Оригинальная статья / Original article

УДК 664.8 + 634.11

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-1-140-148>

Сравнительные исследования методов извлечения биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами из косточек винограда (*Vitis vinifera* L.)

© Н.В. Макарова, Д.Ф. Валиулина, Н.Б. Еремеева

Самарский государственный технический университет, г. Самара, Российская Федерация

Резюме: Целью работы являлось сравнительное исследование влияния методов экстракции – мацерация (настаивание), ультразвуковое воздействие, микроволновое облучение, на общее содержание фенолов, флавоноидов, а также значения антирадикальной активности, восстанавливающей силы при экстрагировании отходов винного производства – косточек винограда. В качестве методов исследования выбраны спектрофотометрические методы определения общего содержания фенолов, флавоноидов, антирадикальной активности со свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом, восстанавливающей силы с реактивом FRAP, антиоксидантной активности на модели с линолевой кислотой. По результатам анализа установлено, что использование ультразвуковой экстракции виноградных косточек позволяет получить более высокое содержание фенолов, флавоноидов, а также высокие значения антирадикальной активности, восстанавливающей силы, антиокислительного действия. Аналогичное влияние на ряд показателей экстракта виноградных косточек оказывает и микроволновое излучение, хотя эти показатели ниже по величине. Для получения экстракта виноградных косточек, обладающего высокой антиоксидантной активностью, используемого в качестве компонента многих биологически активных добавок, а также косметических средств с высокой антиокислительной способностью, можно рекомендовать ультразвуковую обработку как метод интенсификации при тех же температурных параметрах и времени процесса. Это позволит получать экстракты с более высоким содержанием биологически активных веществ.

Ключевые слова: виноградные косточки, экстрагирование, ультразвук, СВЧ-облучение, фенолы, флавоноиды, антиоксиданты

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания на фундаментальные исследования Самарского государственного технического университета № 0778-2020-0005.

Информация о статье: Дата поступления 23 января 2019 г.; дата принятия к печати 25 февраля 2020 г.; дата онлайн-размещения 31 марта 2020 г.

Для цитирования: Макарова Н.В., Валиулина Д.Ф., Еремеева Н.Б. Сравнительные исследования методов извлечения биологически активных веществ с антиоксидантными свойствами из косточек винограда (*Vitis vinifera* L.). Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Т. 10. N 1. С. 140–148. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-1-140-148>

Comparative studies of extraction methods of biologically-active substances with antioxidant properties from grape seed (*Vitis vinifera* L.)

Nadezhda V. Makarova, Dinara F. Valiulina, Natalya B. Eremeeva

Samara State Technical University, Samara, Russian Federation

Abstract: The aim of the work was to compare the influence of extraction methods on the total phenol and flavonoid content as well as antiradical activity and reducing power of biologically-active extracts obtained from grape seeds. The examined methods for obtaining by-products of wine production consisted of macera-

tion, ultrasonic exposure and microwave irradiation. Research methods included a spectrophotometric approach used for determining the total content of phenols and flavonoids, the free radical of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl to evaluate antiradical activity, a ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay to assess reducing power and a linoleic acid model to test antioxidant activity. The results show that ultrasonic techniques allow higher phenol and flavonoid content to be extracted from grape seed feedstock, yielding extracts with high antiradical activity, reducing power and antioxidant values. A similar effect on a number of parameters of grape seed extract is achieved exerted by microwave irradiation, although these parameters' values are lower. Thus, ultrasonic treatment can be recommended as an intensification method for obtaining grape seed extracts having high antioxidant activity, frequently used as a component of many biologically active additives, as well as in various cosmetic products.

Keywords: grape seed, extraction, ultrasound, microwave irradiation, phenols, flavonoids, antioxidants

Acknowledgments: The study was performed as a part of the State task for fundamental research of the Samara State Technical University no. 0778-2020-0005.

Information about the article: Received January 23, 2019; accepted for publication February 25, 2020; available online March 31, 2020.

For citation: Makarova NV, Valiulina DF, Ereemeeva NB. Comparative studies of extraction methods of biologically-active substances with antioxidant properties from grape seed (*Vitis vinifera* L.). *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(1):140–148. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-1-140-148>

ВВЕДЕНИЕ

Рак – серьезное и опасное заболевание, которое является медико-социальной проблемой. Врачи-онкологи всего мира отмечают, что показатели заболеваемости и смертности от рака с каждым годом увеличиваются. Ученые считают, что в скором времени злокачественные новообразования займут лидирующие позиции и опередят сердечно-сосудистую патологию.

