

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202291421 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.05(51) Int. Cl. A23L 13/40 (2016.01)
A23L 29/206 (2016.01)(22) Дата подачи заявки
2020.11.06

(54) СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ТИМОГИДРОХИНОНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕКОМ, И КОРМОВ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ И РОДСТВЕННЫЕ СПОСОБЫ

(31) 62/933,103; 63/035,265

(32) 2019.11.08; 2020.06.05

(33) US

(86) PCT/US2020/059447

(87) WO 2021/092411 2021.05.14

(71) Заявитель:

КЕМИН ИНДАСТРИЗ, ИНК. (US)

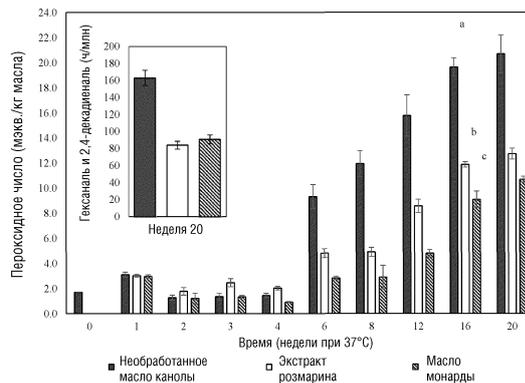
(72) Изобретатель:

Бань Лань, Шэнь Чиа-Юй, Шредер
Уилльям Д., Джанкер Кристен Р.,
Джилдермастер Ивонн, Шайна-
Фуллер Ева, Рэй Кэрри (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение в целом относится к дополнительным ингредиентам, стабилизирующим пищевые композиции, а также к способам стабилизации пищевых продуктов или кормов для домашних животных с использованием тимогидрохинона (THQ), отдельно или в синергическом сочетании с другими антиоксидантами. Обнаружено, что применение THQ для предотвращения окисления пищевых продуктов и кормов для животных является неожиданно эффективным в отношении стабилизации всех типичных пищевых основ, включающих в себя жиры/масла, жирные продукты, готовые продукты и мясо/птицу.



A1

202291421

202291421

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-574062EA/019

СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ТИМОГИДРОХИНОНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕКОМ, И КОРМОВ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ И РОДСТВЕННЫЕ СПОСОБЫ ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Настоящая заявка испрашивает преимущество приоритета предварительной заявки на патент США № 63/035265, поданной 5 июня 2020 г., под заголовком " СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ТИМОГИДРОХИНОНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕКОМ, И КОРМОВ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ И РОДСТВЕННЫЕ МЕТОДЫ", и предварительной заявки на патент США № 62/933103, поданной 8 ноября 2019 г. под заголовком " СИСТЕМА НА ОСНОВЕ ТИМОГИДРОХИНОНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЧЕЛОВЕКОМ, И КОРМОВ ДЛЯ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ И РОДСТВЕННЫЕ МЕТОДЫ ", полное описание которых включено в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение в целом относится к ингредиенту пищевых продуктов, предназначенных для потребления человеком, и кормов для домашних животных, более конкретно, к применению тимогидрохинона (ТНҚ) в качестве ингредиента, отдельно или в синергическом сочетании с другими антиоксидантами, для замедления окисления пищевых продуктов и кормов для домашних животных.

В маслах и жирах, а также в пищевых формах, содержащих масла и жиры, включая корма для домашних животных, может происходить окисление липидов, приводящее к возникновению неприятного запаха, привкуса и прогорклости. Применение антиоксидантов в этих формах способствует ингибированию или замедлению окисления липидов и, следовательно, продлевает срок годности продукта. В качестве антиоксидантов в кормах для домашних животных традиционно используют токоферолы.

Семена *Nigella sativa* (черное семя или черный тмин), двудольного растения семейства Ranunculaceae, на протяжении тысячелетий использовались в качестве приправы и консерванта для пищевых продуктов. Черный тмин представляет собой однолетнее травянистое растение, широко выращиваемое в странах Средиземноморья, Ближнего Востока, Восточной Европы и Западной Азии. На Ближнем Востоке, в Северной Африке и Индии, его веками традиционно использовали для лечения астмы, кашля, бронхита, головной боли, ревматизма, лихорадки, гриппа и экземы, а также в качестве антигистаминного, противодиабетического и противовоспалительного средства.

Масло и компоненты семян черного тмина, в частности тимохинон (ТQ), обладают потенциальными лечебными свойствами, в том числе противовоспалительными, полезными иммуномодулирующими, противомикробными и противоопухолевыми свойствами. Другие функциональные компоненты масла черного тмина включают п-

цимен, карвакрол, тимогидрохинон (ТНҚ), α -туйен, тимол, трет-анетолд, β -пинен, α -пинен и γ -терпинен.

Третичный бутилгидрохинон (ТВНҚ), бета-гидроксильная кислота (ВНА) и бутилированный гидрокситолуол (ВНТ) являются эффективными синтетическими антиоксидантами, обеспечивающими увеличение срока годности пищевых продуктов. Однако они являются синтетическими, а в настоящее время предпочитают природные антиоксиданты. Антиоксиданты растительного происхождения с аналогичной эффективностью очень востребованы на рынке. Однако до сих пор отсутствуют ингредиенты, эффективность которых равна эффективности синтетических антиоксидантов, и отсутствуют натуральные ингредиенты, широко используемые в разных пищевых продуктах. Например, экстракт розмарина, содержащий карнозиновую кислоту/карнозол в качестве активных молекул, является мощным антиоксидантом для белковых форм, но обладает ограниченной эффективностью в заправках/майонезах и наливных растительных маслах. Успешная разработка тимогидрохинона (ТНҚ) в смеси с другими антиоксидантами может быть полезна для пищевой промышленности и производства кормов для домашних животных при широкой области применения.

В свете указанных и других причин можно сделать вывод, что уже давно существует потребность в настоящем изобретении.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к способам повышения стабильности разных типов пищевых продуктов и кормов для домашних животных путем добавления тимогидрохинона (ТНҚ) или экстракта монарды, содержащего ТНҚ, в присутствии или в отсутствие других антиоксидантов, которые, как показано, обеспечивают аддитивный или синергетический эффект, таких как экстракт розмарина, аскорбиновая кислота или растворимый в масле зеленый чай. Неожиданно было обнаружено, что композиции по настоящему изобретению эффективны во всех типовых пищевых формах, включающих жиры/масла, жирные продукты и мясо/птицу.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На фиг. 1 приведены химические структуры четырех компонентов эфирного масла монарды (МЕО), а именно ТQ, карвакрола, тимола и ТНҚ.

На фиг. 2 показаны результаты первоначального скрининга антиоксидантов. Эфирное масло монарды используют для обработки масла канолы. В образцах определяют степень окисления путем измерения перексидного числа. Образцы анализируют на вторичное окисление путем измерения содержания гексаналя и 2,4-декадиенала. Экстракт розмарина используют в качестве положительного контроля.

На фиг. 3 показаны результаты первоначального скрининга антиоксидантов. Эфирное масло монарды используют для обработки куриного жира. В образцах определяют степень окисления путем измерения перексидного числа. Образцы анализируют на вторичное окисление путем измерения содержания гексаналя и 2,4-декадиенала. Экстракт розмарина используют в качестве положительного контроля.

На фиг. 4 показаны результаты анализа эфирного масла монарды (МЕО) методом ВЭЖХ.

На фиг. 5 показаны пероксидные числа, определяемые на протяжении всего исследования, а также содержание гексаналя и 2,4-декадиеналя в конечной точке тестирования, на 24 неделе.

На фиг. 6 показаны результаты анализа антиоксидантной активности тимогидрохинона по сравнению с трет-бутилгидрохиноном в масле канолы, рыбьем жире и курином жире.

На фиг. 7 показаны пероксидные числа и содержание альдегидов в гранулах, содержащих ТНQ, ТВНQ и СА, нанесенные на масло канолы, покрывающее их поверхность.

На фиг. 8 и 9 показаны пероксидные числа, определенные в процессе тестирования антиоксидантной активности тимогидрохинона в сочетании с токоферолами и экстрактом розмарина в кормах для домашних животных.

На фиг. 10 показаны пероксидные числа, определенные в рыбной муке, обработанной двумя разными композициями.

На фиг. 11 приведены данные по образованию побочных продуктов окисления.

На фиг. 12-15 показаны результаты анализа пероксидов для четырех разных групп, обработанных ТНQ.

На фиг. 16 показан график основного эффекта для PV.

На фиг. 17 и 18 показаны антагонистические эффекты трех растительных экстрактов.

На фиг. 19 показаны пероксидные значения, полученные в результате синергического действия TQ и аскорбиновой кислоты.

На фиг. 20 показаны результаты OSI для ТНQ, аскорбиновой кислоты и их сочетаний.

На фиг. 21 и 22 показана стабильность при хранении соевого масла, обработанного экстрактом розмарина, экстрактом монарды, содержащим ТНQ, и их сочетанием.

На фиг. 23 и 24 показана стабильность при хранении соевого масла, обработанного GT-FORT, экстрактом монарды, содержащим ТНQ, и их сочетанием.

На фиг. 25 показаны результаты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA значений содержания TBARS в течение 14-дневного периода хранения в холодильнике.

На фиг. 26 показаны оценки сенсорного восприятия 8-дневных охлажденных пирожков.

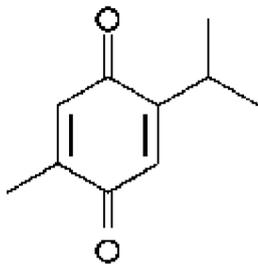
На фиг. 27 показаны значения содержания TBARS, полученные в течение 11-дневного периода хранения в холодильнике.

На фиг. 28 показаны результаты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA значений содержания TBARS.

На фиг. 29 приведены фотографии котлет из свиного фарша.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Исследования показали, что тимогидрохинон (ТНҚ) является эффективным ингредиентом, замедляющим окисление пищевых продуктов и кормов для домашних животных. Его предшественник, тимохинон (ТҚ), также известный как 2-изопропил-5-метилбензо-1,4-хинон, представляет собой известную молекулу, которая присутствует в относительно больших количествах в разных растительных материалах. Авторы настоящего изобретения недавно разработали клональную линию растения *Monarda fistulosa* с высоким содержанием ТҚ и полученный растительный материал подвергли перегонке с получением эфирного масла с высоким содержанием ТҚ. Однако настоящее изобретение можно осуществить с использованием любого источника, содержащего ТҚ, такого как *Nigella sativa* и отдельные растения *Monarda*, включающие в себя *Monarda fistulosa*, *Monarda punctata*, *Monarda didyma* и *Monarda citriodora*. ТҚ имеет следующую химическую структуру:



Предшественник ТҚ можно восстановить до ТНҚ с помощью известных способов восстановления. Такие способы хорошо известны специалистам в данной области и включают в себя обычные способы восстановления, например, с использованием металлов и других восстанавливающих реагентов.

Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что ТНҚ или ТҚ можно эффективно использовать в составе экстракта растения *Monarda* в качестве антиоксидантов для кормов для домашних животных, например, в качестве антиоксиданта для куриной муки. Кроме того, авторы изобретения определили аддитивные или синергетические пары из сочетаний ТНҚ с другими известными антиоксидантными молекулами. Эти пары включают ТҚ+аскорбиновую кислоту, ТНҚ+аскорбиновую кислоту, ТНҚ+экстракт розмарина, ТНҚ+маслорастворимый экстракт зеленого чая, которые можно использовать в разных формах пищевых продуктов и кормов для домашних животных. Источники ТҚ или ТНҚ могут быть получены из чистых соединений или из растительного экстракта, содержащего ТҚ или ТНҚ. Открытие сочетаний позволяет более эффективно использовать антиоксиданты для замедления окисления липидов в пищевых продуктах и кормах для домашних животных. Для специалистов в данной области будет очевидно, что необходимо также присутствие восстанавливающего реагента.

Настоящее изобретение можно использовать для обработки и предотвращения окисления пищевого продукта или корма для домашних животных любого типа, включающего в себя, без ограничения, жиры/масла, пищевые эмульсии (масло-в-воде или вода-в-масле), жирные пищевые продукты, жидкости мяса/птицы, волокнистые вещества,

кристаллы и пористые структуры.

ТНQ можно добавить к любому ингредиенту корма для домашних животных или пищевого продукта перед получением корма для домашних животных и пищевого продукта, такому как белковая мука, животные белки, животные жиры/масла или растительные масла. Переработанная белковая мука, используемая в кормах для домашних животных, включает в себя куриную, птичью, говяжью, свиную или рыбную муку. Животные белки включают мясной фарш или цельную мышечную ткань курицы, коровы и свиньи, пригодные для потребления человеком. ТНQ также можно добавить в сухую смесь в качестве обработки основы корма для домашних животных или в сухую смесь/жидкий солевой раствор, которые будут добавлены в пищевой продукт, предназначенный для человека, в ходе последующей обработки.

Кроме того, ТНQ-содержащий жир/масло можно добавлять в корм для домашних животных в процессе производства или наносить на поверхность готового корма для домашних животных, или добавлять в композицию для выпечки хлебобулочных изделий. ТНQ можно добавлять в любые корма для домашних животных, такие как сухой экструдированный корм или влажный корм.

Согласно по меньшей мере одному варианту осуществления, в одном аспекте способа пищевой продукт или корм для домашних животных обрабатывают источником ТНQ. Для этой цели подходит любой источник ТНQ, такой как растения *Monarda fistulosa*, *Monarda punctata*, *Monarda didyma*, *Monarda citriodora* и *Nigella sativa*. Кроме того, ТНQ можно получить путем добавления ТQ с последующим восстановлением до ТНQ с помощью восстанавливающего реагента или других восстанавливающих средств. В альтернативных вариантах можно использовать синтетический ТНQ.

ТНQ или источник ТНQ, как правило, можно объединять с пищевым продуктом или кормом для домашних животных в количестве, обеспечивающем достижение содержания ТНQ, изначально или после восстановления, в диапазоне примерно 10-1000 частей на миллион/массы пищевого продукта или корма для домашних животных, в соответствии по меньшей мере с одним вариантом осуществления примерно 20-500 частей на миллион. Ингредиенты необязательно смешивают при комнатной температуре (25-30°C) при перемешивании. Согласно по меньшей мере одному варианту осуществления ингредиенты смешивают при разных температурах, например при охлаждении, или при температуре ниже комнатной. В альтернативных вариантах ингредиенты можно смешивать при повышенных температурах, таких как 30-40°C.

Согласно по меньшей мере одному варианту осуществления ингредиенты необязательно объединяют при перемешивании для улучшения смешиваемости. Ингредиенты также можно объединять без перемешивания.

По меньшей мере в одном варианте осуществления изобретения ТНQ наносят в виде покрытия на пищевой продукт или корм для домашних животных путем распыления или с помощью других традиционных способов.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что ТНQ,

содержащийся в растениях и/или экстрактах *Monarda*, является антиоксидантом с превосходной антиоксидантной активностью и согласно по меньшей мере одному варианту осуществления обеспечивает наилучшие антиоксидантные результаты при объединении с пищевыми продуктами. Так, в целях снижения стоимости, придания меньшего вкуса корму и т. д., в зависимости от конкретного применения, рядовые специалисты могут выделить только ТНҚ как компонент монарды (или других растительных источников ТНҚ) и включить его в качестве антиоксиданта в состав пищевых продуктов/кормов для домашних животных. Таким образом, по меньшей мере в одном варианте осуществления изобретения ТНҚ является единственным антиоксидантом, который добавляют к композиции пищевого продукта или корма для домашних животных, смешивают с указанной композицией, или наносят на нее.

В другом варианте осуществления изобретения в состав пищевого продукта или корма для домашних животных можно включить вместе с ТНҚ по меньшей мере один другой антиоксидантный ингредиент, обеспечивающий аддитивное/синергическое антиоксидантное действие. К таким антиоксидантам относятся мята курчавая, розмарин, экстракт ацеролы, аскорбиновая кислота и зеленый чай. В случае их использования содержание мяты курчавой может находиться в диапазоне примерно 10-1000 частей на миллион, аскорбиновой кислоты - примерно 100-1000 частей на миллион, зеленого чая - примерно 1000-3500 частей на миллион и розмарина - примерно 50-500 частей на миллион. По меньшей мере в одном варианте осуществления настоящего изобретения в качестве антиоксидантов при получении пищевого продукта/корма для домашних животных используют только ТНҚ и по меньшей мере один из мяты курчавой, аскорбиновой кислоты, зеленого чая или розмарина.

Ингредиенты по настоящему изобретению можно либо смешивать последовательно, либо все сразу добавлять в пищевой продукт или корм для домашних животных с получением уникальной композиции по настоящему изобретению. По меньшей мере в одном варианте осуществления настоящего изобретения ТНҚ и/или другой антиоксидант сначала объединяют, а затем распыляют или наносят на поверхность пищевого продукта или корма для домашних животных.

Нижеследующие примеры предлагаются для иллюстрации, но не для ограничения изобретения.

Так, следует понимать, что можно осуществить разные модификации композиции, а также модификации способа доставки, не отступая от сущности изобретения.

ПРИМЕР 1

Антиоксидантная активность тимогидрохинона

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Масло канолы марки Nu-Vee получают от Nu-Vee (Des Moines, IA). Куриный жир (лот 6-24-16) получают от Tyson (Clarksville, AR). Omega Protein, Inc. (Reedville, VA) поставляет рыбий жир (Virginia Prime Gold, рафинированный Menhaden, лот HSc-11452).

Эфирное масло монарды (*Monarda fistulosa*, №244 (используют в скрининге) и №246 (используют в экспериментах по определению активных молекул), 25% тимохинона) получают от Specialty Crop Improvement. Экстракт розмарина (RM015425, лот 1603114407 (используют в скрининге) и лот 1612111504 (используют в экспериментах по определению активных молекул, а также в экспериментах по определению эффективности тимогидрохинона) и 95% смесь токоферолов (RM15515, лот 1504100490, 95,57%) используют в качестве положительных контролей и получают от Kemin Animal Nutrition and Health. Тимохинон (лот MKCB6982, 98%), карвакрол (лот 090428BJV, 98%), тимол (лот 090M0155V, 99,5%) и трет-бутилгидрохинон (лот MKBN5279V, 97%) приобретают у Aldrich (St. Louis, MO). Тимогидрохинон получают восстановлением тимохинона металлическим цинком по известному способу. Stolow, R.D., McDonagh, P.A., Bonaventura, M. M. J. Am. Chem. Soc. 1964, 86: 2165-2170. Гранулированный корм для собак производит Wenger (Sabetha, KS).

Измерение пероксидного числа

В ходе исследования анализируют степень окисления в образцах путем измерения пероксидного числа. Для каждого момента времени получают образцы с тремя повторами. Получение и анализ образцов осуществляют с помощью метода FOX II, используемого для количественного определения пероксидного числа (MET-11-00040). Результаты выражают в мэкв/кг масла для всех масляных образцов и в мэкв/кг гранул для гранулированных образцов.

Измерение альдегидов (гексаналя и 2,4-декадиенала)

Образцы анализируют на вторичное окисление путем измерения содержания гексаналя и 2,4-декадиенала. Вследствие ограниченных инструментальных ресурсов данного метода тестирования отдельные образцы получают и анализируют на вторичное окисление методом ГХ (MET-11-00038). Результаты выражают в виде суммы гексаналя и 2,4-декадиенала в частях на миллион.

Анализ методом ВЭЖХ

Эфирное масло монарды отвешивают с тремя повторами (7-18 мг), записывают точную массу и растворяют в 5 мл ацетонитрила в мерной колбе объемом 5 мл. Раствор перемешивают с помощью вихревой мешалки, затем переносят во флакон для ВЭЖХ и 1 мкл вводят в систему ВЭЖХ. Для построения стандартных кривых используют стандарты тимохинона (TQ, 99,0%), карвакрола (98,0%) и тимола (99,5%). Для построения стандартной кривой ТНҚ используют полученный в лаборатории тимогидрохинон (ТНҚ), чистота которого составляет >95% по данным ЯМР-анализа.

