

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-26-30><https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ АНАЛИЗА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Купаева Н. В.*, Василевская Е. Р., Федулова Л. В., Котенкова Е. А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

растительные экстракты,
антиоксиданты,
коэффициенты замедления,
фенольные соединения,
флавоноиды, кверцетин,
высокоэффективная
тонкослойная хроматография

АННОТАЦИЯ

Для исследования антиоксидантной активности растительного сырья, которое является богатым источником эффективных нетоксичных биологически активных веществ, используются различные физико-химические методы анализа. В данной работе был применен метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) для разделения биологически активных веществ, входящих в этанольные экстракты шелухи красного, желтого и белого лука, сушеных розмарина, базилика и чаги. Антиоксидантную активность полученных фракций на хроматографической пластине оценивали последующим DPPH-скринингом. Наибольшими показателями антиоксидантной активности и вариабельностью качественного состава характеризовались экстракты шелухи красного и желтого лука, а также розмарина, причем для этих образцов была отмечена схожесть антиоксидантных профилей. В экстракте белого лука не было обнаружено каких-либо классов антиоксидантов. Для шелухи красного лука было отмечено наличие значительно выраженных пятен по всему треку, значения R_f которых расположены в диапазоне 0,13–0,97. Доказано, что все экстракты, кроме шелухи белого лука и чаги, в разной степени интенсивности имеют пятна с коэффициентом замедления в диапазоне 0,96–0,98, что соответствует полученному значению R_f кверцетина.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследования проведены в рамках темы научного исследования № 013.21.05 по государственному заданию ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают благодарность консультанту компании CAMAG Улогову Владимиру Олеговичу за содействие в выполнении эксперимента по разделению веществ методом ВЭТСХ и DPPH-скрининга антиоксидантной активности.

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

APPLICATION OF THE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY METHOD FOR ANALYSIS OF PLANT ANTIOXIDANT ACTIVITY

Nadezhda V. Kupaeva*, Ekaterina R. Vasilevskaya, Liliya V. Fedulova, Elena A. Kotenkova

V. M. Gorbatov Federal Research Centre for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

KEY WORDS:

plant extracts, antioxidants,
ratio of front, phenolic
compounds, flavonoids, quercetin,
high performance thin layer
chromatography

ABSTRACT

Plants are a rich source of effective non-toxic biologically active substances. Various physicochemical methods of analysis are used for evaluation of plant antioxidant activity. Composition of ethanol extracts of red, yellow and white onion husks, dried rosemary, basil, and chaga were studied by high performance thin layer chromatography (HPTLC) method. The antioxidant activity of the obtained fractions on a chromatographic plate was assessed by subsequent DPPH screening. The extracts red and yellow onion husk and rosemary demonstrated the highest antioxidant activity, variability of the qualitative composition and similarity of antioxidant profiles, while extract of white onion husks did not contain any antioxidant classes. Intensive spots with R_f of 0.13–0.97 were observed along the whole chromatogram track corresponding to red onion husks. It was also found that all tested extract, excepting white onion husk and chaga, contained spots with varying degrees of intensity in the R_f range of 0.96–0.98, which corresponded quercetin R_f value.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. 013.21.05 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors express their gratitude to Ulogov Vladimir Olegovich, the CAMAG company consultant, for assistance in the experiment performing for separation of substances by HPTLC and DPPH screening of antioxidant activity.

1. Введение

Растения являются одним из самых богатых источников биологически активных веществ (БАВ), которые, в зависимости от вида, способны проявлять антиоксидантные,

ранозаживляющие, антимикробные, кровоостанавливающие, противовоспалительные, спазмолитические, антисептические, седативные и прочие свойства [1], что позволяет использовать их в различных отраслях промышленности.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Купаева, Н.В., Василевская, Е.Р., Федулова, Л.В., Котенкова, Е.А. (2021). Применение метода тонкослойной хроматографии для анализа антиоксидантной активности растительного сырья. *Пищевые системы*, 4(1), 26–30. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-26-30>

FOR CITATION: Kupaeva, N.V., Vasilevskaya, E.R., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. (2021). Application of the thin-layer chromatography method for analysis of plant antioxidant activity. *Food systems*, 4(1), 26–30. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-26-30>

Кроме того, БАВ растительного происхождения не характеризуются высокой токсичностью, которая свойственна многим синтетическим органическим веществам [2].