Немаловажное влияние на заболеваемость и смертность от рака оказывает рацион питания. Одними из способов профилактики раковых заболеваний являются правильный образ жизни и питание функциональными продуктами [1]. В качестве потенциальных противораковых агентов могут выступать как индивидуальные вещества, так и смеси фенолов, флавоноидов и витаминов в пищевых продуктах.

Виноградные косточки и кожица являются основными отходами при переработке винограда на вино, сок прямого отжима, сок восстановленный, виноградный концентрат. Данные, приведенные в публикации [2], показывают, что экстракт проантоцианидинов, полученный из виноградных косточек, обладает способностью тормозить трансформацию ДНК. Исследование китайских ученых доказывает способность проантоцианидинов, полученных из виноградных косточек, также тормозить рост раковых клеток [3].

Ученые из Испании изучили влияние экстракта виноградных косточек на *Campylobacter* на линии человеческих клеток [4]. Результаты этих исследований показывают, что данный экстракт обладает противовоспалительной активностью.

Антимикробная активность против трех микроорганизмов – *Staphylococcus aureus*, *Escherich-*

ia coli, *Klebsiella pneumonia*, и противогрибковое действие против *Colletotrichum capsici* были выявлены авторами работы [5] в экстракте виноградных косточек.

Данные обзора [6] свидетельствуют, что богатые полифенолами пищевые продукты способны предупреждать возникновение таких заболеваний, как гипертензия и сердечно-сосудистые нарушения. А именно виноградные косточки являются источником полифенолов.

Диабет относится к заболеваниям, связанным не только с повышением содержания сахара в крови, но и с нарушениями в метаболизме углеводов, липидов, протеинов. Целью экспериментов иранских ученых было использование экстракта виноградных косточек для снижения сахара и липидов в крови кроликов, страдающих диабетом [7]. В качестве контролируемых параметров выступали уровень глюкозы, холестерина, триглицеридов, липопротеинов высокой и низкой плотности. На основании полученных данных был сделан вывод о том, что экстракт виноградных косточек проявляет противодиабетическое действие.

Объектом исследования, результаты которого опубликованы в работе [8], являлось изучение влияния полифенолов виноградных косточек на перевариваемость пищевых липидов и пищевых белков под действием ферментов, таких как α -амилаза, липаза, пепсин, трипсин. Показано, что полифенолы виноградных косточек не ухудшают перевариваемость пищи.

В работе [9] представлены результаты гемодинамических, эхокардиографических, гистопатологических исследований, которые доказывают защитное действие экстракта виноградных косточек по отношению к кардиоток-

сичности крыс, индуцируемой доксорубицином. Авторы делают вывод о возможности использования экстракта виноградных косточек в химиотерапии как антиоксидантного и противовоспалительного средства.

Результаты многих исследований свидетельствуют о проявлении антиканцерогенного и антиоксидантного действия экстракта виноградных косточек. Так, например, авторы работы [10] доказали, что метанольный экстракт виноградных косточек предупреждает генотоксические и гистологические изменения в тканях мышей на клеточном уровне.

Итальянские исследователи изучили цитостатический и апоптозный эффекты на линиях клеток Сасо-2 и НСТ-8 для экстракта виноградных косточек таких сортов винограда, как Palieri и Red Globe [11].

Изучение роли экстракта косточек красного винограда *in vitro* на примере изменения ДНК и эритроцитов свидетельствуют, что этанольный и водный экстракты блокируют изученные изменения [12]. Показано, что этанольный экстракт косточек красного винограда действует более эффективно.

В работе [13] приведены результаты исследования химического состава (общего содержания полифенолов, флаван-3-олов, мономерных, полимерных, димерных галлатовых эфиров флаван-3-олов) и антирадикальной активности по методу DPPH косточек 15 сортов винограда (4 красных, 11 белых) урожая 2013 и 2014 гг. Полученные данные свидетельствуют, что сорт винограда влияет на изученные показатели.