Стандартные растворы тимола, карвакрола и ТНҚ получают таким же способом, отвешивая стандарт (8-15 мг) и разбавляя до 25 мл ацетонитрилом в мерной колбе объемом 25 мл, затем берут аликвоту 0,1 мл и разбавляют ее до 1 мл непосредственно во флаконе для ВЭЖХ, после чего строят стандартную кривую с шестью точками, используя шесть объемов инъекции (0,5, 1, 2, 5, 10 и 20 мкл). Вследствие интенсивного ответа ТҚ, отвешивают 7 мг и разбавляют до 100 мл ацетонитрилом в мерной колбе объемом 100 мл,

затем берут аликвоту 0,05 мл и разбавляют ее до 1 мл непосредственно во флаконе для ВЭЖХ. Используют такие же объемы инъекции, как и для других стандартных соединений. Анализ проводят на системе ВЭЖХ Agilent 1260 Infinity, используя DAD (257 и 280 нм) и колонку Phenomenex (Kinetex C18, 5 м, 250×4,6 мм, 100 Å). Подвижная фаза А представляет собой воду, содержащую 0,1% уксусной кислоты, подвижная фаза В представляет собой ацетонитрил, содержащий 0,1% уксусной кислоты. В таблице 1 показаны параметры метода. Результаты, полученные при использовании ТQ, карвакрола, тимола и ТНQ, выражают в процентах от МЕО.

Таблица 1.

Параметры метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, используемые для анализа эфирного масла монарды.

| Время (мин) | Линия А (%) | Линия В (%) |
|--|--|-------------|
| 0,0 | 77 | 23 |
| 1,0 | 77 | 23 |
| 25,0 | 0 | 100 |
| 30,0 | 0 | 100 |
| 35,0 | 77 | 23 |
| Температура колонки | 30°C | |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин | |
| Поглощение | 280 нм для тимола, карвакрола, тимогидрохинона 257 нм для тимохинона | |
| Параметры интеграции: чувствительность к переходу | 1 | |
| Ширина пика | 0,04 | |
| Отбрасывание по площади пика/отбрасывание по высоте | 1/1 | |
| Щель детектора | 4 нм | |

Инструмент окислительной стабильности

Антиоксидантную активность ТНQ и молекул положительного контроля в масле канолы, рыбьем жире и курином жире измеряют методом KNRDM-005, Определение степени окисления с помощью инструмента для тестирования устойчивости к окислению. Каждый образец масла канолы получают с двумя повторами, а каждый образец рыбьего жира и куриного жира получают с тремя повторами. Образцы масла канолы и куриного жира анализируют при 100°C, а рыбьего жира - при 80°C. Результаты выражают в виде процента улучшения по сравнению с необработанным контролем.

Статистический анализ

Однофакторный дисперсионный анализ (StatGraphics Centurion XV) используют для определения значимых различий в значениях пероксидного числа и активности, измеренной с помощью OSI ($p < 0,05$), полученных при обработке разными антиоксидантами. В случае значимых различий для разделения средних значений используют многомерный критерий размаха выборки. На фиг. 5, вследствие большой вариабельности необработанных образцов, также используют t-критерий Стьюдента для анализа образцов, обработанных THQ, и всех образцов, гомогенных по результатам ANOVA.

Первичный скрининг антиоксидантов

Первичный скрининг антиоксидантов состоит из исследований массы масла и массы жира для определения активности в каждом веществе. Эфирное масло монарды и экстракт розмарина используют для обработки либо 200 г масла канолы, либо 200 г куриного жира. Все образцы получают с одним повтором. Для каждой обработки используют норму внесения активной молекулы 250 частей на миллион. Следовательно, для достижения целевого уровня активной молекулы (молекул) 250 частей на миллион используют разные массы каждого вещества (таблица 2). Необработанное масло канолы (200 г) и необработанный куриный жир (200 г) используют в качестве отрицательных контролей, тогда как экстракт розмарина, содержащий 10% карнозиновой кислоты, используют в качестве положительного контроля. Образцы масла канолы хранят в инкубаторе при 37°C в течение 20 недель, а образцы куриного жира хранят в инкубаторе при 50°C в течение 24 недель. Образцы анализируют на содержание пероксидов и альдегидов.

Таблица 2. Получение образцов для исследований массы масла и жира.

| Обработка (вещество) | Количество добавленного вещества (г) | Внесение активных соединений (ч./млн) | Известные активные вещества |
|-------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| Необработанное вещество | - | 0 | - |
| Экстракт розмарина | 0,500 | 250 | 10% карнозиновая кислота |
| Эфирное масло монарды | 0,200 | 250 | 25% тимохинон |
| | | | |
| | | | |

Определение активных молекул в эфирном масле монарды (МЕО)

Компоненты МЕО, а именно TQ, карвакрол, тимол и THQ, добавляют к маслу в

количестве, соответствующем их количеству в МЕО (таблица 3). Кроме того, используют концентрации МЕО 500, 1000 и 2000 частей на миллион, чтобы определить, существует ли зависимость доза-ответ. Концентрацию 1000 ч./млн сравнивают с отдельными соединениями, а также с сочетаниями соединений. Кроме того, четыре активных соединения (ТQ, карвакрол, тимол и ТНQ) объединяют в масле канолы и тестируют в тех же соотношениях и концентрациях, что и соответствующие отдельные соединения. Химические структуры этих четырех соединений показаны на фиг. 1. Необработанное масло канолы (200 г) используют в качестве отрицательного контроля, а экстракт розмарина используют в качестве положительного контроля. Все образцы получают с одним повтором массой 200 г. Образцы масла канолы хранят в инкубаторе при температуре 37°C в течение 24 недель. Окисление образцов масла определяют по накоплению гидропероксидов и альдегидов.

Таблица 3. Получение образцов для исследования разливного масла канолы.

| Обработка (вещество или соединение) | Количество добавленного вещества (г) | Внесение активных соединений (ч./млн) | Процент соединения в эфирном масле монарды |
|--|--|---|--|
| Необработанное вещество | - | 0 | - |
| Экстракт розмарина | 0,500 | 250 | NA |
| Эфирное масло монарды | 0,100 | 500 ч./млн МЕО | NA |
| Эфирное масло монарды | 0,200 | 1000 ч./млн МЕО | NA |
| Эфирное масло монарды | 0,400 | 2000 ч./млн МЕО | NA |
| Тимохинон | 0,050 | 250 | 25 |
| Карвакрол | 0,022 | 110 | 11 |
| Тимол | 1,6 мг | 8 | 0,8 |
| Тимогидрохинон | 7,8 мг | 39 | 3,9 |
| Сочетание четырех компонентов МЕО | | Такое же содержание каждого соединения, как указано выше | |

МЕО: эфирное масло монарды, экстракт розмарина содержит 10% карнозиновой кислоты.

Антиоксидантная активность тимогидрохинона по сравнению с трет-бутилгидрохиноном в маслах, жирах и на поверхности гранул

Антиоксидантную активность молекул в масле канолы, рыбьем жире и курином жире измеряют с помощью инструмента для определения устойчивости к окислению

(OSI). В частности, ТНQ тестируют на трех уровнях (50, 250 и 500 частей на миллион), чтобы определить, существует ли зависимость доза-ответ. Молекулы положительного контроля, ТВНQ и карнозиновую кислоту используют в количестве 250 частей на миллион. Чтобы достичь содержания карнозиновой кислоты 250 частей на миллион, используют норму внесения экстракта розмарина 2500 частей на миллион. В случае куриного жира в качестве положительных контролей по-прежнему используют ТВНQ и карнозиновую кислоту с добавлением 95% смешанных токоферолов. Для исследования обработки поверхности гранул обработанное масло канолы наносят на поверхность гранул (рацион для собак, высокое содержание мяса с добавлением 23,5% куриного помета) в количестве 7%. Карнозиновую кислоту (экстракт розмарина) и ТВНQ снова используют в качестве положительных контролей в концентрации 250 частей на миллион. Тимогидрохинон используют в концентрации 50, 250 и 500 частей на миллион. В таблице 4 показаны нормы внесения каждого соединения, используемые для каждого вещества.

Таблица 4. Контрольные молекулы и нормы внесения, используемые для исследований масла канолы, рыбьего жира, куриного жира и гранул.

| Вещество | Тестируемые молекулы | Норма внесения активной молекулы (ч./млн) | Методы тестирования антиоксидантной активности |
|--------------|---|---|--|
| Масло канолы | Отсутствует (необработанный контроль) | 0 | OSI |
| | ТНQ | 50, 250, 500 | |
| | ТВНQ (положительный контроль) | 250 | |
| | Карнозиновая кислота (положительный контроль) | 250 | |
| Fish oil | Отсутствует (необработанный контроль) | 0 | |
| | ТНQ | 50, 250, 500 | |
| | ТВНQ (положительный контроль) | 250 | |
| | Карнозиновая кислота (положительный контроль) | 250 | |
| Chicken fat | Отсутствует (необработанный контроль) | 0 | |
| | ТНQ | 50, 250, 500 | |

| | | | |
|--------|--|--------------|---------------|
| | ТВНQ (положительный контроль) | 250 | |
| | Карнозиновая кислота (положительный контроль) | 250 | |
| | 95% смешанных токоферолов (положительный контроль) | 250 | |
| Kibble | Отсутствует (необработанное масло канолы) | 0 | PV, альдегиды |
| | ТНQ | 50, 250, 500 | |
| | ТВНQ (положительный контроль) | 250 | |
| | Карнозиновая кислота (положительный контроль) | 250 | |

ТНQ: тимогидрохинон, ТВНQ: трет-бутилгидрохинон, OSI: инструмент для измерения устойчивости к окислению, PV: пероксидные числа

На гранулы наносят покрытие на своем предприятии в лабораторных масштабах (1 кг) в соответствии с методикой нанесения покрытия на гранулы (310-KNRD-017). Гранулы с нанесенным покрытием хранят в инкубаторе при температуре 40°C в течение 16 недель, окисление образцов гранул измеряют путем определения пероксидного числа и накопления гексаналя и 2,4-декадиенала.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Первичный скрининг антиоксидантов

Результаты первичного скрининга антиоксидантов (фиг. 2) демонстрируют, что МЕО особенно эффективно действует в масле канолы. На протяжении всего исследования МЕО обеспечивает более низкие пероксидные числа, чем положительный контроль, экстракт розмарина, и такое же содержание альдегидов.

В курином жире отсутствует выраженная антиоксидантная активность МЭО, наблюдаемая в масле канолы. Эфирное масло монарды до 8-й недели дает такое же пероксидное число, как и экстракт розмарина, а затем экстракт розмарина обеспечивает наиболее низкие пероксидные значения (фиг. 3). В жире, обработанном экстрактом розмарина (положительный контроль), наблюдается общее содержание альдегидов, которое составляет менее половины от значения, наблюдающегося после обработки МЕО (фиг. 3).

Состав эфирного масла монарды

Анализ МЕО методом ВЭЖХ демонстрирует, что МЕО содержит 25% ТQ, 11% карвакрола и 0,8% тимола, причем ранее было известно, что все эти соединения входят в состав МЕО. Кроме того, авторы изобретения обнаружили, что образец МЕО содержит 3,9% ТНQ (фиг. 4).

Определение активных молекул в эфирном масле монарды

Компоненты МЭО, а именно ТQ, карвакрол, тимол и ТНQ, тестируют на антиоксидантную активность в разливном масле канолы при внесении в количестве, соответствующем их содержанию в МЭО. На фиг. 5 показаны пероксидные числа, определенные на протяжении всего исследования, а также содержание гексаналя и 2,4-декадиена в конечной точке тестирования, на 24 неделе. Что касается измерения пероксидного числа, образцы эфирного масла монарды во всех дозах дают лучшие результаты, чем контрольный образец, экстракт розмарина, до 14 недели. Зависимость доза-ответ наблюдается в период от 14 до 18 недели. Однако в конечный момент тестирования отсутствует зависимость доза-ответ для МЭО, который дает такие же пероксидные числа, что и экстракт розмарина. В образцах, обработанных 500-2000 ч/млн МЭО наблюдается некоторая зависимость доза-ответ по альдегидам. На 24 неделе добавление ТQ, карвакрола и тимола не дает никакого эффекта. На протяжении всего исследования единственным отдельным соединением, которое в масле канолы работает лучше, чем МЭО, является ТНQ. На протяжении всего исследования и в конечной точке тестирования ТНQ, используемый в концентрации 39 частей на миллион, дает более низкие пероксидные числа и более низкие суммарные значения содержания гексаналя и 2,4-декадиенала, чем молекула положительного контроля, карнозиновая кислота, используемая в концентрации 250 частей на миллион (при применении экстракта розмарина в количестве 2500 частей на миллион). Сочетание ТQ, карвакрола, тимола и ТНQ обладает такой же активностью, что и "эквивалентный" образец МЭО с концентрацией 1000 ppm.

Антиоксидантная активность тимогидрохинона по сравнению с трет-бутилгидрохиноном в маслах, жирах и на поверхности гранул

На фиг. 6 показаны результаты OSI для каждого вещества. Наблюдалась четкая зависимость доза-ответ для ТНQ, при этом более высокая норма внесения соответствует большей активности. Результаты антиоксидантной активности разных молекул зависят от вещества, в котором работают эти молекулы. Результаты выражают в виде процентного улучшения по сравнению с необработанным веществом. При сравнении активности ТНQ с другими антиоксидантными молекулами ТНQ демонстрирует наилучшие результаты в масле канолы, где ТНQ в концентрации 250 частей на миллион обеспечивает более высокую активность, чем СА при той же норме внесения, а ТНQ в концентрации 500 частей на миллион имеет такую же активность, как ТВНQ в концентрации 250 частей на миллион. При определении, в каком веществе ТНQ обеспечивает наибольшее процентное улучшение, показано, что ТНQ дает лучшие результаты при применении в рыбьем жире, обеспечивая 100% улучшение по сравнению с необработанным рыбьим жиром при норме внесения 50 частей на миллион, и улучшение до 500% при применении 500 частей на миллион. В отличие от масла канолы, в рыбьем жире ТНQ в концентрации 250 ч/млн проявляет меньшую активность, чем СА. Однако при использовании двойной нормы внесения ТНQ проявляет большую активность, чем СА. Ни в каком количестве

тестируемый ТНҚ не может сравниться по активности с ТВНҚ. В курином жире активность ТНҚ аналогична активности токоферолов. Карнозиновая кислота обладает самой высокой антиоксидантной активностью, за ней следует ТВНҚ. Ни на каком уровне тестируемый ТНҚ не работает так же хорошо, как ТВНҚ.

Как показано на фиг. 7, авторы изобретения измеряют пероксидные числа и содержание альдегидов в гранулах, на поверхность которых нанесено масло канолы, содержащее ТНҚ, ТВНҚ и СА. После обработки ТНҚ наблюдается зависимость доза-ответ, поскольку чем больше количество используемого ТНҚ, тем ниже содержание перекиси в гранулах. ТНҚ, используемый в концентрации 250 частей на миллион, имеет активность, эквивалентную активности карнозиновой кислоты, используемой в той же концентрации. Тимогидрохинон при применении в концентрации 500 частей на миллион обеспечивает антиоксидантную активность, эквивалентную 250 частям на миллион ТВНҚ.

Обсуждение

Проводят скрининг антиоксидантной активности, в ходе которого оценивают эфирное масло монарды. Результаты данного исследования демонстрируют, что в масле канолы МЕО обладает исключительной антиоксидантной активностью, которая даже превышает активность экстракта розмарина.

Вследствие многообещающих результатов, полученных с использованием МЕО в первичном скрининге, разрабатывают исследование для изучения отдельных соединений, входящих в состав МЕО, чтобы определить, какое соединение, или какие соединения, отвечают за его антиоксидантную активность. Известно, что МЕО содержит большое количество ТҚ, а также карвакрол и тимол. Маловероятно, что в веществе масла или жира ТҚ, не содержащий ОН-группы, отвечает за антиоксидантную активность, а предыдущие исследования Nutrisurance не показали активности карвакрола или тимола (данные не приведены). Поэтому используют высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), которая позволяет определить, какие молекулы присутствуют в МЕО и в каком количестве, чтобы обработать масло канолы отдельными соединениями в той концентрации, в которой они присутствуют в МЕО. Как и ожидалось, обнаружено, что МЕО содержит 25% ТҚ, 11% карвакрола и 0,8% тимола. Кроме того, на хроматограмме обнаружено несколько других пиков (время удерживания 8,5, 20,2 и 22,7 мин). Один из пиков (8,5 мин) был идентифицирован как ТНҚ путем сравнения времени удерживания со временем удерживания соединения, синтезированного в лаборатории авторов изобретения. Исследователи предположили, что ТНҚ может отвечать за наблюдаемую антиоксидантную активность МЕО благодаря своей полифенольной структуре. Другие пики, присутствующие на хроматограмме МЭО, не идентифицированы.

Для подтверждения гипотезы о том, что ТНҚ является активным компонентом МЭО, тимохинон, карвакрол, тимол, а также ТНҚ тестируют на антиоксидантную активность по отдельности и в сочетаниях. Результаты показывают, что среди компонентов масла канолы действительно только ТНҚ проявляет активность. Более того, сочетание четырех известных соединений обеспечивает такую же активность, как МЭО.

Следует отметить, что ТНҚ, добавленный к маслу канолы в количестве 39 частей на миллион, обеспечивает более высокую антиоксидантную активность, чем экстракт розмарина, используемый в концентрации 2500 частей на миллион, чтобы доставить 250 частей на миллион карнозиновой кислоты.

Дополнительные исследования направлены на изучение активности полученного синтетическим путем чистого ТНҚ в ненасыщенных маслах и нанесенного на вещество гранул. Тимогидрохинон содержит две гидроксильные группы в пара-положении, которые могут служить донорами атомов водорода для липидных радикалов, обеспечивая тем самым высокую антиоксидантную активность. Подобная молекула, ТВНҚ, синтетический антиоксидант с двумя пара-гидроксильными группами, является хорошо известным антиоксидантом для ненасыщенных масел. Поэтому авторы изобретения сравнивают активность ТНҚ с активностью ТВНҚ в нескольких веществах. Авторы изобретения обнаружили, что, хотя ТНҚ обладает высокой антиоксидантной активностью, он менее активен, чем ТВНҚ. Степень снижения активности зависит от вещества. В частности, при тестировании ТНҚ, добавленного к рыбьему жиру и куриному жиру, наблюдают 2,5-3-кратное снижение активности по сравнению с ТВНҚ при той же норме внесения. При добавлении к маслу канолы, разливному или нанесенному на поверхность гранул, разница между ТНҚ и ТВНҚ составляет 1,6-2 раза.

ПРИМЕР 2

Антиоксидантная активность тимогидрохинона в сочетании с токоферолами и экстрактом розмарина при использовании в кормах для домашних животных

Материалы

Эфирное масло монарды (6,1% ТНҚ, другие компоненты: тимол 24,0%, ТQ 14,4% и карвакрол 0,9%), токоферолы и экстракт розмарина (10% карнозиновой кислоты), а также их сочетания добавляют к куриному жиру, который затем наносят на корм для собак с курицей и рисом в количестве 4%. Корм имеет следующий состав: рис (24%), куриная мука (15%), куриный помет (15%), гороховый белок (7%), рыбная мука (6,5%), мука из баранины (6,25%), рисовые отруби (6%), льняное семя (5,2%), свекольный жом (4,6%), овсяная крупа (3%), подсолнечное масло (1,75%), витамины и минералы (1,7%) и куриный жир (4%). Сердцевину гранул перед экструзией обрабатывают токоферолами (NATUROX Plus Dry®). Суммарное количество активных веществ (ТНҚ, токоферолы и карнозиновая кислота), добавленных в готовый гранулированный корм, составляет 55 частей на миллион при каждой обработке (таблица 5). В качестве отрицательного контроля используют необработанный куриный жир. Готовый гранулированный корм хранят при температуре 40°C и температуре окружающей среды и периодически проверяют на содержание пероксидов.