Лекарственные растения с давних времен применяются в фитотерапии, и активно используются в настоящее время. Так, в Государственный реестр лекарственных средств Министерства здравоохранения Российской Федерации включены растения, используемые для получения лекарственного растительного сырья [3]. В то же время, травы, специи и растительные вытяжки широко распространены в пищевой промышленности в качестве технологических вспомогательных средств, в том числе для ингибирования химической порчи продуктов питания. Антиокислители являются особенно важным классом консервантов, так как реакции окисления происходят относительно быстро даже в замороженных или охлажденных пищевых продуктах [4]. Например, при хранении продукции мясной промышленности происходят процессы перекисного окисления липидов [5] и разрушения структуры белков под действием активных форм кислорода с образованием карбонильных групп [4]. Кроме того, рацион питания современного человека не обеспечивает организм необходимыми биологически активными веществами в нужном количестве [6]. Так, при производстве биологически активных добавок к пище (БАД), используется растительное сырье в качестве источника натуральных антиоксидантов (АО), витаминов, полисахаридов, эфирных масел, макро- и микроэлементов, клетчатки и др. [1,7]

Известно, что в большем количестве растения содержат фенольные соединения [2], которые обладают высокими антиоксидантными свойствами, и эффективны в профилактике широкого спектра хронических неинфекционных заболеваний, среди которых онкология, ишемическая болезнь сердца, ожирение, нейродегенеративные заболевания и другие [8]. В многочисленных исследованиях показано, что кверцетин является наиболее характерным растительным флавоноидом, который обладает антиоксидантными, спазмолитическими и гипотензивными свойствами [9].

На данный момент существует множество классических и альтернативных подходов к изучению антиоксидантного потенциала растений. Среди методов определения общей антиоксидантной емкости (ОАЕ) выделяют методы Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP), Cupric Reducing Antioxidant Power (CUPRAC), которые позволяют измерить количество АО в сырье [10]. Оценку антиоксидантной активности (АОА) образцов принято проводить методами, основанными на способности АО ингибировать генерируемые в модельных смесях радикалы, образующиеся при окислении АВТС [2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолино-6-сульфоновая кислота)] и DPPH [2,2-дифенил-1-пикрил- гидразил] [11]. Для изучения качественного состава распространено применение таких современных методов анализа, как ВЭЖХ, ГХ, ЯМР и др., однако использование этих методов требует дорогостоящего оборудования и трудоемкой обработки данных. Одним из наиболее распространенных методов, применяемых при исследовании растительного сырья, является тонкослойная хроматография (ТСХ), которая к тому же одобрена всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) [12]. Метод ТСХ успешно применяется уже более 50 лет, а разработанные модификации и оборудование позволили создать такой популярный количественный метод анализа, как высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ), распространенность которой обусловлена скоростью, эффективностью, простотой, низким расходом растворителей и чувствительностью [13]. Одной из последних модификаций ТСХ является применение DPPH-скрининга антиокси-

дантной активности веществ после их разделения ВЭТСХ. Данный метод позволяет оценить АОА конкретных фракций веществ, за счет обесцвечивания хроматографической пластины при нейтрализации свободного радикала (СР) антиоксидантами [12].

Целью данной работы являлось использование метода ВЭТСХ с дальнейшим DPPH-скринингом для изучения антиоксидантной активности образцов растительного сырья.

2. Материалы и методы

В качестве объектов исследования были выбраны розмарин, базилик, шелуха красного, белого и желтого лука, приобретенные в сетевом магазине «ВкусВилл» (Россия), и чага, предоставленная группой компаний «ЭСВО» (Россия). Для приготовления спиртовых экстрактов образцы измельчали, смешивали с 70% этиловым спиртом в соотношении 1:15 и настаивали при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 ч с последующим фильтрованием через бумажный складчатый фильтр.

