

На правах рукописи



ЛОСЕВА АННА ИВАНОВНА

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ И ПРАКТИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ
ТЕХНОЛОГИЙ НАПИТКОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ,
КУЛЬТИВИРУЕМОГО *IN VITRO***

4.3.3. – Пищевые системы

4.3.5. – Биотехнология продуктов питания
и биологически активных веществ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора технических наук

Кемерово 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кемеровский государственный университет».

Научные консультанты: доктор технических наук,
профессор, член-корреспондент РАН
Просеков Александр Юрьевич

доктор технических наук, доцент
Милентьева Ирина Сергеевна

Официальные оппоненты: **Евдокимов Иван Алексеевич,**
доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет», базовая кафедра технологии молока и молочных продуктов Факультета пищевой инженерии и биотехнологий, заведующий кафедрой

Бабич Ольга Олеговна,
доктор технических наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», НОЦ «Промышленные биотехнологии» Образовательно-научного кластера «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)», директор

Кригер Ольга Владимировна
доктор технических наук, доцент, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», профессор факультета биотехнологий

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова» Российской академии наук

Защита диссертации состоится «03» ноября 2023 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.315.05 при ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» по адресу: 650056, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, 2 лекц. ауд. С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» (<https://kemsu.ru/science/dissertation-councils/diss-24-2-315-05/protects/45934/>).

Отзывы на автореферат отправлять по адресу: 650000, г. Кемерово, ул. Красная, 6.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Милентьева Ирина Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Извлечение биологически активных веществ из растений для создания нутрицевтиков приобретает особое значение на фоне глобального роста населения планеты и достижения целей в области устойчивого развития. Растительные продукты богаты вторичными метаболитами, которые обладают антиоксидантными, антиканцерогенными, гипотензивными, противовоспалительными, антимикробными, иммуностимулирующими, гипохолестеринемическими и другими свойствами. К веществам вторичного обмена относятся многочисленные органические соединения, среди которых, в соответствии с химической классификацией, выделяют фенольные соединения, алкалоиды, изопреноиды (терпеноиды). Широко распространенной группой полифенолов являются флавоноиды. Они являются активными клеточными метаболитами и играют существенную роль в различных физиологических процессах: рост, развитие и защита растений от различных неблагоприятных факторов окружающей среды (ультрафиолетового излучения, температурного и окислительного стресса, повышенных концентраций тяжелых металлов, от бактериальной, вирусной и грибковой инфекции, от проникновения паразитов и повреждения насекомыми).

Сегодня большинство вторичных метаболитов растений получают путем прямой экстракции из растительного материала. Это сложная задача, так как растения содержат сложные компоненты химически близкородственных соединений, а их концентрация подвержена сезонным и географическим колебаниям. Использование дикорастущих растений и трудоемкий процесс экстракции ограничивают коммерческое производство вторичных метаболитов растений.

Выращивание клеток и тканей растений *in vitro* (каллусных и клеточных культур), по сравнению с культивированием целых растений, обладает рядом преимуществ: независимость от внешних факторов (состава почвы или сезонных изменений, климатических факторов); отсутствие риска контаминации растительного материала микроорганизмами или повреждения насекомыми; противодействие исчезновению редких видов растений; снижение экономических затрат и повышение производительности за счет возможности автоматизации. Культуры растительных клеток представляют собой эффективное средство для крупномасштабного производства вторичных метаболитов в биореакторах. С учетом вышеизложенного актуальность исследований, направленных на разработку теоретических и практических основ создания функциональных напитков, обогащенных вторичными метаболитами растительного сырья, культивируемого *in vitro*, не вызывает сомнений.

Степень разработанности темы исследования. Изучению функциональных свойств (антимикробных, антиоксидантных, противовирусных, кардиопротекторных и др.) растений, культивированию клеточных культур *in vitro* и созданию функциональных продуктов питания посвящены научные труды российских и зарубежных ученых: А.В. Абрамчук, Е.В. Авдеевой, О.О. Бабич, Р.Р. Баймурадова, Ф.А. Вагабовой, Н.А. Величко, Л.С. Дышлюк, И.А. Евдокимова, А.В. Заушинценой, О.В. Кригер, В.А. Куркиной, И.С. Милентьевой, С.К. Мингалева, Н.А. Некратовой, В.В. Платоновой, А.Ю. Просекова, Э.Ф. Степановой, Н.П. Тимофеева, Т.Г. Толстиковой, V. Todorova, Y. Sun, J. Wang, L. Zhang, E. Skala, J. Kim, T. Efferth, R. Rameshkumara и др.

Отдельные этапы работы выполнены в рамках: ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы» по теме «Получение биологически активных ле-

карственных растений-эндемиков Сибири, с использованием культур клеток и органов высших растений», соглашение №: 075-02-2018-223 от 26.11.2018 г; реализации государственных работ в сфере научной деятельности в рамках государственного задания по теме «Скрининг биологически активных веществ растительного происхождения, обладающих геропротекторными свойствами, и разработка технологии получения нутрицевтиков, замедляющих старение» (проект FZSR-2020-0006); реализации государственных работ в сфере научной деятельности в рамках государственного задания по теме «Полифенолы растений СФО: оценка молекулярной и пространственной структуры веществ, характеристика биофункциональных свойств и токсикологических показателей безопасности на модельных системах *in vivo*» (проект FZSR-2023-0002).

Цель и задачи исследований. Целью диссертационной работы является развитие научных аспектов и практических решений получения клеточных культур растений биотехнологическими методами *in vitro*, извлечение из них комплекса вторичных метаболитов с широким спектром биологической активности, а также создание технологий получения экстрактов и функциональных напитков на их основе.

Для выполнения поставленной цели сформулированы задачи исследования:

- проанализировать химический состав, показатели качества и безопасности, а также биологическую активность нативного растительного сырья: левзеи сафлоровидной, женьшеня обыкновенного, элеутерококка колючего, пальчатокоренника пятнистого, диоскореи обыкновенной, сапожниковии растопыренной;
- подобрать рациональные составы питательных сред и параметры культивирования клеточных культур (каллусных и корневых) *in vitro*;
- оценить эффективность различных методов экстракции (мацерация, перколяция и микроволновая экстракция) природного растительного сырья и клеточных культур и подобрать рациональные параметры процессов;
- проанализировать компонентный состав (содержание флавоноидов, тритерпеноидов, кумаринов, фенилпропаноидов, антоцианов), физико-химические свойства, биологическую активность и показатели токсичности экстрактов природного сырья и клеточных культур растений, полученных разными методами;
- подобрать рациональные параметры очистки (ультрафильтрационный, хроматографический методы), концентрирования и сушки растительных экстрактов, полученных разными методами;
- разработать технологические схемы производства жидких и сухих экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений *in vitro*;
- разработать рецептуры и процессуальные схемы производства напитков на основе растительных экстрактов, оценить показатели качества, безопасности и функциональные характеристики, разработать техническую документацию;
- оценить экономическую эффективность предлагаемых технологий, провести опытно-промышленную апробацию и внедрение технологий в производство и учебный процесс.

Научная концепция диссертационной работы. В основу диссертационной работы положена концепция обеспечения доступности для потребителей биологически активных веществ на основе вторичных метаболитов, выделенных из клеточных культур растений. Выдвинута гипотеза, что использование биологически активных веществ, полученных из клеточных культур растений с доказанными биологическими свойствами *in vitro*, будет являться альтернативой выделения их из природного растительного сырья.

Научная новизна. В изученных видах растений: левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin (Asteraceae)), женьшене обыкновенном (*Panax ginseng* C.A. Mey (Araliaceae)), элеутерококке колючем (*Eleutherococcus senticosus* (Maxim. & Rupr.) Maxim. (Araliaceae)), пальчатокореннике пятнистом (*Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae)), диоскореи обыкновенной (*Dioscorea communis* (L.) Caddick & Wilkin (Dioscoreaceae)), сапожниковии растопыренной (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. (Ariaceae)) дифференцированно и экспериментально определено содержание соединений фенольной природы: апигенин – от 1,95 до 345,67 мг/г сухой массы, кверцетин – от 1,50 до 121,09 мг/г сухой массы, рутин – от 0,90 до 112,56 мг/г сухой массы, а также фенольные кислоты: кофейная кислота – от 0,31 до 52,12 мг/г сухой массы, хлорогеновая кислота – от 0,52 до 44,52 мг/г сухой массы, феруловая кислота – от 0,45 до 12,31 мг/г сухой массы.

Подобраны рациональные параметры культивирования каллусных и корневых культур *in vitro* растений, выбранных в качестве объектов исследования. Определены рациональные параметры процесса экстракции комплекса биологически активных веществ из биомассы каллусных и корневых культур растений методом перколяции: экстрагент – 40 %-ный этиловый спирт, гидромодуль 1 : 10, продолжительность экстракции – 120–240 мин (в зависимости от вида растения); методом микроволновой экстракции: экстрагент – 40 %-ный этиловый спирт, гидромодуль 1 : 10, мощность излучения 200–500 Вт (в зависимости от вида растения), продолжительность 20–40 мин (в зависимости от вида растения).

Установлены качественный и количественный состав БАВ, физико-химические свойства, показатели безопасности и токсичности экстрактов, полученных разными методами из биомассы каллусных и корневых культур растений.

В экспериментах *in vitro* доказано наличие у экстрактов, полученных из биомассы каллусных и корневых культур растений, антимикробных (по отношению к патогенным и условно патогенным тест-штаммам родов *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus viridans*, *Candida albicans*, *Microsporum canis*, *Penicillium citrinum*) и антиоксидантных свойств.

Подобраны параметры очистки, концентрирования и сушки растительных экстрактов, полученных из природного сырья и клеточных культур.

Научно обоснована безопасность применения биологически активных добавок на основе вторичных метаболитов, выделенных их клеточных культур растений *in vitro*.

Теоретическая и практическая значимость работы. На основе теоретических и экспериментальных исследований сформулированы основные требования к технологическому процессу получения биологически активных веществ из биомассы клеточных культур растений *R. carthamoides*, *P. ginseng*, *E. senticosus*, *D. maculata*, *D. communis*, *S. Divaricata*: предложены рациональные параметры получения каллусных и корневых культур растений; оптимизированы параметры экстракции комплекса биологически активных веществ из биомассы клеточных культур растений; подобраны методы и параметры очистки растительных экстрактов, концентрирования и сушки.

Разработаны рецептуры и технологические схемы производства густых и сухих экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений *R. carthamoides*, *P. ginseng*, *E. senticosus*, *D. maculata*, *D. communis*, *S. Divaricata*. Экспериментально установлены сроки их хранения.

Разработаны рецептуры и технологические схемы производства функциональных напитков, содержащих комплекс вторичных метаболитов, выделенных из экстрактов растений и их клеточных культур. Исследованы свойства, состав и биологическая активность полученных напитков. Техническая новизна разработанных технологических решений подтверждена патентами RU 2022112230 «Способ получения биологически активной добавки на основе молочной сыворотки и растительного экстракта», RU 2783445. «Способ выделения и очистки байкалина из корневых культур шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi)» и заявкой на патент № 2023 105 526 «Геронейропротектор на основе байкалина». Разработаны и утверждены технические условия и технологическая инструкция по производству густых и сухих экстрактов на основе комплекса вторичных метаболитов, выделенных из растительного сырья и клеточных культур растений (ТУ и ТИ 10.89.19-273-02068309-2020) и функциональных напитков на их основе (ТУ и ТИ 10.32.23-274-02068309-2021, 10.83.14-275-02068309-2021, 10.83.15-276-02068309-2021, 10.89.19-277-02068309-2021, 10.83.12-278-02068309-2021, 10.51.55-279-02068309-2021).

Разработанные рецептуры и процессуальные схемы получения густых и сухих экстрактов на основе комплекса вторичных метаболитов, выделенных из экстрактов клеточных культур растений, прошли производственную проверку и апробацию в ряде научно-исследовательских и промышленных предприятий: ООО «РУСЭКСТРАКТ», ООО «НПО Сибирка», ООО НПО «Здоровое питание», ООО «СибБарс». Результаты исследований используются в учебном процессе ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» при подготовке студентов бакалавриата и магистратуры по направлениям подготовки 19.03.01 и 19.04.01 «Биотехнология», 19.03.02 и 19.04.02 «Продукты питания из растительного сырья», а также при организации научно-исследовательской и практической работы студентов.

Методология и методы исследования. Исследование состоит из теоретического, экспериментального и практического блоков. Для реализации поставленных задач применялись общенаучные и специальные методы сбора, обработки и анализа научной информации, органолептические, физико-химические (высокоэффективная жидкостная хроматография, ИК-спектроскопия) и микробиологические методы определения показателей исследуемых объектов.

Основные положения, выносимые на защиту: Химический состав растительного сырья и оценка перспектив его использования для извлечения вторичных метаболитов с широким спектром биологической активности. Условия культивирования клеточных культур растений *in vitro*. Параметры выделения и очистки биологически активных веществ из природного растительного сырья, каллусных культур и адвентивных корней. Компонентный состав, биологическая активность, безопасность и токсичность полученных экстрактов. Технологические параметры получения жидких и сухих экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений *in vitro*; напитков функциональной направленности на их основе. Процессуальные схемы получения напитков функциональной направленности на основе комплекса вторичных метаболитов нативных растений или выделенных из экстрактов клеточных культур растений.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений (5–7-кратной повторностью), применением стандартных и современных методов исследования, которые соответствуют поставленным в работе целям и

задачам. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и рисунках. Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Основные положения и результаты исследований диссертационной работы были предметом докладов и обсуждений на научно-технических мероприятиях различного уровня с 2012 года: I Международный конгресс «Новейшие достижения в области медицины, здравоохранения и здоровьесберегающих технологий» (Кемерово); Международные конференции «От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК» (Екатеринбург); «Инновационные биотехнологии природных и синтетических биологически активных веществ» (Минск–Ставрополь,); «Пищевые инновации и биотехнологии» (Кемерово).

Публикации. Основные материалы диссертации опубликованы в более чем сорока печатных работах, в том числе монографии, статьях в международных журналах и журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных материалов диссертационных исследований: «Foods and Raw materials», «Food Processing: Techniques and Technology», «Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture», «Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология», «Ползуновский вестник», «Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии», «Новые технологии», «Пищевая промышленность», отчетах по НИОКР, а также патентах РФ и материалах конференций.

Соответствие темы паспорту научной специальности. Диссертационные исследования соответствуют п. 11, 12, 13, 16, 17 паспорта специальности 4.3.3. – Пищевые системы и п. 6, 10, 13, 16, 25, 26 паспорта научной специальности 4.3.5. – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, восьми глав, результатов и выводов, списка использованных литературных источников (469 наименований) и 4 приложений. Основной текст изложен на 377 страницах, содержит 117 таблиц, 112 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Обоснована актуальность темы исследования, степень разработанности, сформулированы концепция, цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационной работы, положения, выносимые на защиту.

Глава 1. Аналитический обзор. Тенденции развития технологий получения вторичных метаболитов растений и направления их использования. Представлены современные данные о свойствах и химическом составе нативных растений. Проанализированы перспективы использования клеточных культур *in vitro* растений для получения вторичных метаболитов. Проведен обзор технологий экстракции растительного сырья и выделения природных веществ из экстрактов. Изучен российский и мировой рынок растительных экстрактов и БАВ для разных отраслей промышленности, а также рынок функциональных продуктов на основе природных БАВ.

Глава 2. Организация, объекты и методы проведения исследований. Весь цикл исследований состоял из трех блоков: теоретического, экспериментального и

практического (рисунок 1). На первом этапе (теоретический блок) проводили анализ отечественных и зарубежных литературных данных по теме исследования, была определена цель, поставлены задачи. Экспериментальный блок исследований включал ряд взаимосвязанных этапов: изучение свойств нативного растительного сырья, культивирование клеточных культур *in vitro*, подбор параметров экстракции комплекса БАВ из природного сырья и клеточных культур, анализ компонентного состава, физико-химических свойств, показателей токсичности и биологической активности экстрактов, полученных разными методами, подбор параметров очистки растительных экстрактов, подбор параметров концентрирования и сушки очищенных растительных экстрактов, полученных из природного сырья и клеточных культур. Практический блок исследований связан с разработкой процессуальных схем производства густых и сухих экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур изучаемых растений, а также разработкой рецептур и процессуальных схем производства напитков функциональной направленности на основе густых и сухих экстрактов.

В качестве объектов исследований использовали растительное сырье, заготовленное в 2012–2021 гг.: левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin (Asteraceae)) – листья, корневище с корнями; женьшень обыкновенный (*Panax ginseng* C.A. Mey (Araliaceae)) – листья, корень; элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* (Maxim. & Rupr.) Maxim. (Araliaceae)) – листья, корневище; пальчатокоренник пятнистый (*Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Orchidaceae)) – листья, клубни; диоскорея обыкновенная (*Dioscorea communis* (L.) Caddick & Wilkin (Dioscoreaceae)) – листья, корень; сапожниковия растопыренная (*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. (Apiaceae)) – стебель, корень.

Глава 3. Изучение свойств растительного сырья и перспектив его использования для извлечения вторичных метаболитов. Представлены результаты оценки химического, макро- и микроэлементного составов, показателей качества и безопасности надземных и подземных частей исходного растительного сырья. Полученные результаты свидетельствуют, что изученное растительное сырье соответствует требованиям нормативной документации по физико-химическим показателям и безопасности. Установлено, что концентрация БАВ в надземной и подземной частях исследуемых растений значительно отличаются: у левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*) корневище с корнями содержит на 30,1 % больше целевых соединений, чем в надземной части растения. Максимальное содержание зафиксировано для апигенина ($345,67 \pm 17,28$ мг/г), кверцетина ($121,09 \pm 6,05$ мг/г) и рутина ($112,56 \pm 5,64$ мг/г), в корнях женьшеня обыкновенного (*P. ginseng*) доминировал гинзенозид RB1 ($3,15 \pm 0,16$ мг/г) и кверцетин ($1,54 \pm 0,08$ мг/г); корневище элеутерококка колючего (*E. senticosus*) содержало кофейную кислоту ($4,62 \pm 0,23$ мг/г), а сумма элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В (сирингин) составила ($3,72 \pm 0,19$ мг/г); клубни пальчатокоренника пятнистого (*D. maculata*) преимущественно содержали рутин ($6,76 \pm 0,34$ мг/г) и кверцетин ($4,09 \pm 0,20$ мг/г); корни диоскореи обыкновенной (*D. communis*) – диосцин ($2,18 \pm 0,11$ мг/г), спиростенон А ($2,13 \pm 0,10$ мг/г), кверцетин ($2,08 \pm 0,10$ мг/г). Доминирующими БАВ корней сапожниковии растопыренной (*S. divaricata*) являются перв-О-глюкозилцимифугин ($5,14 \pm 0,26$ мг/г), 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол ($3,08 \pm 0,15$ мг/г) и бергаптен ($2,49 \pm 0,12$ мг/г) (таблица 1).