Авторами статьи [14] исследовано влияние природы растворителя (этанол или ацетон) на антиоксидантные свойства и восстанавливающую силу экстрактов виноградных косточек как отхода от переработки винограда сорта Pok Dum. Именно использование температуры 50 °C при 6 ч экстракции 50 %-м этанолом приводит к получению экстракта с выходом 14,9 %.

В работе [15] приведены данные по изучению антиоксидантной активности экстракта виноградных косточек в отношении томатов, папайи, бананов, манго (т.е. объектов со свободным радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом). Результаты свидетельствуют, что 20 мг экстракта виноградных косточек в капсулах по содержанию витаминов заменяют 1 г каждого из названных плодов.

Антиоксидантная и антимикробная активность экстракта виноградных косточек и виноградной кожицы была исследована индийскими учеными [16]. Антиоксидантная активность изучалась методом улавливания супероксид анион и DPPH радикалов. Антимикробная активность тестировалась против *Staphylococcus aureus*, *Klesiella pneumonia*, *Eterococcus faecalis*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. По полу-

ченным показателям антиоксидантной и антимикробной активности экстракт косточек выше, чем экстракт кожицы.

В работе [17] приведены результаты анализа антиоксидантной активности. Хроматографическими методами изучен фенольный состав экстрактов виноградных косточек и виноградных выжимок нескольких сортов винограда (Cabernet Sauvignon (красный), Kalecik Karasi (красный), Narince (белый)). Виноградные косточки имеют более высокие значения показателей, что позволило турецким ученым рекомендовать их в качестве исходного сырья для получения антиоксидантов.

Таким образом, виноградные косточки могут выступать в качестве источника биологически активных веществ, в том числе антиоксидантов, а экстрагирование является одной из основных технологий извлечения этих веществ.

Объектом исследования корейских ученых являлась оптимизация и изучение влияния условий суперкритической жидкостной экстракции (температуры, давления, концентрации этанола) на эффективность экстрагирования фенольных соединений [18]. Оптимизация параметров экстракции проведена с помощью метода поверхности отклика.

Авторами работы [19] был охарактеризован химический состав и антиоксидантная активность экстрактов виноградных косточек 11 сортов винограда, произрастающего на территории Галиции. Результаты показали, что экстракты, полученные с помощью метода жидкостной экстракции, независимо от сорта винограда имеют высокое содержание полифенолов и проявляют высокую антиоксидантную активность.

Исследование содержания жиров, общих фенолов, общих антоцианинов экстрактов виноградных косточек 11 сортов винограда (Alphonse Lavallé, Ada Karasi, Sauvignon blanc, Sangiovese, Paraz Karasi, Narince, Gamay, Semillon, Cinsaut, Chardonnay, Cabernet Sauvignon), выращенных на территории Турции, Франции, Италии, позволили авторам рекомендовать виноградные косточки как компонент нутрицевтического питания [20].

В работе [21] приведены данные по необычному использованию экстракта виноградных косточек в качестве стимулирующего средства при проращивании кукурузы и овса. Этот эффект авторы связывают с наличием в составе экстракта виноградных косточек таких веществ, как полифенолы, танины, флавоноиды, антоцианины.

На примере листьев эвкалипта изучена технология экстрагирования для получения фенолов и флавоноидов [22]. Микроволновая (в течение 5 мин) или ультразвуковая (в течение 60 мин) экстракции являются альтернативой традиционному настаиванию в течение 24 ч.

Для получения антиоксидантных веществ из фрукта *Gordonia axillaris* авторами работы [23] использована микроволновая экстракция. В качестве переменных параметров изучались: концентрация этанола, соотношение сырье/растворитель, время экстракции, температура экстракции, микроволновая мощность. В результате установлено, что микроволновая экстракция может составить конкуренцию традиционному методу получения экстрактов с помощью аппарата Сокслета.

Условия ультразвуковой экстракции (концентрация этанола, время экстракции, соотношение водного этанола и сырья) были оптимизированы с помощью метода поверхности отклика на примере *Epimedium brevicornum* Maxim для получения максимального выхода фенольных соединений и антиоксидантной активности методами DPPH и FRAP [24]. В качестве наиболее эффективных были выбраны следующие параметры: концентрация этанола – 50 %, время экстракции – 2,75 мин, соотношение водный этанол и сырье – 250 мл/г.