Таблица 5

Активные вещества тестируемые в корме для собак с курицей и рисом

| Обработка образцов | ТНҚ (ч./млн) | Токоферолы (ч./млн) | Карнозиновая кислота (ч./млн) |
|--------------------|-----------------|------------------------|----------------------------------|
|--------------------|-----------------|------------------------|----------------------------------|

| | | | |
|-----------|------|------|------|
| 1 (M) | 55 | - | - |
| 2 (T) | - | 55 | - |
| 3 (R) | - | - | 55 |
| 4 (M T) | 27,5 | 27,5 | - |
| 5 (M R) | 27,5 | - | 27,5 |
| 6 (T R) | - | 27,5 | 27,5 |
| 7 (M T R) | 18,3 | 18,3 | 18,3 |
| 8 (M T R) | 18,3 | 18,3 | 18,3 |

M - экстракт монарды, T - токоферолы, R - экстракт розмарина

Статистический анализ

Для определения значимых различий в значениях пероксидного числа, определенных после обработки антиоксидантами, используют однофакторный ANOVA (StatGraphics Centurion XV) ($p < 0,05$). При наличии значимых различий для разделения средних значений используют многомерный критерий размаха выборки.

Полученные результаты

После хранения при 40°C значения пероксидного числа в необработанных гранулах достигают 2,5 мэкв/кг через 15 недель, тогда как значения пероксидного числа после обработки разными антиоксидантами значительно снижаются: 1,6, 2,1, 2,2 мэкв/кг для экстракта монарды, токоферолов и экстракта розмарина, соответственно. Среди сочетаний антиоксидантов MR обеспечивает самые низкие значения пероксидного числа (1,8 мэкв/кг), после него следуют MT (1,9 мэкв/кг), MTR (2,0 мэкв/кг) и TR (2,2 мэкв/кг) (фиг. 8, таблица 6).

Таблица 6

Обработанные ANOVA значения пероксидного числа в гранулах, хранящихся при 40°C

| Обработка образцов | Среднее ПЧ на 16 день (мэкв/кг корма) | Гомогенные группы |
|------------------------|---------------------------------------|-------------------|
| Экстракт монарды (M) | 1,622 | a |
| MR | 1,794 | b |
| MT | 1,908 | c |
| MTR | 1,977 | c |
| Токоферолы (T) | 2,109 | d |
| TR | 2,153 | d |
| Экстракт розмарина (R) | 2,176 | d |
| Необработанные | 2,554 | e |

ПЧ - перекисные числа, M - экстракт монарды, T - токоферолы, R - экстракт

розмарина

После хранения в условиях окружающей среды пероксидные числа в необработанных гранулах достигают значения 1,6 мэкв/кг через 30 недель, тогда как пероксидные числа в образцах, обработанных экстрактом монарды и розмарина, значительно ниже - 0,3 и 1,9 мэкв/кг соответственно. Однако пероксидное число в образце, обработанном токоферолом, статистически не отличается от необработанного контроля. Среди сочетаний антиоксидантов MR, MT и MTR обеспечивают самые низкие пероксидные числа (0,7-0,8 мэкв/кг), за ними следует TR (1,2 мэкв/кг) (фиг. 9, таблица 7).

Таким образом, приведенные выше результаты показывают, что экстракт монарды можно использовать в качестве антиоксиданта в кормах для домашних животных как отдельно, так и в сочетании с токоферолами или экстрактом розмарина, поскольку он улучшает устойчивость корма для домашних животных к окислению.

Таблица 7

Обработанные ANOVA значения пероксидного числа в гранулах, хранящихся в условиях окружающей среды

| Обработка образцов | Среднее ПЧ на 30 день (мэкв/кг корма) | Гомогенные группы |
|------------------------|--|-------------------|
| Экстракт монарды (M) | 0,348 | a |
| MR | 0,667 | b |
| MT | 0,719 | b |
| MTR | 0,772 | b |
| Экстракт розмарина (R) | 1,024 | c |
| TR | 1,167 | d |
| Необработанные | 1,633 | e |
| Токоферолы (T) | 1,723 | e |

M - экстракт монарды, T - токоферолы, R - экстракт розмарина

ПРИМЕР 3

Антиоксидантная активность тимогидрохинона в сочетании с токоферолами и экстрактом розмарина, добавленных к рыбной муке Menhaden

Материалы

Как показано в таблице 8, Формула 1 состоит из токоферолов и экстракта розмарина (10% карнозиновой кислоты) в соевом масле. Формула 2 состоит из экстракта розмарина (10% карнозиновой кислоты), эфирного масла монарды (5,7% ТНQ, другие компоненты: 7,9% тимола, 15,0% TQ и 0,7% карвакрола) и токоферолов в соевом масле. Формулу 1 и формулу 2 добавляют к необработанной рыбной муке Menhaden на производственном участке. В состав рыбной муки входят: белок (69,2%), жир (7,4%), влага (6,6%), зола (20,7%), сера (0,8%), фосфор (3,5%), калий (0,9%), магний (0,2%), кальций (5,9%), натрий (0,7%), железо (54 ч./млн), марганец (33 ч./млн), медь (4 ч./млн) и

цинк (112 ч./млн). В качестве отрицательного контроля используют необработанную рыбную муку. Все образцы рыбной муки (необработанные, обработанные Формулой 1, обработанные Формулой 2) хранят при температуре окружающей среды в лаборатории (примерно 21°C) и периодически анализируют на пероксидные числа.

Таблица 8

Активные соединения, добавляемые в рыбную муку Menhaden при использовании Формулы 1 или Формулы 2

| Обработка образцов | ТНҚ (ч./млн) | Токоферолы (ч./млн) | Карнозиновая кислота (ч./млн) |
|--------------------|--------------|---------------------|-------------------------------|
| Формула 1 (TR) | - | 304 | 39 |
| Формула 2 (MTR) | 28 | 23 | 88 |

М - экстракт монарды, Т - токоферолы, R - экстракт розмарина

Полученные результаты

После хранения при температуре окружающей среды в лаборатории на 12 и 16 неделе рыбная мука, обработанная Формулой 2, согласно статистике, имеет более низкие пероксидные числа, чем рыбная мука, обработанная Формулой 1, и необработанная рыбная мука (фиг. 10). Через 16 недель необработанная рыбная мука имеет пероксидное число $18,50 \pm 1,51$ мэкв/кг жира, а обработанная рыбная мука имеет пероксидные числа $15,00 \pm 0,63$ и $11,90 \pm 0,72$ мэкв/кг жира после обработки Формулой 1 и Формулой 2 соответственно.

Таким образом, экстракт монарды, содержащий ТНҚ, можно использовать в качестве антиоксиданта для рыбной муки в сочетании с токоферолами и экстрактом розмарина, о чем свидетельствует формула, содержащая экстракт монарды в сочетании с токоферолами и экстрактом розмарина, которая ингибирует окисление в рыбной муке по сравнению с необработанной рыбной мукой и обеспечивает большую антиоксидантную активность, чем формула, содержащая токоферолы и экстракт розмарина без добавления экстракта монарды.

ПРИМЕР 4

Антиоксидантная эффективность ТНҚ в пищевых продуктах, предназначенных для потребления человеком

1. Эффективность ТНҚ в пищевых эмульсиях на примере майонеза

Цель - оценить эффективность ТНҚ в майонезе, типичном пищевом продукте, представляющем собой пищевую эмульсию, и сравнить с другими распространенными антиоксидантами, которые, как известно, защищают майонез от окисления. В пищевой промышленности ЭДТА считается "золотым стандартом", который используют в майонезе, заправках и соусах. Однако у ЭДТА есть недостатки. Например, нормативы ограничивают дозу ЭДТА. Альтернативой является экстракт розмарина, который представляет собой обычный натуральный растительный экстракт, введенный в коммерческое обращение для применения в пищевых эмульсиях и используемый для

сравнения в качестве еще одного типичного натурального растительного экстракта.

Материалы

В таблице 9 приведены вещества, используемые на протяжении всего эксперимента. THQ получают на собственном предприятии. Экстракт розмарина, используемый в данном исследовании, представляет собой жидкость ROSAN 8CA LC (Kemin Industries, Des Moines, Iowa), которая является жидкой основой для описанной ниже композиции. Однако в отчете его превращают в коммерческий продукт из розмарина FORTIUM® R30 Liquid (Kemin Industries, Des Moines, Iowa) и используют в дозе, нормализованной по количеству активных соединений.

Таблица 9

Вещества, используемые на протяжении всего эксперимента

| Ингредиент | | Производитель | Категория№ | Лот № |
|---|--|----------------------------------|------------|------------|
| Деионизированная вода | | Fisher Scientific | W220 | |
| Кристаллический сахар | | Market Pantry | N/A | N/A |
| Уксус Heinz (5%) | | Heinz | N/A | N/A |
| Mustard flour | | Tones | N/A | N/A |
| Яичный желток (замороженный в присутствии 10% соли) | | Oskaloosa Food Products Corp | A-899 | 038V4 |
| Соевое масло | | KANA | RM01320 | 1601108414 |
| Соль | | Cargill | N/A | N/A |
| ЭДТА | | Premium Ingredient International | 30309 | C060131 |

Скрининг с использованием майонеза

Используют майонез собственного производства (таблица 10). Яичный желток добавляют в чашу миксера Kitchen Aid (модель Artisan, St Joseph, ML) и взбивают насадкой-венчиком в течение 30 секунд в режиме № 2. Добавляют соль, горчицу и сахар и перемешивают в течение 1 мин в режиме № 4, причем чашу очищают шпателем каждые 20 секунд. Уксус и воду объединяют и ½ жидкости добавляют к яичной смеси. Содержимое перемешивают в течение 30 секунд в режиме № 2, чашу очищают, затем перемешивают в течение 30 секунд в режиме № 4 и чашу снова очищают. Затем добавляют масло по полной пипетке за один раз (примерно 2 мл) в режиме № 4, чтобы позволить маслу впитаться в яйца. Масло добавляют медленно в течение 20 мин. Через 10 минут добавляют ¼ оставшейся смеси вода/уксус. По истечении 20 минут добавляют

оставшуюся $\frac{1}{4}$ смеси вода/уксус.

Таблица 10

Состав майонеза

| Ингредиент | Масса% |
|-----------------------------------|--------|
| Соль | 0,61% |
| Уксус Heinz (5% уксусной кислоты) | 12,60% |
| Горчичный порошок | 1,00% |
| Яичный желток (10% соли) | 8,89% |
| Вода | 1,90% |
| Соевое масло | 75,00% |

Скрининг ингредиентов на антиоксидантную активность в майонезе

В таблице 11 приведены ингредиенты, подлежащие исследованию в процессе хранения, и их дозировки. ЭДТА используют в количестве 65 частей на миллион, что является стандартной дозировкой для получения майонеза и приправ. Дозу экстракта розмарина определяют на основе рекомендаций предыдущего исследования. ТНQ тестируют на двух уровнях для получения информации о зависимости доза-ответ. Пероксидные числа, которые отражают образование побочных продуктов первичного окисления и коррелируют со сроком хранения майонеза при окислении, измеряют каждые две недели в общей сложности в течение восьми недель при комнатной температуре (22-24°C) с помощью стандартных лабораторных методов.

Таблица 11

Обработка в исследовании с использованием майонеза. Дозировка зависит от общей массы майонеза. Экстракт розмарина=жидкость FORTIUM R30 (Kemin Industries, Inc. Des Moines, IA)

| Обработка | Доза (ч./млн) |
|---------------------------------------|---------------|
| Необработанный отрицательный контроль | 0 |
| ТНQ | 200 |
| ТНQ | 400 |
| Экстракт розмарина | 533 |
| ЭДТА | 65 |

Полученные результаты

На фиг. 11 показано образование побочных продуктов окисления. Для ТНQ существует зависимость доза-ответ, так что более высокая доза ТНQ (400 частей на миллион) соответствует активности ЭДТА. Экстракт розмарина способен улучшить устойчивость к окислению по сравнению с необработанным отрицательным контролем, но не может сравниться с активностью ЭДТА и уступает ТНQ при более низких собственных дозах.

Насколько известно изобретателям, впервые обнаружено, что природное соединение способно соответствовать активности ЭДТА в отношении задержки образования пероксидов. Ранее экстракт розмарина, экстракт мяты курчавой и экстракт зеленого чая были идентифицированы как перспективные ингредиенты, способные повысить устойчивость майонеза к окислению, а их сочетания были разработаны как мощная антиоксидантная система. Однако в данном исследовании обнаружено, что одно химическое соединение может проявлять желаемую активность в умеренной дозе.

2. Активность THQ в пищевых эмульсиях с использованием заправки для салатов ранч в качестве модели пищевой системы

Цель - оценить активность THQ и его сочетаний с другими известными антиоксидантами/растительными экстрактами в заправке для салатов ранч, самом популярном типе соуса в Соединенных Штатах, и получить ингредиенты чистой этикетки, способные с большей эффективностью замедлять потерю вкуса и окисление липидов.

Материалы и методы

В таблице 12 приведен рецепт заправки для салатов ранч. Заправку получают путем смешивания ингредиентов в миске с помощью погружного блендера. THQ получают в собственной лаборатории из эфирного масла *Monarda fistulosa*, которое содержит примерно 30% тимохинона, а после очистки получают THQ с чистотой >95%. Экстракт розмарина, используемый в данном исследовании, представляет собой жидкость ROSAN 8CA LC, которая представляет собой жидкую основу розмарина для получения нижеследующей композиции. FORTRA 101 Dry представляет собой натуральный растительный экстракт на основе экстракта мяты курчавой с розмариновой кислотой в качестве активного соединения (5% розмариновой кислоты). Предыдущие эксперименты демонстрируют, что THQ успешно задерживает окисление липидов в майонезе. В этом исследовании THQ оценивают отдельно, а также в сочетании с двумя растительными экстрактами для определения синергического действия.

Схема исследования приведена в таблице 13. Используют один отрицательный контроль и два положительных контроля. Отрицательный контроль не содержит никаких антиоксидантов. ЭДТА используют в качестве одного положительного контроля, в то время как NaturFORT™ RSGT 101 Dry, смесь растительных экстрактов мяты курчавой, розмарина и зеленого чая, используют в качестве положительного контроля чистой этикетки. Этот продукт введен в коммерческое обращение благодаря его способности эффективно замедлять окисление липидов. Можно надеяться, что новое исследование с участием THQ позволит получить смеси антиоксидантов, которые будут более эффективными, чем положительный контроль чистой этикетки. Всего анализируют 33 опытные группы. Заправку хранят при температуре окружающей среды (22-24°C) при обычных условиях лабораторного освещения (ночью выключено и днем включено). Из-за количества обработок используют только один повтор. На данной стадии скрининга органолептическую оценку не проводят. Пероксидные числа (ПЧ) измеряют в соответствии с существующей SOP.

Статистический анализ проводят в пакете StatGraphics Centurion XI. Независимые переменные включают дозы THQ, ROSAN SF 8CA LC и FORTRA 101 (экстракт мяты курчавой) в частях на миллион. Фактором для анализа является пероксидное число в последней точке измерения. Эффект каждого отдельного ингредиента, стандартную диаграмму Парето и дисперсионный анализ (ANOVA) рассчитывают и наносят на график с помощью программного обеспечения, используя по умолчанию $\alpha=0,05$.

Таблица 12

Композиция заправки для салатов ранч

| Ингредиент | % масс./масс. |
|------------------------------------|---------------|
| Вода | 42,61 |
| Сорбат калия | 0,10 |
| Концентрат лимонного сока | 0,30 |
| Сухая пахта | 3,00 |
| Сахар | 3,00 |
| Яичный желток, содержащий 10% соли | 3,40 |
| Чесночный порошок | 0,50 |
| Луковый порошок | 0,25 |
| Черный перец | 0,10 |
| Укроп | 0,05 |
| Измельченный шнит-лук | 0,10 |
| Ксантановая камедь | 0,35 |
| Модифицированный пищевой крахмал | 0,4 |
| Соль | 1,4 |
| Фосфорная кислота | 0,27 |
| Спиртовой уксус (150 гран) | 2,17 |
| Соевое масло | 42,00 |

Таблица 13

Обработка заправки для салатов ранч

THQ=чистый тимогидрохинон, RSGT=NaturFORT RSGT 101 Dry; R=жидкость ROSAN SF 8CA LC; SP=FORTRA 101 Dry. Для всех значений в качестве единицы измерения используют части на миллион (ч.\млн) по отношению к массе заправки.

| № | Обработка | № | Обработка | № | Обработка |
|---|----------------|----|--------------------------|----|-------------------------|
| 1 | Необработанный | 13 | THQ/R/SP=100/ 300/300 | 25 | THQ/R/SP=500/5 0/100 |

| | | | | | |
|----|---------------------------------------|----|--------------------------|----|--------------------------|
| 2 | EDTA 65 ч.\млн - положительный 1 | 14 | THQ/R/SP=100/ 300/500 | 26 | THQ/R/SP=500/5 0/500 |
| 3 | RSGT 1500 ч.\млн - положительный 2 | 15 | THQ/R/SP=100/ 300/100 | 27 | THQ/R/SP=500/5 0/300 |
| 4 | THQ 100 ч.\млн | 16 | THQ/R/SP=300/ 50/300 | 28 | THQ/R/SP=500/1 75/500 |
| 5 | THQ 300 ч.\млн | 17 | THQ/R/SP=300/ 50/500 | 29 | THQ/R/SP=500/1 75/100 |
| 6 | THQ 500 ч.\млн | 18 | THQ/R/SP=300/ 50/100 | 30 | THQ/R/SP=500/1 75/300 |
| 7 | THQ/R/SP=100/50/5 00 | 19 | THQ/R/SP=300/ 175/100 | 31 | THQ/R/SP=500/3 00/100 |
| 8 | THQ/R/SP=100/50/3 00 | 20 | THQ/R/SP=300/ 175/300 | 32 | THQ/R/SP=500/3 00/300 |
| 9 | THQ/R/SP=100/50/1 00 | 21 | THQ/R/SP=300/ 175/500 | 33 | THQ/R/SP=500/3 00/500 |
| 10 | THQ/R/SP=100/175/ 100 | 22 | THQ/R/SP=300/ 300/500 | | |
| 11 | THQ/R/SP=100/175/ 300 | 23 | THQ/R/SP=300/ 300/300 | | |
| 12 | THQ/R/SP=100/175/ 500 | 24 | THQ/R/SP=300/ 300/100 | | |

Полученные результаты

Из-за большого числа опытных групп результаты анализа пероксидов приведены в виде четырех отдельных групп в зависимости от дозировок THQ. Группа 1 включает результаты анализа зависимости доза-ответ для THQ (фиг. 12). Группа 2 включает результаты измерения пероксидного числа после обработки THQ в количестве 100 частей на миллион (фиг. 13). Группа 3 включает результаты обработки THQ в количестве 300 частей на миллион, и группа 4 включает результаты обработки THQ в количестве 500 частей на миллион (фиг. 14-15).

Как показано на фиг. 12, авторы изобретения обнаружили, что для THQ существует зависимость доза-ответ в отношении пероксидного числа. Более высокие количества THQ

обеспечивают более низкие пероксидные числа. Однако в диапазоне от 300 до 500 частей на миллион эффективность повышается меньше, чем в диапазоне от 100 до 300 частей на миллион, указывая на возможность существования плато при дальнейшем увеличении дозировки. Данная гипотеза также подтверждается графиком основных эффектов. Изучение результатов, полученных для групп 2-4 (фиг. 13-15), позволяет сделать вывод, что более высокое число обработок ТНҚ в целом дает более низкие пероксидные числа, независимо от типов сочетаний. Например, в группе с обработкой ТНҚ 100 ч./млн наблюдают разброс ПЧ в диапазоне 20-50 мэкв/кг для последней экспериментальной точки, тогда как в группе с обработкой ТНҚ 500 ч./млн разброс ПЧ является более узким и низким, в диапазоне 15-18 мэкв/кг. Эффективность в значительной степени определяется количеством ТНҚ в сочетаниях, что также подтверждается графиком основных эффектов на фиг. 16.