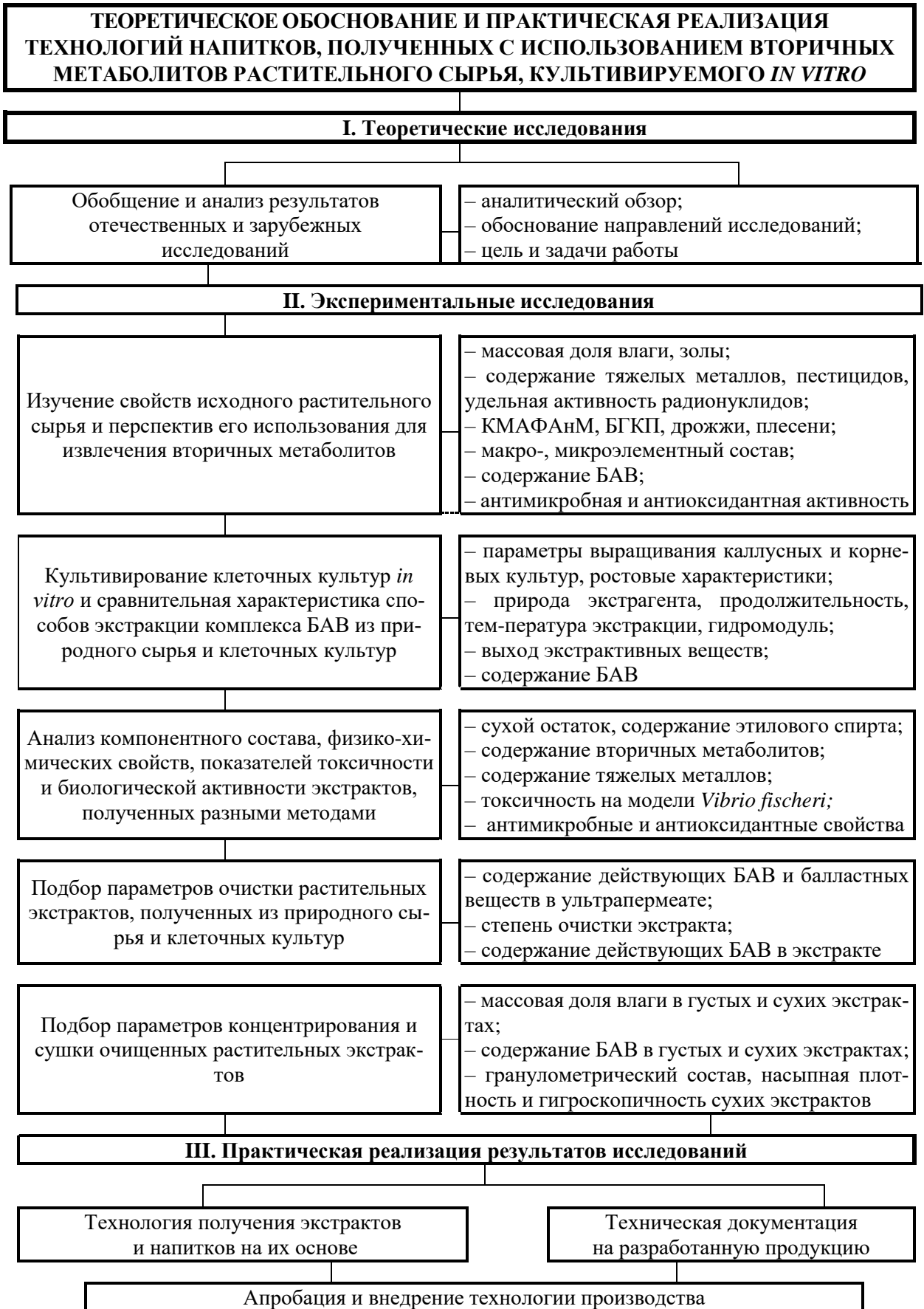


Рисунок 1 – Схема проведения исследований

Таблица 1 – Химический состав образцов растений

| Наименование вещества | Содержание вещества, мг/г сухой массы | | | | | | | | | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------|----------------------|------------------|-----------------------------------|------------------|------------------------------|------------------|---------------------------|------------------|---------------------------------|------------------|
| | <i>Rhaponticum carthamoides</i> | | <i>Panax ginseng</i> | | <i>Eleutherococcus senticosus</i> | | <i>Dactylorhiza maculata</i> | | <i>Dioscorea communis</i> | | <i>Saposhnikovia divaricata</i> | |
| | Корневище с корнями | Листья | Корни | Листья | Корневище | Листья | Клубни | Листья | Корни | Листья | Корень | Стебель |
| Г-ситостерол | – | – | – | – | – | – | 2,47±0,12 | 2,21±0,11 | – | – | – | – |
| Апигенин | 345,67±17,28 | 276,31±13,82 | – | – | – | – | 2,78±0,14 | 1,95±0,09 | – | – | – | – |
| Бергаптен | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,49±0,12 | 2,10±0,10 |
| Гамаудол | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,33±0,12 | 2,05±0,10 |
| Гинзенозид RB ₁ | – | – | 3,15±0,16 | 2,79±0,14 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Гомизин В | – | – | 1,12±0,05 | 0,80±0,04 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Диосгенин | – | – | – | – | – | – | – | – | 1,54±0,08 | 0,99±0,05 | – | – |
| Диосцин | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,18±0,11 | 1,44±0,07 | – | – |
| Изофраксидин | 1,22±0,06 | 0,98±0,05 | – | – | 0,23±0,01 | 0,17±0,01 | – | – | – | – | 1,46±0,07 | 0,90±0,05 |
| Кверцетин | 121,09±6,05 | 88,00±4,41 | 1,54±0,08 | 1,18±0,06 | – | – | 4,09±0,20 | 3,55±0,18 | 2,08±0,10 | 1,50±0,08 | – | – |
| Кверцетин-3,7-О-β-D-глюкопиранозид | – | – | – | – | – | – | – | 2,78±0,14 | – | – | – | – |
| Кверцетин-3,7-дигликозид | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 1,22±0,06 | 2,04±0,10 |
| Кофейная кислота | 52,12±2,61 | 41,15±2,06 | 0,65±0,03 | 0,40±0,02 | 4,62±0,23 | 3,87±0,19 | 0,97±0,05 | 0,63±0,03 | 0,76±0,04 | 0,31±0,02 | – | – |
| Лузиантридин | – | – | – | – | – | – | – | – | 0,75±0,04 | 0,42±0,02 | – | – |
| Мангиферин | 23,07±1,15 | 12,12±0,61 | 0,40±0,02 | 0,26±0,02 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Перв-О-глюкозилцимифугин | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 5,14±0,26 | 3,65±0,18 |
| Рутин | 112,56±5,64 | 85,42±4,27 | 1,22±0,06 | 0,90±0,05 | 1,22±0,06 | 1,04±0,05 | 6,76±0,34 | 4,45±0,22 | 1,94±0,10 | 1,32±0,07 | – | – |
| Салициловая кислота | 8,12±0,41 | 6,54±0,33 | 0,21±0,01 | 0,14±0,01 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Спиростенол А | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,13±0,10 | 1,44±0,07 | – | – |
| Сумма экистероидов | 57,45±2,87 | 45,18±2,26 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Умбеллиферон | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,02±0,10 | 1,23±0,06 |
| Феруловая кислота | 12,31±0,62 | 9,89±0,49 | 0,92±0,05 | 0,77±0,04 | 0,79±0,04 | 0,45±0,02 | – | – | – | – | – | – |
| Хлорогеновая кислота | 44,52±2,23 | 34,01±1,71 | – | – | – | – | 0,98±0,05 | 0,72±0,04 | 0,65±0,03 | 0,52±0,03 | – | – |
| Цимифугин | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 1,75±0,09 | 1,12±0,05 |
| Эллаговая кислота | 7,87±0,39 | 5,45±0,27 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Сумма элеутерозидов в пересч. на элеутерозид В (сирингин) | – | – | – | – | 3,72±0,19 | 3,15±0,16 | – | – | – | – | – | – |
| 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминол | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,08±0,15 | 2,24±0,11 |

Методом ВЭЖХ в составе фракции экистероидов, выделенной из подземной части левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*), удалось извлечь пять соединений, структура которых установлена методом ЯМР-спектроскопии (рисунок 2). Произведена расшифровка и интерпретация ЯМР-спектров экистероидов, идентифицированных в подземной части левзеи сафлоровидной (таблица 2).

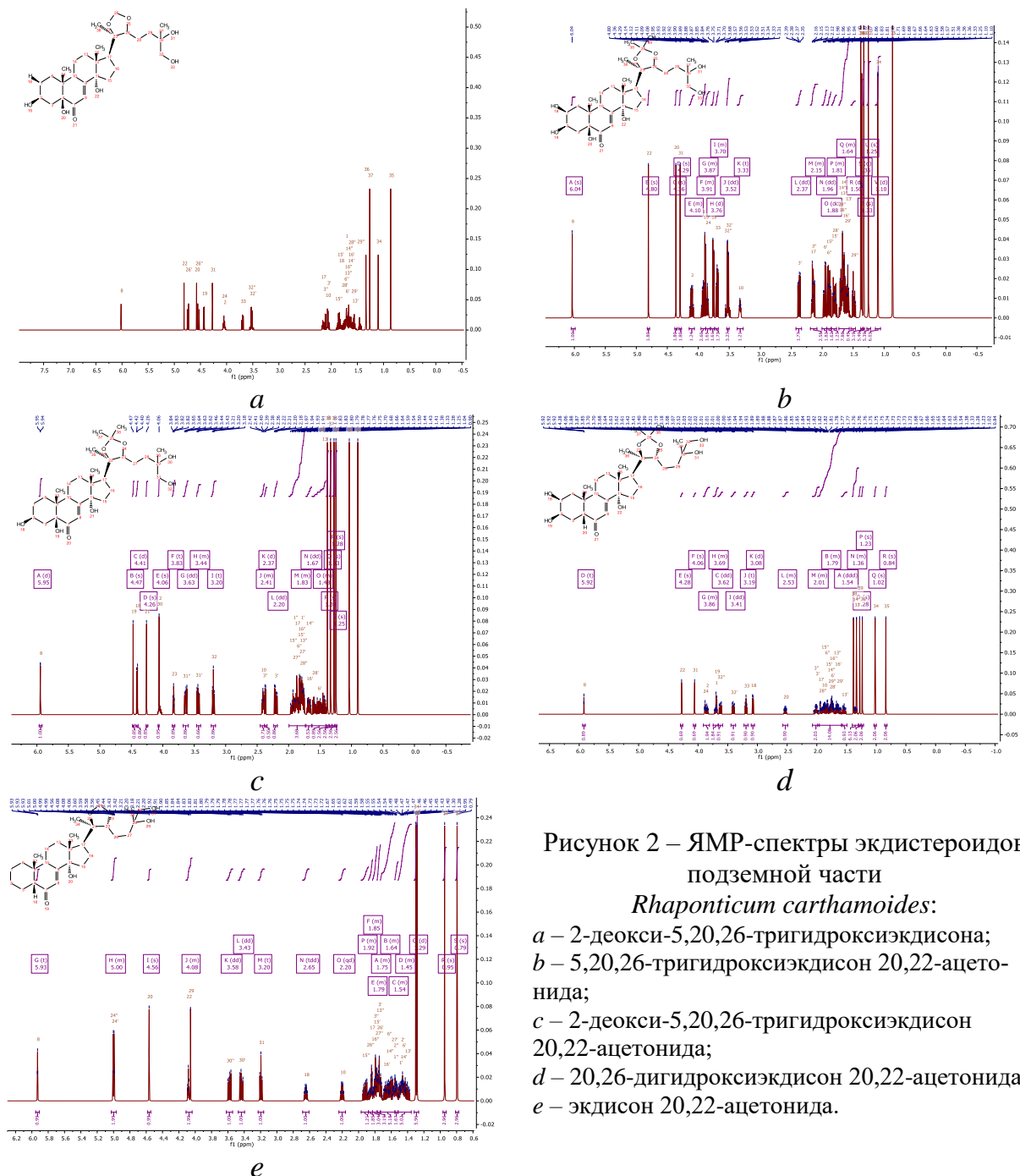
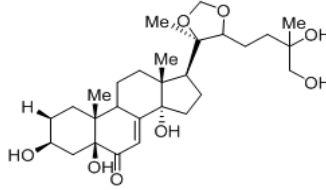
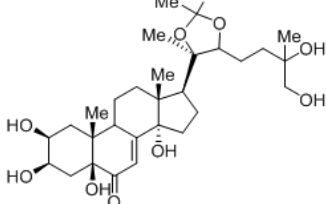
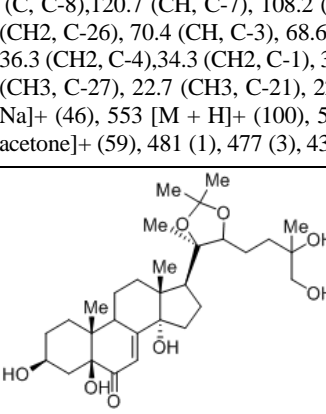
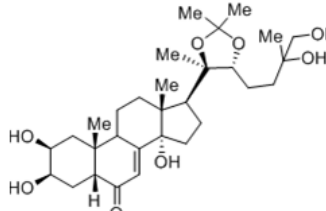
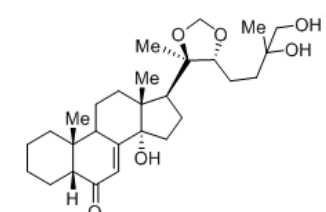


Рисунок 2 – ЯМР-спектры экистероидов подземной части *Rhaponticum carthamoides*:
a – 2-деокси-5,20,26-тригидроксиэкисона;
b – 5,20,26-тригидроксиэкисон 20,22-ацетонида;
c – 2-деокси-5,20,26-тригидроксиэкисон 20,22-ацетонида;
d – 20,26-дигидроксиэкисон 20,22-ацетонида;
e – экисон 20,22-ацетонида.

Получены результаты, доказывающие антибактериальные и фунгицидные свойства экстрактов надземных и подземных частей исследуемых растений. Для определения антиоксидантной активности использовали спектрофотометрический метод, основанный на измерении способности экстрактов улавливать радикал АВТС (2,2'-азино-бис (3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты)). Все изучаемые образцы продемонстрировали высокие антиоксидантные свойства, что коррелируется с литературными данными.

Таблица 2 – Расшифровка и интерпретация ЯМР-спектров *R. Carthamoides*

| Наименование и структура | Расшифровка и интерпретация ЯМР-спектра экистероидов |
|---|--|
|  <p data-bbox="245 481 571 526">2-деокси-5,20,26-тригидрокси-эктисон</p> | <p data-bbox="608 271 1485 533">[α] 25 D +41 (с 0.05 MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} (logϵ) 243 nm (4.02) nm; ¹HNMR (CD₃OD, 500 MHz) δ 5.85 (1H, d, J) 2.2 Hz, H-7), 4.08 (1H, s, br, H-3R), 3.37 (2H, s, H-26a, H-26b), 3.34 (1H, m, H-22), 3.27 (1H, m, H-9R), 2.39 (1H, t, J) 8.8 Hz, H-17R), 1.19 (3H, s, H-21), 1.14 (3H, s, H-27), 0.90 (3H, s, H-18), 0.89 (3H, s, H-19); ¹³CNMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 120.7 (CH, C-7), 85.2 (C, C-14), 81.0 (C, C-5), 78.7 (CH, C-22), 77.9 (C, C-20), 73.6 (C, C-25), 70.8 (CH₂, C-26), 67.2 (CH, C-3), 50.5 (CH, C-17), 48.8 (C, C-13), 43.3 (C, C-10), 37.9 (CH, C-9), 37.2 (CH₂, C-24), 32.6 (CH, C-12), 25.3 (CH₂, C-1), 23.6 (CH₃, C-27), 21.1 (CH₃, C-21), 18.2 (CH₃, C-18), 17.2 (CH₃, C-19); ESIMS m/z 535 [M + K]⁺ (100); HRESIMS m/z 497.3108 [M + H]⁺ (calcd for C₂₇H₄₅O₈, 497.3102)</p> |
|  <p data-bbox="245 757 571 817">5,20,26-тригидроксиэктисон 20,22-ацетонид</p> | <p data-bbox="608 533 1485 831">[R]25 D +89 (с 0.05 MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 242 (3.76) nm; ¹HNMR (CD₃OD, 500 MHz) δ 5.86 (1H, d, J) 2.8 Hz, H-7), 3.99 (1H, q, J) 3.0 Hz, H-3R), 3.95 (1H, ddd, J) 10.0, 7.4, 3.6 Hz, H-2R), 3.695 (1H, t, J) 6.0 Hz, H-22), 3.375 (1H, d, J) 11.0 Hz, H-26b), 3.355 (1H, d, J) 11.0 Hz, H-26a), 3.19 (1H, ddd, J) 11.3, 7.0, 2.7 Hz, H-9R), 2.31 (1H, dd, J) 9.4, 8.1 Hz, H-17R), 2.12 (1H, td, J) 13.1, 5.0 Hz, H-12R), 2.075 (1H, dd, J) 14.7, 3.0 Hz, H-4R), 2.03 (1H, m, H-16_⊥), 1.96 (1H, dd, J) 12.4, 6.5 Hz, H-15_⊥), 1.87 (1H, m, H-16R), 1.86 (1H, m, H-12_⊥), 1.81 (1H, m, H-11b), 1.77 (1H, dd, J) 14.9, 3.0 Hz, H-4_⊥), 1.74 (1H, m, H-11R), 1.73 (2H, m, H-1R, H-1_⊥), 1.71 (1H, m, H-24b), 1.61 (1H, m, H-15R), 1.55 (1H, m, H-23b), 1.53 (1H, m, H-23a), 1.52 (1H, m, H-24a), 1.39 (3H, s, H-30), 1.32 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-21), 1.15 (3H, s, H-27), 0.915 (3H, s, H-19_⊥), 0.83 (3H, s, H-18_⊥); ¹³CNMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 202.5 (C, C-6), 167.4</p> |
|  <p data-bbox="245 1265 571 1326">2-деокси-5,20,26-тригидрокси-эктисон 20,22-ацетонид</p> | <p data-bbox="608 831 1485 1480">[R]25D +25 (с 0.05 MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 238 (4.08) nm; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ 5.86 (1H, s, br, H-7), 4.08 (1H, s, br, H-3), 3.70 (1H, m, H-22), 3.37 (1H, d, J) 11.0 Hz, H-26b), 3.36 (1H, d, J) 11.0 Hz, H-26a), 3.28 (1H, m, H-9R), 2.32 (1H, t, J) 8.7 Hz, H-17R), 2.12 (1H, td, J) 12.4, 5.7 Hz, H-12R), 2.04 (1H, m, H-16), 2.035 (1H, m, H-4b), 1.97 (1H, m, H-15), 1.96 (1H, m, H-2b), 1.88 (1H, m, H-16R), 1.86 (1H, m, H-12), 1.84 (1H, m, H-1b), 1.77 (1H, m, H-2a), 1.73 (1H, m, H-11a), 1.72 (1H, m, H-24b), 1.61 (2H, m, H-4a, H-15R), 1.55 (2H, m, H-23a, H-23b), 1.53 (1H, m, H-24a), 1.50 (1H, m, H-1a), 1.39 (3H, s, H-30), 1.32 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-21), 1.15 (3H, s, H-27), 0.89 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 167.9 (C, C-8), 120.7 (CH, C-7), 108.2 (C, C-28), 86.0 (C, C-20), 85.4 (C, C-14), 83.6 (CH, C-22), 81.2 (C, C-5), 73.6 (C, C-25), 70.7 (CH₂, C-26), 67.2 (CH, C-3), 50.6 (CH, C-17), 48.7 (C, C-13), 43.25 (C, C-10), 38.1 (CH, C-9), 37.2 (CH₂, C-24), 36.9 (CH₂, C-4), 32.6 (CH₂, C-12), 31.8 (CH₂, C-15), 29.5 (CH₃, C-30), 29.3 (CH₂, C-2), 27.3 (CH₃, C-29), 25.6 (CH₂, C-1), 24.05 (CH₂, C-23), 23.8 (CH₃, C-27), 22.7 (CH₃, C-21), 22.5 (CH₂, C-11), 22.5 (CH₂, C-16), 17.8 (CH₃, C-18), 17.3 (CH₃, C-19); ESIMS m/z 559 [M + Na]⁺ (100), 537 [M + H]⁺ (36), 518 [M - H₂O]⁺ (3), 541 [M + Na - H₂O]⁺ (12), 501 [M + H - 2H₂O]⁺ (2), 445 (10), 385 [M + H - H₂O - C₆O₃H₁₄]⁺ (3), 315 (12), 304 (24); HRESIMS m/z 537.3420 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₉O₈, 537.3414)</p> |
|  <p data-bbox="245 1713 571 1774">20,26-дигидроксиэктисон 20,22-ацетонид</p> | <p data-bbox="608 1480 1485 1816">[R]25D +145 (с 0.005 MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 242 (4.01) nm; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ 5.86 (1H, d, J) 2.6 Hz, H-7), 3.70 (1H, m, H-22), 3.38 (1H, d, J) 10.9 Hz, H-26b), 3.36 (1H, d, J) 11.0 Hz, H-26a), 2.42 (1H, dd, J) 12.6, 4.0 Hz, H-5), 2.33 (1H, dd, J) 9.2, 8.6 Hz, H-17R), 1.39 (3H, s, H-30), 1.32 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-21), 1.15 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 121.8 (CH, C-7), 85.9 (C, C-20), 85.5 (C, C-14), 83.6 (CH, C-22), 73.2 (C, C-25), 70.7 (CH₂, C-26), 50.5 (CH, C-17), 49.3 (C, C-13), 37.1 (CH₂, C-24), 32.55 (CH₂, C-12), 29.4 (CH₃, C-30), 27.3 (CH₃, C-29), 24.4 (CH₃, C-19), 23.7 (CH₃, C-27), 22.7 (CH₃, C-21), 17.8 (CH₃, C-18); ESIMS m/z 575 [M + K]⁺ (14), 560 [M + H + Na]⁺ (6), 559 [M + Na]⁺ (5), 542 (100), 521 [M - CH₃]⁺ (23), 519 [M + H - H₂O]⁺ (2), 503 [M - CH₃ - H₂O]⁺ (7), 501 [M + H - 2H₂O]⁺ (23), 478 [M - acetone]⁺ (4), 445 (14), 413 (6), 314 (10), 304 (55); HRESIMS m/z 537.3418 [M + H]⁺ (calcd for C₃₀H₄₈O₈, 537.3414)</p> |
|  <p data-bbox="245 2049 571 2080">эктисон 20,22-ацетонид</p> | <p data-bbox="608 1816 1485 2080">UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) 245 (6.01) nm; ¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ 3.70 (1H, m, H-22), 3.38 (1H, d, J) 10.9 Hz, H-26b), 3.36 (1H, d, J) 11.0 Hz, H-26a), 2.42 (1H, dd, J) 12.6, 4.0 Hz, H-5), 2.33 (1H, dd, J) 9.2, 8.6 Hz, H-17R), 1.39 (3H, s, H-30), 1.32 (3H, s, H-29), 1.18 (3H, s, H-21), 1.15 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ 121.8 (CH, C-7), 85.9 (C, C-20), 85.5 (C, C-14), 83.6 (CH, C-22), 73.2 (C, C-25), 70.7 (CH₂, C-26), 50.5 (CH, C-17), 49.3 (C, C-13), 37.1 (CH₂, C-24), 32.55 (CH₂, C-12), 29.4 (CH₃, C-30), 27.3 (CH₃, C-29), 24.4 (CH₃, C-19), 23.7 (CH₃, C-27), 22.7 (CH₃, C-21), 17.8 (CH₃, C-18); HRESIMS m/z 476.3278 [M + H]⁺ (calcd for C₂₈H₄₄O₆, 476.3138)</p> |