На примере растения *Mesembryanthemum edule* L. *Aizoaceae* было установлено, что ультразвуковая экстракция является эффективным методом интенсификации экстрагирования для получения более высоких параметров антиоксидантной активности методами: ABTS, восстанавливающая сила, обесцвечивание β -каротина в системе β -каротин – линолевая кислота [25].

Аналогичные результаты были достигнуты при получении комплекса антоцианов из шелковицы [26].

Таким образом, из результатов приведенных выше исследований очевидно, что экстракция выступает в качестве основного метода получения антиоксидантных веществ из растительного сырья, а микроволновое излучение и ультразвуковая обработка интенсифицируют процесс экстрагирования.

Необходимо отметить, что целый ряд работ указывает на возможные прикладные варианты использования экстракта виноградных выжимок с антиоксидантной активностью: как компонента маффинов [27], говяжьей колбасы [28], говяжьих отбивных [29], бисквита [30], а также в качестве корма для радужной форели [31].

Целью настоящей работы являлись: 1) сравнительное исследование показателей общего содержания фенолов, флавоноидов, антиоксидантной активности косточек винограда (*Vitis vinifera* L.) винных сортов (Русский конкорд, Журавлик, Декабрьский) при проведении экстрагирования тремя способами: настаивание, микроволновое облучение, ультразвуковая обработка; 2) выбор оптимального метода экстрагирования косточек винограда для максимального извлечения биологически активных веществ (БАВ).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растительное сырье. Виноградные косточки получены из трех сортов винограда (*Vitis vinifera* L.) урожая 2018 г.: Русский конкорд, Декабрьский, Журавлик, произрастающих на территории Самарской области. Анализы повторены трижды. Для экстракции виноградные косточки были измельчены до размера 1,0–2,0 мм.

Метод мацерации для приготовления экстракта виноградных косточек. Навеску измельченных виноградных косточек 1 г (для экстракта концентрацией 0,1 г/см³) помещали в колбу с притертой пробкой, добавляли 10 мл 98 %-го этилового спирта, разбавленного водой в соотношении 1:1, выдерживали в термостате при 37 °С в течение 2 ч при непрерывном перемешивании. Далее отделяли прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течение 15 мин при скорости 3000 об./мин.

Метод приготовления экстракта виноградных косточек с использованием микроволнового излучения. Навеску измельченных виноградных косточек 1 г (для экстракта концентрацией 0,1 г/см³) помещали в колбу с притертой пробкой, добавляли 10 мл 98 %-го этилового спирта, разбавленного водой в соотношении 1:1, обрабатывали микроволновым излучением мощностью 800 Вт в течение 1 мин. Далее отделяли прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течение 15 мин при скорости 3000 об./мин.

Метод приготовления экстракта виноградных косточек с использованием ультразвукового излучения. Навеску измельченных виноградных косточек 1 г (для экстракта концентрацией 0,1 г/см³) помещали в колбу с притертой пробкой, добавляли 10 мл 98 %-го этилового спирта, разбавленного водой в соотношении 1:1, обрабатывали ультразвуковым излучением мощностью 37 кГц 90 мин при 37 °С. Далее отделяли прозрачный слой экстракта центрифугированием на центрифуге в течение 15 мин при скорости 3000 об./мин.

Метод определения общего содержания фенольных веществ. Определение фенольных веществ основано на их способности связываться с белковыми веществами, осаждаться солями металлов, окисляться и давать цветные реакции. Колориметрический метод определения общего содержания фенольных веществ основан на применении реактива Фолина. Содержание фенольных веществ в прозрачном растворе определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре. Спектр поглощения снимали при длине волны 725 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. Калькуляцию фенольных соединений в мг галловой кислоты/100 г виноградных косточек проводили по калибровочной кривой (мг ГК/100 г).

Метод определения общего содержания флавоноидов. Содержание флавоноидов опре-

деляли спектрофотометрическим методом. Спектр поглощения снимали при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. Калькуляцию флавоноидов в мг катехина/100 г виноградных косточек проводили по калибровочной кривой (мг К/100 г).

DPPH-метод (метод определения радикал-удерживающей способности с использованием реактива 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила). Колориметрию свободных радикалов 2,2-ди-фенил-1-пикрилгидразила проводили спектрофотометрическим методом на спектрофотометре при длине волны 517 нм в кювете толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения помещали этиловый спирт.

