия  
ТУ 10.89.15-000-00419779-2024  
(Введены впервые)

Дата введения – «20» мая 2024 г.

РАЗРАБОТАНО

ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем  
им. В.М. Горбатова» РАН  
Зам. директора по научной работе  
Семенова А.А. Семенова

Зав. Экспериментальной клинико-  
лаборатории биологически активных  
веществ животного происхождения  
Федулова Л.В. Федулова

Старший научный сотрудник  
Котенкова Е.А. Котенкова

Младший научный сотрудник  
Купаева Н.В. Купаева

Москва  
2024

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ ИМ. В.М. ГОРБАТОВА» РАН  
(ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор

ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им.  
В.М. Горбатова» РАН



О.А. Кузнецова

«19» мая 2024 г.

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ**  
**по производству экстракта шелухи лука репчатого**

Дата введения – «20» мая 2024 г.

Настоящая технологическая инструкция распространяется на производство 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого лука репчатого (далее по тексту - экстракт), вырабатываемого по ТУ 10.89.15-000-00419779, и предназначенного для применения в пищевой промышленности с целью обогащения пищевой продукции функциональными ингредиентами антиоксидантного эффекта и эффекта поддержания деятельности сердечно-сосудистой системы, имеющий кодировку Б-И-4-В по ГОСТ 54059.

Технологическая инструкция устанавливает рецептурный состав, требования к составным компонентам, порядок проведения технологических процессов и операций изготовления, контроля производства, его санитарно-гигиенического обеспечения, требования безопасности производства, обеспечивающие качество и безопасность экстракта, отвечающего требованиям ТУ 10.89.15-000-00419779.

Технологический процесс предусматривает приемку и входной контроль составных компонентов, измельчение, дозирование и смешивание, настаива-

УТВЕРЖДАЮ

Директор  
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им.  
В.М. Горбатова» РАН  
О.А. Кузнецова  
« 18 » июля 2024 г.



### Акт выработки опытной партии модельных мясных паштетов

Мы, нижеподписавшиеся, Мотовилина А.А., Богданова Ю.И., Купаева Н.В., составили настоящий акт о том, что 05.09.2022 г. в лабораторных условиях «Отдела научно-прикладных и технологических разработок» были выработаны 3 образца модельных мясных паштетов, рецептура которых представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Рецептура мясного продукта

Наименование сырья	
Основное несоленое сырье, г на 1 кг	
Говядина жилованная жирная (пашина) бланшированная	350
Печень жилованная говяжья, бланшированная	230
Свинина полужирная бланшированная	200
Сердце свиное бланшированное	100
Мука пшеничная	50
Молоко коровье сухое цельное	20
Лук репчатый жареный	50
Пряности и материалы, г на 1 кг несоленого сырья	
Соль поваренная пищевая	14
Сахар-песок	3
Перец черный молотый	1
Перец душистый молотый	0,5
Горчица молотая	5
Орех мускатный молотые	0,5
Жидкость, мл на 1 кг несоленого сырья	
Бульон говяжий / Экстракт шелухи лука	200

Образец 1 - контрольный мясной продукт без изменений в рецептуре;

Образец 2 – опытный образец, содержащий вместо части бульона 70% водно-этанольный экстракт шелухи желтого репчатого лука (далее по тексту ЭШЛ) в количестве 69,5 мл / кг несоленого сырья, что соответствовало 137,62 мг кверцетина / кг основного сырья ( $OAE_{FRAP}$ );

Образец 3 - опытный образец, содержащий вместо части бульона ЭШЛ в количестве 35,0 мл/кг, что соответствовало 69,30 мг кверцетина / кг несоленого сырья ( $OAE_{FRAP}$ ).

Внесение ЭШЛ осуществляли на основании значения общей антиоксидантной емкости FRAP и расчетов, проведенных в соответствии с Приложением 5 «Величины суточного потребления пищевых и биологически активных веществ для взрослых в составе специализированных пищевых продуктов (СПП) и БАД к пище (энергетическая ценность 10000 кдж или 2300 ккал)» Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований к продукции (товарам), подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)» (с изменениями на 22 февраля 2022 года).