В данном исследовании неожиданно идентифицируют антагонистические эффекты трех растительных экстрактов, используемых в качестве антиоксидантов в заправках. И диаграмма Парето (фиг. 17), и ANOVA (фиг. 18) демонстрируют взаимное влияние и взаимодействие разных способов обработки. Экстракт розмарина и экстракт мяты кучерявой дают аддитивный или синергетический эффект в сочетании с ТНҚ. Авторы изобретения отмечают, что ТНҚ в сочетании с экстрактом розмарина (сочетание АВ на фиг. 17) и ТНҚ в сочетании с экстрактом мяты кучерявой (АС на фиг. 17) оказывают статистически значимое влияние, когда экстракты используют в сочетании.

3. Способность ТНО задерживать окисление липидов в разливном масле

Цель - определить эффективность ТQ и ТНQ в отношении повышения устойчивости разливных масел к окислению, а также определить, образуют ли ТНQ или ТQ синергические или аддитивные пары с другими известными антиоксидантами/растительными экстрактами.

Материалы и методы

Тимохинон (ТQ), используемый в исследовании в чистом виде, приобретен у Sigma-Aldrich. Тимогидрохинон (ТНQ), используемый в виде чистого соединения, получают известными способами. Экстракт монарды, содержащий ТНQ, получают с использованием листьев монарды, содержащих ТQ. Аскорбиновая кислота представляет собой чистое соединение и является сырьем KFT. EN-HANCE®A103 или A103S являются продуктами KFT, которые содержат 20% ТВНQ и 3% лимонной кислоты. ТВНQ является золотым стандартом антиоксидантов для разливных растительных масел и производится синтетическим путем. Его законный предел составляет 200 частей на миллион в отношении массы масла. Жидкость FORTIUM® R30 (R30) представляет собой коммерческий продукт KFT на основе экстракта розмарина, в котором для диспергирования экстракта розмарина используют подсолнечное масло. Жидкость GT-FORT™ 101 С IP (GT-FORT) представляет собой коммерческий маслорастворимый продукт KFT на основе экстракта зеленого чая, в котором в качестве жидкого носителя используют масло канолы IP.

Общие методы определения окисления разливного масла

Измерение пероксидов проводят в соответствии с ранее опубликованным методом FOX 11 количественного определения пероксидного числа. Газовую хроматографию (ГХ) в сочетании с пламенно-ионизационным детектором (GC-FID) используют для определения количества гексаналя в образце масла в соответствии с ранее описанным методом. Индекс устойчивости к окислению (OSI) определяют с помощью известных методов. Коэффициент защиты определяют как отношение часов OSI для обработанных масел и необработанных масел.

Синергическое действие TQ и аскорбиновой кислоты в соевом масле

Каждый обрабатываемый образец (таблица 14) смешивают с общим количеством соевого масла 40 г и переносят в прозрачную стеклянную банку с черной крышкой (8 унц., Qограк, #271012). Стеклянные контейнеры плотно закрывают крышками, обеспечивая условия хранения 60°C в темноте. В каждой экспериментальной точке отбирают небольшое количество образца (~2 г) и анализируют его на побочные продукты первичного окисления (пероксиды). Пробы берут на 0, 7, 10, 14, 21, 28 день.

Таблица 14

Обработка соевого масла для изучения синергического действия TQ и аскорбиновой кислоты

| Образец | Обработка |
|---------|---|
| A | Необработанный |
| B | EH-HANCE A103S 1000 ч./млн (TBHQ 200 ч./млн) |
| C | THQ 100 ч./млн |
| D | TQ 100 ч./млн |
| E | Аскорбиновая кислота 390 ч./млн |
| F | TQ 100 ч./млн+аскорбиновая кислота 390 ч./млн |

Синергическое действие THQ и аскорбиновой кислоты в соевом масле

Каждый обрабатываемый образец (таблица 15) смешивают с общим количеством соевого масла 40 г. Определяют OSI обработанного масла и отрицательного контроля при 110°C. Получают значения OSI в часах, которые преобразовывают в коэффициент защиты, используемый для сравнения. Необработанный отрицательный контроль имеет коэффициент защиты 1,0.

Таблица 15

Обработка соевого масла для изучения синергического действия THQ и аскорбиновой кислоты

| Образец | Обработка |
|---------|--|
| A | Необработанный |
| B | EH-HANCE A103S 1000 ч./млн (TBHQ 200 ч./млн) |

| | |
|---|--|
| C | ТНQ 100 ч./млн |
| D | ТНQ 200 ч./млн |
| E | Аскорбиновая кислота 390 ч./млн |
| F | ТНQ 100 ч./млн+аскорбиновая кислота 390 ч./млн |
| G | ТНQ 200 ч./млн+аскорбиновая кислота 390 ч./млн |

Синергическое действие ТНQ и экстракта розмарина в соевом масле

Каждый обрабатываемый образец (таблица 16) смешивают с общим количеством соевого масла 40 г и переносят в прозрачную стеклянную банку с черной крышкой (8 унц., Qoграк, #271012). Стеклянные контейнеры плотно закрывают крышками, обеспечивая условия хранения 60°C в темноте. В каждой экспериментальной точке отбирают небольшое количество образца (~2 г) и анализируют его на побочные продукты первичного окисления (пероксиды) и побочные продукты вторичного окисления (гексаналь). Пробы берут на 0, 7, 10, 14, 21, 28 день. В данном исследовании вместо чистого соединения ТНQ используют экстракт монарды, содержащий ТНQ. Экстракт монарды, который содержит 26% ТНQ, растворяют в пропиленгликоле с получением жидкой смеси, содержащей 8% ТНQ.

Таблица 16

Обработка соевого масла для изучения синергического действия ТНQ и экстракта розмарина

| Образец | Обработка |
|---------|---|
| A | Необработанный |
| B | EN-HANCE A103S 1000 ч./млн (ТВНQ 200 ч./млн) |
| C | Жидкий экстракт монарды (8% ТНQ) 2500 ч./млн (ТНQ 200 ч./млн) |
| D | Жидкость FORTIUM R30 250 ч./млн |
| E | Жидкий экстракт монарды 2500 ч./млн+R30 250 ч./млн |

Синергическое действие ТНQ и маслорастворимого экстракта зеленого чая в соевом масле

Каждый обрабатываемый образец (таблица 17) смешивают с общим количеством соевого масла 40 г и переносят в прозрачную стеклянную банку с черной крышкой (8 унц., Qoграк, #271012). Стеклянные контейнеры плотно закрывают крышками, обеспечивая условия хранения 60°C в темноте. В каждой экспериментальной точке отбирают небольшое количество образца (~2 г) и анализируют его на побочные продукты первичного окисления (пероксиды) и побочные продукты вторичного окисления (гексаналь). Пробы берут на 0, 7, 10, 14, 21, 28 день. В данном исследовании вместо чистого соединения ТНQ используют экстракт монарды, содержащий ТНQ. Экстракт монарды, который содержит 26% ТНQ, растворяют в пропиленгликоле с получением

жидкой смеси, содержащей 8% THQ.

Таблица 17

Обработка соевого масла для изучения синергического действия THQ и маслорастворимого экстракта зеленого чая (с использованием жидкости GT-FORT 101 С IP)

| Образец | Обработка |
|---------|--|
| А | Необработанный |
| В | ЕН-HANCE A103S 1000 ч./млн (ТВНQ 200 ч./млн) |
| С | Жидкий экстракт монарды (8% THQ) 2500 ч./млн (THQ 200 ч./млн) |
| Д | Жидкость GT-FORT 101 С IP 2500 ч./млн |
| Е | Жидкий экстракт монарды 2500 ч./млн+GT-FORT 101 С IP 2500 ч./млн |

Полученные результаты

Синергическое действие TQ и аскорбиновой кислоты

Пероксидные числа показаны на фиг. 19. В данном исследовании уровень пероксидов достигает пика на 10 день. Значения, полученные после достижения пика, не соответствуют фактическому окислительному состоянию соевого масла и по этой причине не учитываются в этом исследовании. TQ не улучшает устойчивость соевого масла к окислению при 60°C, так как накопление пероксидов происходит с такой же скоростью, как и в необработанном масле. Численно для отдельных ингредиентов эффективность замедления накопления пероксидов можно оценить следующим образом: аскорбиновая кислота > THQ > TQ. Сочетание TQ и аскорбиновой кислоты способно в значительной степени задерживать накопление пероксидов. Хотя известно, что TQ может восстанавливаться аскорбиновой кислотой до THQ. THQ или аскорбиновая кислота в той же дозировке, как и в сочетании TQ+аскорбиновая кислота не смогли достичь того же эффекта, что и сочетание, что указывает на некоторый синергический эффект.

Синергическое действие THQ и аскорбиновой кислоты

Нет никакой известной реакции, посредством которой аскорбиновая кислота могла бы еще больше восстановить THQ. Результаты OSI для THQ, аскорбиновой кислоты и их сочетаний показаны на фиг. 20. Сочетание двух ингредиентов может работать лучше, чем два ингредиента в таких же дозах, в которых они присутствуют в смеси, свидетельствуя о том, что при объединении наблюдается по меньшей мере аддитивный эффект.

Синергическое действие THQ и экстракта розмарина

Стабильность при хранении соевого масла, обработанного экстрактом розмарина, экстрактом монарды, содержащим THQ, и их сочетанием, показана на фиг. 21 (пероксиды) и на фиг. 22 (гексаналь). В то время как экстракт розмарина демонстрирует лишь незначительное улучшение устойчивости к окислению по сравнению с необработанным отрицательным контролем, экстракт монарды значительно замедляет

окисление. Сочетание двух компонентов дополнительно замедляет развитие окисления, демонстрируя, что они являются полезной парой, обладающей по меньшей мере аддитивным эффектом.

Синергическое действие THQ и маслорастворимого экстракта зеленого чая

Стабильность при хранении соевого масла, обработанного GT-FORT, THQ содержащим экстрактом монарды и их сочетанием, показана на фиг. 23 (пероксиды) и фиг. 24 (гексаналь). В то время как GT-FORT в количестве 2500 ч./млн вызывает лишь незначительное улучшение устойчивости к окислению по сравнению с необработанным отрицательным контролем, экстракт монарды значительно замедляет окисление. Как и в случае с сочетанием экстракта розмарина и зеленого чая, сочетание THQ монарды и маслорастворимого экстракта зеленого чая еще больше замедляет процесс окисления, демонстрируя, что они являются еще одной полезной парой, обладающей по меньшей мере аддитивным эффектом.

ПРИМЕР 5

Оценка способности экстракта *Monarda fistulosa* подавлять окисление липидов в готовых котлетах из куриного фарша

Хотя Kemin Food Technologies (KFT) добилась коммерческого успеха, используя сухой экстракт розмарина FORTIUM®R10 во многих пищевых продуктах, мягкий травяной вкус розмарина упоминается как барьер для клиентов, которые хотят использовать более высокие уровни R10 для достижения максимального увеличения срока годности. Сочетание экстракта розмарина с экстрактом зеленого чая является успешной стратегией, позволяющей избежать пороговых ограничений вкуса розмарина, однако катехины зеленого чая вызывают серое обесцвечивание светлого мяса, такого как мясо птицы. *Monarda fistulosa*, также известная как пчелиный бальзам или дикий бергамот, представляет собой травянистое многолетнее растение семейства мятных [Lamiaceae], произрастающее в Северной Америке. Внутренние эксперименты демонстрируют, что активный ингредиент монарды, тимогидрохинон (THQ), проявляет сильную антиоксидантную активность в растительных маслах и животных жирах. Учитывая, насколько он эффективен в отношении жиров и масел, проводят следующую стадию, включающую в себя оценку его эффективности в разных пищевых продуктах, таких как мясо и птица. Котлеты из куриного фарша обрабатывают 0,18% FORTIUM R10 Dry, 0,18% FORTIUM®RGT12 Plus Dry, 0,18% FORTIUM 10 Dry+0,018% экстракта монарды и 0,018% экстракта монарды. Липидную и вкусовую стабильность готовых котлет оценивают в течение 14 дней хранения в холодильнике (2-4°C).

Материалы и методы

В данном исследовании используют экстракт монарды, содержащий THQ (31,2%). Поскольку высушенный экстракт является гигроскопичным и высококонцентрированным, его смешивают (таблица 18) с подсолнечным маслом и диоксидом кремния с помощью ступки и пестика, чтобы получить сыпучую смесь, которая улучшила бы дисперсию в продуктах из мясного фарша. В качестве контролей используют FORTIUM R10 Dry,

продукт на основе экстракта розмарина, и FORTIUM RGT 12 Plus Dry, смесь экстракта розмарина с экстрактом зеленого чая.

Таблица 18

Носители смешивают с экстрактом монарды (31,2% тимогидрохинона) с получением сыпучей смеси

| Сырьевой материал | Процентное содержание | Масса (г) |
|------------------------------|-----------------------|-----------|
| Подсолнечное масло | 40 | 2,64 |
| Диоксид кремния | 60 | 3,3 |
| Экстракт монарды (31,2% THQ) | 10 | 0,66 |

Обработка мяса

Весь процесс проводят в течение двух дней, чтобы создать управляемую рабочую нагрузку для одного человека. В первый день в местном продуктовом магазине (HyVee, Ankeny, IA) покупают свежие куриные бедра без костей и без кожи (3,6 кг), куриные грудки без костей и без кожи (5,4 кг) и бедра на кости с кожей (1,8 кг) (таблица 19). Покупают куриные бедра и грудки разных марок, чтобы обеспечить естественную вариацию среди двух параллельных линий обработки. Все упаковки имеют одинаковые сроки годности: пять дней после даты приобретения. Бескостные бедра содержат <4% оставшейся воды (из-за процесса охлаждения на бойне), а грудки содержат <1% оставшейся воды. Сочетание кожи, грудок и бедер используют для того, чтобы обеспечить достаточно быстрое окисление липидов, позволяющее выявить эффекты обработки в процессе хранения в холодильнике. Кур замораживают примерно на два часа для облегчения измельчения. Грудки, бедра и кожу от каждого поставщика измельчают отдельно с помощью насадки для перемалывания мяса №12 (Alfa International Corporation, Armonk, NY) и миксера Hobart Legacy HL200 (Troy, OH). Перемолотое мясо собирают в отдельные полиэтиленовые пакеты (#500110 UltraSource USA, Kansas City, MO). Сначала перемалывают кур Gold n'Plump, моют мясорубку, а затем перемалывают кур HyVee/Tyson, чтобы предотвратить перенос вещества между двумя параллельными линиями. Кожу с бедер с костями удаляют и перемалывают, используя пластину 4,8 мм. Кожу измельчают с использованием более тонкой пластины, чем для грудок и бедер, чтобы улучшить ее распределение в котлетах. Мясо бедер с костями не используют, чтобы избежать попадания фрагментов костей в котлеты. Бескостные бедра и грудки измельчают с использованием пластины 12,7 мм. Затем кожу, мясо бедра и грудку разделяют на восемь партий (Таблица 16) и помещают в полиэтиленовые пакеты для хранения емкостью 1 галлон (Great Value, Bentonville, AR). Пакеты помещают в пенный холодильник и хранят при температуре -18°C для частичного замораживания в течение ночи (14 часов).

Таблица 19

Куриное мясо, используемое для исследования, получают от двух разных поставщиков: Gold n'Plump (St. Cloud, MN) и Tyson (Springdale, AR).

| Ингредиенты | Параллельная линия А | Параллельная линия В |
|---------------------|----------------------|------------------------|
| Грудки без кожи | Gold n'Plump | HyVee Naturals (Tyson) |
| Бедра без кожи | Gold n'Plump | HyVee Naturals (Tyson) |
| Кожа куриного бедра | Tyson | Tyson |

На следующий день воду, активную добавку, соль и триполифосфат натрия (таблица 20) для каждой партии быстро перемешивают ложкой в стеклянной мерной чашке до растворения сухих ингредиентов. Эта смесь известна как солевой раствор. Солевой раствор выливают на поверхность мяса, находящегося в пакете емкостью 1 галлон. Пакет разминают рукой в течение одной минуты, а затем каждый пакет помещают в морозильную камеру для частичной заморозки мяса, пока следующие партии перемешивают. После перемешивания всех восьми партий каждую партию перемалывают с помощью пластины 6,4 мм, используя насадку для мясорубки № 12, причем между партиями мясорубку, пластину и нож моют горячей мыльной водой, чтобы предотвратить перенос вещества между партиями.

Таблица 20

Состав куриных котлет

| Ингредиенты | % (масс./масс.)* | Масса на партию (г) | Поставщик, местонахождение |
|---------------------------------|------------------|---------------------|--|
| Грудки без кожи | 53,24-53,42 | 266,20-267,10 | См. таблицу 14 |
| Бедра без кожи | 35,00 | 175,00 | См. таблицу 14 |
| Кожа куриного бедра | 3,50 | 17,5 | См. таблицу 14 |
| Вода | 7,00 | 35,00 | Crystal Clear, Des Moines, IA |
| Соль | 0,50 | 2,50 | Morton's, Chicago, IL |
| Триполифосфат натрия | 0,40 | 2,00 | Curafos Brinesolve, Innophos, Cranbury, NJ |
| Природный растительный экстракт | 0,18-0,36 | 0,90-1,80 | KFT, Des Moines, IA |

* Массу ингредиентов рассчитывают исходя из общей массы партии (500 г)

Из каждой обрабатываемой партии вручную формируют три котлеты (примерно по 150 г каждая) с использованием форм для пирожков (#81347, Sausagemaker, Buffalo, NY) и помещают их на противни из нержавеющей стали. Пирожки готовят на газовой плите (Jade Range, Brea, CA) при 190°C в течение 15 минут. Противень вынимают из печи,

котлеты переворачивают и снова помещают на противень в печь еще на 7-8 минут, пока все котлеты не достигли внутренней температуры 74°C. Котлеты быстро охлаждают на решетках, выстланных бумажными полотенцами. Затем каждую котлету отдельно упаковывают в пакет размером 7×10 дюймов толщиной три мила (№ 75001826, Bunzl PD, Kansas City, MO). Пакеты помещают в один слой на противни из нержавеющей стали и замораживают в течение ночи (-18°C). На следующий день пакеты запаивают без вакуума с помощью камерной вакуумной упаковочной машины VFTC-420 (MPBS Industries, Лос-Анджелес, Калифорния). Пакеты помещают в картонной коробке в морозильную камеру. Через 20 дней котлеты переносят в картонную коробку в холодильник (2,2-3,3°C) на срок до 14 дней.

Химические анализы

Окислительные изменения измеряют с помощью метода реактивных соединений тиобарбитуровой кислоты (TBARS) и выражают в виде TBARS (мг/кг образца)⁵. После хранения в течение 20 дней в замороженном состоянии измеряют TBARS через 1, 5, 8, 11 и 14 дней хранения в холодильнике.

Сенсорный анализ

Сенсорное тестирование проводят для обеих параллельных линий после 8 дней хранения в холодильнике. Края каждой лепешки обрезают, чтобы текстура каждого кусочка была однородной. Образцы разрезают на маленькие кусочки, и два кусочка для каждой обработки помещают в полистирольные стаканчики с крышками объемом 3,5 унций (30135J6 Dart Solo, webrestaurantstore.com, Lancaster, PA), маркированные трехзначным кодом. Образцы повторно нагревают в микроволновой печи мощностью 1000 Вт в течение 13 секунд при 100% мощности. Эксперты (14 человек), имеющие опыт определения прогорклости мяса, пробуют котлеты и оценивают приемлемость по 9-балльной гедонистической шкале с точностью до 1 балла, где 1=крайне не нравится, 2=не нравится очень сильно, 3=умеренно не нравится, 4=немного не нравится, 5=ни нравится, ни не нравится, 6=немного нравится, 7=умеренно нравится, 8=очень нравится и 9=очень нравится. Участникам группы предоставляют несоленые крекеры и воду, чтобы очищать небо между образцами. Эксперты оценивают образцы параллельных линий А и В во время отдельных сессий, чтобы избежать сенсорной усталости.

Анализ данных

Средние значения TBARS подвергают двухфакторному дисперсионному анализу (ANOVA), используя время и обработку в качестве факторов, с помощью пакета программного обеспечения STATGRAPHICS® Centurion XV. Если результат, полученный с использованием ANOVA, является значимым ($p < 0,05$), различия среди обработок оценивают с помощью метода наименьшей значимой разности Фишера. Средние значения органолептической приемлемости сравнивают, используя однофакторный дисперсионный анализ с обработкой в качестве фактора⁷. Различия между обработками оценивают с помощью метода наименьшей значимой разности Фишера ($p < 0,05$).