FRAP-метод (метод определения железосвязывающей активности экстрактов). Определение железосвязывающей активности проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 593 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения приливали дистиллированную воду. Определение железосвязывающей активности проводили по калибровочной кривой в ммоль Fe^{2+} /1 кг исходного сырья [32].

Метод оценки антиоксидантных свойств с использованием модельной системы с линолевой кислотой. Метод исследования на модели с линолевой кислотой основан на регистрации перокисления линолевой кислоты, которое определялось по реакции веществ, реагирующих с радикалом аммония и хлоридом железа(II) при 500 нм, образующихся при нагревании 40 °С за период 120 ч смеси из экстракта фруктов, линолевой кислоты, фосфатного буфера и Tween-20 [33].

В колбы, снабженные притертой пробкой, к 1,00 мл экстракта виноградных косточек концентрацией 0,1 мг/см³ приливали 1,00 мл 2,51 %-го спиртового раствора линолевой кислоты, 2,00 фосфатного буфера pH 7,0, добавляли 1,00 мл 50 %-го этилового спирта и 1 мл Tween 20. В пробы контроля вместо экстракта добавляли дистиллированную воду. Пробы выдерживали в термостате в течение 120 ч при температуре 40 °С. После выдержки отбирали 0,01 мл смеси, добавляли 9,70 мл 75 %-го этилового спирта, 0,10 мл 30 %-го раствора аммониевой соли тиоциановой кислоты. Выдерживали в течение 3 мин. Добавляли 0,10 мл 0,1 М раствора хлорида железа(II).

Анализ проводили спектрофотометрическим методом при длине волны 500 нм в кювете с толщиной слоя жидкости 10 мм. В кювету сравнения приливали дистиллированную воду. Результаты рассчитывали в процентах ингибирования процессов окисления линолевой кислоты.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Фенольные соединения являются одной из самых больших групп природных соединений,

проявляющих биологическую активность в широком спектре. Наиболее значимое практическое применение этих соединений – профилактика сердечно-сосудистых заболеваний [34]. Определение общего содержания фенольных соединений – неотъемлемая часть анализа антиоксидантной активности растительных систем. Результаты определения общего содержания фенольных веществ в экстрактах виноградных косточек представлены на рис. 1. Уровень фенолов в исследуемых объектах колеблется от 1104 мг галловой кислоты (ГК)/100 г исходного сырья (ИС) в экстракте, полученном методом настаивания, до 1208 мг ГК/100 г ИС в экстракте виноградных косточек, полученном с использованием ультразвуковой обработки. При практически одинаковых условиях экстракции именно использование ультразвука интенсифицирует процесс извлечения фенольных соединений из виноградных косточек.

Рис. 1. Общее содержание фенолов в экстрактах виноградных косточек

Fig. 1. Total phenol content in grape seed extracts

Флавоноиды относятся к широко известной группе вторичных метаболитов и используются в традиционной медицине как компоненты фармакологических средств [35]. Результаты определения общего содержания флавоноидов в экстрактах виноградных выжимок представлены на рис. 2. По данному показателю лидирующим является ультразвуковой экстракт виноградных косточек (780 мг катехина/100 г ИС), тогда как экстракт, полученный при помощи микроволнового излучения, имеет самое низкое значение (644 мг катехина/100 г ИС). Таким образом, по уровню двух изученных показателей именно ультразвуковой метод можно рекомендовать как метод, обеспечивающий высокий уровень фенолов и флавоноидов в случае экстракта виноградных косточек, которые, по мнению многих ученых, определяют показатели антиоксидантной активности и биологического действия.

Рис. 2. Общее содержание флавоноидов в экстрактах виноградных косточек

Fig. 2. The total flavonoids content in grape seed extracts

Улавливание свободных радикалов играет важную роль в формировании общей системы антиоксидантной активности, в том числе и для живых клеток [36]. Именно 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH) является одним из широко используемых реактивов для определения антирадикальной активности благодаря его простоте, наглядности, точности измерений, широкой апробированности.

Результаты определения антирадикальной активности экстрактов виноградных косточек методом DPPH представлены на рис. 3. Интересно отметить, что для экстрактов виноградных косточек, полученных ультразвуковым и микроволновым методами, этот показатель (0,52 и 0,82 мг/мл соответственно) приблизительно в 10 раз выше, чем для экстракта, полученного традиционной технологией настаивания (7,55 мг/мл).