При выработке паштета термически обработанные мясное сырье и репчатый лук по отдельности измельчали на волчке (Hurakan HKN-12SC, Китай) с диаметром решетки 2-3 мм. Фарш для паштетов изготавливали горячим способом. Далее сырье гомогенизировали до однородной гомогенной массы с использованием куттер-блендера (Robot Cook; Франция), отдельно гомогенизировали печень с бульоном, затем полученную массу выгружали из куттера-блендера. Далее отдельно гомогенизировали пашину, полужирную свинину, свиное сердце. Затем в полученную смесь, вносили раскуттерованную печень и сухие ингредиенты.

Паштетный фарш расфасовывали по  $100 \pm 1$  г в вакуумные пакеты (ВакумПак-М, Россия, РА/РЕ, размер 150x200 мм, толщина 70 мкм) и подвергали термической обработке на водяной бане (ЭКРОС 4310, Россия) в течение 20-30 мин до достижения в центре продукта  $72^{\circ}\text{C}$ . Контроль осуществляли при помощи цифрового термометра (WT-1, Китай). Продукт охлаждали проточной водой до достижения температуры не выше  $15^{\circ}\text{C}$ . Дальнейшее охлаждение паштетов производили при температуре  $0-6^{\circ}\text{C}$ .

Объем опытной партии продуктов составил 102 вакуумных пакета массой по  $100 \pm 1$  г, объем каждого образца составил 34 шт.

06.09.2022 была проведена дегустация полученных мясных паштетов, по результатам которой было установлено, что опытные образцы характеризовались привкусом лёгкой горечи и сухой консистенцией. Во вкусе обоих опытных паштетов присутствовала нота, характерная для ЭШЛ. Отмечалось, что в опытном образце №3 с меньшей концентрацией растительных АО, внесение ЭШЛ в рецептуру не мешало восприятию вкуса и аромата основных компонентов паштета. Отмечалось сохранение гармоничности вкуса всех компонентов с присутствием ноты экстракта. Одновременно в опытном продукте с максимальным объемом был отмечен излишний вкус экстракта, который мешал восприятию других компонентов паштета.

В готовых продуктах были исследованы физико-химический состав и концентрации токсичных элементов. Продукты были заложены на хранение при  $+4^{\circ}\text{C}$  в течение 14 суток для определения микробиологических исследований, общей антиоксидантной емкости



методом FRAP, концентраций активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), показателей окислительной порчи.

**ПОДПИСИ ЛИЦ, УЧАСТВУЮЩИХ В ВЫРАБОТКЕ:**

к.т.н., ведущий научный сотрудник  
«Отдела научно-прикладных и  
технологических разработок»



Мотовилина А.А.

Младший научный сотрудник  
«Отдела научно-прикладных и  
технологических разработок»



Богданова Ю.И.

Младший научный сотрудник  
«Экспериментальной клиники-  
лаборатории биологически активных  
веществ животного происхождения»



Купаева Н.В.

УТВЕРЖДАЮ

Директор  
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им.  
В.М. Горбатова» РАН



О.А. Кузнецова

«18» мая 2024 г.

### Акт выработки опытной партии мясных паштетов

Мы, нижеподписавшиеся, Мотовилина А.А., Богданова Ю.И., Купаева Н.В. составили настоящий акт о том, что 03.10.2023 г. в лабораторных условиях «Отдела научно-прикладных и технологических разработок» было выработано 2 образца мясного продукта на основе рецептуры ГОСТ Р 55334 с и без внесения 70% водно-этанольного экстракта шелухи желтого репчатого лука (далее по тексту-ЭШЛ). Рецептуры продуктов представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Рецептура мясных продуктов

Наименование сырья	Образец 1	Образец 2
Основное несоленое сырье, г на 1 кг		
Говядина жилованная жирная (пашина) бланшированная	350	350
Печень жилованная говяжья, бланшированная	230	230
Диафрагма говяжья бланшированная	200	200
Сердце свиное бланшированное	100	100
Мука пшеничная	50	50
Молоко коровье сухое цельное	20	20
Лук репчатый жареный	50	50
Приправы и материалы, г на 1 кг несоленого сырья		
Соль поваренная пищевая	14	14
Сахар-песок	3	3
Перец черный молотый	1	1
Перец душистый молотый	0,5	0,5
Горчица молотая	5	5
Орех мускатный молотые	0,5	0,5
Жидкость, мл на 1 кг несоленого сырья		
Бульон говяжий	200	154,3
Экстракт шелухи лука	0	45,7

Образец 1 – контрольный мясной продукт, рецептура паштета «Говяжий» категории А ГОСТ Р 55334;

Образец 2 – опытный образец, содержащий вместо части бульона 70% водно-этанольный экстракт шелухи желтого репчатого лука в количестве 45,7 мл / кг основного сырья, что соответствовало 92,82 мг кверцетина / кг основного сырья.