Глава 4. Культивирование клеточных культур *in vitro* и сравнительная характеристика способов экстракции комплекса БАВ из природного сырья и клеточных культур. Культуры растительных клеток, полученные *in vitro*, являются альтернативным источником вторичных метаболитов растений. В главе представлены результаты подбора составов питательных сред и параметров культивирования клеточных (калусных и корневых) культур растений, выбранных для исследования, и оценка их ростовых характеристик. Состав питательных сред (на 1 дм³ среды) представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Состав сред для культивирования калусных культур

| Питательная среда | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|-------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|-----|
| Компонентный состав | | | | | | | | | | |
| Минеральная основа | MS | MS | MS | MS | MS | MS | MS | B5 | B5 | B5 |
| Сахароза, г | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Гидролизат казеина, мг | – | – | 500 | – | – | – | – | – | – | – |
| Инозит, мг | – | 100 | 100 | – | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Тиамин, мг | 0,1 | – | 0,1 | 0,4 | 0,1 | 0,1 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 10 |
| Пиридоксин, мг | 0,1 | – | 0,1 | – | 0,1 | 0,1 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Никотиновая кислота, мг | 0,5 | – | 0,5 | – | 0,5 | 0,5 | – | – | – | 1,0 |
| Кальция пантотенат, мг | – | – | – | – | – | – | 10 | 10 | 10 | – |
| Кинетин, мг | – | – | 1,0 | 2,0 | 0,3 | – | 0,05 | – | 0,05 | – |
| БАП, мг | 1,0 | 0,2 | – | – | – | 0,3 | – | 0,05 | – | – |
| Аденин, мг | – | – | – | – | – | – | – | 1,0 | 0,1 | – |
| ИУК, мг | – | 1,0 | – | – | – | – | – | 1,0 | 0,5 | – |
| НУК, мг | – | – | 2,0 | 3,0 | – | 2,0 | 0,1 | – | – | – |
| 2,4-Д, мг | 2,0 | 1,0 | – | – | 1,0 | – | 0,5 | – | – | – |

MS – среда, с минеральной основой Мурасиге-Скуга;

B5 – среда, с минеральной основой Гамборга.

Культуры выращивали как в темноте, так и на свету (16-часовой световой день). Каллус при пересеве делился на 3–7 частей, в зависимости от прироста. Для полученных калусных культур, отобранных через 14 и 28 суток от начала выращивания, регистрировали индекс роста (таблица 4). Максимальные значения индекса роста всех калусных культур изучаемых растений были достигнуты при температуре 23 °С в течение 28 суток. Максимальный индекс роста калусных культур левзеи сафлоровидной был получен на питательной среде № 5 (состав среды указан в таблице 3), женьшеня обыкновенного – на среде № 7, элеутерококка колючего – на среде № 3, пальчатокоренника пятнистого – на среде № 6, диоскореи обыкновенной – на среде № 1, а сапожниковии растопыренной – на среде № 8. Проводить культивирование каллусов на свету не целесообразно, поскольку ростовые параметры в этом случае ниже, чем при культивировании в темноте, в среднем в 1,1–2,1 раза.

Для выращивания корневых культур растений подбирали вид штамма почвенных агробактерий, состав питательных сред, продолжительность и световой режим. В результате работы доказано, что эффективность трансформации растительного материала находится под влиянием вида используемой агробактерии. Так, максимальную эффективность при трансформации растительных эксплантов продемонстрировал штамм *Agrobacterium rhizogenes* A4 (доля эксплантов с корнями составляет 40,00–58,67 %), а минимальную – штамм *A. rhizogenes* 8196 (доля эксплантов с корнями составила всего 3–11 %).

Таблица 4 – Результаты определения индекса роста каллусных культур

| Культура | Продолжительность культивирования, сутки | Индекс роста (Pi) по сухой биомассе при культивировании на разных питательных средах | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--|--|---------------------|------------------------------------|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| <i>Rhaponticum carthamoides</i> | 14 | 2,2±0,2/ 1,5±0,2 | 2,5±0,3/ 1,7±0,2 | 3,6±0,4/ 2,0±0,2 | 1,4±0,1/ 0,8±0,1 | 5,5±0,6/ 3,8±0,4 | 4,1±0,4/ 2,7±0,3 | 2,8±0,3/ 1,5±0,2 | 1,4±0,1/ 0,8±0,1 | 2,6±0,3/ 1,1±0,1 | 1,7±0,2/ 0,7±0,1* |
| | 28 | 2,5±0,3/ 1,8±0,2 | 3,1±0,3/ 2,4±0,2 | 4,0±0,4/ 2,2±0,2 | 1,8±0,2/ 1,1±0,1 | 6,7±0,7 /4,0±0,4 | 4,5±0,5/ 3,1±0,3 | 3,2±0,3/ 1,8±0,2 | 1,9±0,2/ 1,2±0,1 | 3,0±0,3/ 1,4±0,1 | 2,2±0,2/ 1,0±0,1 |
| <i>Panax ginseng</i> | 14 | 4,5±0,5/ 3,5±0,4 | 3,7±0,4/ 2,7±0,3 | 5,0±0,5/ 4,0±0,4 | 2,9±0,3/ 1,8±0,2 | 5,0±0,5/ 4,2±0,4 | 3,9±0,4/ 2,6±0,3 | 6,4±0,6/ 5,5±0,6 | 4,2±0,4/ 3,7±0,4 | 5,5±0,6/ 4,0±0,4 | 4,9±0,5/ 3,7±0,4 |
| | 28 | 7,7±0,8/ 6,1±0,6 | 6,2±0,6/ 4,8±0,5 | 8,9±0,9/ 7,7±0,8 | 4,6±0,5/ 3,6±0,4 | 8,8±0,9/ 7,2±0,7 | 6,1±0,6/ 5,3±0,5 | 11,2±1,1 9,8±1,0 | 7,5±0,8/ 6,0±0,6 | 9,3±0,9/ 7,7±0,8 | 7,5±0,8/ 5,8±0,6 |
| <i>Eleutherococcus senticosus</i> | 14 | 4,7±0,5/ 3,5±0,4 | 3,5±0,4/ 2,6±0,3 | 10,8±1,1/ 8,7±0,9 | 5,1±0,5/ 3,8±0,4 | 4,4±0,4/ 3,0±0,3 | 6,2±0,6/ 5,3±0,5 | 4,3±0,4/ 3,1±0,3 | 3,2±0,3/ 1,7±0,2 | 7,5±0,8/ 5,9±0,6 | 5,3±0,5/ 4,4±0,4 |
| | 28 | 7,6±0,8/ 6,2±0,6 | 5,1±0,5/ 4,0±0,4 | 17,5±1,8 13,2±1,3 | 9,6±1,0/ 6,6±0,7 | 7,0±0,7/ 5,1±0,5 | 9,9±1,0/ 8,0±0,8 | 7,8±0,8/ 5,8±0,6 | 5,0±0,5/ 3,7±0,4 | 14,3±1,4/ 11,9±1,2 | 11,2±1,1/ 8,5±0,9 |
| <i>Dactylorhiza maculata</i> | 14 | 2,7±0,3/ 1,5±0,2 | 3,3±0,3/ 1,8±0,2 | 2,9±0,3/ 2,1±0,2 | 5,5±0,6/ 4,6±0,5 | 4,7±0,5/ 3,4±0,3 | 6,0±0,6/ 4,8±0,5 | 4,9±0,5/ 3,3±0,3 | 3,5±0,4/ 1,8±0,2 | 5,1±0,5/ 2,3±0,2 | 1,9±0,2/ 1,2±0,1 |
| | 28 | 3,6±0,4/ 2,2±0,2 | 5,0±0,5/ 3,5±0,4 | 4,7±0,5/ 3,4±0,3 | 9,9±1,0/ 6,5±0,7 | 8,8±0,9/ 5,3±0,5 | 10,7±1,1 7,6±0,8 | 8,0±0,8/ 6,9±0,7 | 5,2±0,5/ 3,9±0,4 | 8,9±0,9/ 7,7±0,8 | 2,5±0,3/ 1,4±0,1 |
| <i>Dioscorea communis</i> | 14 | 5,4±0,5/ 3,8±0,4 | 3,2±0,3/ 1,7±0,2 | 3,0±0,3/ 1,5±0,2 | 1,8±0,2/ 0,9±0,1 | 2,7±0,3/ 1,6±0,2 | 2,5±0,3/ 1,8±0,2 | 4,1±0,4/ 3,3±0,3 | 4,7±0,5/ 3,4±0,3 | 3,3±0,3/ 1,8±0,2 | 4,0±0,4/ 2,6±0,3 |
| | 28 | 12,3±1,2 10,9±1,1 | 5,7±0,6/ 4,2±0,4 | 5,4±0,5/ 3,9±0,4 | 3,3±0,3/ 1,7±0,2 | 4,4±0,4/ 2,3±0,2 | 4,8±0,5/ 2,7±0,3 | 7,7±0,8/ 5,5±0,6 | 6,6±0,7/ 5,4±0,5 | 5,2±0,5/ 3,6±0,4 | 6,9±0,7/ 5,4±0,5 |
| <i>Saposhnikovia divaricata</i> | 14 | 3,6±0,4/ 2,2±0,2 | 4,8±0,5/ 3,5±0,4 | 2,9±0,3/ 1,7±0,2 | 5,4±0,5/ 4,2±0,4 | 3,8±0,4/ 3,1±0,3 | 2,2±0,2/ 1,5±0,2 | 4,5±0,5/ 3,3±0,3 | 8,1±0,8/ 6,7±0,7 | 4,0±0,4/ 2,5±0,3 | 3,5±0,4/ 2,7±0,3 |
| | 28 | 5,7±0,6/ 4,5±0,5 | 9,2±0,9/ 7,7±0,8 | 5,0±0,5/ 4,1±0,4 | 8,7±0,9/ 7,2±0,7 | 6,1±0,6/ 4,5±0,5 | 3,5±0,4/ 2,6±0,3 | 6,9±0,7/ 5,4±0,5 | 18,5±1,9 16,7±1,7 | 9,3±0,9/ 7,2±0,7 | 5,1±0,5/ 3,9±0,4 |

*числитель – культивирование в темноте, знаменатель – на свету

Анализ результатов эксперимента показал, что для выращивания корневых культур рекомендуется использовать штамм для трансформации – *Agrobacterium rhizogenes* A4, классическую среду Гамборга (не содержащую гормоны, но содержащую антибиотик цефотаксим), культивирование вести в темноте при температуре 23 °С в течение 5 недель при перемешивании (100 об/мин). Прирост биомассы в этом случае максимальный: 38 г после 30 суток выращивания для *Rhaponticum carthamoides*, 26 г после 25 суток для *Panax ginseng*, 15 г после 25 суток для *Eleutherococcus senticosus*, 33 г после 25 суток для *Dactylorhiza maculata*, 18 г после 25 суток для *Dioscorea communis*, 35 г после 25 суток для *Saposhnikovia divaricata*.

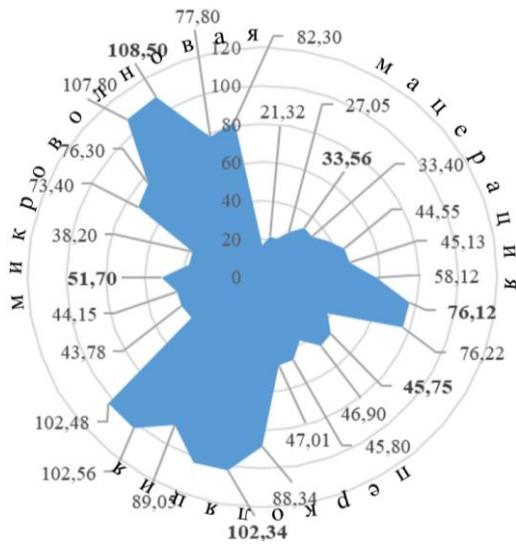
На следующем этапе осуществляли выбор экстрагента, обеспечивающего максимальный выход экстрактивных веществ. Экстракцию проводили методом мацерации при комнатной температуре, экспозиция 60 мин, гидромодуль 1:10 (таблица 5).

Таблица 5 – Эффективность экстракции комплекса вторичных метаболитов из растительного сырья в зависимости от природы экстрагента

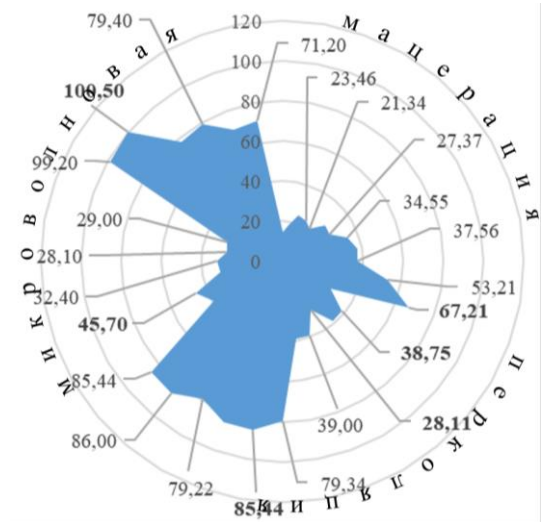
| Наименование образца | Выход экстрактивных веществ, % | | | | | | |
|--|--------------------------------|------------|-------------------|-----------------|------------|-----------|--------------|
| | этанол | | | диэтиловый эфир | этилацетат | ацетон | изо-пропанол |
| | 50 % | 70 % | 40 % | | | | |
| <i>R. carthamoides</i> , листья | 23,12±1,16 | 31,09±1,55 | 36,55±1,83 | 5,21±0,26 | 7,79±0,39 | 3,34±0,17 | 26,67±1,33 |
| <i>R. carthamoides</i> , корневище с корнями | 25,06±1,20 | 33,45±1,57 | 43,78±2,14 | 6,19±0,29 | 8,32±0,41 | 4,67±0,23 | 28,09±1,40 |
| <i>R. carthamoides</i> , каллус | 21,45±1,05 | 30,55±1,53 | 35,89±1,76 | 4,87±0,24 | 7,54±0,36 | 3,10±0,16 | 25,52±1,28 |
| <i>R. carthamoides</i> , корневая культура | 23,09±1,11 | 34,09±1,50 | 39,72±1,99 | 5,58±0,28 | 8,09±0,40 | 4,50±0,22 | 27,11±1,30 |
| <i>P. ginseng</i> , листья | 21,34±1,05 | 37,56±1,88 | 42,67±2,09 | 4,12±0,21 | 6,87±0,33 | 3,22±0,16 | 13,44±0,66 |
| <i>P. ginseng</i> , корень | 24,87±1,24 | 38,05±1,90 | 45,29±2,17 | 5,43±0,27 | 7,22±0,35 | 3,58±0,18 | 15,29±0,73 |
| <i>P. ginseng</i> , каллус | 25,12±1,21 | 39,44±1,98 | 46,21±2,26 | 5,55±0,27 | 6,34±0,32 | 3,85±0,18 | 16,11±0,81 |
| <i>P. ginseng</i> , корневая культура | 20,66±0,99 | 36,50±1,83 | 41,87±2,01 | 4,47±0,22 | 7,52±0,36 | 2,99±0,15 | 13,25±0,66 |
| <i>E. senticosus</i> , листья | 16,58±0,83 | 24,55±1,23 | 30,75±1,51 | 3,88±0,19 | 5,79±0,28 | 1,21±0,06 | 9,12±0,46 |
| <i>E. senticosus</i> , корневище | 17,18±0,82 | 26,01±1,27 | 34,11±1,71 | 4,72±0,25 | 6,10±0,29 | 2,33±0,12 | 10,45±0,51 |
| <i>E. senticosus</i> , каллус | 15,90±0,80 | 23,90±1,15 | 31,06±1,55 | 3,72±0,18 | 5,44±0,27 | 1,34±0,07 | 8,95±0,44 |
| <i>E. senticosus</i> , корневая культура | 17,86±0,89 | 26,12±1,28 | 35,11±1,76 | 5,03±0,24 | 6,21±0,31 | 2,50±0,13 | 11,09±0,55 |
| <i>D. maculata</i> , листья | 19,44±0,97 | 31,02±1,52 | 38,56±1,93 | 4,68±0,23 | 6,34±0,32 | 0,98±0,05 | 11,33±0,56 |
| <i>D. maculata</i> , клубни | 22,31±1,11 | 35,18±1,76 | 44,41±2,17 | 5,11±0,26 | 7,18±0,36 | 1,48±0,07 | 13,48±0,65 |
| <i>D. maculata</i> , каллус | 22,66±1,13 | 36,19±1,74 | 45,32±2,27 | 5,30±0,27 | 7,32±0,37 | 1,56±0,08 | 14,33±0,70 |
| <i>D. maculata</i> , корневая культура | 18,71±0,88 | 32,44±1,62 | 39,07±1,95 | 4,80±0,24 | 6,22±0,31 | 1,11±0,06 | 12,09±0,60 |
| <i>D. communis</i> , листья | 22,08±1,08 | 33,24±1,66 | 40,66±1,95 | 6,12±0,31 | 5,88±0,29 | 2,24±0,11 | 15,43±0,77 |
| <i>D. communis</i> , корень | 24,12±1,16 | 34,71±1,74 | 45,12±2,26 | 7,21±0,35 | 7,23±0,35 | 3,15±0,16 | 17,05±0,82 |
| <i>D. communis</i> , каллус | 21,99±1,10 | 32,77±1,64 | 41,19±2,06 | 6,32±0,30 | 6,05±0,29 | 2,55±0,12 | 15,80±0,79 |
| <i>D. communis</i> , корневая культура | 25,18±1,26 | 35,02±1,71 | 45,53±2,28 | 7,40±0,37 | 7,44±0,36 | 3,22±0,16 | 17,33±0,85 |
| <i>S. divaricata</i> , стебель | 24,50±1,23 | 37,33±1,87 | 46,32±2,27 | 6,05±0,30 | 7,73±0,39 | 4,23±0,21 | 13,11±0,66 |
| <i>S. divaricata</i> , корень | 18,65±0,91 | 34,20±1,71 | 42,10±2,10 | 4,77±0,24 | 6,08±0,30 | 2,98±0,15 | 10,76±0,53 |
| <i>S. divaricata</i> , каллус | 18,82±0,94 | 35,13±1,76 | 41,43±2,07 | 4,80±0,23 | 6,12±0,31 | 3,07±0,15 | 11,14±0,52 |
| <i>S. divaricata</i> , корневая культура | 25,54±1,40 | 37,10±1,82 | 47,18±2,36 | 6,16±0,30 | 7,95±0,40 | 4,40±0,22 | 14,55±0,70 |

Следует отметить, что наибольшее значение выхода экстрактивных веществ для всех образцов зафиксировано при экстракции 40 %-ным этанолом.