Разделение веществ, входящих в растительные экстракты, проводили методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии с использованием хроматографических пластин HPTLC plates Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Germany) формата 10 см x 10 см. Исследуемые этанольные экстракты (по 5 мкл) и 0,05% раствор кверцетина (Sigma-Aldrich, USA) в метаноле (1 мкл и 5 мкл) наносили на пластины в виде полос 8 мм с отступом справа 20 мм и 8 мм от нижнего края пластины с помощью аппликатора Linomat 5 TLC (Camag, Muttenz, Switzerland). Элюирование проводили в вертикальной камере AMD2 (Camag, Switzerland) размером 10 см x 10 см с перегородкой с насыщением 20 мин (с фильтровальной бумагой), использовали 5 мл элюента на каждый канал в камере, дистанция составляла 70 мм от нижнего края пластины. В качестве элюента использовали смесь, характерную для разделения фенольных соединений: этилацетат: уксусная кислота: муравьиная кислота: вода в соотношении 100:11:11:27. Затем хроматографическую пластину подвергали сушке в течение 30 мин при температуре 60°C .

DPPH-скрининг использовали для визуализации соединений, обладающих антиоксидантными свойствами (белые полосы на фиолетовом фоне), присутствующих в исследуемых экстрактах. После разделения веществ методом ВЭТСХ пластину погружали на 1 сек в свежеприготовленный 0,05% раствор DPPH (Sigma-Aldrich, USA) в метаноле, затем пластину сушили в течение 1 мин при комнатной температуре в вытяжном шкафу и заворачивали в алюминиевую фольгу на 30 мин. Оценку (фотографирование) проводили при освещении белым светом.

Коэффициент замедления (R_f) был использован, как основная качественная характеристика для определения положения индивидуального вещества на тонкослойной хроматограмме. Значения R_f измеряли вручную и рассчитывали по уравнению 1 [14].

$$R_f = \frac{n_a}{n_f} \quad (1)$$

где n_a — расстояние, пройденное анализируемым веществом (центр пятна) от места нанесения пробы;
 n_f — расстояние, пройденное подвижной фазой от места нанесения пробы до фронта растворителя.

Сложность химического состава исследуемых образцов и антиоксидантный потенциал соединений, входящих в растительные экстракты, были оценены с использованием визуального анализа, включавшего в себя сравнение цвета, размера и коэффициента замедления наиболее выраженных пятен.

3. Результаты и обсуждение

В ходе разделения веществ, входящих в растительные экстракты, методом ВЭТСХ с дальнейшим DPPH-скринингом антиоксидантной активности этих соединений был получен снимок хроматографической пластины, представленный на Рисунке 1.

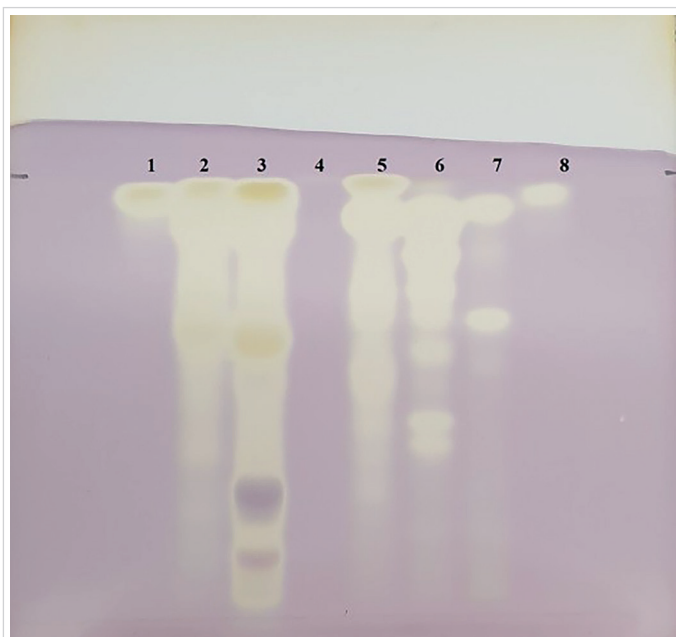


Рисунок 1. Фотоизображение хроматографической пластины после ВЭТСХ и DPPH-скрининга этанольных растительных экстрактов.