Рис. 3. Антирадикальная активность экстрактов виноградных косточек

Fig. 3. Antiradical activity of grape seed extracts

FRAP-метод является одним из самых надежных и востребованных для оценки способности антиоксиданта тормозить катализирующее действие ионов металлов на окислительные процессы [37]. Результаты определения значения FRAP для экстрактов виноградных косточек

представлены на рис. 4. По способности антиоксиданта тормозить катализирующее действие ионов металлов все изученные объекты – экстракты виноградных косточек, можно расположить в следующий ряд по значению антиоксидантной активности, измеренной методом FRAP: ультразвуковой экстракт (21,87 ммоль Fe²⁺/1 кг) > микроволновой экстракт (14,42 ммоль Fe²⁺/1 кг) > экстракт, полученный методом настаивания (13,40 ммоль Fe²⁺/1 кг).

Рис. 4. Восстанавливающая сила экстрактов виноградных косточек

Fig. 4. Regenerating power of grape seed extracts

Реальные пищевые системы чаще всего состоят из некоторого количества сухих веществ и значительной доли воды и жира. Для оценки способности антиоксиданта тормозить процессы окисления жирных кислот используется модельная система с линолевой кислотой [38]. Результаты определения антиоксидантной активности экстрактов виноградных косточек в системе линолевая кислота представлены на рис. 5. По уровню этого показателя именно экстракты виноградных косточек, полученные ультразвуковой и микроволновой экстракциями, способны тормозить окисление линолевой кислоты на 70,6 и 62,4 % соответственно, тогда как экстракт виноградных косточек, полученный методом настаивания, имеет более низкий показатель.

Рис. 5. Антиоксидантная активность экстрактов виноградных косточек

Fig. 5. Antioxidant activity of grape seed extract

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного анализа влияния традиционного метода настаивания (мацерации) и инновационных технологий (микроволновое облучение, ультразвуковая обработка) на уровень содержания фенолов и флавоноидов, а также показатели антиоксидантной активности в экстрактах косточек винограда

показано, что из трех методов извлечения биологически активных веществ наибольший выход фенолов и флавоноидов дает УЗ-обработка, несколько меньше – СВЧ-облучение.