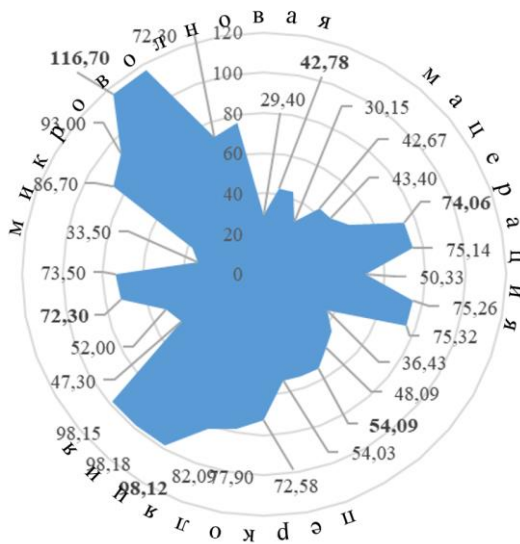
Далее была проведена серия экспериментов для оценки эффективности различных методов экстракции (мацерация, перколяция и микроволновая экстракция) и установлены рациональные параметры процесса (рисунок 3).



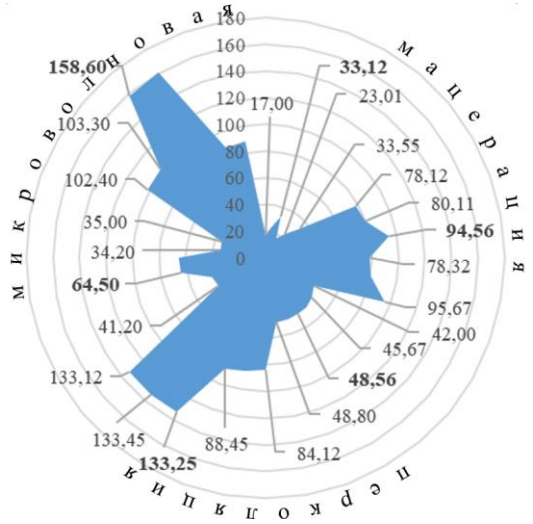
Rhaponticum carthamoides



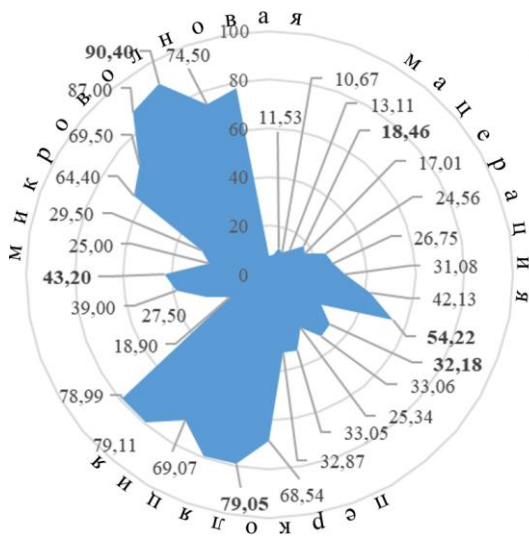
Panax ginseng



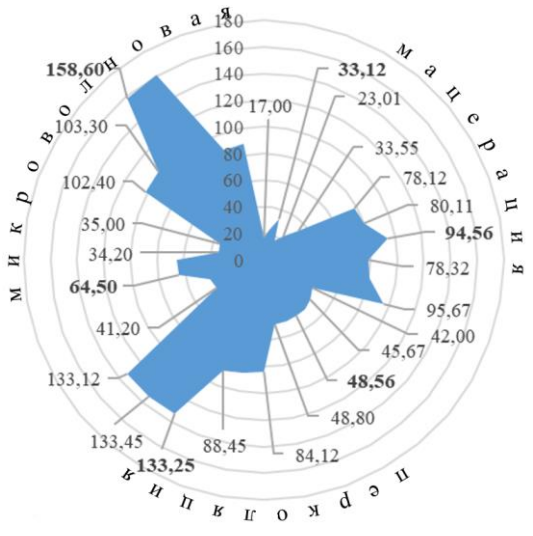
Eleutherococcus senticosus



Dactylorhiza maculata



Dioscorea communis



Saposhnikovia divaricata

Рисунок 3 – Содержание БАВ в этанольных экстрактах, мг/мл экстракта

Анализ рисунка 3 позволил сделать вывод о более высокой эффективности экстракции комплексов целевых БАВ из изучаемого растительного сырья при использовании циркуляционного и микроволнового экстрагирования по сравнению с мацерацией. По итогам подбора параметров водно-этанольной экстракции комплекса вторичных метаболитов из природного растительного сырья и клеточных культур растений для дальнейших исследований были отобраны 24 образца. Их условные обозначения, метод экстракции и параметры процесса представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Экстракты, используемые для изучения компонентного состава

| Растительный объект | Обозначение образца | Способ экстракции | Параметры экстракции |
|--|---------------------|-------------------|--|
| <i>R. carthamoides</i> , корневище | Rc-r1 | перколяция | 40 %-ный этанол, $t_{кип.}=78,37\text{ }^{\circ}\text{C}$, гидромодуль 1:10, $\tau=240$ мин |
| <i>R. carthamoides</i> , корневая культура | Rc-a1 | перколяция | |
| <i>R. carthamoides</i> , корневище | Rc-r2 | МВЭ | 40 %-ный этанол, 1:10, $P=400$ Вт, $\tau=30$ мин |
| <i>R. carthamoides</i> , корневая культура | Rc-a2 | МВЭ | |
| <i>P. ginseng</i> , корень | Pg-r1 | перколяция | 40 %-ный этанол, $t_{кип.}=78,37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1:10, $\tau=240$ мин |
| <i>P. ginseng</i> , каллус | Pg-c1 | перколяция | |
| <i>P. ginseng</i> , корень | Pg-r2 | МВЭ | 40 %-ный этанол, 1:10, $P=200$ Вт, $\tau=30$ мин |
| <i>P. ginseng</i> , каллус | Pg-c2 | МВЭ | |
| <i>E. senticosus</i> , корневище | Es-r1 | перколяция | 40 %-ный этанол, $t_{кип.}=78,37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1:20, $\tau=120$ мин |
| <i>E. senticosus</i> , корневая культура | Es-a1 | перколяция | |
| <i>E. senticosus</i> , корневище | Es-r2 | МВЭ | 40 %-ный этанол, 1:20, $P=400$ Вт, $\tau=20$ мин |
| <i>E. senticosus</i> , корневая культура | Es-a2 | МВЭ | |
| <i>D. maculata</i> , клубни | Dm-t1 | перколяция | 40 %-ный этанол, $t_{кип.}=78,37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1:10, $\tau=240$ мин |
| <i>D. maculata</i> , каллус | Dm-c1 | перколяция | |
| <i>D. maculata</i> , клубни | Dm-t2 | МВЭ | 40 %-ный этанол, 1:10, $P=300$ Вт, $\tau=20$ мин |
| <i>D. maculata</i> , каллус | Dm-c2 | МВЭ | |
| <i>D. communis</i> , корень | Dc-h1 | перколяция | 40 %-ный этанол, $t_{кип.}=78,37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1:5, $\tau=240$ мин |
| <i>D. communis</i> , корневая культура | Dc-a1 | перколяция | |
| <i>D. communis</i> , корень | Dc-h2 | МВЭ | 40 %-ный этанол, 1:5, $P=500$ Вт, $\tau=40$ мин |
| <i>D. communis</i> , корневая культура | Dc-a2 | МВЭ | |
| <i>S. divaricata</i> , стебель | Sd-s1 | перколяция | 40 %-ный этанол, $t_{кип.}=78,37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1:20, $\tau=120$ мин |
| <i>S. divaricata</i> , корневая культура | Sd-a1 | перколяция | |
| <i>S. divaricata</i> , стебель | Sd-s2 | МВЭ | 40 %-ный этанол, 1:20, $P=300$ Вт, $\tau=20$ мин |
| <i>S. divaricata</i> , корневая культура | Sd-a2 | МВЭ | |

* МВЭ – Микроволновая экстракция

Глава 5. Анализ компонентного состава, физико-химических свойств, показателей токсичности и биологической активности экстрактов, полученных разными методами. Для отобранных 24 экстрактов (таблица 6) оценивали компонентный (качественный и количественный) состав методами тонкослойной (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) хроматографии (таблица 7).

Согласно полученным данным максимальное содержание целевых БАВ отмечено в экстрактах культуры адвентивных корней левзеи сафлоровидной (*R. Carthamoides*), полученных методом микроволновой экстракции, установлено высокое содержание апигенина ($53,15 \pm 2,55$ мг/мл), фенольных кислот – кофейной ($45,44 \pm 2,23$ мг/мл), хлорогеновой ($28,47 \pm 1,42$ мг/мл), кверцетина ($31,26 \pm 1,56$ мг/мл), рутина ($28,04 \pm 1,37$ мг/мл), представителя экдистероидов – 20-гидро-кси-экдизона ($29,20 \pm 1,41$ мг/мл). В составе экстрактов каллусной культуры женьшеня обыкновенного (*P. Ginseng*), полученных микроволновой экстракцией доминировали панаксозид ($27,37 \pm 1,37$ мг/мл), гинзенозид RB1 ($16,65 \pm 0,83$ мг/мл), а также сиреневая кислота ($11,48 \pm 0,57$ мг/мл). Наибольшие концентрации целевых БАВ зафиксированы в экстрактах корневой культуры элеутерококка колючего (*E. Senticosus*), полученных микроволновой экстракцией: кофейная кислота ($13,34 \pm 0,67$ мг/мл), элеутерозиды ($14,05 \pm 0,67$ мг/мл), гиперозид ($8,52 \pm 0,43$ мг/мл), эритро-гваяцилглицерол- β -кониферилловый альдегидный эфир ($7,41 \pm 0,37$ мг/мл). Микроволновая экстракция каллусной культуры пальчатокоренника пятнистого (*D. maculata*) позволяет извлечь максимальное содержание БАВ: рутин ($24,06 \pm 1,20$ мг/мл), кверцетин ($21,47 \pm 1,07$ мг/мл), кверцетин-3,7-О- β -D-глюкопиранозид ($14,66 \pm 0,73$ мг/мл), апигенин ($12,12 \pm 0,61$ мг/мл). Наиболее полное извлечение БАВ диоскореи обыкновенной (*D. communis*) достигается при микроволновой экстракции культуры адвентивных корней, доминирующие вторичные метаболиты – это диосцин ($15,04 \pm 0,76$ мг/мл), спиростенон А ($14,94 \pm 0,75$ мг/мл), кверцетин ($13,12 \pm 0,63$ мг/мл), рутин ($11,65 \pm 0,58$ мг/мл). Наиболее эффективным способом экстракции с точки зрения максимального извлечения вторичных метаболитов для корневой культуры сапожниковии растопыренной (*S. Divaricata*) является микроволновая экстракция. В ее экстрактах отмечено максимальное содержание перв-О-глюкозилцимифугина ($42,54 \pm 2,13$ мг/мл), 4'-О- β -D-глюкозил-5-О-метилвисамминола ($37,78 \pm 1,90$ мг/мл), гамаудола ($32,41 \pm 1,62$ мг/мл) и цимифугина ($23,26 \pm 1,16$ мг/мл). Все экстракты, полученные из клеточных культур растений *in vitro*, демонстрировали более высокие концентрации вторичных метаболитов по сравнению с экстрактами надземных и подземных частей растений.

Токсичность растительных экстрактов оценивали с использованием биолюминесцентных бактерий *Vibrio fischeri*. Денситограммы образцов экстрактов Rc-a1, Es-a1, Dm-c1 и Dc-a1 после обработки бактериями *V. fischeri* представлены на рисунке 4. В качестве стандарта токсичности использовали п-аминофенол. Результаты показали, что все тестируемые экстракты не подавляют в значительной степени хемиллюминесценцию тест-штамма *V. fischeri*. Для экстрактов Rc-a1, Es-a1, Dm-c1 и Dc-a1 интенсивность сигнала составляет 100 %. Для других экстрактов интенсивность сигнала находится в диапазоне от 83,5 % (Dm-t2) до 99,8 % (Pg-c2). Ни один из исследуемых экстрактов не проявил 50 %-ной ингибирующей активности по отношению к хемиллюминесценции *V. Fischeri*, что свидетельствует об отсутствии токсичности у изучаемых экстрактов.

Таблица 7 – Содержание вторичных метаболитов в экстрактах

| Наименование вещества | Содержание вещества в экстракте, мг/мл | | | | | | | | | | | |
|--|--|------------|------------|-------------------|------------|------------|------------|-------------------|-----------|------------|-----------|-------------------|
| | Rc-r1 | Rc-a1 | Rc-r2 | Rc-a2 | Pg-r1 | Pg-c1 | Pg-r2 | Pg-c2 | Es-r1 | Es-a1 | Es-r2 | Es-a2 |
| 1,3-пропандиол-2- <i>O</i> -4'-синапиловый эфир | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,69±0,18 | 6,09±0,30 | 4,75±0,24 | 6,53±0,33 |
| 20-гидроксиэкдизон | 11,34±0,54 | 27,66±1,40 | 12,15±0,59 | 29,20±1,41 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| В-ситостерин | 4,29±0,21 | 9,54±0,48 | 5,86±0,28 | 11,40±0,56 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Апигенин | 24,90±1,25 | 47,12±2,36 | 26,08±1,30 | 53,15±2,55 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Гинзенозид LC ₁ | – | – | – | – | 4,12±0,20 | 7,89±0,39 | 4,32±0,21 | 9,36±0,45 | – | – | – | – |
| Гинзенозид RB ₁ | – | – | – | – | 6,34±0,30 | 13,45±0,67 | 7,05±0,35 | 16,65±0,83 | – | – | – | – |
| Гиперозид | – | – | – | – | – | – | – | – | 4,22±0,20 | 8,02±0,40 | 5,43±0,27 | 8,52±0,43 |
| Гомизин В | – | – | – | – | 0,87±0,04 | 2,16±0,11 | 1,12±0,06 | 2,31±0,11 | – | – | – | – |
| Изофраксидин | 5,55±0,28 | 12,57±0,63 | 7,18±0,36 | 13,30±0,65 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Кверцетин | 16,13±0,81 | 28,55±1,43 | 18,07±0,87 | 31,26±1,56 | 1,66±0,08 | 3,69±0,18 | 2,31±0,11 | 5,13±0,25 | – | – | – | – |
| Кофейная кислота | 18,23±0,91 | 32,15±1,54 | 21,09±0,98 | 45,44±2,23 | – | – | – | – | 5,86±0,29 | 11,33±0,57 | 7,68±0,38 | 13,34±0,67 |
| Мангиферин | 4,18±0,21 | 6,66±0,33 | 5,12±0,26 | 10,09±0,50 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Олеаноловая кислота | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,80±0,13 | 5,33±0,27 | 3,62±0,18 | 5,70±0,29 |
| Панаксозид | – | – | – | – | 10,99±0,55 | 24,31±1,22 | 13,02±0,64 | 27,37±1,37 | – | – | – | – |
| П-кумаровая кислота | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,99±0,14 | 5,79±0,29 | 3,95±0,21 | 6,79±0,34 |
| Рутин | 14,59±0,74 | 26,01±1,27 | 15,57±0,78 | 28,04±1,37 | 0,98±0,05 | 3,22±0,16 | 1,77±0,09 | 3,76±0,19 | 3,77±0,19 | 6,54±0,33 | 4,86±0,24 | 6,62±0,33 |
| Сиреневая кислота | – | – | – | – | 3,88±0,19 | 8,56±0,41 | 5,22±0,26 | 11,48±0,57 | – | – | – | – |
| Стигмастерин | 6,12±0,33 | 11,09±0,53 | 7,11±0,34 | 12,88±0,67 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Сумма элеутерозидов в пересчете на элеутерозид В (сирингин) | – | – | – | – | – | – | – | – | 7,24±0,35 | 11,93±0,61 | 9,26±0,44 | 14,05±0,67 |
| Урсоловая кислота | – | – | – | – | – | – | – | – | 2,74±0,13 | 4,46±0,21 | 3,53±0,18 | 5,36±0,27 |
| Феруловая кислота | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,06±0,15 | 5,44±0,27 | 4,04±0,20 | 6,37±0,32 |
| Хлорогеновая кислота | 12,78±0,64 | 24,07±1,18 | 13,11±0,66 | 28,47±1,42 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Экдизон | – | – | – | – | 0,70±0,03 | 2,38±0,12 | 1,46±0,07 | 3,09±0,15 | – | – | – | – |
| Эритро- <i>g</i> -ваяцилглицерол- β -кониферилловый альдегидный эфир | – | – | – | – | – | – | – | – | 4,15±0,21 | 7,64±0,03 | 5,40±0,27 | 7,41±0,37 |