Условные обозначения треков: 1 – 0,05% раствор кверцетина (5 мкл); 2 – экстракт шелухи желтого, 3 – красного, 4 – белого лука; 5 – экстракт розмарина; 6 – экстракт базилика; 7 – экстракт чаги; 8 – 0,05% кверцетин (1 мкл)

Фон хроматографической пластины после DPPH-скрининга окрашен фиолетовым цветом, при этом светлые пятна характеризуют фракции соединений, обладающие антиоксидантной активностью. В соответствии с визуальным анализом треков стандартного антиоксиданта — кверцетина (№ 1–5 мкл и № 8–1 мкл), и исходя из выцветания пятен, интенсивность которой прямопропорциональна концентрации АО, определено, что все исследуемые образцы, кроме экстракта шелухи белого лука (№ 4), в разной степени содержат вещества, обладающие антиоксидантными свойствами. Наибольшее количество АО, в том числе находящихся в зоне кверцетина, отмечалось в экстракте шелухи красного лука (трек № 3). Также значительная концентрация антиоксидантов наблюдалась у образцов № 2 (шелуха желтого лука) и № 5 (розмарин), причем интенсивность выцветания полосы в зоне кверцетина у экстракта шелухи желтого лука незначительно превышала выцветание для розмарина. По полученным результатам видно, что количество АО в образце № 6 (базилик) существенно уступает аналогичным показателям для треков № 2 (шелуха желтого лука), № 3 (шелуха красного лука) и № 5 (розмарин), а в экстракте чаги (трек № 7) и вовсе минимально. Полученные результаты АОА для экстрактов шелухи красного, желтого и белого лука, розмарина и базилика подтверждаются значениями ОАЕ для аналогичных образцов, которые были ранее определены методами ORAC и FRAP в нашей работе [15].

В экстрактах всех образцов, кроме № 4 (шелуха белого лука), помимо пятен, соответствующих кверцетину, были обнаружены фракции веществ, проявляющих АОА, и относящихся к другим классам неизвестной природы, которых не было в стандартном заколе. Наибольшее разнообразие хи-

мических соединений наблюдалось у образцов № 3 (шелуха красного лука), № 2 (шелуха желтого лука) и № 5 (розмарин), что также коррелирует с АОА этих образцов. Вариабельность качественного состава экстракта базилика (трек № 6) была относительно схожа с розмарином (трек № 5), однако значительно уступала по количеству антиоксидантов. Практически полное отсутствие выцветания в зоне, характерной для кверцетина, в экстракте базилика можно объяснить тем, что основными ароматическими компонентами базилика являются эвгенол, эстрагол, метилциннамат, 1,8-цинеол и линалоол [16], структуры и классы которых существенно отличаются от кверцетина. Кроме того, ранее в работе [15] нами было показано, что водный экстракт базилика обладает большим значением ОАЕ, чем этанольный, чего нельзя сказать об экстрактах шелухи лука и розмарина. Можно сделать предположение, что в состав базилика в большей степени входят водорастворимые антиоксиданты, например, полисахариды, фенолгликозиды, гликозиды флавоноидов и др. [1]. Отмечалось, что наименьшим разнообразием химического состава характеризовался образец № 7 (чага), а в экстракте шелухи белого лука (трек № 4) вообще не было обнаружено каких-либо классов АО.

В связи с богатой вариабельностью полос, были проведены расчеты коэффициентов замедления для наиболее выраженных пятен всех образцов, которые представлены в Таблице 1, где R_f соответствует верхнему пятну трека (кверцетин). Расстояние, пройденное подвижной фазой от места нанесения пробы до фронта растворителя (n_p), составило 6,5 см.

Таблица 1

Рассчитанные коэффициенты замедления

	Кверцетин (5 мкл)	Желтый лук	Красный лук	Белый лук	Розмарин	Базилик	Чага	Кверцетин (1 мкл)
R_{f1}	0,95	0,96	0,97	—	0,97	0,98	0,92	0,96
R_{f2}	—	0,82	0,89	—	0,91	0,91	—	—
R_{f3}	—	0,75	0,63	—	—	0,8	—	—
R_{f4}	—	0,65	0,26	—	—	—	—	—
R_{f5}	—	—	0,13	—	—	—	—	—