Антиоксидантная активность БАВ, изученная этими методами, значительно превышает активность экстракта, полученного методом мацерации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Vanamala J. Food systems approach to cancer prevention. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(12):2573–2588. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1028023>.
2. Hassan HA, Edrees GM, El-Gamel EM, El-sayed EA. Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity by grape seed extract and fish oil is mediated by lowering oxidative stress and DNA damage. *Cytotechnology*. 2014;66(3):419–429. <https://doi.org/10.1007/s10616-013-9589-8>
3. Feng L-L, Liu B-X, Zhong J-Y, Sun L-B, Yu H-S. Effect of grape procyanidins on tumor angiogenesis in liver cancer xenograft models. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2014;15:737–741.
4. Silvan JM, Mingo E, Martinez-Rodriguez AJ. Grape seed extract (GSE) modulates *Campylobacter* pro-inflammatory response in human intestinal epithelial cell lines. *Food and Agricultural Immunology*. 2017;28(5):739–753. <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1312292>
5. Ranjitha CY, Priyanka S, Deepika R, Smitha Rani GP, Sahana J, Prashith Kekuda TR. Antimicrobial activity of grape seed extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014;3(8):1483–1488.
6. Rasines-Perea Z, Teissedre P-L. Grape polyphenols effects in human cardiovascular diseases and diabetes. *Molecules*. 2017;22(1):68. <https://doi.org/10.3390/molecules22010068>
7. Ganjali Z, Javadian F, Estakhr J, Heidari A. Anti-lipidemic and anti-hyperglycemic properties of methanolic extracts of grape seed in diabetic rats. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2012;4(3):173–175.
8. Yu J, Mi Y, Ji S. *In vitro* evaluating the influence of grape seed polyphenol extract on the digestibility of macronutrients. *Journal of Health Science*. 2016;4:167–176. <https://doi.org/10.17265/2328-7136/2016.04.001>
9. Razmaraii N, Babaei H, Nayebi AM, Asadnassab G, Helan JA, Azarmi Y. Cardioprotective effect of grape seed extract on chronic doxorubicin-induced cardiac toxicity in Wistar rats. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2016;6(3):423–433. <https://doi.org/10.15171/apb.2016.055>
10. Aboul-ela EI, Omara EA. Genotoxic and histopathological aspects of treatment with grape seed extract on cancer induced with cyclophosphamide in mice. *Cell Biology*. 2014;2(3):18–27. <https://doi.org/10.11648/j.cb.20140203.11>
11. Dinicola S, Cucina A, Pasqualato A, D'Anselmi F, Proietti S, Lisi E, et al. Antiproliferative and apoptotic effects triggered by grape seed extract (GSE) versus epigallocatechin and procyanidins on colon cancer cell lines. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012;13(1):651–664. <https://doi.org/10.3390/ijms13010651>
12. Hassan HMM. Protective effects of red grape seed extract on DNA, brain and erythrocytes against oxidative damage. *Global Journal of Pharmacology*. 2013;7(3):241–248. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2013.7.3.1108>
13. Giannini B, Mulinacci N, Pasqua G, Innocenti M, Valletta A, Cecchini F. Phenolics and antioxidant activity in different cultivars/clones of *Vitis vinifera* L. seeds over two years. *Plant Biosystems*. 2016;150(6):1408–1416. <https://doi.org/10.1080/11263504.2016.1174174>
14. Vayupharp B, Laksanalamai V. Recovery of antioxidants from grape seeds and its application in fried food. *Journal of Food Processing and Technology*. 2012;3(4). 6 p. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000152>
15. Songsermsakul P, Pornphairin E, Porasuphatana S. Comparison of antioxidant activity of grape seed extract and fruits containing high β -carotene, vitamin C, and E. *International Journal of Food Properties*. 2013;16:643–648. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.561462>
16. Nirmala JG, Narendhirakannan RT. *In vitro* antioxidant and antiradical activities of grapes (*Vitis vinifera* L.) seed and skin extracts – muscat variety. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2011;3(4):242–249.
17. Baydar NG, Babalik Z, Türk FH, Çetin ES. Phenolic composition and antioxidant activities of wines and extracts of some grape varieties grown in Turkey. *Journal of Agricultural Sciences*. 2011;17:67–76.
18. Ghafoor K, Al-Juhaimi FY, Choi YH. Supercritical fluid extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape (*Vitis labrusca* B.) seeds. *Plant Foods Human Nutrition*. 2012;67(4):407–414. <https://doi.org/10.1007/s11130-012-0313-1>
19. Garcia-Jares C, Vazquez A, Lamas JP, Pajaro M, Alvarez-Casas M, Lores M. Antioxidant white grape seed phenolics: pressurized liquid extracts from different varieties. *Antioxidants*. 2015;4(4):737–749. <https://doi.org/10.3390/antiox4040737>
20. Al Juhaimi FY, Geçgel Ü, Gülcü M, Hamarcu M, Özcan MM. Bioactive properties, fatty acid composition and mineral contents of grape

seed and oils. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 2017;38(1):103–108. <https://doi.org/10.21548/38-1-1042>

22. Ignat I, Stingu A, Volf I, Popa VI. Characterization of grape seed aqueous extract and possible applications in biological systems. *Cellulose Chemistry and Technology*. 2011;45(3-4):205–209.

23. Gharekhani M, Ghorbani M, Rasoulnejad N. Microwave-assisted extraction of phenolic and flavonoid compounds from *Eucalyptus camaldulensis* Dehn leaves as compared with ultrasound-assisted extraction. *Latin American applied research*. 2012;42(3):305–310.

24. Li Y, Li S, Lin S-J, Zhang J-J, Zhao C-, Li H-B. Microwave-assisted extraction of natural antioxidants from the exotic *Gordonia axillaris* fruit: optimization and identification of phenolic compounds. *Molecules*. 2017, vol. 22, pp. 1481.

25. Zhao Y, Hou Y, Tang G, Cai E, Liu Sh, Yang H, et al. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Epimedium brevicornum* Maxim using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activities *in vitro*. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2014. ID 864654. 7 p. <https://doi.org/10.1155/2014/864654>

26. Falleh H, Ksouri R, Lucchessi M-E, Abdelly Ch, Mangé Ch. Ultrasound-assisted extraction: effect of extraction time and solvent power on the levels of polyphenols and antioxidant activity of *Mesembryanthemum edule* L. *Aizoaceae* shoots. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2012;11(2):243–249. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v11i2.10>

27. Zou T-B, Wang M, Gan R-Y, Ling W-H. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from mulberry, using response surface methodology. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011;12(5):3006–3017. <https://doi.org/10.3390/ijms12053006>

28. Jaisanthi J, Banu AT. Phytonutrient composition, antioxidant activity and acceptability of baked product incorporated with grape seed extract. *Journal of Human Nutrition and Food Science*. 2014;2(6):1049.