Окончание таблицы 7

| Наименование вещества | Содержание вещества в экстракте, мг/мл | | | | | | | | | | | |
|---|--|------------|------------|-------------------|-----------|------------|-----------|-------------------|------------|------------|------------|-------------------|
| | Dm-t1 | Dm-c1 | Dm-t2 | Dm-c2 | Dc-h1 | Dc-a1 | Dc-h2 | Dc-a2 | Sd-s1 | Sd-a1 | Sd-s2 | Sd-a2 |
| 4'- <i>O</i> -β-D-глюкозил-5- <i>O</i> -метилвисамминол | – | – | – | – | – | – | – | – | 10,56±0,51 | 28,55±1,43 | 13,66±0,68 | 37,78±1,90 |
| Г-ситостерол | 3,98±0,19 | 7,55±0,38 | 4,48±0,22 | 7,72±0,39 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Апигенин | 6,45±0,32 | 11,70±0,56 | 7,17±0,36 | 12,12±0,61 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Апигенин-гликозид | – | – | – | – | 3,66±0,18 | 7,64±0,38 | 4,85±0,24 | 10,43±0,52 | – | – | – | – |
| Астрагалин | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,21±0,16 | 8,21±0,41 | 4,16±0,21 | 10,30±0,52 |
| Бергаптен | – | – | – | – | – | – | – | – | 5,32±0,28 | 13,65±0,68 | 6,92±0,35 | 17,11±0,86 |
| Галловая кислота | 3,56±0,17 | 6,12±0,31 | 4,07±0,20 | 7,07±0,36 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Гамаудол | – | – | – | – | – | – | – | – | 9,22±0,45 | 24,33±1,22 | 11,88±0,59 | 32,41±1,62 |
| Диосгенин | – | – | – | – | 2,98±0,14 | 6,34±0,30 | 4,02±0,20 | 8,42±0,42 | – | – | – | – |
| Диосцин | – | – | – | – | 5,43±0,27 | 11,32±0,57 | 7,43±0,37 | 15,04±0,76 | – | – | – | – |
| Изофраксидин | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,78±0,18 | 9,76±0,49 | 4,83±0,24 | 12,34±0,62 |
| Кверцетин | 10,45±0,51 | 18,77±0,92 | 11,65±0,58 | 21,47±1,07 | 4,87±0,24 | 10,98±0,55 | 6,54±0,33 | 13,12±0,63 | – | – | – | – |
| Кверцетин-3,7- <i>O</i> -β-D-глюкопиранозид | 7,61±0,38 | 13,22±0,63 | 8,43±0,42 | 14,66±0,73 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Кверцетин-3,7-дигликозид | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,56±0,18 | 9,31±0,47 | 4,69±0,23 | 11,88±0,59 |
| Колофолид | 4,18±0,21 | 7,66±0,37 | 4,67±0,22 | 8,11±0,41 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Лузиантридин | – | – | – | – | 1,55±0,07 | 3,43±0,17 | 2,12±0,11 | 4,23±0,21 | – | – | – | – |
| Орхинол | – | – | – | – | 1,87±0,09 | 4,09±0,21 | 2,49±0,12 | 5,56±0,28 | – | – | – | – |
| Перв- <i>O</i> -глюкозилцимифугин | – | – | – | – | – | – | – | – | 12,23±0,61 | 32,09±1,60 | 16,08±0,77 | 42,54±2,13 |
| Рутин | 12,34±0,60 | 23,44±1,17 | 13,55±0,68 | 24,06±1,20 | 4,09±0,21 | 9,11±0,46 | 5,59±0,27 | 11,65±0,58 | – | – | – | – |
| Сиреневая кислота | 3,41±0,17 | 6,54±0,32 | 3,75±0,19 | 6,54±0,33 | 1,48±0,07 | 3,12±0,16 | 1,80±0,09 | 4,02±0,19 | – | – | – | – |
| Скополетин | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,31±0,17 | 8,54±0,43 | 4,36±0,22 | 11,08±0,55 |
| Спиростенол А | – | – | – | – | 5,12±0,25 | 11,40±0,57 | 6,77±0,33 | 14,94±0,75 | – | – | – | – |
| Спиростенол Б | – | – | – | – | 3,40±0,17 | 7,11±0,34 | 4,66±0,23 | 9,33±0,47 | – | – | – | – |
| Умбеллиферон | – | – | – | – | – | – | – | – | 4,17±0,21 | 10,75±0,52 | 5,47±0,26 | 13,56±0,68 |
| Фраксидин | – | – | – | – | – | – | – | – | 3,94±0,19 | 10,09±0,48 | 5,14±0,26 | 12,70±0,64 |
| Хлорогеновая кислота | 3,32±0,17 | 6,10±0,30 | 3,54±0,18 | 6,07±0,30 | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Цимифугин | – | – | – | – | – | – | – | – | 7,12±0,34 | 18,56±0,91 | 9,20±0,46 | 23,26±1,16 |

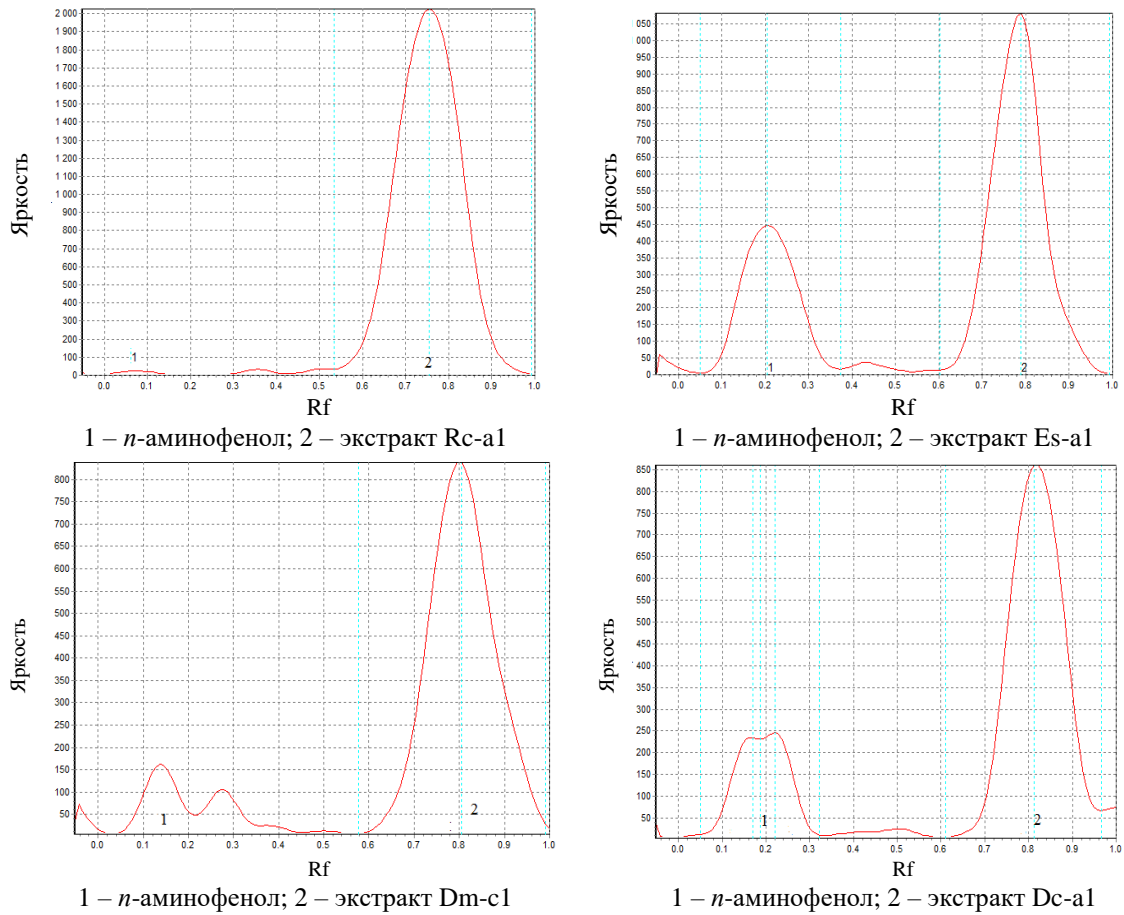


Рисунок 4 – Денситограмма увеличения хемилюминесценции
тест-культуры *V. fischeri*

Результаты оценки физико-химических свойств экстрактов, полученных разными методами, согласуются с литературными данными и требованиями фармакопейных статей. Установлено соответствие всех исследуемых образцов экстрактов требованиям ОФС.1.4.1.0021.15 и ОФС.1.5.3.0009.15 по содержанию тяжелых металлов и токсичности, что свидетельствует о возможности их использования в технологиях пищевых продуктов и напитков.

Антимикробную активность экстрактов изучали двумя методами: диско-диффузионный (таблица 8) и методом, основанным на измерении оптической плотности. Совокупный анализ результатов оценки антагонистической активности экстрактов показал высокий антимикробный потенциал всех изучаемых объектов по отношению к тест-штаммам: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus viridans*, *Candida albicans*, *Microsporium canis*, *Penicillium citrinum*. Выявлена тенденция, что максимальную антимикробную активность проявляют экстракты, полученные из клеточных культур растений *in vitro*. Полученные данные коррелируют с результатами оценки содержания доминирующих веществ в экстрактах: все экстракты, полученные из клеточных культур растений *in vitro*, демонстрируют более высокие концентрации вторичных метаболитов по сравнению с экстрактами надземных и подземных частей растений.

Таблица 8 – Результаты изучения антимикробных свойств растительных экстрактов диско-диффузионным методом

| Образец экстракта | Диаметр зоны лизиса тест-штаммов, мм | | | | | | | | |
|-------------------|--------------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>P. vulgaris</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>L. mesenteroides</i> | <i>B. cereus</i> | <i>S. viridans</i> | <i>C. albicans</i> | <i>M. canis</i> | <i>P. citrinum</i> |
| Rc-r1 | 12,10±0,61 | 11,80±0,58 | 12,00±0,60 | 12,60±0,57 | 11,90±0,60 | 12,20±0,61 | 12,30±0,62 | 10,90±0,54 | 11,50±0,53 |
| Rc-a1 | 14,30±0,70 | 13,80±0,69 | 14,10±0,71 | 14,00±0,68 | 13,70±0,66 | 14,50±0,73 | 14,90±0,75 | 13,60±0,68 | 13,40±0,64 |
| Rc-r2 | 11,90±0,60 | 12,70±0,64 | 11,80±0,59 | 12,30±0,66 | 13,10±0,63 | 11,60±0,58 | 12,40±0,57 | 12,60±0,57 | 11,70±0,59 |
| Rc-a2 | 14,60±0,73 | 14,20±0,71 | 14,40±0,69 | 14,50±0,67 | 13,60±0,64 | 13,90±0,65 | 14,00±0,72 | 13,50±0,68 | 14,30±0,72 |
| Pg-r1 | 11,30±0,57 | 10,80±0,54 | 12,00±0,59 | 11,50±0,55 | 12,30±0,62 | 11,90±0,60 | 11,70±0,56 | 12,30±0,62 | 10,70±0,54 |
| Pg-c1 | 13,80±0,66 | 13,60±0,67 | 14,50±0,73 | 14,30±0,67 | 13,50±0,68 | 14,00±0,71 | 14,10±0,73 | 12,80±0,64 | 13,40±0,67 |
| Pg-r2 | 10,60±0,53 | 10,90±0,55 | 11,00±0,55 | 11,30±0,57 | 10,80±0,54 | 10,50±0,53 | 11,30±0,55 | 10,50±0,53 | 11,70±0,59 |
| Pg-c2 | 15,10±0,71 | 13,90±0,67 | 14,40±0,72 | 14,50±0,74 | 13,80±0,69 | 15,00±0,76 | 14,60±0,66 | 14,50±0,73 | 14,30±0,72 |
| Es-r1 | 8,90±0,41 | 8,50±0,43 | 9,20±0,46 | 9,50±0,48 | 8,80±0,42 | 9,40±0,47 | 9,10±0,46 | 8,40±0,42 | 8,00±0,41 |
| Es-a1 | 13,00±0,65 | 12,90±0,64 | 13,60±0,65 | 13,90±0,70 | 12,80±0,64 | 13,40±0,63 | 13,50±0,68 | 12,70±0,64 | 13,00±0,65 |
| Es-r2 | 9,50±0,44 | 8,90±0,45 | 11,40±0,57 | 11,00±0,55 | 10,60±0,53 | 10,30±0,52 | 9,80±0,47 | 9,90±0,50 | 10,50±0,53 |
| Es-a2 | 14,10±0,71 | 13,40±0,67 | 13,20±0,63 | 12,80±0,63 | 13,00±0,65 | 12,70±0,62 | 12,50±0,63 | 13,20±0,63 | 13,30±0,64 |
| Dm-t1 | 11,50±0,53 | 11,90±0,60 | 10,80±0,52 | 12,30±0,62 | 12,50±0,63 | 11,40±0,57 | 11,80±0,57 | 12,30±0,62 | 12,20±0,59 |
| Dm-c1 | 15,10±0,68 | 13,90±0,70 | 14,50±0,73 | 14,20±0,71 | 13,80±0,69 | 14,80±0,70 | 14,60±0,67 | 13,70±0,66 | 13,50±0,68 |
| Dm-t2 | 10,60±0,53 | 9,90±0,49 | 11,20±0,56 | 10,90±0,52 | 11,40±0,55 | 11,50±0,58 | 10,50±0,52 | 9,70±0,49 | 9,80±0,49 |
| Dm-c2 | 14,10±0,65 | 13,80±0,65 | 13,50±0,68 | 14,30±0,72 | 14,80±0,74 | 13,40±0,67 | 14,00±0,71 | 12,90±0,64 | 13,00±0,66 |
| Dc-h1 | 8,80±0,41 | 9,40±0,47 | 9,70±0,49 | 8,90±0,44 | 10,10±0,53 | 10,60±0,58 | 9,50±0,43 | 10,30±0,52 | 9,90±0,50 |
| Dc-a1 | 12,00±0,62 | 13,40±0,67 | 12,50±0,63 | 13,00±0,65 | 12,10±0,59 | 12,50±0,63 | 12,20±0,61 | 11,90±0,60 | 12,60±0,68 |
| Dc-h2 | 9,00±0,45 | 10,20±0,51 | 10,00±0,51 | 9,50±0,48 | 9,70±0,43 | 10,20±0,47 | 8,90±0,44 | 9,30±0,46 | 9,50±0,46 |
| Dc-a2 | 13,00±0,65 | 12,40±0,63 | 12,70±0,61 | 12,50±0,60 | 11,80±0,54 | 12,30±0,62 | 11,70±0,53 | 12,20±0,61 | 12,50±0,63 |
| Sd-s1 | 14,10±0,71 | 14,70±0,74 | 13,90±0,70 | 15,30±0,77 | 15,00±0,75 | 14,00±0,71 | 14,80±0,71 | 15,10±0,76 | 14,90±0,75 |
| Sd-a1 | 9,90±0,49 | 10,40±0,52 | 9,60±0,48 | 10,10±0,51 | 9,40±0,47 | 9,50±0,48 | 10,50±0,48 | 9,80±0,47 | 10,70±0,54 |
| Sd-s2 | 13,80±0,66 | 14,60±0,73 | 15,20±0,73 | 14,80±0,71 | 15,10±0,76 | 14,90±0,67 | 14,40±0,72 | 15,00±0,75 | 14,60±0,73 |
| Sd-a2 | 8,80±0,40 | 9,30±0,47 | 8,90±0,44 | 9,00±0,45 | 9,50±0,46 | 9,10±0,46 | 9,30±0,47 | 9,80±0,47 | 10,30±0,52 |
| ампициллин | 15,20±0,74 | 15,40±0,77 | 14,90±0,75 | 15,50±0,78 | 15,70±0,79 | 15,60±0,75 | 15,30±0,76 | 15,40±0,77 | 15,00±0,75 |
| ванкомицин | 15,80±0,79 | 16,20±0,79 | 15,90±0,80 | 16,00±0,80 | 15,70±0,79 | 16,10±0,81 | 16,40±0,82 | 16,50±0,83 | 16,30±0,82 |

Для подтверждения антиоксидантной активности экстрактов применяли два метода (спектрофотометрический метод, основанный на измерении способности антиоксидантов улавливать радикал АВТС, и метод, основанный на способности антиоксидантов восстанавливать радикал DPPH), которые продемонстрировали высокий антиоксидантный потенциал объектов исследования. Согласно данным первого метода, значения полумаксимальной эффективной концентрации EC₅₀ образцов находятся в диапазоне от 4,0 масс. % до 15,0 масс. % (таблица 9). Согласно данным второго метода, антиоксидантная активность тестируемых экстрактов находится в диапазоне от 65,87 до 195,44 мг АК/г (таблица 10).

Таблица 9 – Результаты определения полумаксимальной эффективной концентрации экстрактов (метод с использованием АВТС)

| Обозначение экстракта | EC ₅₀ , масс. % | Обозначение экстракта | EC ₅₀ , масс. % |
|-----------------------|----------------------------|-----------------------|----------------------------|
| Rc-r1 | 10,5±0,5 | Dm-t1 | 9,0±0,5 |
| Rc-a1 | 8,0±0,4 | Dm-c1 | 5,0±0,3 |
| Rc-r2 | 11,0±0,6 | Dm-t2 | 10,5±0,5 |
| Rc-a2 | 7,5±0,4 | Dm-c2 | 4,0±0,2 |
| Pg-r1 | 14,0±0,7 | Dc-h1 | 12,5±0,6 |
| Pg-c1 | 7,0±0,4 | Dc-a1 | 6,5±0,4 |
| Pg-r2 | 13,0±0,7 | Dc-h2 | 12,0±0,6 |
| Pg-c2 | 8,0±0,4 | Dc-a2 | 7,0±0,4 |
| Es-r1 | 15,0±0,8 | Sd-s1 | 10,0±0,5 |
| Es-a1 | 6,0±0,3 | Sd-a1 | 4,5±0,2 |
| Es-r2 | 14,0±0,7 | Sd-s2 | 12,0±0,6 |
| Es-a2 | 5,5±0,3 | Sd-a2 | 5,5±0,3 |

Таблица 10 – Результаты определения антиоксидантной активности растительных экстрактов методом, основанным на их способности восстанавливать радикал DPPH

| Обозначение экстракта | Антиоксидантная активность, мг АК/г | Обозначение экстракта | Антиоксидантная активность, мг АК/г |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| Rc-r1 | 95,14±4,76 | Dm-t1 | 113,25±5,66 |
| Rc-a1 | 115,30±5,65 | Dm-c1 | 136,77±6,56 |
| Rc-r2 | 110,56±5,31 | Dm-t2 | 121,07±5,81 |
| Rc-a2 | 123,33±6,12 | Dm-c2 | 148,80±7,44 |
| Pg-r1 | 74,68±3,73 | Dc-h1 | 134,53±6,73 |
| Pg-c1 | 111,15±5,33 | Dc-a1 | 177,38±8,87 |
| Pg-r2 | 83,42±4,17 | Dc-h2 | 142,81±7,14 |
| Pg-c2 | 136,90±6,85 | Dc-a2 | 183,50±9,18 |
| Es-r1 | 65,87±3,44 | Sd-s1 | 87,53±4,38 |
| Es-a1 | 92,18±4,61 | Sd-a1 | 98,69±4,93 |
| Es-r2 | 75,33±3,77 | Sd-s2 | 94,09±4,52 |
| Es-a2 | 105,44±5,17 | Sd-a2 | 103,12±4,95 |

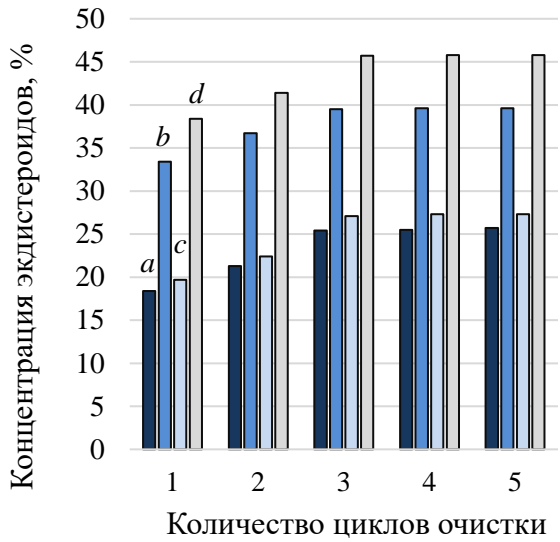
Таким образом, разнообразный состав вторичных метаболитов с широким спектром биологической активности в экстрактах клеточных культур *in vitro* изучаемых растений позволяет рассматривать их в качестве перспективного сырья для получения продуктов питания и напитков функциональной направленности.