Полученные результаты

В течение 14-дневного периода хранения в холодильнике с помощью двухфакторного дисперсионного анализа значений TBARS (фиг. 25) выявляют влияние ($p < 0,01$, Приложение) обработки и времени, а также взаимодействие ($p < 0,01$) между двумя факторами. На основании разделения средних значений определяют, что пирожки, обработанные FORTIUM RIO Dry, имеют более высокие ($p < 0,05$) TBARS, чем пирожки, обработанные FORTIUM RGT12 Plus Dry и FORTIUM RIO Dry+Monarda на 8-й день, и более высокие ($p < 0,05$) TBARS, чем все другие виды обработки на 11 и 14 день. Существенные различия между значениями TBARS пирожков, обработанных двумя препаратами Monarda и FORTIUM RGT12 Plus Dry, не обнаружены.

После хранения в холодильнике в течение 8 дней сенсорные показатели приемлемости (фиг. 26) котлет варьируют от 5,49 до 6,49, причем различия ($p = 0,2914$) между вариантами обработки отсутствуют.

Обработка монардой приводит к появлению сильного травяного аромата, похожего на орегано. Поскольку дегустаторы оценивают общую приемлемость, они присваивают баллы на основе своего впечатления о наличии и отсутствии как желательных, так и нежелательных привкусов. Некоторые дегустаторы записывают отрицательные отзывы о травяном вкусе (обусловленном монардой), но они также указывают, что эти образцы не имеют вкуса окисленной курицы. Дополнительные исследования будут проведены в будущем после того, как экстракт монарды или другой растительный источник THQ будет очищен до уменьшения травяного привкуса. Травяной вкус является результатом присутствия остаточных летучих соединений, таких как тимол. Активный ингредиент монарды, THQ, сам по себе не имеет сильного травяного вкуса, поэтому можно предположить, что уменьшение травяного вкуса не снижает антиоксидантную активность. В целом результаты демонстрируют, что сочетание экстрактов розмарина и монарды действует аналогично золотому стандарту FORTIUM RGT12 Plus Dry.

ПРИМЕР 6

Использование экстракта *Monarda fistulosa* для замедления окисления липидов и изменения цвета свиного фарша

ЦЕЛЬ

Monarda fistulosa, также известная как пчелиный бальзам или дикий бергамот, представляет собой травянистое многолетнее растение из семейства мятных (*Lamiaceae*), которое произрастает в Северной Америке. Авторы изобретения обнаружили, что активный ингредиент монарды, ответственный за антиоксидантную активность, тимогидрохинон (THQ), проявляет сильную антиоксидантную активность в растительных маслах и животных жирах. После определения его эффективности в жирах и маслах авторы изобретения оценивают его эффективность в разных пищевых веществах, таких как мясо и птица. Исследование зависимости доза-эффект для экстракта монарды проводят с использованием вареной свиной колбасы, также проводят валидационные исследования для тестирования компонентов RGT по отдельности, в сочетании, и в сочетании с экстрактом монарды. Пост-ригорную свиную лопатку объединяют с водой

(3,0%), солью (2,0%) и натуральными растительными экстрактами с получением модели свиной колбасы. Окислительную стабильность измеряют по реактивным соединениям тиобарбитуровой кислоты (TBARS) в течение 11 дней хранения в холодильнике (2-4°C).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обработки

Сырье, используемое в обработках (таблица 21), получают из запасов образцов Лабораторной службы клиентов KFT, или закупают у внешних поставщиков. FORTIUM RGT12 Plus Dry используют в качестве положительного контроля в скрининговых исследованиях, поскольку это лучший натуральный растительный экстракт, который KFT предлагает для продления срока годности варено-замороженных и сырозамороженных свиных колбас. Отрицательный контроль не используют, поскольку коммерчески доступные замороженные свиные колбасы обычно, если не всегда, содержат либо синтетические, либо натуральные антиоксиданты.

В данном исследовании используют экстракт монарды с содержанием THQ 26,8%. Поскольку высушенный экстракт является гигроскопичным и высококонцентрированным, его смешивают (таблица 22) с подсолнечным маслом и диоксидом кремния с помощью ступки и пестика с получением визуально однородной сыпучей смеси, что улучшает его дисперсию в продуктах из мясного фарша. Экстракт монарды и подсолнечное масло помещают в ступку и растирают пестиком до тех пор, пока смесь не превратится в густую пасту. Затем к пасте добавляют диоксид кремния и размалывают до тех пор, пока диоксид кремния не поглотит все масло, и смесь не станет достаточно сухой, чтобы ее можно было соскребать с пестика. Дозы продукта, используемые для скрининговых и валидационных исследований (0,01, 0,02 и 0,03%), относятся к исходному концентрированному экстракту монарды. Когда сообщают, что используют 0,02% экстракта монарды, на самом деле это означает 0,2% разбавленного экстракта монарды, который содержит 0,02% концентрированного экстракта.

Таблица 21

Носители смешивают с экстрактом монарды (26,8% тимогидрохинона) с получением свободнотекучей смеси

| Сырьевое вещество | Процентное содержание | Масса (г) |
|--------------------|-----------------------|-----------|
| Подсолнечное масло | 40 | 2,64 |
| Диоксид кремния | 60 | 3,3 |
| Экстракт монарды | 10 | 0,66 |

Таблица 22.

Обработки, используемые в скрининговом исследовании свиной колбасы 1

| |
|-------------------------------------|
| Обработки |
| 1500 ч.\млн FORTIUM RGT 12 Plus Dry |

| |
|------------------------------|
| 100 ч./млн экстракта монарды |
| 200 ч./млн экстракта монарды |
| 300 ч./млн экстракта монарды |

GTE=экстракт зеленого чая. ROSAN 8CA=экстракт розмарина в подсолнечном масле, содержащий 8% карнозиновой кислоты. Монарда=Экстракт монарды, содержащий 26,8% тимогидрохинона.

Второе скрининговое исследование проводят для тестирования экстракта монарды, компонентов RGT по отдельности, в сочетании и в сочетании с экстрактом монарды (таблица 23). GTE (10%) смешивают с диоксидом кремния (90%) в кормоизмельчителе, чтобы к мясу добавить 0,045% этой смеси и обеспечить лучшее распределение, чем при добавлении 0,0045% чистого GTE. Кроме того, ROSAN 8CA (50%) смешивают с диоксидом кремния (50%) в кормоизмельчителе с получением сухой смеси, которая легче распределяется в мясе.

Таблица 23

Обработка натуральными растительными экстрактами, используемыми для скринингового исследования 2

| |
|---|
| 200 ч./млн монарды |
| 200 ч./млн монарды+45 ч./млн GTE |
| 200 ч./млн монарды+45 ч./млн GTE+171 ч./млн ROSAN 8CA |
| 200 ч./млн монарды+171 ч./млн ROSAN 8CA |
| 171 ч./млн ROSAN 8CA+45 ч./млн GTE |
| 45 ч./млн GTE |
| 171 ч./млн ROSAN 8CA |

GTE=экстракт зеленого чая. ROSAN 8CA=экстракт розмарина, содержащий 8% карнозиновой кислоты в подсолнечном масле. Монарда=ацетоновый экстракт монарды, содержащий 26,8% тимогидрохинона).

Обработка мяса

В двух скрининговых исследованиях используют одни и те же общие стадии обработки мяса. Скрининговое исследование 2 состоит из двух полных повторов, проведенных с интервалом в две недели. Стейки из свинины покупают в местном продуктовом магазине (Fareway, Ankeny, IA). Эти куски свинины выбирают потому, что они представляют собой свиную лопатку (бостонский окорочок), нарезанную персоналом продуктового магазина, а свиной окорочок обычно используют для пост-ригорных колбас. Стейки из отделенной от костей свинины нарезают кубиками по 1 см. Мясо всех стейков быстро перемешивали вручную перед разделением на партии для обработки. Семь партий (350 г) мяса помещают в полиэтиленовые пакеты для хранения емкостью 1 галлон (Great Value, Bentonville, AR) и хранят в холодильнике, пока готовят другие партии. Для каждой партии компоненты обработки и соль (Morton's, Chicago, IL, 2.0%) смешивают

металлическим шпателем в одноразовом блюде весов до тех пор, пока они не становятся визуально однородными. Смесь антиоксидантов и соли посыпали на поверхность мяса с помощью металлического шпателя, чтобы она не концентрировалась в одной области. Холодную воду (Crystal Clear, Des Moines, IA, 3,0%) наносят на поверхность с помощью пластиковой пипетки для переноса. Мешок перемешивают в течение 30 секунд, чтобы равномерно распределить воду и средства по кусочкам свинины. Затем мясо замораживают в течение одного часа при температуре -18°C , чтобы уменьшить повышение температуры во время измельчения.

Каждую обрабатываемую партию измельчают с помощью пластины 4,8 мм, используя насадку для мясорубки № 12 (Alfa International Corporation, Armonk, NY) и смеситель Hobart Legacy HL200 (Troxy, OH). Для второго скринингового исследования, параллельная линия 2, вручную формируют две круглые котлеты массой 150. Только одну котлету (готовую) получают для первого скринингового исследования и первой параллельной линии второго скринингового исследования. По одной котлете, полученной после каждой обработки, помещают на лотки из вспененного полистирола размером 13,3 см (GENPAK IS, Webstaurant Store, Lancaster, PA). Лотки покрывают пищевой пленкой из поливинилхлорида (AEP 30530900, Webstaurant Store, Lancaster, PA). Котлеты используют для измерения цвета в день 0, затем помещают в один слой на противень из нержавеющей стали и замораживают (-18°C) в течение ночи (16 часов). На следующий день замороженные котлеты помещают в картонной коробке в морозильную камеру на 188 дней.

Другой набор котлет готовят на газовой плите при 190°C (Jade Range, Brea, CA) в течение 15 минут. Противень вынимают из печи, котлеты переворачивают и снова помещают противень в печь еще на 7-8 минут, пока все котлеты не достигнут внутренней температуры 74°C . Котлеты быстро охлаждают на решетках, выстланных бумажными полотенцами. Затем каждую котлету разрезают на 5 клиновидных кусочков и все куски упаковывают по отдельности в пакеты размером 7×10 дюймов толщиной три мила (№75001826, Bunzl PD, Kansas City, MO), которые разрезают на 4 пакета меньшего размера. Пакеты запаивают без вакуума с помощью камерной вакуумной упаковочной машины VFTC-420 (MPBS Industries, Los Angeles, CA). Пакеты помещают в картонной коробке в холодильник ($2,2-3,3^{\circ}\text{C}$) на срок до 11 дней.

Измерение цвета (скрининг 2)

Для второй параллельной линии скрининга 2 осуществляют инструментальные измерения цвета и делают цифровые фотографии в день получения котлет и после 188 дней хранения в замороженном виде. Инструментальные измерения цвета (Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) L^* (светлость), a^* (краснота), и b^* (желтизна)) проводят, используя колориметр HunterLab ColorFlex™ (Hunter Associates Laboratory; Reston, VA), источник света D65, стандартный угол обзора 10° , поле обзора 1,25 дюйма и порт⁷. Значения a^* указывают, потому что покраснение является параметром, наиболее характерным для изменения цвета, вызванного окислением миоглобина и липидов. Для

каждой котлеты проводят три измерения цвета, и для каждой обработки определяют среднее значение. Цифровые фотографии делают с помощью компактной цифровой камеры.

Химический анализ

Окислительные изменения в полученных котлетах измеряют методом реактивных соединений тиобарбитуровой кислоты (TBARS) и выражают в виде TBARS (мг/кг образца)⁸. TBARS измеряют после 1, 5, 8 и 11 дней хранения в холодильнике.

Анализ данных

Для валидационного исследования средние значения TBARS подвергают двухфакторному дисперсионному анализу (ANOVA), используя время и обработку в качестве факторов и пакет программного обеспечения STATGRAPHICS® Centurion XV9. Если результаты в соответствии с ANOVA являются значимыми ($p < 0,05$), различия между обработками оценивают с помощью метода наименьшей значимой разности Фишера.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Скрининговое исследование

В течение 11-дневного периода хранения в холодильнике значения TBARS (фиг. 27) увеличиваются по мере прогрессирования окисления липидов. Обработка монардой в концентрации 200 и 300 частей на миллион дает численно более низкие значения TBARS, чем обработка золотым стандартом FORTIUM RGT12 Plus Dry, позволяя предположить, что монарда в концентрации 200 частей на миллион является хорошим кандидатом для дальнейшего тестирования.

Скрининговое исследование 2

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа значений TBARS, полученных в течение 11-дневного периода хранения в холодильнике (фиг. 28), выявляют влияние ($p < 0,01$, приложение) обработки и времени, а также взаимодействие ($p < 0,01$) между двумя факторами. Разделение средних значений позволяет сделать вывод, что котлеты ROSAN 8CA имеют самые высокие ($p < 0,05$) TBARS среди всех обработок. Котлеты GTE имеют более низкие TBARS ($p < 0,05$), чем котлеты ROSAN 8CA, но более высокие ($p < 0,05$) TBARS, чем котлеты Monarda+GTE и Monarda+ROSAN 8CA+GTE. Кроме того, котлеты GTE численно превышают, но не имеют значимых отличий от котлет ROSAN 8CA+GTE, Monarda и Monarda+ROSAN 8CA. Результаты демонстрируют, что монарда в отдельности действует аналогично золотому стандарту ROSAN 8CA+GTE, и что при совместном использовании любого из экстрактов наблюдаются аддитивные эффекты.

Фотографии (фиг. 29) котлет из свиного фарша не показали очевидных визуальных различий между обработками в день 0, а значения a^* (таблица 24) находятся в пределах нормы для продукта этого типа. После хранения в замороженном состоянии в течение 189 дней все котлеты стали коричневыми, но котлета, обработанная Monarda+GTE+ROSAN 8CA, обесцветилась менее заметно, чем котлеты, обработанные другими соединениями. Осталось небольшое покраснение, на что указывает значение a^* 8,08 (таблица 19). Второй

по эффективности обработкой является GTE+ROSAN 8CA со значением a^* 7,97. Значение a^* для монарды+ROSAN 8CA очень похоже на значение, полученное после обработки ROSAN 8CA отдельно, что свидетельствует об отсутствии аддитивного эффекта, однако экстракт монарды оказывает аддитивный эффект в сочетании с GTE.

Таблица 24

Инструментальное определение значений цвета a^* (краснота) для котлет из свиного фарша, обработанных разными натуральными растительными экстрактами

| Обработка | Значение a^* на день 0 | Значение a^* на день 189 |
|---|--------------------------|----------------------------|
| 200 ч./млн монарды | 18,39 | 5,86 |
| 200 ч./млн монарды+45 ч./млн GTE | 17,15 | 7,18 |
| 200 ч./млн монарды+45 ч./млн GTE+171 ч./млн ROSAN 8CA | 14,34 | 8,08 |
| 200 ч./млн монарды+171 ч./млн ROSAN 8CA | 15,22 | 6,75 |
| 171 ч./млн ROSAN 8CA+45 ч./млн GTE | 18,42 | 7,97 |
| 45 ч./млн GTE | 17,96 | 5,16 |
| 171 ч./млн ROSAN 8CA | 17,02 | 6,69 |

GTE=экстракт зеленого чая. ROSAN 8CA=экстракт розмарина в подсолнечном масле, содержащий 8% карнозиновой кислоты. Монарда=ацетоновый экстракт монарды, содержащий 26,8% тимогидрохинона.

Следует понимать, что незначительные изменения в дозировке и составе композиции, а также в указанных здесь диапазонах, можно сделать, не отступая от объема и сущности настоящего изобретения.

После описания изобретения со ссылкой на конкретные композиции, теории эффективности и т.п. специалистам в данной области будет очевидно, что изобретение не ограничивается такими иллюстративными вариантами осуществления или механизмами и что модификации могут быть сделаны без отклонения от объема или сущности изобретения, определенных в прилагаемой формуле изобретения. Предполагается, что все такие очевидные модификации и вариации входят в объем настоящего изобретения, определенный в прилагаемой формуле изобретения. Подразумевается, что формула изобретения охватывает заявленные компоненты и стадии в любой последовательности, обеспечивающей эффективность в отношении достижения поставленных целей, если в контексте конкретно не указано иное.

Предшествующее описание приведено для иллюстрации и описания. Оно не является исчерпывающим списком и не предназначено для ограничения изобретения конкретными раскрытыми формами. Предполагается, что другие альтернативные процессы и способы, очевидные для специалистов в данной области техники, могут входить в объем настоящего изобретения. Описание представляет собой просто примеры

вариантов осуществления. Подразумевается, что могут быть сделаны любые другие модификации, замены и/или дополнения, которые находятся в пределах предполагаемых сущности и объема изобретения. Из вышеизложенного можно видеть, что иллюстративные аспекты описания достигают, по меньшей мере, всех намеченных целей.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Добавка к пищевому продукту, предназначенному для потребления человеком, или корму для домашних животных, содержащая тимогидрохинон (ТНҚ) в количестве, эффективном для стабилизации композиции пищевого продукта или корма для домашних животных.

2. Добавка по п.1, где источник ТНҚ выбран из группы, состоящей из *Monarda fistulosa*, *Monarda punctata*, *Monarda didyma*, *Monarda citriodora* и *Nigella sativa*.

3. Добавка по п.1, где ТНҚ добавляют в композицию пищевого продукта или корма для домашних животных в количестве примерно от 10 до 1000 частей на миллион/массу или от 0,01 до 1 кг/тонну.

4. Способ стабилизации пищевых продуктов и кормов для домашних животных, включающий: добавление источника тимогидрохинона (ТНҚ) в композицию пищевого продукта или корма для домашних животных с получением стабилизированной композиции пищевого продукта или корма для домашних животных.

5. Способ по п.4, где источник ТНҚ выбран из группы, состоящей из *Monarda fistulosa*, *Monarda punctata*, *Monarda didyma*, *Monarda citriodora* и *Nigella sativa*.

6. Способ по п.4, где ТНҚ добавляют в пищевой продукт или корм для домашних животных в количестве примерно от 10 до 1000 частей на миллион/массу или от 0,01 до 1 кг/тонну.

7. Способ по п.4, где ТНҚ добавляют в пищевой продукт или корм для домашних животных в количестве примерно от 20 до 500 частей на миллион/массу пищевого продукта или корма для домашних животных.

8. Способ по п.4, дополнительно включающий добавление второго антиоксиданта, выбранного из группы, состоящей из мяты курчавой, розмарина, аскорбиновой кислоты и зеленого чая.

9. Способ по п.4, где ТНҚ получают из растительного или синтетического источника.

10. Способ по п.4, где ТНҚ является единственным антиоксидантом, добавляемым в пищевой продукт или корм для домашних животных.

11. Способ по п.4, где ТНҚ и второй антиоксидант являются единственными антиоксидантами, добавляемыми в пищевой продукт или корм для домашних животных.

12. Способ по п.4, где источник ТНҚ добавляют в предварительно полученную смесь или непосредственно вводят в состав пищевого продукта или корма для домашних животных.

13. Способ по п.4, где ТНҚ добавляют в пищевой продукт или корм для домашних животных путем распыления его на внешнюю часть пищевого продукта или корма для домашних животных с образованием покрытия.

14. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных, содержащая:

пищевой продукт или корм для домашних животных; и

эффективное количество тимогидрохинона.

15. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, где ТНҚ получают из растительного или синтетического источника.

16. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.15, где источник ТНҚ выбран из группы, состоящей из *Monarda fistulosa*, *Monarda punctata*, *Monarda didyma*, *Monarda cit odora* и *Nigella sativa*.

17. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, где ТНҚ является единственным антиоксидантом, добавляемым в пищевой продукт или корм для домашних животных.

18. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, где ТНҚ и второй антиоксидант являются единственными антиоксидантами, добавляемыми в пищевой продукт или корм для домашних животных.

19. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, где источник ТНҚ добавляют в предварительно полученную смесь или непосредственно вводят в состав пищевого продукта или корма для домашних животных.

20. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, содержащая ТНҚ в количестве примерно от 10 до 1000 частей на миллион.

21. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.20, содержащая примерно от 20 до 500 частей на миллион/массу пищевого продукта или корма для домашних животных.

22. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, дополнительно содержащая второй антиоксидант, выбранный из группы, состоящей из мяты курчавой, розмарина, аскорбиновой кислоты и зеленого чая.

23. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, не содержащая тимохинон.

24. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, где единственным антиоксидантом является ТНҚ.

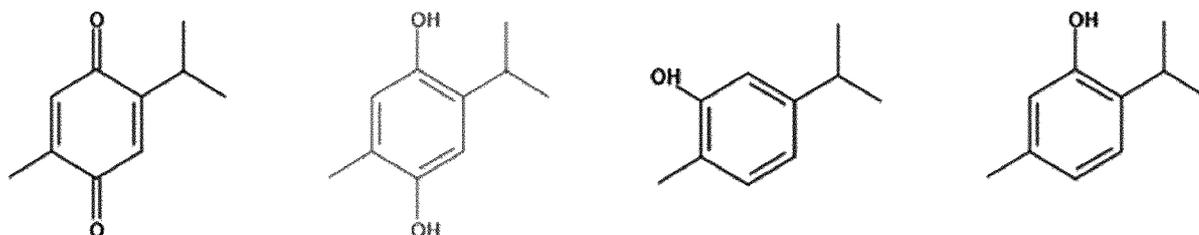
25. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, где ТНҚ и второй антиоксидант являются единственными антиоксидантами в композиции.

26. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.14, где ТНҚ наносят на поверхность пищевого продукта или корма для домашних животных.

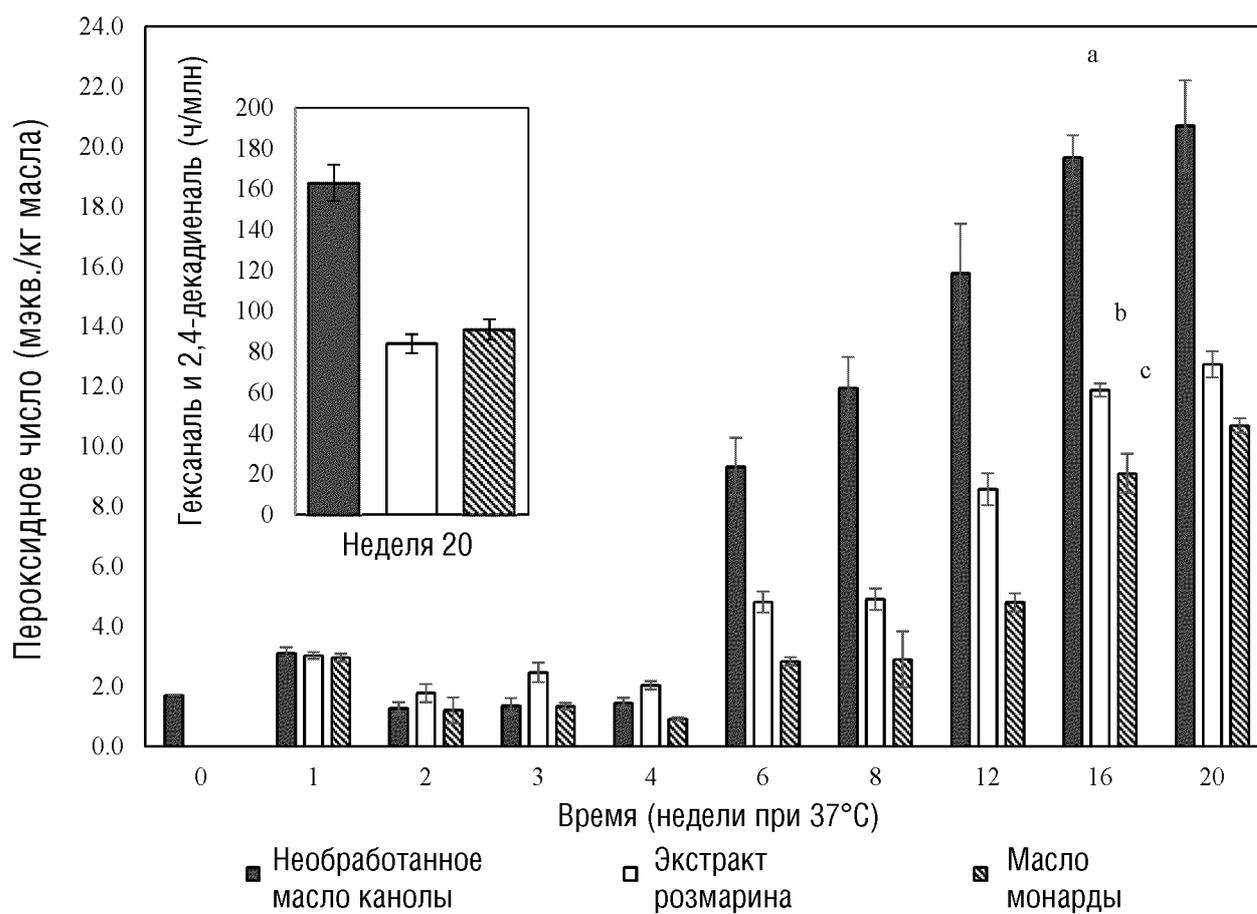
27. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.10, где пищевой продукт или корм для домашних животных имеет жировую/масляную основу.

28. Стабилизированная композиция пищевого продукта или корма для домашних животных по п.10, где пищевой продукт или корм для домашних животных имеет белковую основу.