ЭШЛ в образец 2 вносили на этапе куттерования вместе с говяжьим бульоном. Внесение растительного экстракта осуществляли на основании общей антиоксидантной емкости FRAP и предыдущих экспериментов по подбору оптимального количества внесения экстракта шелухи лука.

При выработке паштета термически обработанные мясное сырье и репчатый лук по отдельности измельчали на волчке (Hurakan HKN-12SC, Китай) с диаметром решетки 2-3 мм. Фарш для паштетов изготавливали горячим способом. Далее сырье гомогенизировали до однородной гомогенной массы с использованием куттер-блендера (Robot Cook; Франция), отдельно гомогенизировали печень с бульоном, затем полученную массу выгружали из куттера-блендера. Далее отдельно гомогенизировали пашину, полужирную свинину, свиное сердце. Затем в полученную смесь, вносили раскуттерованную печень и сухие ингредиенты. После внесения в готовую эмульсия жаренного лука, сухих компонентов, оставшейся части бульона и ЭШЛ паштетный фарш обрабатывали до получения однородной массы в течение 7 минут, для более эффективного испарения этанола. Температура продукта в конце гомогенизации составляла более 45°C.

Паштетный фарш расфасовывали по 100±1 г в вакуумные пакеты (ВакумПак-М, Россия, РА/РЕ, размер 150x200 мм, толщина 70 мкм) и подвергали термической обработке на водяной бане (ЭКРОС 4310, Россия) в течение 20-30 мин до достижения в центре продукта 72°C. Контроль осуществляли при помощи цифрового термометра (WT-1, Китай). Продукт охлаждали проточной водой до достижения температуры не выше 15°C. Дальнейшее охлаждение паштетов производили при температуре 0-6°C.

Объем опытной партии продуктов составил 200 вакуумных пакетов массой по 100±1г, объем каждого образца составил 100 шт.

04.10.2023 г была проведена дегустация полученных мясных паштетов, по результатам которой было установлено отсутствие разницы между образцами. Отмечалось сохранение гармоничности вкуса всех компонентов в обоих паштетах.

В готовых продуктах были исследованы физико-химический состав, концентрации токсичных элементов, водо- и жирорастворимых витаминов, определены жирно- и аминокислотный составы. Продукты были заложены на хранение при +4°C в течение 21 суток для определения микробиологических исследований, общей антиоксидантной

емкости методом FRAP, концентраций активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), показателей окислительной порчи, а также для изучения антиоксидантного действия экстракта шелухи лука, разработанного продукта с его добавлением и контрольного паштета *in vivo*.

к.т.н., ведущий научный сотрудник  
«Отдела научно-прикладных и  
технологических разработок»



Мотовилина А.А.

Младший научный сотрудник  
«Отдела научно-прикладных и  
технологических разработок»



Богданова Ю.И.

Младший научный сотрудник  
«Экспериментальной клиники-  
лаборатории биологически активных  
веществ животного происхождения»



Купаева Н.В.

УТВЕРЖДАЮ

Исполнительный директор  
АО «Губкинский мясокомбинат»

 И. Папов С.В.  
 «21» декабря 2023 г.


## Акт опытно-промышленной выработки №1

На АО «Губкинский мясокомбинат» при участии младшего научного сотрудника ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН Купаевой Н.В. проведена экспериментальная выработка образцов паштета «Говяжьего» по ГОСТ Р 55334-2012 (контроль) и с добавлением экстракта шелухи желтого репчатого лука в количестве 19,5% от объема бульона (воды) (опыт).

Продукты были расфасованы в вакуумные пакеты массой нетто 100 г в количестве 37 штук для каждого типа продукта (контроль и опыт).

В готовых продуктах в условиях лаборатории АО «Губкинский мясокомбинат» и ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН были исследованы показатели качества и безопасности (приложение 1). Продукты переданы и заложены на хранение в ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН.