Глава 6. Подбор параметров очистки растительных экстрактов, полученных из природного сырья и клеточных культур. Рассмотрены два метода очистки спиртовых экстрактов, полученных из надземных и подземных частей растений, а также из биомассы их клеточных культур, выращенных *in vitro*: каллусных и корне-

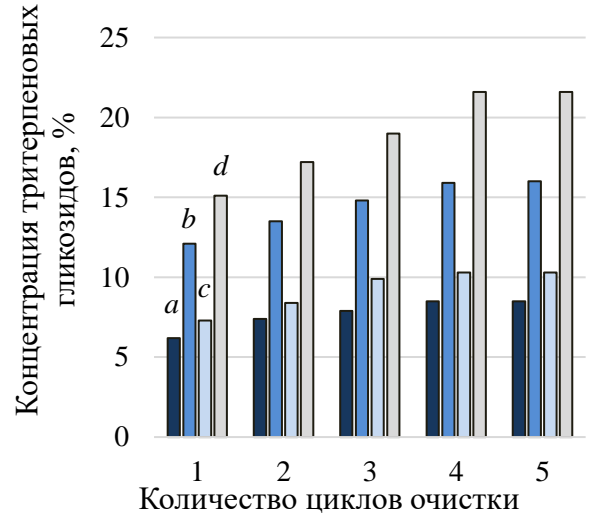
вых, от балластных веществ – ультрафильтрационный и хроматографический. Ультрафильтрацию экстрактов осуществляли на установке МФУ-Р-45-300 (Россия) при использовании мембран с диаметром пор 5, 10, 15 кДа и давления 0,25 и 0,5 МПа. Контролируемыми параметрами являлись содержание действующих БАВ и балластных веществ углеводной природы в ультрапермеате (таблица 11). Результаты многократной очистки экстрактов представлены на рисунке 5.

Таблица 11 – Результаты подбора рациональных параметров ультрафильтрации

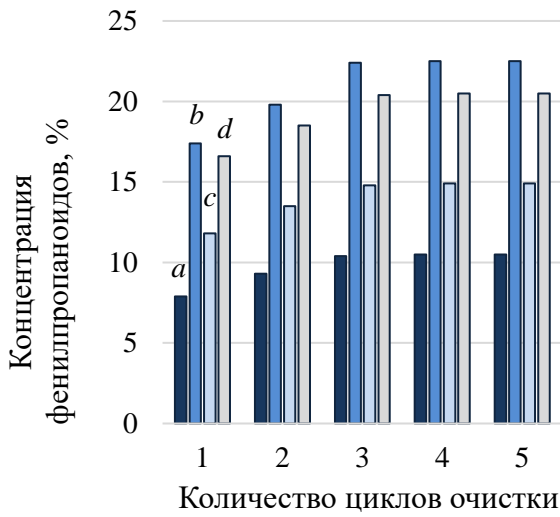
| Образец экстракта | Содержание БАВ, % | | | | Содержание балластных веществ, % | | | |
|-------------------|--------------------------|-----------------|-----------------|------------|----------------------------------|------------------|------------------|------------|
| | диаметр пор мембран, кДа | | | до очистки | диаметр пор мембран, кДа | | | до очистки |
| | 5 | 10 | 15 | | 5 | 10 | 15 | |
| давление 0,25 МПа | | | | | | | | |
| Rc-r1 | 13,7±0,7 | 16,4±0,8 | 16,5±0,8 | 12,9±0,7 | 1,52±0,08 | 1,18±0,06 | 1,19±0,06 | 1,54±0,08 |
| Rc-a1 | 24,8±1,2 | 31,0±1,6 | 31,2±1,6 | 24,3±1,2 | 1,45±0,07 | 1,05±0,05 | 1,03±0,05 | 1,46±0,07 |
| Rc-r2 | 15,1±0,8 | 18,5±0,9 | 18,5±0,9 | 14,4±0,7 | 1,53±0,08 | 1,10±0,06 | 1,12±0,06 | 1,57±0,08 |
| Rc-a2 | 29,3±1,5 | 36,6±1,8 | 36,8±1,8 | 28,7±1,4 | 1,42±0,07 | 1,11±0,06 | 1,09±0,05 | 1,44±0,07 |
| Pg-r1 | 3,6±0,2 | 3,8±0,2 | 5,2±0,3 | 3,3±0,2 | 2,11±0,11 | 2,08±0,10 | 1,32±0,07 | 2,12±0,11 |
| Pg-c1 | 7,8±0,4 | 8,1±0,4 | 11,4±0,6 | 7,8±0,4 | 2,05±0,10 | 1,96±0,10 | 1,35±0,07 | 2,08±0,10 |
| Pg-r2 | 4,5±0,3 | 4,6±0,3 | 6,3±0,3 | 4,4±0,2 | 2,15±0,11 | 2,04±0,10 | 1,29±0,06 | 2,17±0,11 |
| Pg-c2 | 9,8±0,5 | 9,9±0,5 | 14,7±0,8 | 9,6±0,5 | 1,74±0,09 | 1,65±0,08 | 1,11±0,06 | 1,76±0,09 |
| Es-r1 | 5,5±0,3 | 7,1±0,4 | 7,2±0,4 | 5,4±0,3 | 1,26±0,06 | 0,74±0,04 | 0,72±0,04 | 1,33±0,07 |
| Es-a1 | 10,0±0,5 | 16,5±0,8 | 16,7±0,8 | 9,8±0,5 | 1,18±0,06 | 0,67±0,03 | 0,65±0,03 | 1,21±0,06 |
| Es-r2 | 7,2±0,4 | 11,0±0,6 | 11,2±0,6 | 7,0±0,4 | 1,45±0,07 | 0,81±0,04 | 0,79±0,04 | 1,48±0,07 |
| Es-a2 | 10,7±0,5 | 15,5±0,8 | 15,7±0,8 | 10,6±0,6 | 1,14±0,06 | 0,59±0,03 | 0,61±0,03 | 1,17±0,06 |
| Dm-t1 | 7,9±0,4 | 8,0±0,4 | 7,9±0,4 | 5,7±0,3 | 0,64±0,03 | 0,65±0,03 | 0,63±0,03 | 1,08±0,05 |
| Dm-c1 | 14,8±0,8 | 15,0±0,8 | 15,0±0,8 | 10,5±0,5 | 0,58±0,03 | 0,55±0,03 | 0,59±0,03 | 0,94±0,05 |
| Dm-t2 | 9,5±0,5 | 9,7±0,5 | 9,6±0,5 | 6,3±0,3 | 0,61±0,03 | 0,59±0,03 | 0,62±0,03 | 1,15±0,06 |
| Dm-c2 | 16,2±0,8 | 16,5±0,8 | 16,7±0,8 | 11,1±0,5 | 0,55±0,03 | 0,53±0,03 | 0,54±0,03 | 1,03±0,05 |
| Dc-h1 | 3,8±0,2 | 3,9±0,2 | 4,7±0,3 | 3,7±0,2 | 1,20±0,06 | 1,18±0,06 | 0,83±0,04 | 1,24±0,06 |
| Dc-a1 | 8,4±0,4 | 8,5±0,4 | 12,1±0,6 | 8,2±0,4 | 1,12±0,06 | 1,10±0,06 | 0,75±0,04 | 1,16±0,06 |
| Dc-h2 | 5,2±0,3 | 5,3±0,3 | 8,4±0,4 | 5,1±0,3 | 1,24±0,06 | 1,15±0,06 | 0,87±0,04 | 1,30±0,07 |
| Dc-a2 | 10,7±0,5 | 10,7±0,6 | 16,9±0,9 | 10,6±0,6 | 1,16±0,06 | 1,11±0,05 | 0,75±0,04 | 1,19±0,06 |
| Sd-s1 | 7,3±0,4 | 7,5±0,4 | 12,6±0,7 | 7,1±0,4 | 2,30±0,12 | 2,31±0,12 | 1,66±0,08 | 2,34±0,12 |
| Sd-a1 | 18,8±0,9 | 19,0±1,0 | 29,4±1,5 | 18,7±0,9 | 2,37±0,12 | 2,35±0,12 | 1,54±0,08 | 2,41±0,12 |
| Sd-s2 | 9,5±0,5 | 9,5±0,5 | 14,0±0,7 | 9,3±0,5 | 2,22±0,11 | 2,19±0,11 | 1,45±0,07 | 2,25±0,11 |
| Sd-a2 | 24,3±1,2 | 24,5±1,2 | 33,2±1,7 | 24,1±1,2 | 2,25±0,11 | 2,21±0,11 | 1,44±0,07 | 2,29±0,11 |
| давление 0,5 МПа | | | | | | | | |
| Rc-r1 | 14,1±0,7 | 18,4±0,9 | 18,5±1,0 | 12,9±0,7 | 1,51±0,08 | 1,02±0,05 | 1,01±0,05 | 1,54±0,08 |
| Rc-a1 | 24,8±1,2 | 33,4±1,7 | 33,5±1,7 | 24,3±1,2 | 1,44±0,07 | 0,93±0,05 | 0,92±0,05 | 1,46±0,08 |
| Rc-r2 | 15,1±0,8 | 19,7±1,0 | 19,8±1,0 | 14,4±0,7 | 1,55±0,08 | 0,96±0,05 | 0,95±0,05 | 1,57±0,08 |
| Rc-a2 | 29,3±1,5 | 38,4±1,9 | 38,5±1,9 | 28,7±1,5 | 1,42±0,07 | 1,04±0,05 | 1,05±0,05 | 1,44±0,07 |
| Pg-r1 | 3,6±0,2 | 4,1±0,2 | 6,2±0,3 | 3,3±0,2 | 2,10±0,10 | 2,05±0,10 | 1,24±0,06 | 2,12±0,11 |
| Pg-c1 | 7,9±0,4 | 8,5±0,4 | 12,1±0,6 | 7,8±0,4 | 2,04±0,10 | 1,90±0,10 | 1,21±0,06 | 2,08±0,10 |
| Pg-r2 | 4,7±0,3 | 5,1±0,3 | 7,3±0,4 | 4,4±0,2 | 2,14±0,11 | 2,01±0,10 | 1,15±0,06 | 2,17±0,11 |
| Pg-c2 | 9,9±0,5 | 10,3±0,5 | 15,1±0,8 | 9,6±0,5 | 1,72±0,09 | 1,61±0,08 | 0,95±0,05 | 1,76±0,09 |
| Es-r1 | 5,7±0,3 | 7,9±0,4 | 8,0±0,4 | 5,4±0,3 | 1,24±0,06 | 0,61±0,03 | 0,60±0,03 | 1,33±0,07 |
| Es-a1 | 10,2±0,5 | 17,4±0,9 | 17,5±0,9 | 9,8±0,5 | 1,15±0,06 | 0,54±0,03 | 0,53±0,03 | 1,21±0,06 |
| Es-r2 | 7,5±0,4 | 11,8±0,6 | 11,9±0,6 | 7,0±0,4 | 1,40±0,07 | 0,72±0,04 | 0,71±0,04 | 1,48±0,07 |
| Es-a2 | 10,9±0,6 | 16,6±0,9 | 16,7±0,9 | 10,6±0,5 | 1,11±0,06 | 0,51±0,03 | 0,51±0,03 | 1,17±0,06 |
| Dm-t1 | 8,7±0,5 | 8,8±0,5 | 8,9±0,5 | 5,7±0,3 | 0,53±0,03 | 0,53±0,03 | 0,51±0,03 | 1,08±0,05 |
| Dm-c1 | 15,3±0,8 | 15,4±0,8 | 15,4±0,8 | 10,5±0,5 | 0,47±0,03 | 0,45±0,02 | 0,48±0,03 | 0,94±0,05 |
| Dm-t2 | 10,6±0,6 | 10,7±0,6 | 10,6±0,5 | 6,3±0,3 | 0,52±0,03 | 0,51±0,03 | 0,52±0,03 | 1,15±0,06 |
| Dm-c2 | 16,9±0,8 | 16,9±0,8 | 17,0±0,9 | 11,1±0,6 | 0,46±0,02 | 0,45±0,02 | 0,44±0,02 | 1,03±0,05 |
| Dc-h1 | 3,8±0,2 | 3,8±0,2 | 5,4±0,3 | 3,7±0,2 | 1,21±0,06 | 1,19±0,06 | 0,73±0,04 | 1,24±0,06 |
| Dc-a1 | 8,2±0,4 | 8,4±0,4 | 12,8±0,6 | 8,2±0,4 | 1,12±0,06 | 1,10±0,05 | 0,62±0,03 | 1,16±0,06 |
| Dc-h2 | 5,1±0,3 | 5,2±0,3 | 9,5±0,5 | 5,1±0,3 | 1,24±0,06 | 1,12±0,06 | 0,73±0,04 | 1,30±0,06 |
| Dc-a2 | 10,7±0,5 | 10,6±0,6 | 17,5±0,9 | 10,6±0,5 | 1,16±0,06 | 1,13±0,06 | 0,66±0,03 | 1,19±0,06 |
| Sd-s1 | 7,2±0,4 | 7,4±0,4 | 13,8±0,7 | 7,1±0,4 | 2,32±0,12 | 2,28±0,11 | 1,41±0,07 | 2,34±0,12 |
| Sd-a1 | 18,7±1,0 | 18,9±1,0 | 32,1±1,6 | 18,7±0,9 | 2,36±0,12 | 2,33±0,12 | 1,39±0,07 | 2,41±0,12 |
| Sd-s2 | 9,4±0,5 | 9,7±0,5 | 15,2±0,8 | 9,3±0,5 | 2,20±0,11 | 2,17±0,11 | 1,35±0,07 | 2,25±0,12 |
| Sd-a2 | 24,2±1,2 | 24,3±1,2 | 33,9±1,7 | 24,1±1,2 | 2,25±0,11 | 2,15±0,11 | 1,33±0,07 | 2,29±0,12 |



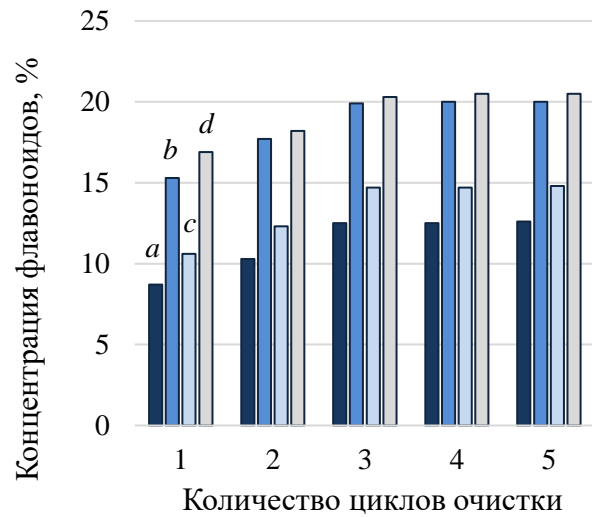
a – Rc-r1, b – Rc-a1, c – Rc-r2, d – Rc-a2



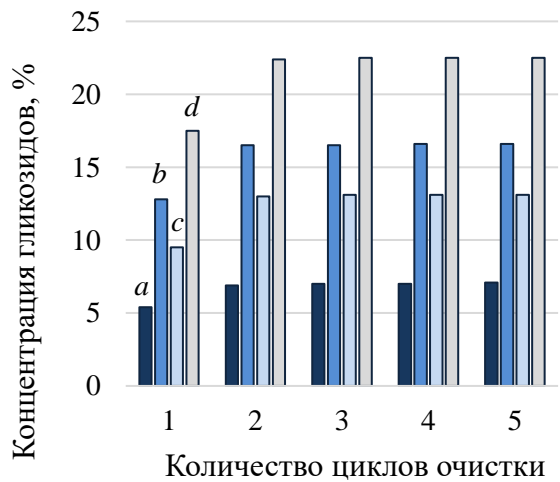
a – Pg-r1, b – Pg-c1, c – Pg-r2, d – Pg-c2



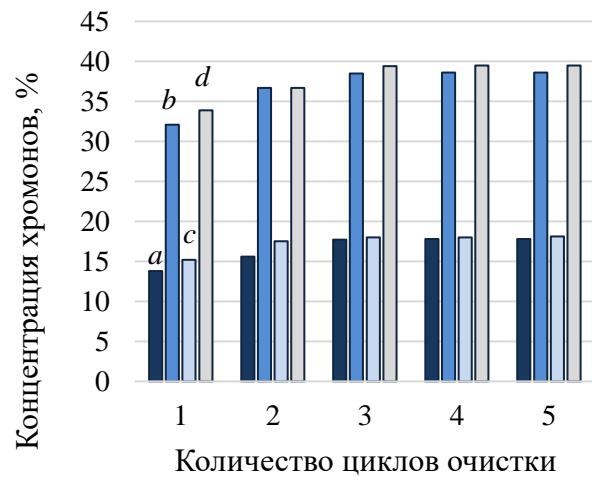
a – Es-r1, b – Es-a1, c – Es-r2, d – Es-a2



a – Dm-t1, b – Dm-c1, c – Dm-t2, d – Dm-c2



a – Dc-h1, b – Dc-a1, c – Dc-h2, d – Dc-a2



a – Sd-s1, b – Sd-a1, c – Sd-s2, d – Sd-a2

Рисунок 5 – Результаты изучения эффективности многократной очистки экстрактов ультрафильтрацией

В результате проведенной работы доказано, что ультрафильтрационную очистку необходимо проводить при давлении 0,5 МПа для экстрактов левзеи сафлоровидной и элеутерококка колючего; диаметр пор мембран 10 кДа и применять 3 цикла очистки; для экстрактов женьшеня обыкновенного – диаметр пор мембран 15 кДа, 4 цикла очистки; для экстрактов пальчатокоренника пятнистого – диаметр пор мембран 5 кДа, 3 цикла очистки; для экстрактов диоскореи обыкновенной – диаметр пор мембран 15 кДа, 2 цикла очистки; для экстрактов сапожниковии растопыренной – диаметр пор мембран 15 кДа, 3 цикла очистки.

Выбранные параметры ультрафильтрационной очистки позволяют увеличить содержание действующих БАВ в экстрактах: концентрация экидистероидов составляет 25,5–45,7 % в экстрактах левзеи сафлоровидной; концентрация тритерпеновых гликозидов 8,5–21,6 % – в экстрактах женьшеня обыкновенного; концентрация фенилпропаноидов 10,4–22,4 % – в экстрактах элеутерококка колючего; концентрация флавоноидов 12,5–20,3 % – в экстрактах пальчатокоренника пятнистого; концентрация гликозидов 7,0–22,4 % – в экстрактах диоскореи обыкновенной; концентрация хромонов 17,7–39,4 % – в экстрактах сапожниковии растопыренной.

Перспективным методом очистки биологических объектов и систем является хроматография. В настоящей работе очистку растительных экстрактов осуществляли с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (жидкостный хроматограф LC-20, Япония). В качестве стационарной фазы рассматривали: силикагель 60, микрокристаллическую целлюлозу, сефарозу CL-6В, силикагель с октадецильной группой C₁₈ и силикагель C₈ (таблица 12).