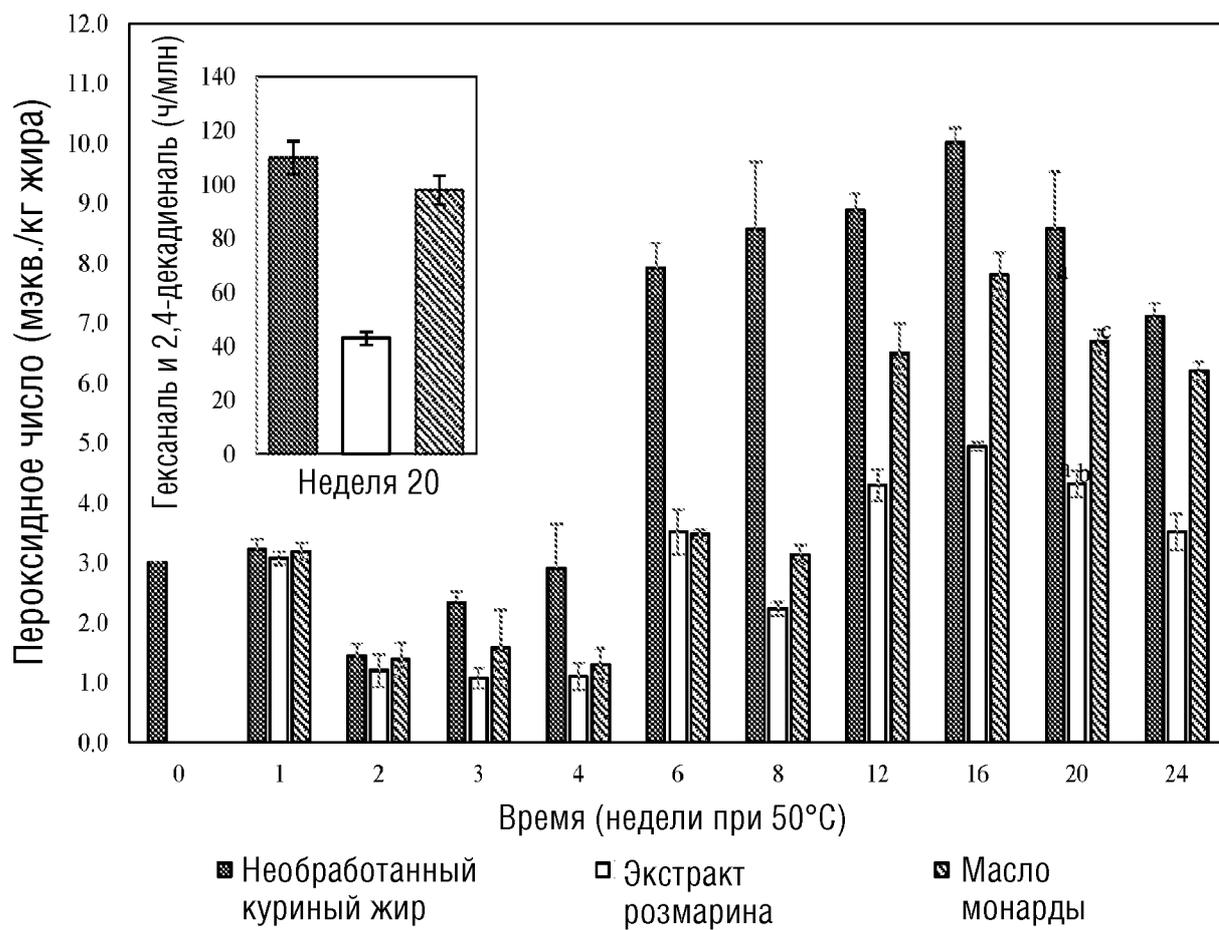
ФИГ.1



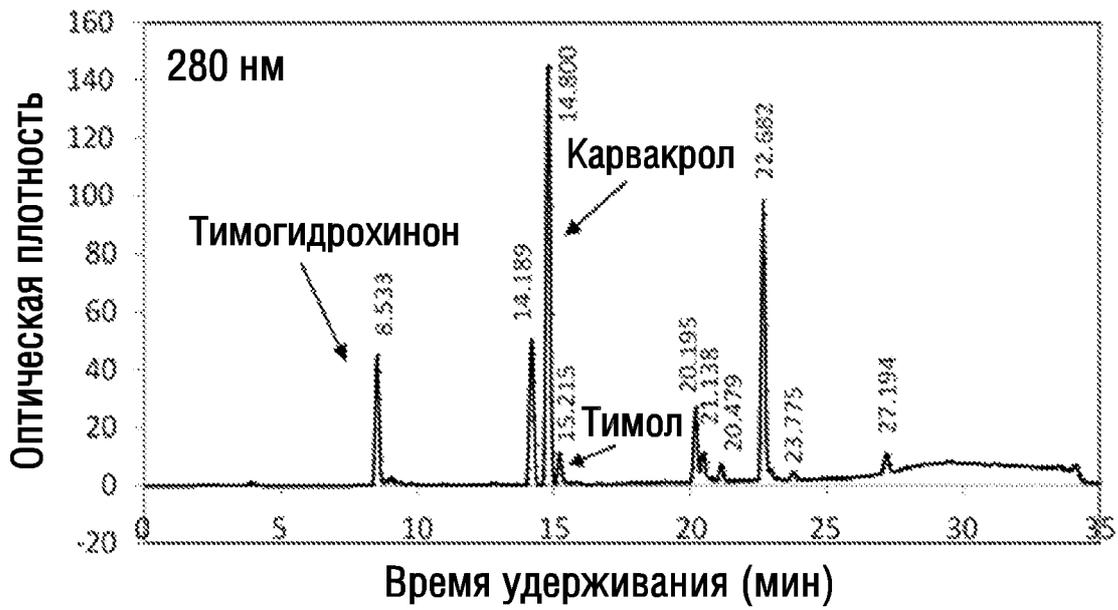
ФИГ.2



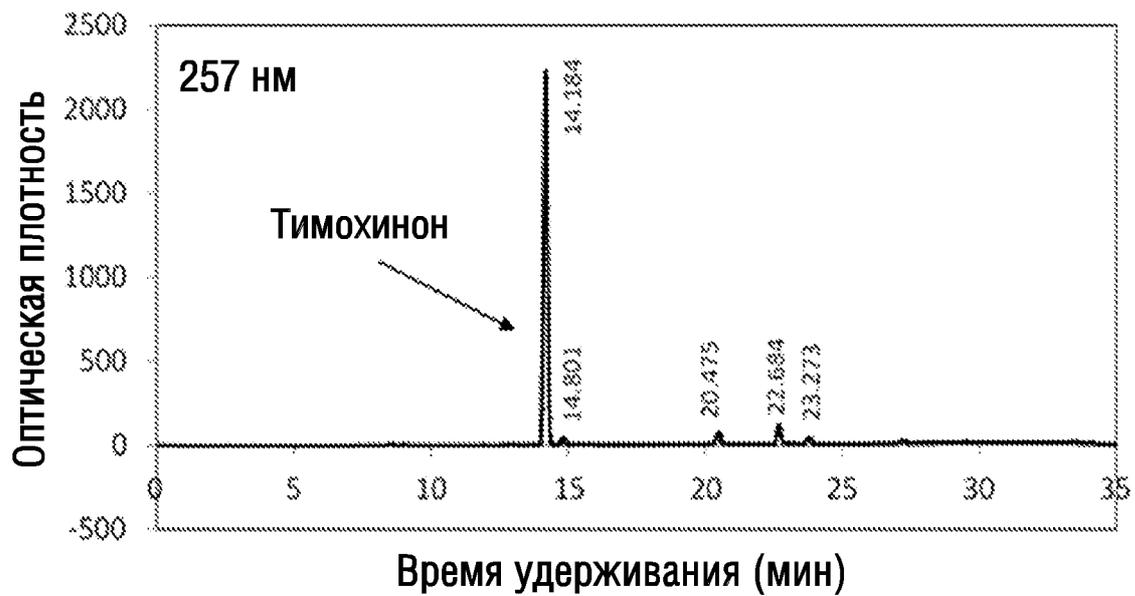
ФИГ.3



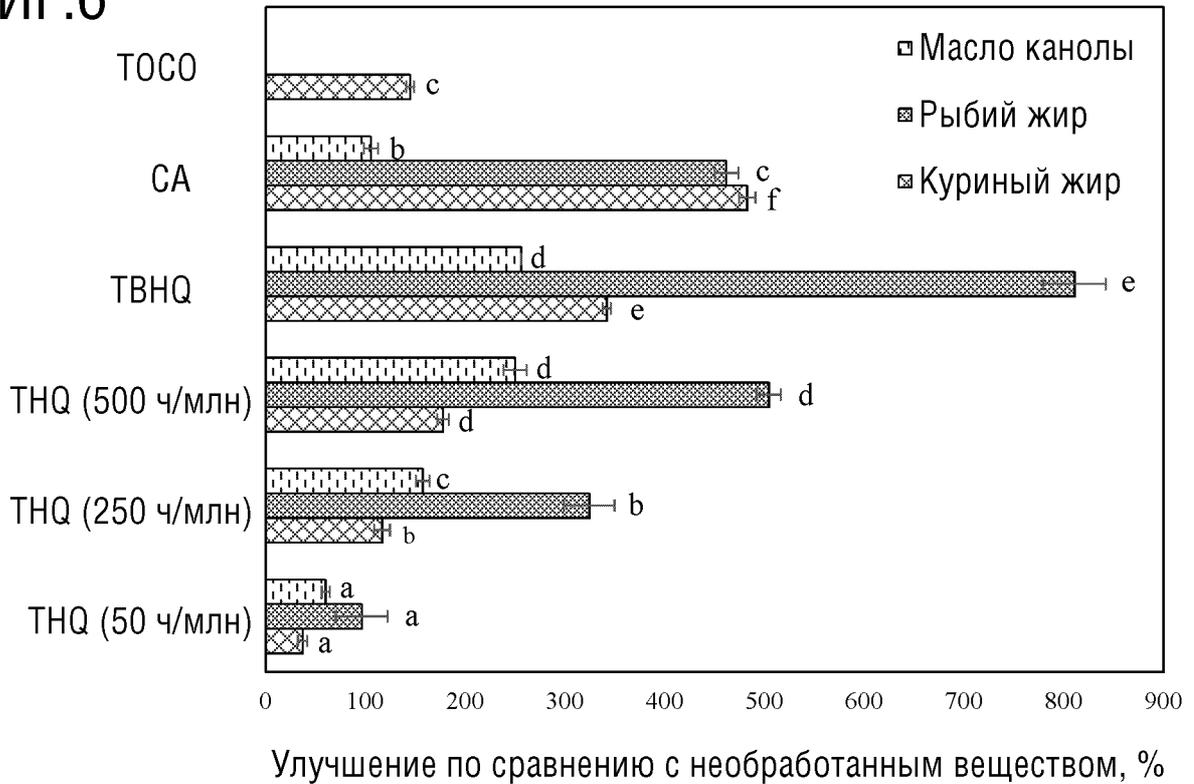
ФИГ.4А



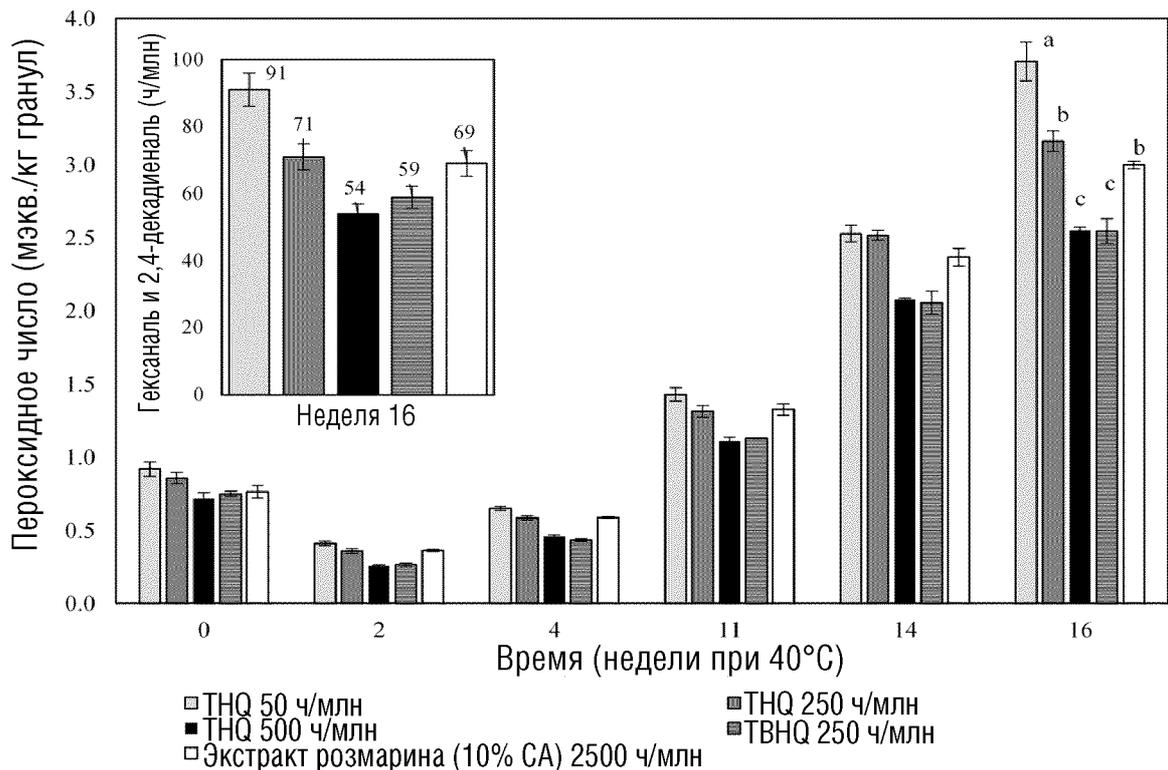
ФИГ.4В



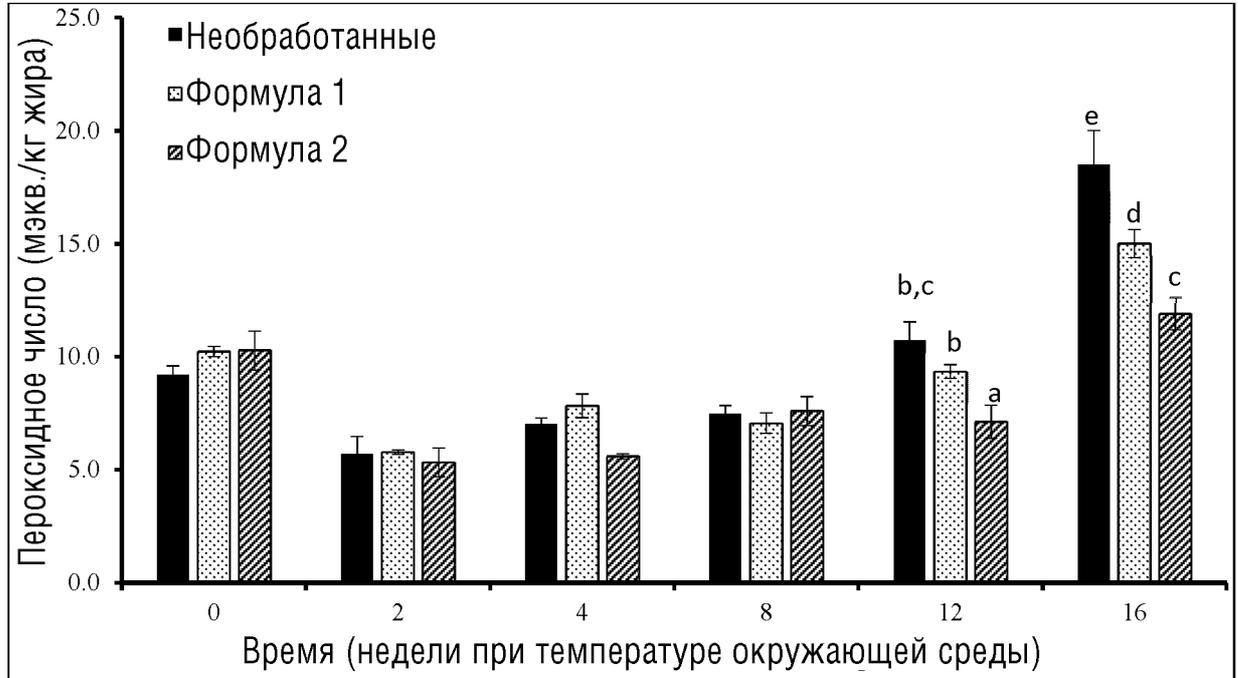
ФИГ.6



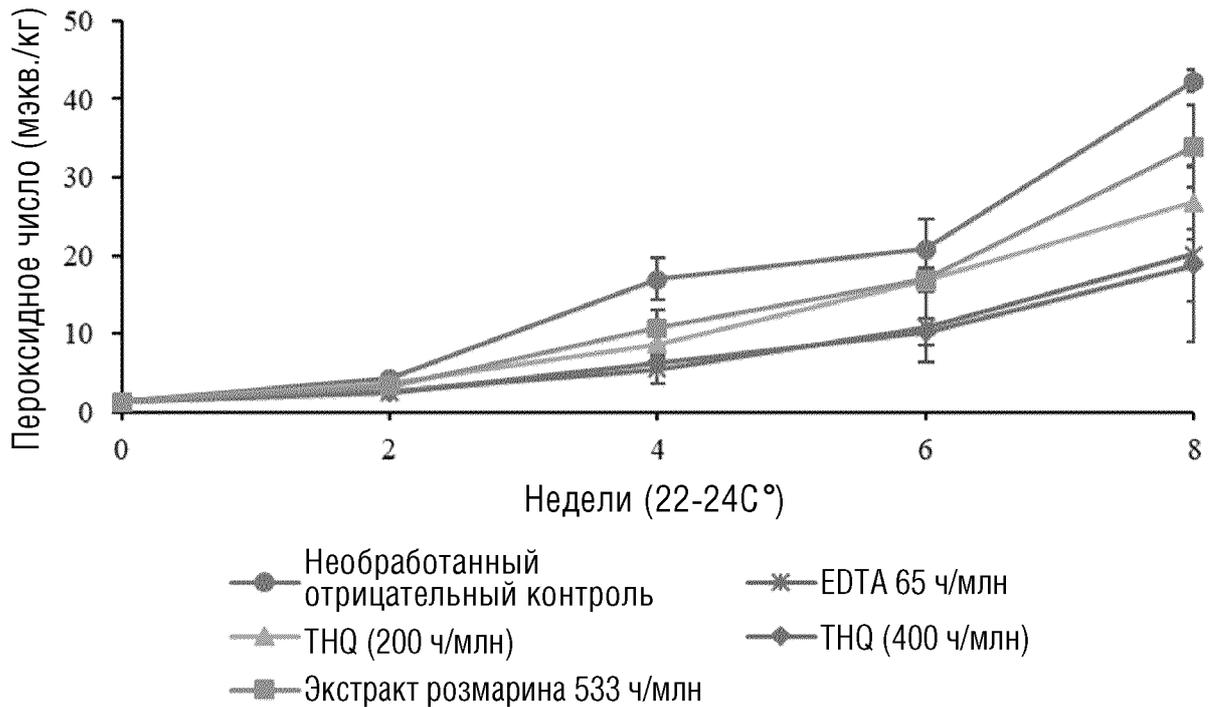
ФИГ.7



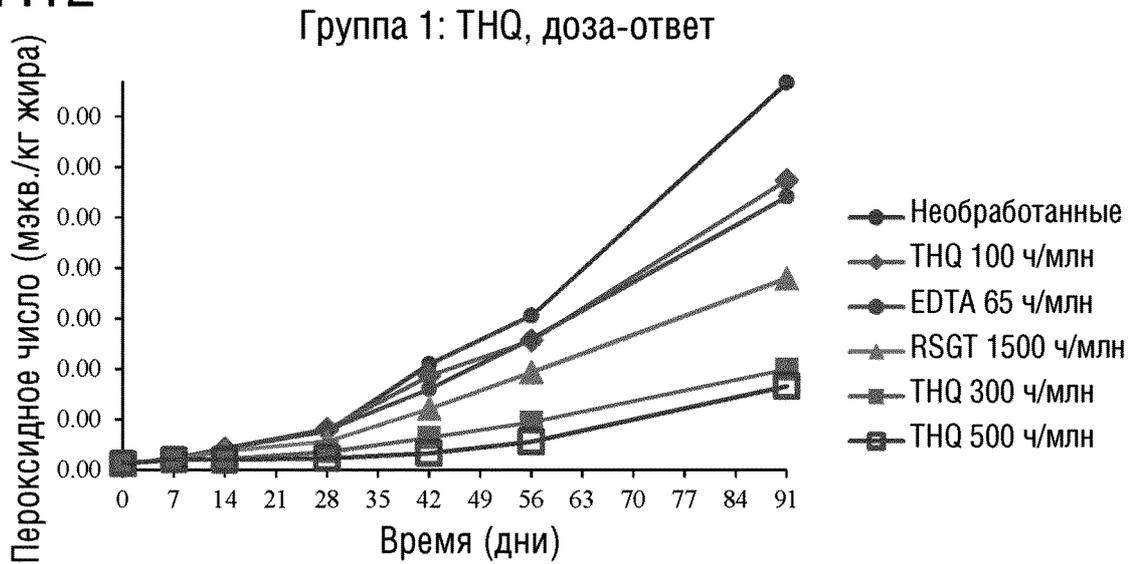
ФИГ.10



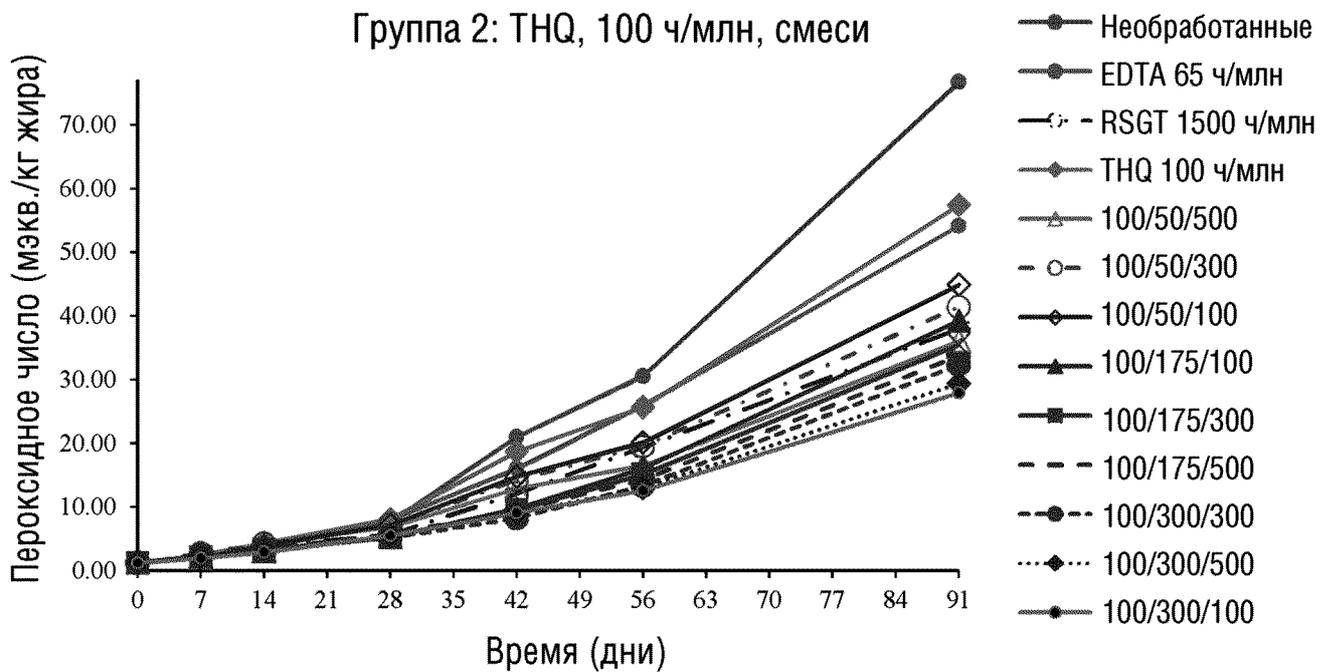
ФИГ.11



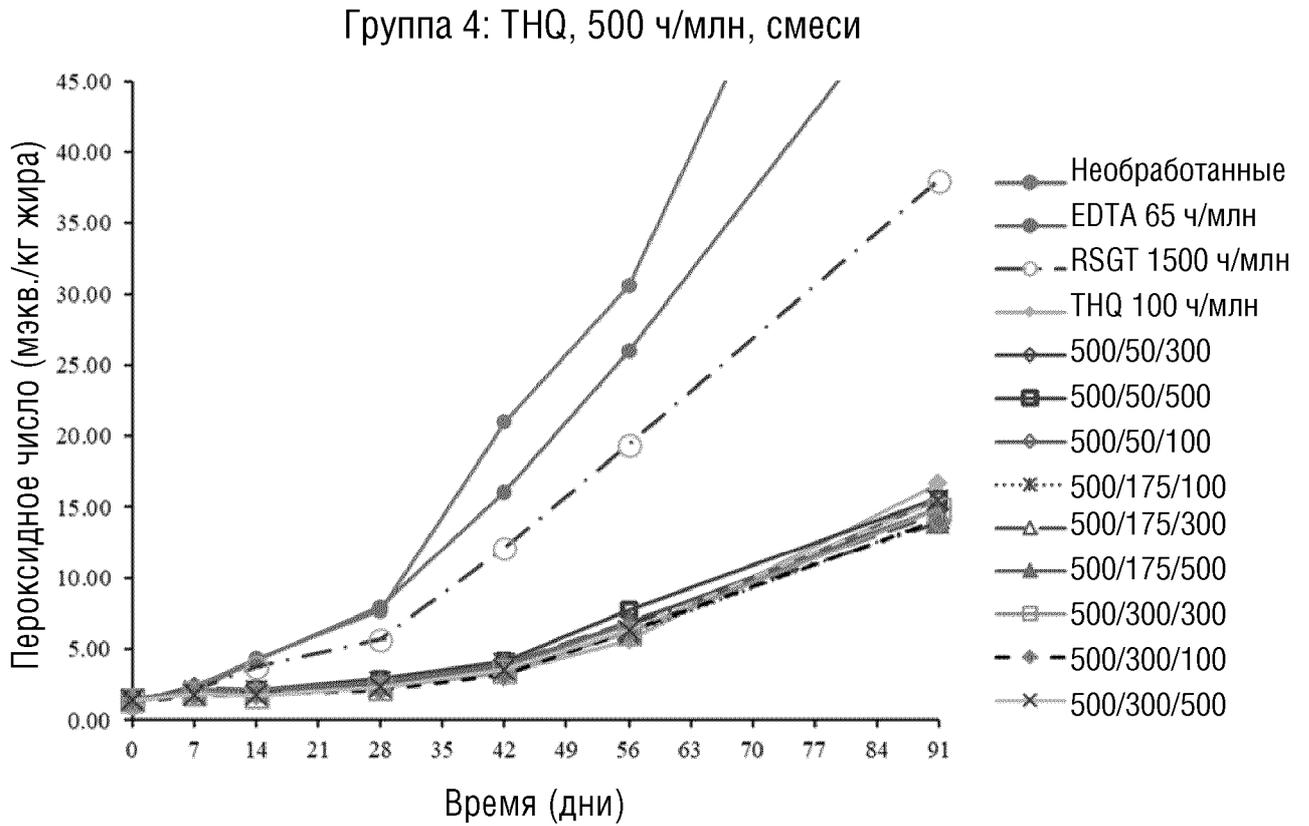
ФИГ.12



ФИГ.13

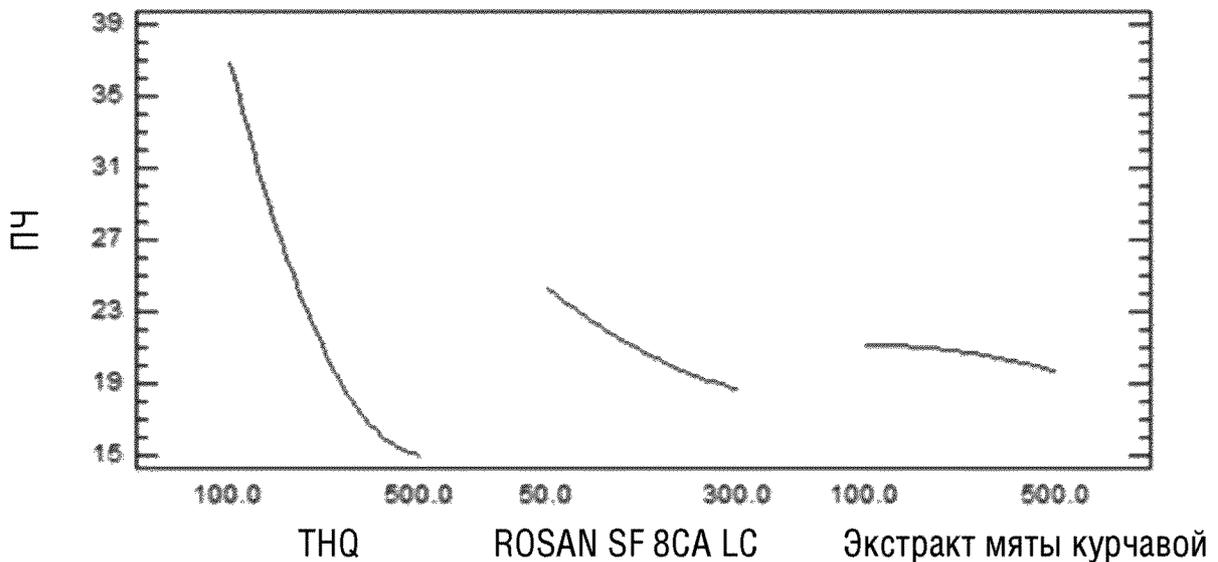


ФИГ.15

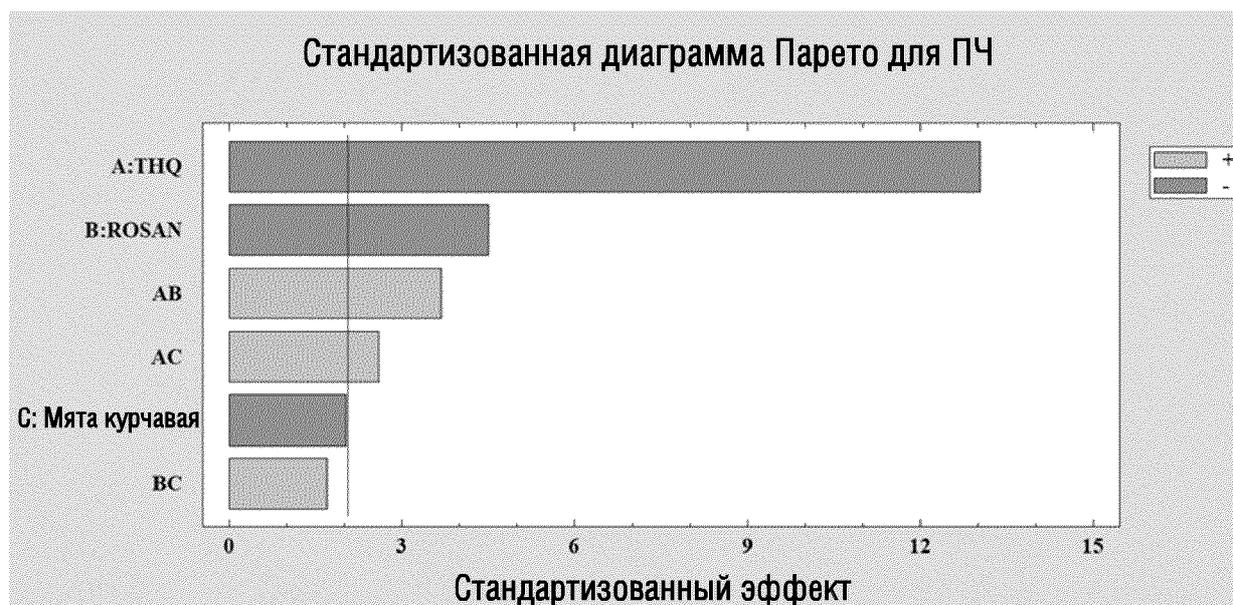


ФИГ.16

График основных эффектов для ПЧ (пероксидное число)