По полученным данным видно, что экстракт красного лука (трек № 3) обладает не только наибольшим количеством АО, но и имеет более разнообразный химический состав. Отмечалось, что для шелухи красного лука характерно наличие значительно выраженных пятен не только в верхней части хроматограммы (R_f больше 0,6), но и в нижней. Так, были выделены пятна с коэффициентами замедления 0,26 и 0,13, которые не проявляли антиоксидантной активности и могут соответствовать другим биологически активным веществам. По коэффициентам замедления видно, что все экстракты, кроме шелухи белого лука (трек № 4), имеют пятна разной интенсивности в диапазоне R_f 0,96–0,98, что соответствует значению R_f кверцетина. Также визуальный анализ полученной хроматографической пластины и рассчитанные R_f пятен образцов продемонстрировали, что профили антиоксидантной активности экстрактов шелухи желтого (трек № 2) и красного (трек № 3) лука и розмарина (трек № 5) имеют значительное сходство и обладают наибольшей интенсивностью выцветания пятен, характерных для кверцетина. В работе Teshika et al. [17] было определено, что шелуха репчатого лука содержит примерно 300 мг кверцетина на кг сырья, а в статье Jung-Но Kwak et al. [18] было показано, что в состав шелухи репчатого лука входят не только кверцетин, но и большое количество его гликозидов.

Схожесть профилей экстрактов шелухи красного и желтого лука с розмарином можно объяснить тем фактом, что в составе розмарина в работе Luis Almela et al. [19] были обнаружены такие флавоны, как апигенин и лютеолин, структуры которых значительно совпадают со структурой кверцетина.

4. Выводы

Методом ВЭТСХ было выявлено, что этанольные экстракты желтого и красного лука и розмарина обладают высокой антиоксидантной активностью, причем наибольший потенциал характерен для красного лука, в то время как в экстракте шелухи белого лука вообще не было обнаружено антиоксидантов. Полученные результаты подтверждаются ранее определенными значениями общих антиоксидантных емкостей для аналогичных экстрактов методами ORAC и FRAP.

С использованием визуального анализа хроматографической пластины и рассчитанных коэффициентов замедления для наиболее ярко выраженных пятен всех экстрактов

было выявлено, что шелуха желтого и красного лука и розмарин имеют схожий антиоксидантный профиль, причем для красного лука характерен более разнообразный химический состав. Было выявлено, что все экстракты кроме шелухи белого лука имеют пятна разной интенсивности с коэффициентом замедления в диапазоне 0,96–0,98, что соответствует пятнам кверцетина.