Подписи:

Младший научный сотрудник ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН		Купаева Н.В.
Главный технолог АО «Губкинский мясокомбинат»		Никулина М.Ю.
Директор по качеству и ветеринарному надзору АО «Губкинский мясокомбинат»		Сальников И.В.

Приложение 1  
к Акту опытно-промышленной выработки №1

В продуктах (контроль и опыт) были определены общие физико-химические показатели, энергетическая ценность (таблица 1, лаборатория АО «Губкинский мяскокомбинат»), микробиологические (таблица 2) и физико-химические показатели порчи (таблица 3), содержание токсичных элементов (таблица 3). Оценен эффект от внесения экстракта, а именно измерена общая антиоксидантная емкость методом FRAP (таблица 4) и концентрация активных продуктов, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой (таблица 5), как показателя перекисного окисления липидов. Исследования, представленные в таблицах 2-5, выполнены в ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН.

Таблица 1. Физико-химические показатели

Показатель	Методология	Норма по ГОСТ Р 55334-2012	Контроль	Опыт
Белок,%	ГОСТ 25011-2017	≥ 10,0	20,64 ± 0,06	20,43 ± 0,06
Жир,%	ГОСТ 23042-2015	≤ 19,0	12,87 ± 0,23	12,80 ± 0,17
Влага,%	ГОСТ 9793-2016	-	59,07 ± 0,45	59,30 ± 0,30
Зола,%	ГОСТ 31727-2012	-	1,75 ± 0,03	1,87 ± 0,02
Хлориды,%	ГОСТ 9957-2015	≤ 1,4	1,35 ± 0,06	1,35 ± 0,06
Крахмал,%	ГОСТ 10574-2016	≤ 5,0	4,0 ± 0,20	4,0 ± 0,17
Углеводы,%			7,42 ± 0,23	7,47 ± 0,33
Энергетическая ценность, ккал/100 г		≤ 233,0	228,1	226,8

Таблица 2. Микробиологические показатели

Показатель	Методология	Контроль	Опыт
КМАФАнМ, не более КОЕ/г, нормативы 1·10 <sup>3</sup> г)	ГОСТ 10444.15-94	2,0·10 <sup>2</sup>	5,0·10 <sup>2</sup>
БГКП (колиформы), не допускаются в г, (нормативы 1,0 г)	ГОСТ 31747-2012	н/о	н/о
Сульфитредуцирующие клостридии, не допускаются в г, (нормативы 0,1 г)	ГОСТ 29185-91	н/о	н/о
S. Aureus, не допускаются в г, (нормативы 1,0 г)	ГОСТ 31746-2012	н/о	н/о
Микроорганизмы рода Salmonella, не допускаются в г, (нормативы 25,0 г)	ГОСТ 31659-2012	н/о	н/о
L. monocytogenes, не допускаются в г, (нормативы 25,0 г)	ГОСТ 32031-2012	н/о	н/о
Бактерии рода Proteus, не допускаются в г, (нормативы 0,1 г)	ГОСТ 28560-90	н/о	н/о
Дрожжи и Плесени, не более КОЕ/г, (нормативы 100 г)	ГОСТ 10444.12-2013	< 1·10 <sup>1</sup>	< 1·10 <sup>1</sup>
Enterobacteriaceas, не более КОЕ/г, (нормативы 1.0 г)	ГОСТ 32064-2013	н/о	н/о

Е. Coli., не допускаются в г, (нормативы 1,0 г)	ГОСТ 30726-01	н/о	н/о
Бактерии рода Enterococcus, не более КОЕ/г, (нормативы 1,0 г)	ГОСТ 28566-90	н/о	н/о
В. Сereus, (нормативы 1,0 г)	ГОСТ 10444.8-2013	н/о	н/о
Бактерии рода Pseudomonas, (нормативы 1,0 г)	ГОСТ 13720-2011	н/о	н/о