29. El-Zainy ARM, Morsy AE, Sedki AG, Mossa NM. Polyphenols grape seeds extract as antioxi-

dant and antimicrobial in beef sausage. *International Journal of Current Science*. 2016;19(2):112–121.

30. Tajik H, Aminzare M, Raad TM, Hashemi M, Azar HH, Raeisi M, et al. Effect of Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract on the shelf life of raw buffalo patty and fate of inoculated *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2015;39(6):3005–3013. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12553>

31. Pasqualone A, Bianco AM, Paradiso VM, Summo C, Gambacorta G, Caponio F. Physico-chemical, sensory and volatile profiles of biscuits enriched with grape marc extract. *Food Research International*. 2014;65:385–393.

32. Hassanzadeh P, Moradi M, Vaezi N, Moosavy M-H, Mahmoudi R. Effects of chitosan edible coating containing grape seed extract on the shelf-life of refrigerated rainbow trout fillet. *Veterinary Research Forum*. 2018;9(1):73–79.

33. Valeeva AR, Makarova NV, Valiulina DF. Optimisation of conditions for extracting bioactive compounds exhibiting antioxidant properties from hawthorn fruit (*Crataegus*). *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2019;9(2):239–249. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-239-249>

34. Yeşiloğlu Y. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of extracts from *Vitis vinifera* L. *Bulgarian Chemical Communications*. 2016;48: 9–13.

35. Huang D. Dietary antioxidants and health promotion. *Antioxidants*. 2018;7(1):9. <https://doi.org/10.3390/antiox7010009>

36. Fernandes IL, Pérez RG, Soares S, Mateus N, de Freitas V. Wine flavonoids in health and disease prevention. *Molecules*. 2017;22(2):292. <https://doi.org/10.3390/molecules22020292>

37. Arina NB, Rohman A. The phenolic contents and antiradical activity of Indonesian *Phyllanthus urinaria* L. *International Food Research Journal*. 2013;20(3):1119–1124.

38. Rabeta MS, Nur Faraniza R. Total phenolic content and ferric reducing antioxidant power of the leaves and fruits of *Garcinia atrovirens* and *Cynometra cauliflora*. *International Food Research Journal*. 2013;20(4):1691–1696.

Критерии авторства

Валиулина Д.Ф., Макарова Н.В., Еремеева Н.Б. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Валиулина Д.Ф., Макарова Н.В., Еремеева Н.Б. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Nadezhda V. Makarova, Dinara F. Valiulina, Natalya B. Eremeeva carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Nadezhda V. Makarova, Dinara F. Valiulina, Natalya B. Eremeeva have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Макарова Надежда Викторовна,
д.х.н., профессор, заведующая
кафедрой технологии и организации
общественного питания,
Самарский государственный технический
университет,
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,
Российская Федерация,
✉ e-mail: makarovanv1969@yandex.ru

Валиулина Динара Фанисовна,
к.т.н., доцент,
Самарский государственный технический
университет,
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,
Российская Федерация,
e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

Еремеева Наталья Борисовна,
старший преподаватель,
Самарский государственный технический
университет,
443100, г. Самара, ул. Молодогвардейская, 244,
Российская Федерация
e-mail: rmvnatasha@rambler.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nadezhda V. Makarova,
Dr. Sci. (Chemistry),
Head of Department of Technology
and Organization of Public Catering,
Samara State Technical University,
244 Molodogvardeiskaya St., Samara 443100,
Russian Federation,
✉ e-mail: makarovanv1969@yandex.ru

Dinara F. Valiulina,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Samara State Technical University,
244 Molodogvardeiskaya St., Samara 443100,
Russian Federation,
e-mail: dinara-bakieva@mail.ru

Natalya B. Eremeeva,
Chief Lecturer,
Samara State Technical University,
244 Molodogvardeiskaya St., Samara 443100,
Russian Federation,
e-mail: rmvnatasha@rambler.ru