Таблица 12 – Результаты определения степени очистки растительных экстрактов и концентрации действующих БАВ после хроматографирования

| Образец экстракта | Степень очистки экстракта, % | | | | | Содержание действующих БАВ, % | | | | |
|-------------------|------------------------------|----------|----------|-----------------|----------|-------------------------------|----------|----------|-----------------|----------|
| | Стационарная фаза* | | | | | Стационарная фаза* | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Rc-r1 | 72,3±6,4 | 67,5±3,4 | 45,8±2,3 | 88,5±4,4 | 79,4±4,0 | 32,5±1,6 | 27,6±1,4 | 25,3±1,3 | 38,7±2,0 | 35,2±1,8 |
| Rc-a1 | 75,0±3,8 | 59,7±3,0 | 44,3±2,2 | 94,3±4,7 | 81,6±4,1 | 48,7±2,4 | 44,8±2,2 | 39,0±2,0 | 54,6±2,7 | 51,0±2,6 |
| Rc-r2 | 74,8±3,7 | 64,3±3,2 | 46,0±2,3 | 83,9±4,2 | 80,6±4,0 | 35,0±1,8 | 31,2±1,6 | 27,8±1,4 | 42,0±2,1 | 38,7±1,9 |
| Rc-a2 | 72,0±3,6 | 68,9±3,4 | 51,6±2,6 | 95,2±4,8 | 79,0±4,0 | 55,3±2,8 | 49,0±2,4 | 46,3±2,3 | 61,4±3,1 | 58,0±2,9 |
| Pg-r1 | 76,2±3,8 | 59,0±3,0 | 48,0±2,4 | 95,6±4,8 | 84,5±4,2 | 16,7±0,8 | 12,4±0,6 | 9,2±0,5 | 21,7±1,1 | 19,0±1,0 |
| Pg-c1 | 73,8±3,7 | 65,4±3,3 | 45,3±2,3 | 93,0±4,7 | 80,5±4,0 | 24,5±1,2 | 19,3±1,0 | 16,4±0,8 | 31,0±1,6 | 28,5±1,4 |
| Pg-r2 | 74,0±3,7 | 54,6±2,7 | 46,6±2,3 | 94,7±4,7 | 78,6±3,9 | 19,0±1,0 | 14,8±0,8 | 11,4±0,6 | 25,6±1,3 | 23,3±1,2 |
| Pg-c2 | 71,5±3,6 | 57,8±2,9 | 52,7±2,6 | 95,2±4,8 | 80,3±4,0 | 31,8±1,6 | 26,8±1,3 | 23,5±1,2 | 38,9±2,0 | 36,0±1,8 |
| Es-r1 | 72,0±3,6 | 70,4±3,5 | 48,9±2,4 | 90,6±4,5 | 81,7±4,1 | 16,7±0,8 | 14,6±0,7 | 10,9±0,5 | 22,2±1,1 | 19,0±1,0 |
| Es-a1 | 76,8±3,8 | 55,3±2,8 | 44,5±2,2 | 91,7±4,6 | 83,6±4,2 | 30,5±1,5 | 26,7±1,4 | 22,8±1,1 | 39,4±2,0 | 36,7±2,2 |
| Es-r2 | 77,0±3,9 | 60,6±3,0 | 49,0±2,5 | 94,4±4,7 | 84,9±4,2 | 22,4±1,1 | 18,0±0,9 | 15,6±0,8 | 28,7±1,4 | 26,7±1,3 |
| Es-a2 | 74,3±3,7 | 53,6±2,7 | 53,4±2,7 | 95,3±4,8 | 85,1±4,2 | 28,9±1,4 | 25,7±1,3 | 21,6±1,1 | 35,6±1,8 | 33,5±1,7 |
| Dm-t1 | 73,5±3,7 | 61,8±3,1 | 55,2±2,8 | 95,0±4,8 | 80,7±4,0 | 19,7±1,0 | 16,0±0,8 | 13,5±0,7 | 26,2±1,3 | 22,6±1,1 |
| Dm-c1 | 73,8±3,7 | 63,3±3,2 | 44,9±2,2 | 96,0±4,8 | 78,5±3,9 | 29,8±1,5 | 25,4±1,3 | 21,7±1,1 | 37,8±1,9 | 34,7±1,8 |
| Dm-t2 | 75,2±3,8 | 55,0±2,8 | 43,7±2,2 | 94,7±4,8 | 84,6±4,2 | 21,3±1,1 | 17,8±0,9 | 14,5±0,7 | 28,4±1,4 | 25,0±1,3 |
| Dm-c2 | 76,1±3,8 | 68,8±3,4 | 48,5±2,4 | 93,8±4,7 | 83,7±4,2 | 35,6±1,8 | 31,4±1,6 | 26,6±1,3 | 41,5±2,1 | 38,5±1,9 |
| Dc-h1 | 72,8±3,7 | 65,7±3,3 | 47,6±2,4 | 92,7±4,6 | 86,2±4,3 | 14,7±0,8 | 10,9±0,5 | 7,5±0,4 | 19,0±1,0 | 16,8±0,8 |
| Dc-a1 | 74,5±3,7 | 67,0±3,4 | 43,0±2,2 | 93,7±4,7 | 85,0±4,3 | 25,6±1,3 | 21,3±1,1 | 17,8±0,9 | 31,4±1,6 | 28,4±1,4 |
| Dc-h2 | 74,0±3,7 | 54,3±2,7 | 44,9±2,3 | 94,5±4,7 | 84,2±4,2 | 18,5±1,0 | 16,9±0,8 | 13,7±0,7 | 24,7±1,2 | 21,0±1,1 |
| Dc-a2 | 72,2±3,6 | 53,7±2,7 | 51,0±2,6 | 96,0±4,8 | 83,3±4,2 | 33,7±1,7 | 26,4±1,3 | 23,0±1,2 | 42,4±2,1 | 37,8±1,9 |
| Sd-s1 | 73,4±3,7 | 51,8±2,6 | 55,4±2,8 | 95,4±4,8 | 82,2±4,1 | 26,4±1,3 | 22,2±1,1 | 18,9±1,0 | 34,5±1,7 | 29,5±1,5 |
| Sd-a1 | 69,8±3,5 | 64,0±3,2 | 43,8±2,2 | 94,6±4,8 | 84,0±4,2 | 56,0±2,8 | 47,8±2,4 | 41,4±2,1 | 66,7±3,3 | 63,2±3,2 |
| Sd-s2 | 70,7±3,5 | 59,3±3,0 | 42,9±2,2 | 93,3±4,7 | 86,0±4,3 | 27,0±1,4 | 24,3±1,2 | 18,7±0,9 | 33,2±1,7 | 29,4±1,5 |
| Sd-a2 | 75,2±3,8 | 66,2±3,3 | 44,0±2,2 | 90,8±4,5 | 79,9±4,0 | 58,6±2,9 | 50,5±2,5 | 43,5±2,2 | 67,8±3,4 | 64,8±3,2 |

* 1 – силикагель 60, 2 – микрокристаллическая целлюлоза, 3 – сефароза CL-6В, 4 – силикагель C₁₈, 5 – силикагель C₈

Согласно полученным данным, наиболее эффективная очистка растительных экстрактов достигается при использовании в качестве стационарной фазы силикагеля с октадецильной группой C₁₈. В этом случае степень очистки экстрактов находилась в диапазоне от 83,9 до 96,0 %.

Для выбранной неподвижной фазы подбирали такие параметры, как размер частиц и скорость элюирования. Исследовали модифицированный силикагель C₁₈ с разным размером частиц 2,5; 3,5 и 15 мкм. Скорость элюции составляла 2, 5, 10, 15 мл/мин. Для экстрактов контролировали степень очистки. Полученные индивидуальные параметры хроматографирования, обеспечивающие максимальную очистку для экстрактов каждого образца, с максимальным содержанием действующих БАВ представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Параметры хроматографической очистки экстрактов

| Растительный объект | Образец экстракта | Размер частиц стационарной фазы, мкм | Скорость элюции, мл/мин |
|--|-------------------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| Левзея сафлоровидная (<i>R. carthamoides</i>) | Rc-r1, Rc-a1, Rc-r2, Rc-a2 | 3,5 | 5 |
| Женьшень обыкновенный (<i>P. Ginseng</i>) | Pg-r1, Pg-c1, Pg-r2, Pg-c2 | 3,5 | 5 |
| Элеутерококк колючий (<i>E. senticosus</i>) | Es-r1, Es-a1, Es-r2, Es-a2 | 2,5 | 10 |
| Пальчатокоренник пятнистый (<i>D. maculata</i>) | Dm-t1, Dm-c1, Dm-t2, Dm-c2 | 2,5 | 5 |
| Диоскореи обыкновенной (<i>D. communis</i>) | Dc-h1, Dc-a1, Dc-h2, Dc-a2 | 3,5 | 5 |
| Сапожниковии растопыренной (<i>S. divaricata</i>) | Sd-s1, Sd-a1, Sd-s2, Sd-a2 | 2,5 | 10 |

Данный метод очистки позволяет повысить содержание действующих БАВ в экстрактах (таблица 14). Таким образом, доказано, что хроматографический метод очистки является более эффективным по сравнению с ультрафильтрационным методом.

Таблица 14 – Содержание БАВ в экстрактах в зависимости от метода очистки

| Растительный объект | Образец экстракта | Действующий БАВ | Содержание действующих БАВ в экстракте, % | |
|--|-------------------------------|-----------------|---|------------------|
| | | | Хроматография | Ультрафильтрация |
| Левзея сафлоровидная (<i>R. carthamoides</i>) | Rc-r1, Rc-a1, Rc-r2, Rc-a2 | экдистероиды | 38,7–61,4 | 25,7–45,8 |
| Женьшень обыкновенный (<i>P. Ginseng</i>) | Pg-r1, Pg-c1, Pg-r2, Pg-c2 | фенилпропаноиды | 22,2–39,4 | 10,5–22,5 |
| Элеутерококк колючий (<i>E. senticosus</i>) | Es-r1, Es-a1, Es-r2, Es-a2 | флавоноиды | 15,7–26,3 | 6,3–15,6 |
| Пальчатокоренник пятнистый (<i>D. maculata</i>) | Dm-t1, Dm-c1, Dm-t2, Dm-c2 | флавоноиды | 26,2–41,5 | 12,6–20,5 |
| Диоскореи обыкновенной (<i>D. communis</i>) | Dc-h1, Dc-a1, Dc-h2, Dc-a2 | гликозиды | 19,0–42,4 | 7,1–22,5 |
| Сапожниковии растопыренной (<i>S. divaricata</i>) | Sd-s1, Sd-a1, Sd-s2, Sd-a2 | хромоны | 33,2–67,8 | 17,8–39,5 |

Глава 7. Подбор параметров концентрирования и сушки очищенных растительных экстрактов. В главе представлен анализ параметров концентрирования спиртовых экстрактов, выпариванием растворителя в вакуум-выпарной установке (роторный испаритель, Россия) при глубине вакуума 75 кПа. Варьировали температуру выпаривания (50, 65 и 75 °С) и продолжительность процесса (рисунок 6).

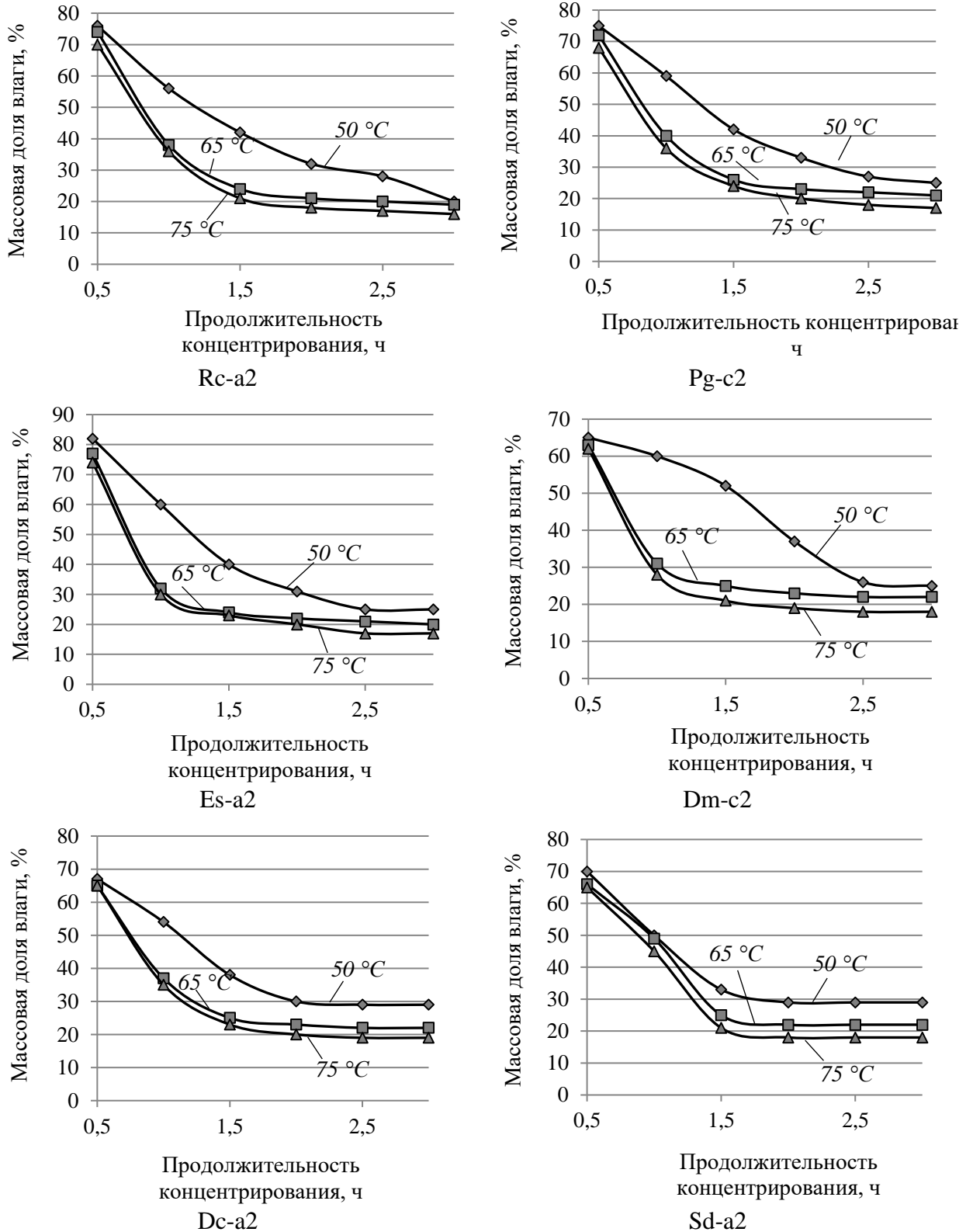


Рисунок 6 – Зависимость содержания остаточной влаги в растительных экстрактах от продолжительности выпаривания растворителя при разных температурах

Установлены рациональные значения температуры и продолжительности выпаривания растворителя из жидких спиртовых экстрактов при глубине вакуума 75 кПа до остаточной влажности не более 25 % (в соответствии с ОФС.1.4.1.0021.15 «Экстракты») (таблица 15).

Таблица 15 – Рациональные параметры концентрирования экстрактов

| Растительный объект | Образец экстракта | Температура выпаривания растворителя, °С | Продолжительность выпаривания, ч |
|---|----------------------------|--|----------------------------------|
| Левзея сафлоровидная (<i>R. carthamoides</i>) | Rc-r1, Rc-a1, Rc-r2, Rc-a2 | 65,0 | 1,5 |
| Женьшень обыкновенный (<i>P. Ginseng</i>) | Pg-r1, Pg-r2, Pg-c2 | 65,0 | 2,0 |
| | Pg-c1 | 65,0 | 1,5 |
| Элеутерококк колючий (<i>E. senticosus</i>) | Es-r1 | 65,0 | 2,0 |
| | Es-a1, Es-r2, Es-a2 | 65,0 | 1,5 |
| Пальчатокоренник пятнистый (<i>D. maculata</i>) | Dm-t1, Dm-c2 | 65,0 | 1,5 |
| | Dm-c1, Dm-t2 | 65,0 | 2,0 |
| Диоскорея обыкновенная (<i>D. communis</i>) | Dc-h1 | 65,0 | 2,0 |
| | Dc-a1 | 75,0 | 2,0 |
| | Dc-h2, Dc-a2 | 75,0 | 1,5 |
| Сапожниковия растопыренная (<i>S. divaricata</i>) | Sd-s1, Sd-a1, | 65,0 | 2,0 |
| | Sd-s2, Sd-a2 | 65,0 | 1,5 |

Выпаривание растворителя позволяет сконцентрировать действующие БАВ в экстрактах. Так, в густых экстрактах левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*) концентрация действующих биологически активных веществ (экидистероидов) превышает данное значение для жидких очищенных экстрактов в 3,00–4,67 раз. Для густых экстрактов женьшеня обыкновенного (*P. Ginseng*) – 3,70–5,68 раз (тритепеновые гликозиды), для густых экстрактов элеутерококка колючего (*E. senticosus*) – 4,15–4,93 раз (фенилпропаноиды), для густых экстрактов пальчатокоренника пятнистого (*D. maculata*) – 5,28–6,75 раз (флавоноиды), для густых экстрактов диоскореи обыкновенной (*D. communis*) – 2,99–4,00 раз (гликозиды), для густых экстрактов сапожниковии растопыренной (*S. divaricata*) – 3,92–6,86 раз (хромонны).

Дальнейшие исследования направлены на подбор рациональных параметров сушки изучаемых экстрактов. Рациональные параметры распылительного высушивания представлены в таблице 16, сублимационного – в таблице 17.

Таблица 16 – Рациональные параметры распылительного высушивания экстрактов

| Растительный объект | Образец экстракта | Температура, °С | Скорость подачи раствора, мл/мин | Скорость потока воздуха, м ³ /ч |
|---|----------------------------|-----------------|----------------------------------|--|
| Левзея сафлоровидная (<i>R. carthamoides</i>) | Rc-r1, Rc-a1, Rc-r2, Rc-a2 | 70 | 8 | 25 |
| Женьшень обыкновенный (<i>P. Ginseng</i>) | Pg-r1, Pg-c1, Pg-r2, Pg-c2 | 80 | 10 | 20 |
| Элеутерококк колючий (<i>E. senticosus</i>) | Es-r1, Es-a1, Es-r2, Es-a2 | 60 | 8 | 25 |
| Пальчатокоренник пятнистый (<i>D. maculata</i>) | Dm-t1, Dm-c2 | 70 | 10 | 25 |
| | Dm-c1, Dm-t2 | 80 | 10 | 25 |
| Диоскореи обыкновенной (<i>D. communis</i>) | Dc-h1, Dc-a1, Dc-h2, Dc-a2 | 70 | 6 | 20 |
| Сапожниковии растопыренной (<i>S. divaricata</i>) | Sd-s1, Sd-a1, | 70 | 8 | 30 |
| | Sd-s2, Sd-a2 | 80 | 8 | 30 |

Таблица 17 – Рациональные параметры сублимационной сушки экстрактов

| Растительный объект | Образец экстракта | Температура, °С | Продолжительность процесса, ч |
|---|----------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Левзея сафлоровидная (<i>R. carthamoides</i>) | Rc-r1, Rc-a1, Rc-r2, Rc-a2 | минус 30 | 12 |
| Женьшень обыкновенный (<i>P. Ginseng</i>) | Pg-r1, Pg-c1, Pg-r2, Pg-c2 | минус 30 | 12 |
| Элеутерококк колючий (<i>E. senticosus</i>) | Es-r1, Es-a1, Es-r2, Es-a2 | минус 30 | 12 |
| Пальчатокоренник пятнистый (<i>D. maculata</i>) | Dm-t1, Dm-c1, Dm-t2, Dm-c2 | минус 20 | 12 |
| Диоскорея обыкновенная (<i>D. communis</i>) | Dc-h1, Dc-a1, Dc-h2, Dc-a2 | минус 20 | 8 |
| Сапожниковия растопыренная (<i>S. divaricata</i>) | Sd-s1, Sd-a1, Sd-s2, Sd-a2 | минус 30 | 12 |

Проведена оценка компонентного состава растительных экстрактов, полученных в результате распылительного и сублимационного высушивания (таблица 18). Следует отметить, что способ высушивания экстрактов не оказывает влияния на уровень содержания в них целевых биологически активных веществ: содержание вторичных метаболитов в экстрактах, высушенных распылительным и сублимационным способом, отличается незначительно (в пределах статистической погрешности).

Таблица 18 – Концентрация биологически активных веществ в сухих экстрактах

| Высушенный экстракт | | Действующие БАВ | Концентрация в экстракте, мг/г | |
|---|----------------------------|-------------------------|--------------------------------|----------------------|
| Растительный объект | Образец экстракта | | распылительная сушка | сублимационная сушка |
| Левзея сафлоровидная (<i>R. carthamoides</i>) | Rc-r1, Rc-a1, Rc-r2, Rc-a2 | экистероиды | 70,07–92,44 | 71,41–93,15 |
| | | флавоноиды | 109,08–169,62 | 109,39–170,29 |
| | | фенольные кислоты | 61,52–84,33 | 61,44–84,37 |
| Женьшень обыкновенный (<i>P. Ginseng</i>) | Pg-r1, Pg-c1, Pg-r2, Pg-c2 | тритерпеновые гликозиды | 67,19–77,61 | 68,07–78,59 |
| | | флавоноиды | 7,74–11,54 | 7,70–11,98 |
| Элеутерококк колючий (<i>E. senticosus</i>) | Es-r1, Es-a1, Es-r2, Es-a2 | фенилпропаноиды | 29,81–40,39 | 30,90–41,16 |
| Пальчатокоренник пятнистый (<i>D. maculata</i>) | Dm-t1, Dm-c1, Dm-t2, Dm-c2 | флавоноиды | 64,00–96,35 | 64,45–96,60 |
| Диоскорея обыкновенная (<i>D. communis</i>) | Dc-h1, Dc-a1, Dc-h2, Dc-a2 | гликозиды | 56,37–72,07 | 56,98–72,20 |
| | | флавоноиды | 24,78–31,83 | 25,10–32,28 |
| Сапожниковия растопыренная (<i>S. divaricata</i>) | Sd-s1, Sd-a1, Sd-s2, Sd-a2 | хромоны | 54,99–73,70 | 56,21–74,11 |

Изучены показатели качества сухих экстрактов: гранулометрический состав, насыпная плотность, гигроскопичность (таблица 19). Показано, что экстракты, полученные методом распылительного высушивания, характеризуются более высоким содержанием мелкодисперсных фракций ($1 \leq d \leq 2$ мм и $0,25 \leq d \leq 1$ мм), по сравнению с экстрактами, полученными в результате лиофилизации. Установлено, что насыпная плотность и гигроскопичность экстрактов, полученных сублимационным высушиванием, превышают данные показатели для экстрактов, полученных в результате распылительной сушки, в среднем в 1,5–2,0 раза.