В ходе эксперимента было показано, что выбранный способ оценки антиоксидантной активности растительно-го сырья позволяет судить о присутствии антиоксидантов различной природы. Было показано, что метод ВЭТСХ возможно использовать и для количественной оценки веществ, однако для этого необходимо проведение дополнительных исследований с использованием большего количества стандартов. Отмечалось, что в ходе разделения веществ методом ВЭТСХ не удалось получить достаточно четких отдельных пятен, что может указывать на необходимость варьирования концентрации нанесения образцов, состава элюирующей смеси или предварительной очистки экстрактов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Минович, В.М., Привалова Е. Г. (2018). Биологически активные вещества растений (полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды, кумарины, флавоноиды): Учебное пособие. ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ, кафедра фармакогнозии и фармацевтической технологии. — Иркутск: ИГМУ. — 70 с.
2. Меньшикова, Е.Б., Ланкин, В.З., Кандалинцева Н. В. (2012). Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строения, свойства, механизмы действия: LAP Lambert Academic Publishing. — 496 с. ISBN 9783846594612.
3. Горовой, П.Г., Бальшев, М.Е. (2017). Возможности и перспективы использования лекарственных растений Российского Дальнего Востока. *Тихоокеанский медицинский журнал*, 3(69), 5–14. <https://doi.org/10.17238/Pmj1609-1175.2017.3.5-14>
4. Soyer, A., Özalp, B., Dalmiş, U., Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, 120(4), 1025–1030. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.042>
5. Гуринович, Г.В., Патракова, И.С., Кудряшов, Л.С. (2018). Исследование влияния состава посолочных смесей на процесс окисления липидов мясных систем. *Техника и технология пищевых производств*, 48(1), 31–40. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-31-40>
6. Дыдыкин, А.С., Лисицын, А.Б., Асланова, М.А. (2019). Функциональные продукты — современный вектор развития пищевой индустрии. III международная научно-практическая конференция «Функциональные продукты питания: научные основы разработки, производства и потребления», 30–31 октября, Москва, 24–32.
7. Чернуха, И.М., Котенкова, Е.А., Василевская, Е.Р., Иванкин, А.Н., Лисицын, А.Б., Федулова, Л.В. (2020). Изучение биологических эффектов ягод годжи различного географического происхождения на крысах с моделью алиментарной гиперлипидемии. *Вопросы питания*, 89(1), 37–45. <https://doi.org/10.24411/0042-8835-2020-10004>
8. Pala, F.S., Gürkan, H. (2008). The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. *Advances in Molecular Biology*, 1, 1–9.
9. Lekar, A. V., Filonova, O. V., Borisenko, S. N., Maksimenko, E. V., Vetrova, E. V., Borisenko, N. I., Minkin, V. I. (2013). Extraction of bioflavonoid mixture from onion husk by subcritical water. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 7(7), 829–836. <https://doi.org/10.1134/S1990793113070117>
10. Amarowicz, R., Pegg, R.B., Ferreira, I.C.F.R. (ed.), Barros, L. (ed.) (2019). Functional Food Ingredients from Plants: Natural antioxidants of plant origin, 90, 1–81. Academic Press. DOI: 10.1016/bs.afnr.2019.02.011
11. Завадский, С.П., Краснюк (мл), И.И., Харитонов, Ю.Я., Тарасов, В.В., Кузьменко, А.Н., Козин, Д.А. и др. (2017). Физико-химические методы изучения антиоксидантной активности растительного сырья и продуктов его переработки. *Разработка и регистрация лекарственных средств*, 2(19), 214–221.
12. Simion, I. M., Casoni, D., Sârbu, C. (2018). Characterization and classification of medicinal plants according to their antioxidant profile estimated by thin layer chromatography assisted by chemometric expertise. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 41(6), 342–348. <https://doi.org/10.1080/10826076.2018.1448692>
13. Fazakaş, L. A., Naşcu-Briciu, R. D., Sârbu, C. (2011). A comparative study concerning the image analysis in thin layer chromatography of fluorescent compounds. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 34(19), 2315–2325. <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.587226>
14. Чибисова, М.В., Березкин, В.Г. (2011). Определение синтетических красителей в пищевых продуктах методами тонкослойной хроматографии, УФ- и ИК-спектроскопии. *Сорбционные и хроматографические процессы*, 11(2), 219–227.
15. Kotenkova, E. A., Kupaeva, N. V. (2021). Onion husk (állium cépa) as a promising source of natural antioxidants. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 640(5), Article 052002.
16. Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (ocimum basilicum L.) and thyme leaves (thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91(1), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>
17. Teshika, J. D., Zakariyyah, A. M., Zaynab, T., Zengin, G., Rengasamy, K. R., Pandian, S. K. at al. (2019). Traditional and modern uses of onion bulb (állium cepa L.): A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, S39–S70. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1499074>
18. Kwak, J. H., Seo, J. M., Kim, N. H., Arasu, M. V., Kim, S., Yoon, M. K., Kim, S. J. (2017). Variation of quercetin glycoside derivatives in three onion (állium cepa L.) varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1387–1391. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.014>
19. Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. A., Roca, M. J., Rabe, V. (2006). Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*, 1120(1–2), 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.056>

REFERENCES

1. Mirovich, V.M., Privalova E. G. (2018). Biologically active substances of plants (polysaccharides, essential oils, phenologlycosides, coumarins, flavonoids): Textbook. Irkutsk State Medical University. — 70 p. (In Russian)
2. Mentshchikova, E.B., Lankin, V.Z., Kandalintseva N. V. (2012) Phenolic antioxidants in biology and medicine. Structures, properties, mechanisms of action: LAP Lambert Academic Publishing. — 496 p. ISBN 9783846594612. (In Russian)
3. Gorovoy, P.O., Balyshv, M.E. (2017). Possibilities and prospect applications of medicinal plants in Russian Far East *Pacific Medical Journal*, 3(69), 5–14. <https://doi.org/10.17238/Pmj1609-1175.2017.3.5-14> (In Russian)
4. Soyer, A., Özalp, B., Dalmiş, U., Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, 120(4), 1025–1030. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.042>
5. Gurinovich, G.V., Patrakova, I.S., Kudryashov, L.S. (2018). Study of the effect of curing mixture compositions on oxidation of lipids in meat systems. *S Food Processing: Techniques and Technology*, 48(1), 31–40. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-31-40> (In Russian)
6. Dydykin, A.S., Lisitsyn, A.B., Aslanova, M.A. (2019). Functional products are a modern vector of development of the food industry. III international scientific-practical conference “Functional food products: scientific foundations of development, production and consumption”, October 30–31, Moscow, 24–32. (In Russian)
7. Chernukha, I.M., Kotenkova, E.A., Vasilevskaya, E.R., Ivankin, A.N., Lisitsyn, A.B., Fedulova, L.V. (2020). The study of biological effects of different

geographical origin goji berries in rats with alimentary hypercholesterolemia. *Problems of nutrition*, 89(1), 37–45. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10004> (In Russian)