Таблица 3. Физико-химические показатели порчи и содержание токсичных элементов

Показатель	Методология	Контроль	Опыт
Содержание amino-аммиачного азота (ААА), мг/100г	ГОСТ Р 55479-2013	26,37±0,40	26,37±1,07
Тобарбитуровое число (ТБЧ), мг малонового альдегида / кг продукта (мг МА/кг)	ГОСТ Р 55810-2013	< 0,039	< 0,039
рН, ед.	ГОСТ 51478-99	6,47±0,08	6,76±0,10
Кислотное число, мг КОН / г жира	ГОСТ Р 55480-2013	1,62±0,12	1,57±0,08
Перекисное число, ммоль активного кислорода / кг жира	ГОСТ 34118-2017	2,08±0,10	1,91±0,24
Концентрация летучих жирных кислот (ЛЖК), мг КОН	ГОСТ 23392-2016.	1,03±0,09	1,07±0,10
Концентрация свинца, мг/кг	ГОСТ 30178-96	<0,01	<0,01
Концентрация кадмия, мг/кг	ГОСТ 30178-96	<0,01	<0,01
Концентрация мышьяка, мг/кг	ГОСТ Р 51766-01	<0,01	<0,01
Концентрация ртути, мг/кг	ГОСТ Р 53183-08	<0,002	<0,002

Таблица 4. Общая антиоксидантная емкость

Показатель	Контроль	Опыт	Δ (О-К)	%, от АУП
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , мкмоль-экв. кверцетина / 100 г продукта	23,25±0,16	38,62±0,96	15,37	31,16
ОАЕ <sub>FRAP</sub> , мг-экв. кверцетина / 100 г продукта	7,03±0,05	11,67±0,29	4,64	31,16

Процент от адекватного уровня потребления (АУП) флавонолов и их гликозидов в 100 г порции рассчитывался с использованием молекулярной массы кверцетина (302,236 г/моль) на основании Приложения 5 Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (с изменениями на 22 февраля 2022 года).

Таблица 5. Концентрация ТБК-АП

Показатель	Контроль	Опыт
ТБК-АП, мкмоль / 100 г продукта	1,64±0,13	1,49±0,31


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
 Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
 «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН  
 (ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

ОКПД 2 10.13.14.511

ОКС 67.120.10 «Группа Н11»

УТВЕРЖДАЮ

Директор  
 ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им.  
 В.М. Горбатова» РАН



*О.А. Кузнецова*  
 О.А. Кузнецова  
 2024 г.

**ПАШТЕТ МЯСНОЙ «БАЛАНС»**  
 антиоксидантного действия

**Технические условия**  
**ТУ 10.13.14-151-00419779-2023**  
 (Введены впервые)

Дата введения – «20» *мая* 2024 г.

РАЗРАБОТАНО

ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем  
 им. В.М. Горбатова» РАН  
 Зам. директора по научной работе  
*А.А. Семенова* А.А. Семенова

И.о. руководителя отдела научно-  
 прикладных и технологических  
 разработок  
*Н.М. Ревуцкая* Н.М. Ревуцкая

Зав. Экспериментальной клинико-  
 лаборатории биологически активных  
 веществ животного происхождения  
*Л.В. Федулова* Л.В. Федулова

Младший научный сотрудник  
*Н.В. Купаева* Н.В. Купаева

Москва  
 2024



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ПИЩЕВЫХ СИСТЕМ ИМ. В.М. ГОРБАТОВА» РАН  
(ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор  
ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им.  
В.М. Горбатова» РАН



О.А. Кузнецова

«19» марта 2024 г.

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ**  
**по производству мясного паштета «Баланс»**  
**антиоксидантного действия**

Дата введения в действие 20 марта 2024 г.

Настоящая технологическая инструкция распространяется на производство мясного колбасного изделия из термически обработанных ингредиентов - мясного паштета «Баланс» антиоксидантного действия (далее по тексту - паштет), выпускаемого в охлажденном виде и предназначенного для непосредственного употребления в пищу и приготовления различных блюд и закусок.

Технологическая инструкция устанавливает рецептуру, технологические режимы, порядок проведения технологических процессов и операций изготовления, упаковки, маркировки, транспортирования, хранения, контроля производства, его санитарно-гигиенического обеспечения, требования безопасности, обеспечивающие качество и безопасность паштета, отвечающих требованиям ТУ 10.13.14-151-00419779.

Технологический процесс предусматривает входной контроль и приемку мясного сырья, пищевых ингредиентов, добавок и упаковочных материалов; разделку, обвалку, жиловку, подготовку мясного сырья (бланшировку, варку и посол); подготовку пищевых ингредиентов и материалов; приготовление фарша; формование (наполнение оболочек); термическую обработку; упаковку;