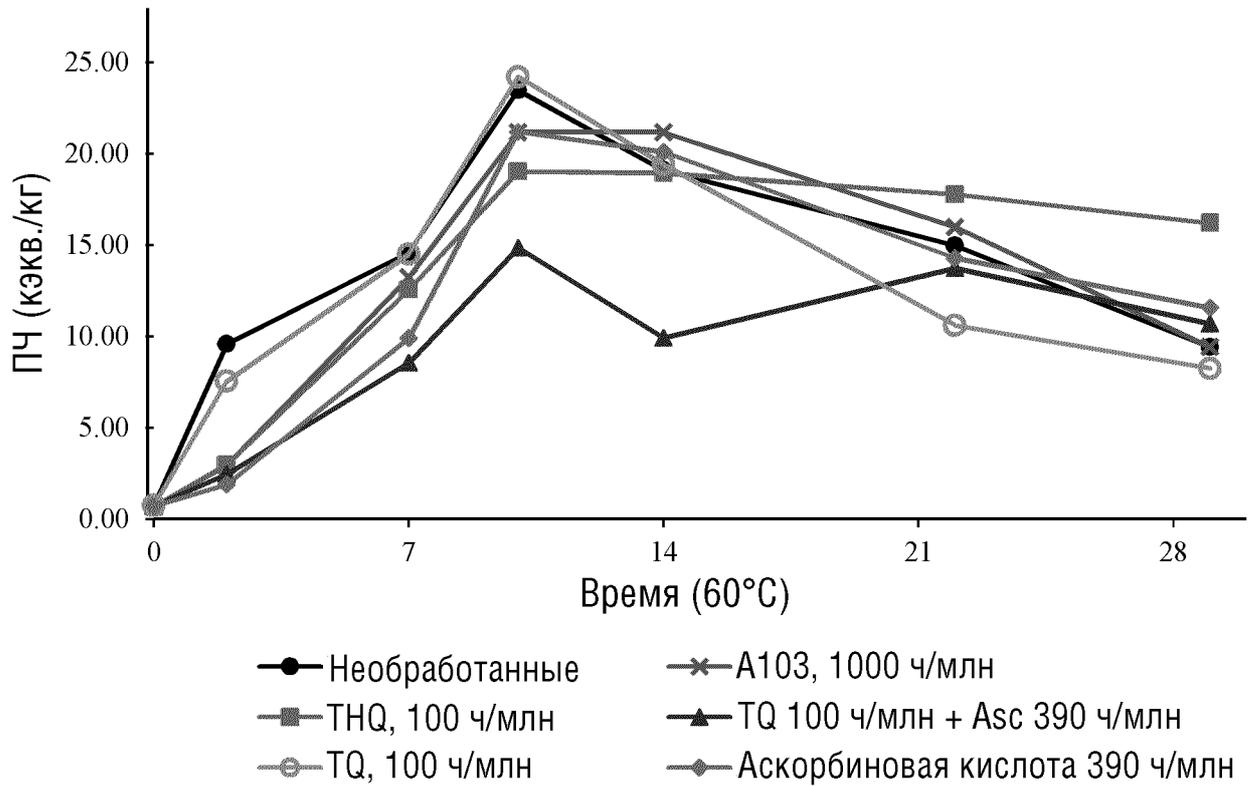
ФИГ.17



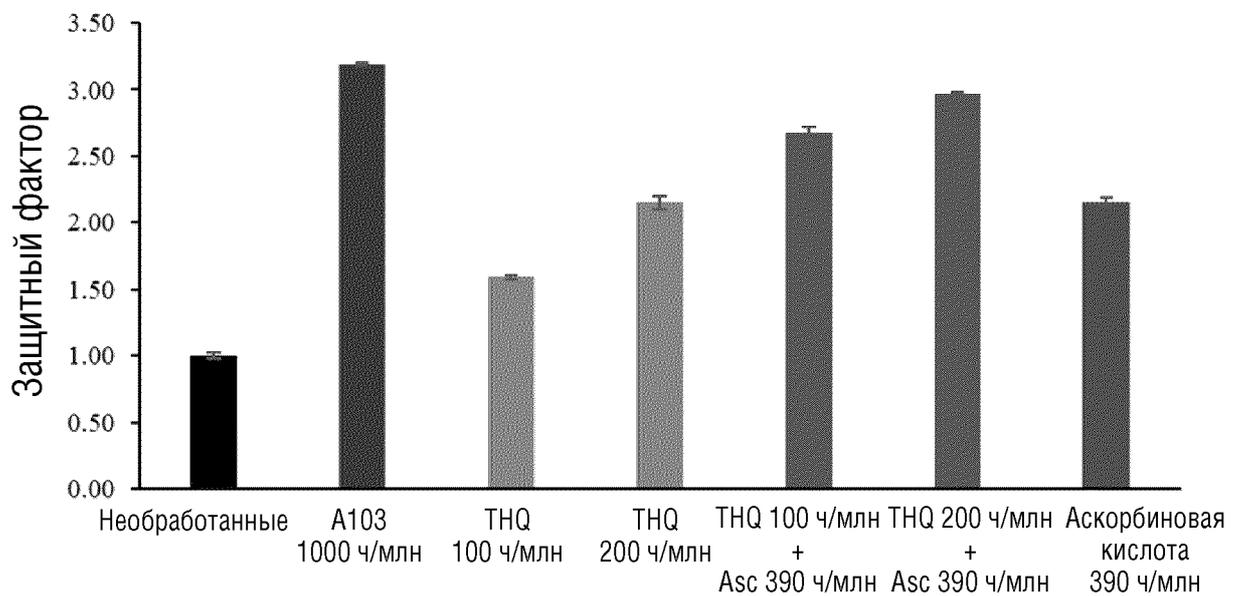
ФИГ.18

| Источник | Сумма площадей | Df | Средняя площадь | F-Отношение | P-Значение |
|-----------------|----------------|----|-----------------|-------------|------------|
| A:THQ | 3549.5 | 1 | 3549.5 | 169.87 | 0.0000 |
| B:ROSAN | 424.01 | 1 | 424.01 | 20.29 | 0.0001 |
| C:Мята курчавая | 86.6807 | 1 | 86.6807 | 4.15 | 0.0529 |
| AB | 283.859 | 1 | 283.859 | 13.58 | 0.0012 |
| AC | 142.352 | 1 | 142.352 | 6.81 | 0.0154 |
| BC | 60.6383 | 1 | 60.6383 | 2.90 | 0.1014 |
| Общая ошибка | 501.502 | 24 | 20.8959 | | |
| Всего (корр.) | 6024.39 | 30 | | | |

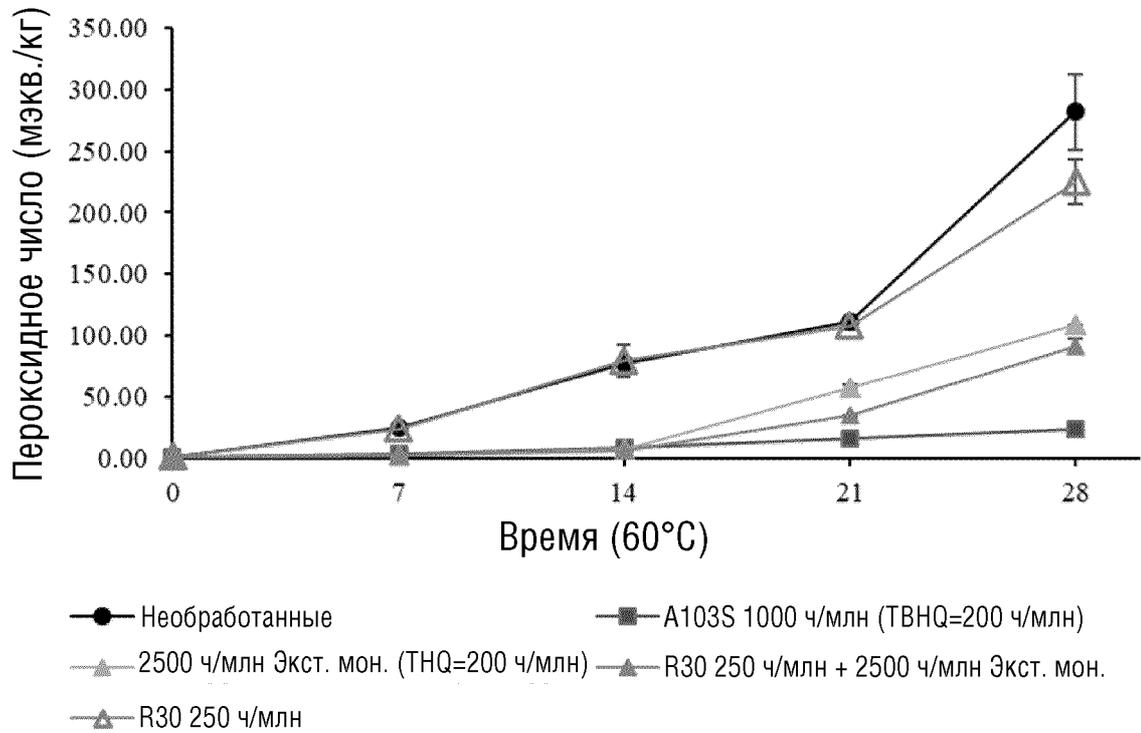
ФИГ.19



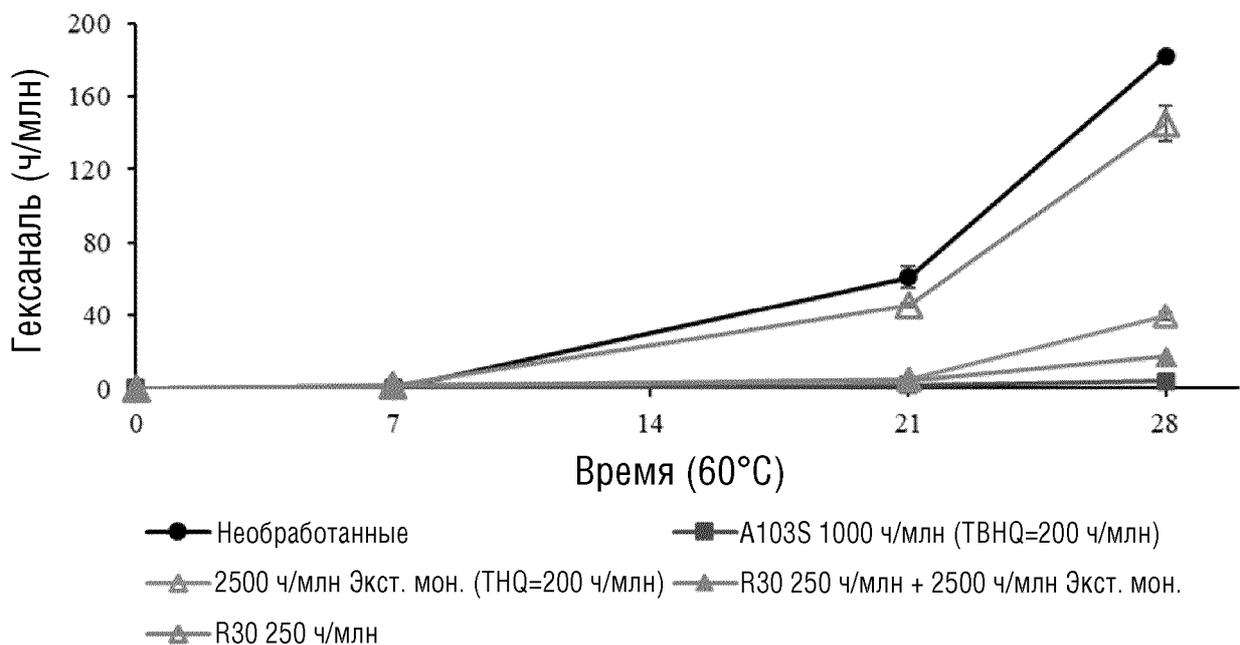
ФИГ.20



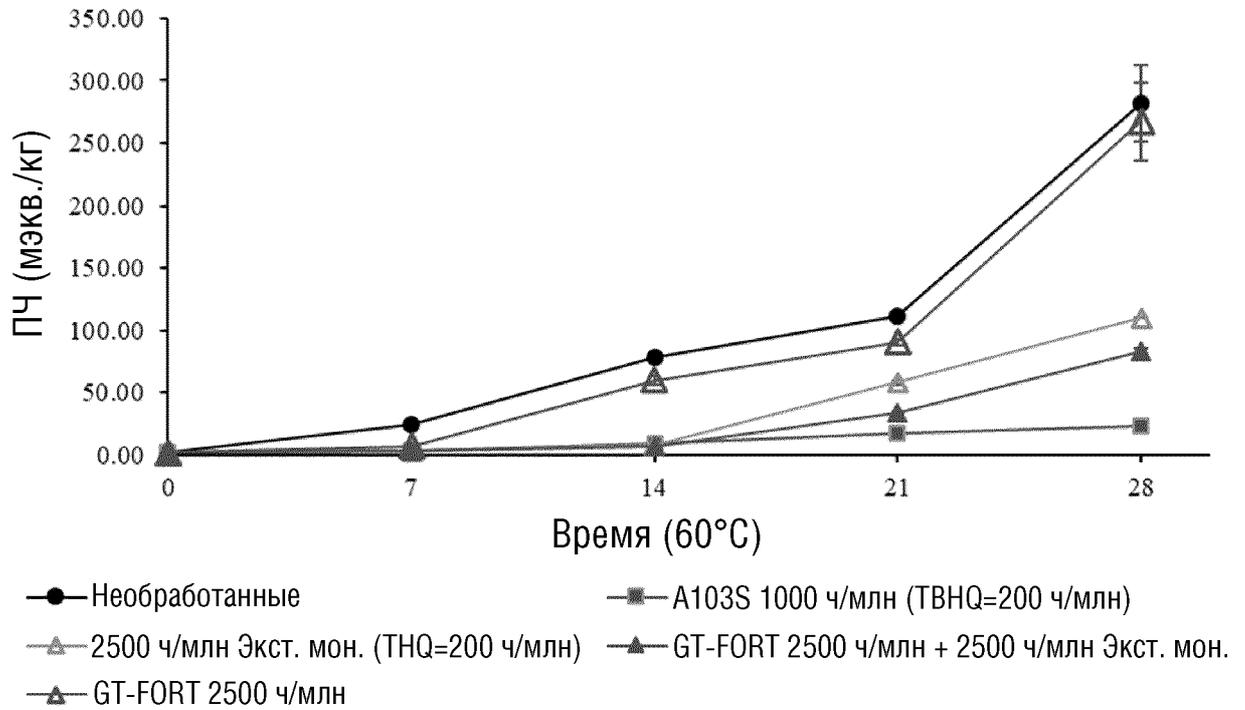
ФИГ.21



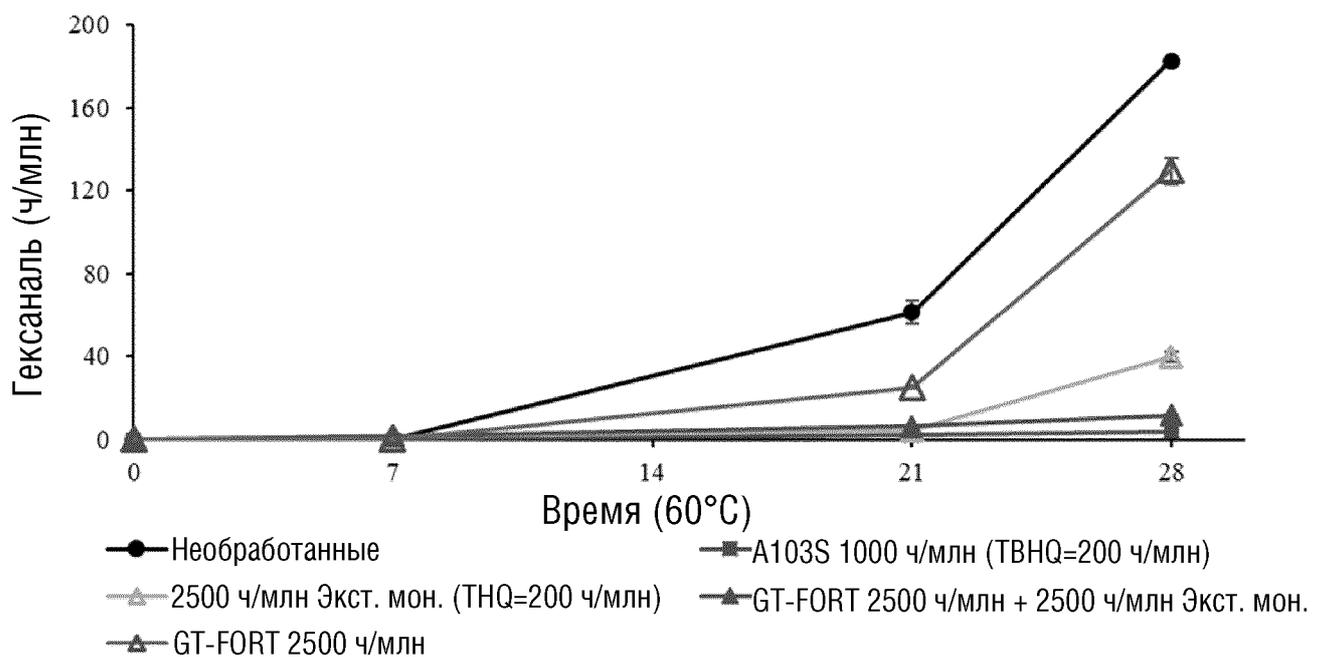
ФИГ.22



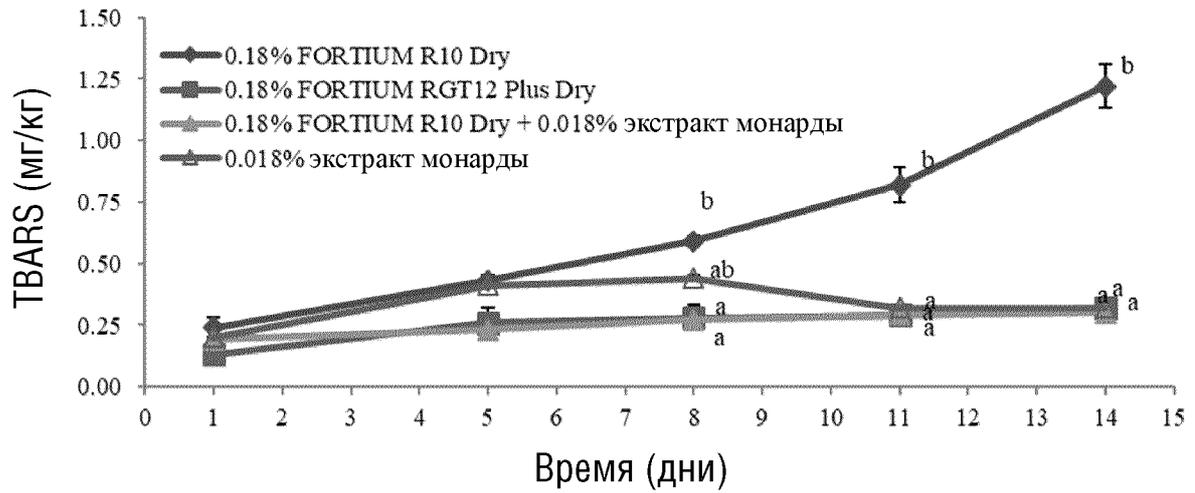
ФИГ.23



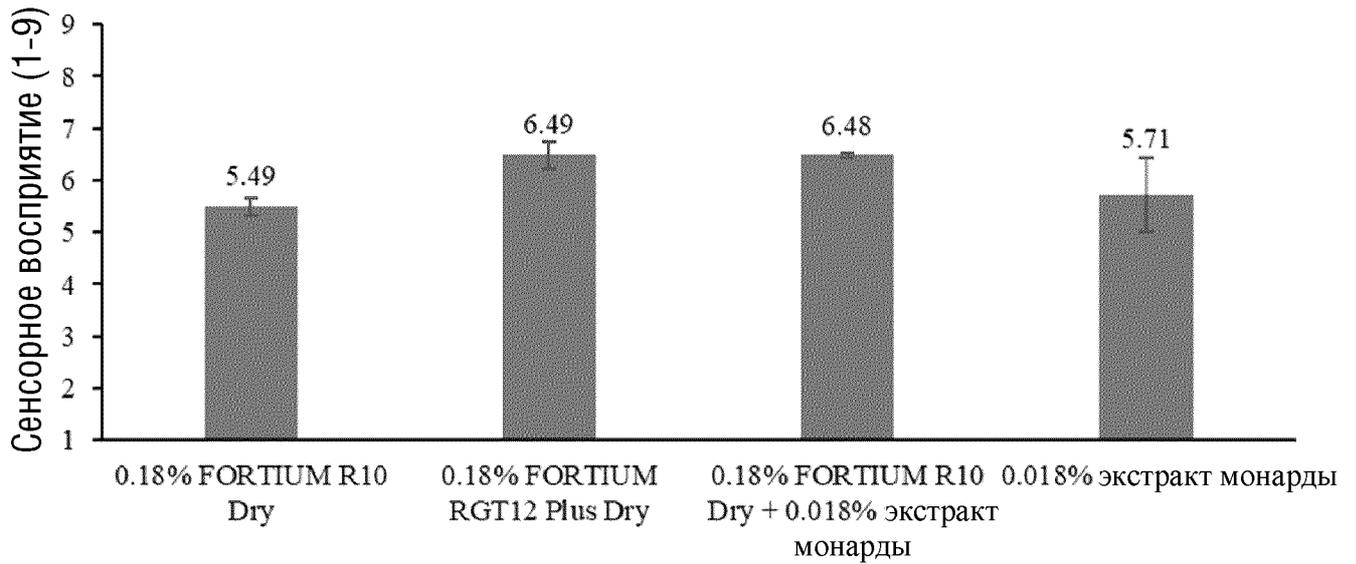
ФИГ.24



ФИГ.25



ФИГ.26



ФИГ.29