8. Pala, F.S., Gürkan, H. (2008). The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. *Advances in Molecular Biology*, 1, 1–9.
9. Lekar, A. V., Filonova, O. V., Borisenko, S. N., Maksimenko, E. V., Vetrova, E. V., Borisenko, N. I., Minkin, V. I. (2013). Extraction of bioflavonoid mixture from onion husk by subcritical water. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 7(7), 829–836. <https://doi.org/10.1134/S1990793113070117>
10. Amarowicz, R., Pegg, R.B., Ferreira, I.C.F.R. (ed.), Barros, L. (ed.) (2019). *Functional Food Ingredients from Plants: Natural antioxidants of plant origin*, 90, 1–81. Academic Press. DOI: 10.1016/bs.afnr.2019.02.011
11. Zavadskiy, S.P., Krasnyuk (jr), I. I. Kharitonov, Yu. Ya., Tarasov, V.V., Kuzmenko, A.N., Kozin, D.A. at al. (2017). The physical and chemical methods for testing antioxidative activity of herbal raw material and its conversion products. *Development and registration of medicines*, 2(19), 214–221. (In Russian)
12. Simion, I. M., Casoni, D., Sârbu, C. (2018). Characterization and classification of medicinal plants according to their antioxidant profile estimated by thin layer chromatography assisted by chemometric expertise. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 41(6), 342–348. <https://doi.org/10.1080/10826076.2018.1448692>
13. Fazakaş, L. A., Naşcu-Briciu, R. D., Sârbu, C. (2011). A comparative study concerning the image analysis in thin layer chromatography of fluorescent compounds. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 34(19), 2315–2325. <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.587226>
14. Chibisova, M.V., Berezkin, V.G. (2011). Definition of synthetic dyes in food by thin-layer chromatography, UV-and IR-spectroscopy. *Sorption and chromatography processes*, 11(2), 219–227. (In Russian)
15. Kotenkova, E. A., Kupaeva, N. V. (2021). *Onion husk (allium cépa) as a promising source of natural antioxidants*. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 640(5), Article 052002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/5/052002>
16. Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (*ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91(1), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>
17. Teshika, J. D., Zakariyyah, A. M., Zaynab, T., Zengin, G., Rengasamy, K. R., Pandian, S. K. at al. (2019). Traditional and modern uses of onion bulb (*allium cepa* L.): A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, S39–S70. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1499074>
18. Kwak, J. H., Seo, J. M., Kim, N. H., Arasu, M. V., Kim, S., Yoon, M. K., Kim, S. J. (2017). Variation of quercetin glycoside derivatives in three onion (*allium cepa* L.) varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1387–1391. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.014>
19. Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. A., Roca, M. J., Rabe, V. (2006). Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*, 1120(1–2), 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.056>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Купаева Надежда Владимировна — инженер-исследователь, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-966-359-19-00 E-mail: NVkupaeva@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1066-5589 * автор для контактов</p>	<p>Nadezhda V. Kupaeva — research engineer, Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-966-359-19-00 E-mail: NVkupaeva@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1066-5589 * corresponding author</p>
<p>Василевская Екатерина Романовна — кандидат технических наук, научный сотрудник, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-495-676-92-11 E-mail: e.vasilevskaya@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939</p>	<p>Ekaterina R. Vasilevskaya — candidate of technical sciences, researcher, Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.vasilevskaya@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939</p>
<p>Федулова Лилия Вячеславовна — кандидат технических наук, заведующий лабораторией, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-495-676-92-11 E-mail: l.fedulova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3573-930X</p>	<p>Liliya V. Fedulova — candidate of technical sciences, head of the Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: l.fedulova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3573-930X</p>
<p>Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-495-676-92-11 E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115</p>	<p>Elena A. Kotenkova — candidate of technical sciences, senior researcher, Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов</p>	<p>The authors declare no conflict of interest</p>
Поступила 12.02.2021	Received 12.02.2021
Поступила после рецензирования 14.03.2021	Accepted in revised 14.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021