Таблица 19 – Гранулометрический состав, насыпная плотность и гигроскопичность сухих растительных экстрактов

| Обозначение экстракта | Гранулометрический состав (содержание частиц, %, фракции, мм) | | | | | | Насыпная плотность после уплотнения, г/мл | | Гигроскопичность через 24 ч, % | |
|-----------------------|--|----------|--------|-------|----------|--------|---|-----------|--------------------------------|---------|
| | p | | | c | | | c | p | c | p* |
| | 1<d<2 | 0,25<d<1 | d<0,25 | 1<d<2 | 0,25<d<1 | d<0,25 | | | | |
| Rc-r1 | 3,2 | 72,3 | 24,5 | 5,5 | 73,4 | 21,1 | 0,58±0,03 | 0,43±0,02 | 10,5±0,7 | 5,6±0,3 |
| Rc-a1 | 2,8 | 73,4 | 23,8 | 5,8 | 74,0 | 20,2 | 0,55±0,03 | 0,39±0,02 | 11,7±0,7 | 6,4±0,3 |
| Rc-r2 | 4,9 | 72,5 | 22,6 | 5,4 | 73,2 | 21,42 | 0,57±0,03 | 0,40±0,02 | 11,0±0,6 | 5,8±0,3 |
| Rc-a2 | 4,6 | 72,0 | 23,4 | 5,5 | 73,1 | 26,4 | 0,62±0,03 | 0,42±0,02 | 10,9±0,6 | 6,0±0,3 |
| Pg-r1 | 5,5 | 70,9 | 23,6 | 5,6 | 74,5 | 19,9 | 0,64±0,03 | 0,42±0,02 | 11,3±0,7 | 5,8±0,3 |
| Pg-c1 | 4,5 | 71,4 | 24,1 | 5,9 | 73,8 | 20,3 | 0,62±0,03 | 0,45±0,02 | 12,1±0,8 | 5,6±0,3 |
| Pg-r2 | 5,0 | 71,0 | 24,0 | 5,2 | 74,2 | 20,6 | 0,59±0,03 | 0,44±0,02 | 11,5±0,7 | 6,3±0,3 |
| Pg-c2 | 4,8 | 70,8 | 24,4 | 5,5 | 74,6 | 19,9 | 0,61±0,03 | 0,45±0,02 | 10,9±0,6 | 6,5±0,3 |
| Es-r1 | 2,3 | 72,7 | 25,0 | 4,9 | 75,5 | 19,6 | 0,63±0,03 | 0,36±0,02 | 10,5±0,6 | 6,3±0,3 |
| Es-a1 | 1,2 | 73,2 | 25,6 | 4,5 | 76,0 | 19,5 | 0,61±0,03 | 0,38±0,02 | 10,2±0,5 | 5,7±0,3 |
| Es-r2 | 2,3 | 73,0 | 24,7 | 5,1 | 74,9 | 20,0 | 0,65±0,03 | 0,35±0,02 | 11,0±0,6 | 6,2±0,3 |
| Es-a2 | 2,6 | 72,9 | 24,5 | 5,0 | 75,3 | 19,7 | 0,62±0,03 | 0,39±0,02 | 10,7±0,6 | 5,9±0,3 |
| Dm-t1 | 3,9 | 70,9 | 25,2 | 6,5 | 76,3 | 17,2 | 0,55±0,03 | 0,44±0,02 | 10,4±0,5 | 5,7±0,3 |
| Dm-c1 | 3,4 | 71,6 | 25,0 | 6,1 | 77,0 | 16,9 | 0,62±0,03 | 0,42±0,02 | 11,6±0,7 | 5,9±0,3 |
| Dm-t2 | 2,1 | 72,3 | 25,6 | 6,3 | 75,8 | 17,9 | 0,57±0,03 | 0,45±0,02 | 11,1±0,6 | 6,5±0,3 |
| Dm-c2 | 2,8 | 71,4 | 25,8 | 6,4 | 76,0 | 17,6 | 0,59±0,03 | 0,41±0,02 | 12,3±0,8 | 6,3±0,3 |
| Dc-h1 | 2,7 | 74,4 | 22,9 | 5,5 | 75,5 | 19,0 | 0,64±0,03 | 0,40±0,02 | 11,5±0,7 | 5,7±0,3 |
| Dc-a1 | 1,3 | 75,3 | 23,4 | 5,7 | 75,8 | 18,5 | 0,66±0,03 | 0,37±0,02 | 10,7±0,6 | 4,8±0,3 |
| Dc-h2 | 3,1 | 73,9 | 23,0 | 5,9 | 76,2 | 17,0 | 0,61±0,03 | 0,35±0,02 | 11,3±0,7 | 5,2±0,3 |
| Dc-a2 | 2,7 | 74,7 | 22,6 | 5,4 | 76,4 | 18,2 | 0,62±0,03 | 0,36±0,02 | 11,1±0,7 | 5,4±0,3 |
| Sd-s1 | 3,0 | 73,4 | 23,6 | 4,6 | 75,9 | 19,5 | 0,59±0,03 | 0,41±0,02 | 10,9±0,7 | 5,8±0,3 |
| Sd-a1 | 1,2 | 74,5 | 24,3 | 5,6 | 74,5 | 19,9 | 0,62±0,03 | 0,35±0,02 | 11,3±0,7 | 5,6±0,3 |
| Sd-s2 | 1,9 | 74,1 | 24,0 | 5,2 | 74,2 | 20,6 | 0,61±0,03 | 0,34±0,02 | 11,5±0,6 | 6,3±0,3 |
| Sd-a2 | 1,1 | 73,7 | 25,2 | 5,7 | 75,0 | 19,3 | 0,60±0,03 | 0,39±0,02 | 11,6±0,7 | 6,0±0,3 |

*p – экстракт, полученный методом распылительного высушивания; c – экстракт, полученный методом сублимационного высушивания

Глава 8. Практическая реализация результатов исследований. Глава посвящена разработке процессуальных схем производства густых и сухих экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений *R. carthamoides*, *P. ginseng*, *E. senticosus*, *D. maculata*, *D. communis*, *S. divaricata*, с учетом результатов собственных исследований. Разработаны четыре производственные схемы: густых экстрактов на основе природного растительного сырья, густых экстрактов на основе клеточных культур растений, сухих экстрактов на основе природного растительного сырья и сухих экстрактов на основе клеточных культур растений.

Для установления сроков хранения густых и сухих экстрактов осуществляли их хранение в течение 30 месяцев в затемненных помещениях с влажностью воздуха не более 75 % при разных температурах (4 °C, 15 °C, 25 °C) и контролировали массовую долю влаги и микробиологические показатели (КМАФАнМ, БГКП, *S. aureus*, плесени, дрожжи, *B. cereus*) каждые 3 месяца (таблица 20). Полученные результаты показали, что густые экстракты целесообразно хранить при температуре 22–25 °C не более года, сухие экстракты – не более двух лет. Понижение температуры хранения до 4 °C не оказывает существенного влияния на продолжительность хранения экстрактов.

Таблица 20 – Динамика микробиологических показателей густых и сухих экстрактов в процессе хранения (температура хранения 25 °С)

| Продолжительность хранения, месяцы | Микробиологические показатели* | | | | | |
|------------------------------------|---|---|--|----------------|----------------|--|
| | КМАФАнМ, КОЕ/г | БГКП, масса (г) продукта, в которой не обнаружены | <i>S. aureus</i> , масса (г) продукта, в которой не обнаружены | Дрожжи, КОЕ/г | Плесени, КОЕ/г | <i>B. cereus</i> , масса (г) продукта, в которой не обнаружены |
| Экстракт Rc-a2 | | | | | | |
| 0 | 1,4·10 ¹ /1,8·10 ¹ ** | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 0/0 | 0/0 | 200/200 |
| 3 | 5,8·10 ¹ /4,4·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 2/3 | 2/2 | 200/200 |
| 6 | 2,2·10 ² /1,5·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 5/3 | 4/2 | 200/200 |
| 9 | 5,6·10 ² /4,7·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 16/13 | 12/10 | 200/200 |
| 12 | 7,7·10³ /8,3·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 22/17 | 25/22 | 200/200 |
| 15 | 1,8·10 ⁴ /9,3·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 110/33 | 108/38 | 200/200 |
| 18 | 3,3·10 ⁴ /2,7·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 117/55 | 116/67 | 200/200 |
| 21 | 7,0·10 ⁴ /4,7·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 124/67 | 132/75 | 200/200 |
| 24 | 8,2·10 ⁴ / 6,1·10³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 135/ 85 | 140/ 87 | 200/200 |
| 27 | 1,5·10 ⁵ /2,6·10 ⁴ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 142/111 | 154/109 | 200/200 |
| 30 | 3,5·10 ⁵ /6,2·10 ⁴ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 155/134 | 164/122 | 200/200 |
| Экстракт Pg-c2 | | | | | | |
| 0 | 1,8·10 ¹ /1,3·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 0/0 | 0/0 | 200/200 |
| 3 | 3,3·10 ¹ /2,7·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 7/6 | 5/4 | 200/200 |
| 6 | 6,8·10 ¹ /5,5·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 16/12 | 13/11 | 200/200 |
| 9 | 2,2·10 ² /1,7·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 27/21 | 24/20 | 200/200 |
| 12 | 7,4·10² /4,4·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 43/16 | 35/27 | 200/200 |
| 15 | 3,2·10 ⁴ /7,9·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 105/44 | 107/42 | 200/200 |
| 18 | 5,7·10 ⁴ /2,6·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 123/56 | 123/65 | 200/200 |
| 21 | 1,0·10 ⁵ /6,2·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 130/70 | 138/78 | 200/200 |
| 24 | 3,4·10 ⁵ / 7,9·10³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 146/ 84 | 152/ 90 | 200/200 |
| 27 | 7,6·10 ⁵ /4,1·10 ⁴ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 158/115 | 116/126 | 200/200 |
| 30 | 9,3·10 ⁵ /1,2·10 ⁵ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 169/132 | 140/137 | 200/200 |
| Экстракт Es-a2 | | | | | | |
| 0 | 1,1·10 ¹ /1,0·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 0/0 | 0/0 | 200/200 |
| 3 | 3,2·10 ¹ /2,4·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 4/3 | 4/4 | 200/200 |
| 6 | 5,5·10 ¹ /3,8·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 15/11 | 11/9 | 200/200 |
| 9 | 4,6·10 ² /4,4·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 27/23 | 15/13 | 200/200 |
| 12 | 3,7·10³ /8,3·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 38/30 | 36/20 | 200/200 |
| 15 | 5,4·10 ⁴ /1,2·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 108/49 | 107/39 | 200/200 |
| 18 | 7,0·10 ⁴ /3,9·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 119/68 | 125/60 | 200/200 |
| 21 | 1,1·10 ⁵ /5,5·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 134/74 | 138/79 | 200/200 |
| 24 | 3,4·10 ⁵ / 8,6·10³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 146/ 89 | 150/ 83 | 200/200 |
| 27 | 7,3·10 ⁵ /2,7·10 ⁴ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 160/111 | 162/114 | 200/200 |
| 30 | 8,5·10 ⁵ /6,0·10 ⁴ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 175/124 | 175/128 | 200/200 |
| Экстракт Dm-c2 | | | | | | |
| 0 | 1,3·10 ¹ /0,7·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 0/0 | 0/0 | 200/200 |
| 3 | 3,4·10 ¹ /2,2·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 10/8 | 7/4 | 200/200 |
| 6 | 7,3·10 ¹ /4,5·10 ¹ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 25/17 | 15/10 | 200/200 |
| 9 | 3,5·10 ² /2,8·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 37/24 | 22/16 | 200/200 |
| 12 | 7,1·10² /5,5·10 ² | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 56/37 | 40/32 | 200/200 |
| 15 | 3,2·10 ⁴ /5,6·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 104/56 | 105/54 | 200/200 |
| 18 | 7,6·10 ⁴ /6,3·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 117/70 | 126/67 | 200/200 |
| 21 | 9,0·10 ⁴ /7,7·10 ³ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 131/84 | 140/77 | 200/200 |

Продолжение таблицы 20

| | | | | | | |
|----------------|---------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 24 | $2,5 \cdot 10^5/8,3 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 148/95 | 162/89 | 200/200 |
| 27 | $4,6 \cdot 10^5/3,5 \cdot 10^4$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 156/122 | 180/120 | 200/200 |
| 30 | $6,8 \cdot 10^5/8,6 \cdot 10^4$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 170/141 | 204/134 | 200/200 |
| Экстракт Dc-a2 | | | | | | |
| 0 | $2,2 \cdot 10^1/1,4 \cdot 10^1$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 0/0 | 0/0 | 200/200 |
| 3 | $5,0 \cdot 10^1/3,8 \cdot 10^1$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 12/9 | 8/5 | 200/200 |
| 6 | $3,3 \cdot 10^2/1,4 \cdot 10^2$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 31/23 | 17/13 | 200/200 |
| 9 | $8,0 \cdot 10^2/4,7 \cdot 10^2$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 55/43 | 29/20 | 200/200 |
| 12 | $6,0 \cdot 10^3/8,8 \cdot 10^2$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 78/65 | 40/33 | 200/200 |
| 15 | $2,0 \cdot 10^4/1,9 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 111/73 | 107/55 | 200/200 |
| 18 | $4,6 \cdot 10^4/3,3 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 124/86 | 124/72 | 200/200 |
| 21 | $9,4 \cdot 10^4/5,2 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 140/94 | 135/80 | 200/200 |
| 24 | $2,3 \cdot 10^5/7,9 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 167/98 | 153/94 | 200/200 |
| 27 | $5,7 \cdot 10^5/1,5 \cdot 10^4$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 179/104 | 167/111 | 200/200 |
| 30 | $7,0 \cdot 10^5/3,6 \cdot 10^4$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 186/126 | 180/134 | 200/200 |
| Экстракт Sd-a2 | | | | | | |
| 0 | $3,4 \cdot 10^1/2,2 \cdot 10^1$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 0/0 | 0/0 | 200/200 |
| 3 | $7,6 \cdot 10^1/5,3 \cdot 10^1$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 15/11 | 13/10 | 200/200 |
| 6 | $1,4 \cdot 10^2/7,6 \cdot 10^1$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 26/19 | 20/18 | 200/200 |
| 9 | $4,0 \cdot 10^2/3,5 \cdot 10^2$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 47/32 | 35/29 | 200/200 |
| 12 | $7,3 \cdot 10^2/5,6 \cdot 10^2$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 63/47 | 51/40 | 200/200 |
| 15 | $3,2 \cdot 10^4/7,7 \cdot 10^2$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 109/64 | 102/56 | 200/200 |
| 18 | $5,6 \cdot 10^4/2,2 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 122/77 | 118/68 | 200/200 |
| 21 | $8,8 \cdot 10^4/5,7 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 136/84 | 135/79 | 200/200 |
| 24 | $1,6 \cdot 10^5/7,9 \cdot 10^3$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 148/92 | 156/93 | 200/200 |
| 27 | $4,4 \cdot 10^5/2,5 \cdot 10^4$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 157/117 | 175/114 | 200/200 |
| 30 | $7,2 \cdot 10^5/6,7 \cdot 10^4$ | 0,1/0,1 | 1,0/1,0 | 170/132 | 200/135 | 200/200 |

* В соответствии с ТР ТС 021/2011 КМАФАНМ в густых и сухих экстрактах не должно превышать $1 \cdot 10^4$ КОЕ/г; БГКП не допускаются в 0,1 г густых и сухих экстрактов; *S. aureus* не допускаются в 1,0 г густых и сухих экстрактов; дрожжи не должны превышать 100 КОЕ/г в густых и сухих экстрактах; плесени не должны превышать 100 КОЕ/г в густых и сухих экстрактах; *B. cereus* не допускаются в 200 г густых и сухих экстрактов
 ** числитель – густой экстракт, знаменатель – сухой экстракт

На основе полученных экстрактов спроектированы рецептуры и разработаны процессуальные схемы производства функциональных напитков (представлены в диссертационной работе). С применением густых экстрактов получали напиток на основе молочной сыворотки, обогащенный вторичными метаболитами; тонизирующий чайный напиток (на основе черного, зеленого чая и фиточая) и концентрат – основа морсов иммуномодулирующего действия. На основе сухих экстрактов – растворимый сухой напиток антиоксидантного действия и гранулированный ягодный кисель профилактической направленности.

Для разработанных напитков, в рецептуры которых включены экстракты на основе надземных и подземных органов растений, а также их клеточных культур (каллусных и корневых), изучили органолептические, физико-химические свойства и микронутриентный (витамины, минералы) состав, который свидетельствует о высоком потенциале их использования в качестве функционального питания. Для подтверждения функциональных свойств напитков изучили их антиоксидантные свойства с использованием метода, основанного на способности целевых БАВ восстанавливать радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила (DPPH). Полученные результаты отражены в таблице 21.

Таблица 21 – Результаты определения антиоксидантной активности напитков, содержащих растительные экстракты

| Наименование напитка | Антиоксидантная активность, мг АК/г |
|--|-------------------------------------|
| Напиток на основе молочной сыворотки с калиной | 144,66±7,23 |
| Напиток на основе молочной сыворотки с брусникой | 153,09±7,65 |
| Напиток на основе молочной сыворотки с ежевикой | 137,90±6,90 |
| Тонизирующий чайный напиток (черный чай) | 115,58±5,78 |
| Тонизирующий чайный напиток (зеленый чай) | 133,22±6,66 |
| Тонизирующий чайный напиток (фиточай) | 167,05±8,35 |
| Концентрат – основа облепихового морса | 173,80±8,69 |
| Концентрат – основа клюквенного морса | 157,01±7,85 |
| Концентрат – основа черносмородинового морса | 186,12±8,31 |
| Растворимый сухой напиток (кофе) | 118,10±5,91 |
| Растворимый сухой напиток (цикорий) | 123,54±6,18 |
| Растворимый сухой напиток (топинамбур) | 120,95±6,05 |
| Гранулированный черничный кисель | 151,28±7,56 |
| Гранулированный земляничный кисель | 155,08±7,75 |
| Гранулированный красносмородиновый кисель | 161,22±8,06 |

Согласно данным, представленным в таблице 21, все протестированные образцы напитков, демонстрируют высокую способность восстанавливать радикал DPPH.

Предложены возможные направления применения разработанных напитков на основе растительных экстрактов в функциональном питании: для профилактики нейродегенеративных заболеваний и преждевременного старения, онкологических заболеваний, патологий сердечно-сосудистой системы и ЖКТ и в целом для повышения иммунного статуса организма.

В результате проведенных исследований разработаны и утверждены технические условия и технологическая инструкция по производству густых и сухих растительных экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений *in vitro* (ТУ 10.89.19-273-02068309-2020 и ТИ 10.89.19-273-02068309-2020) и функциональных напитков на их основе (ТУ 10.32.23-274-02068309-2021 и ТИ 10.32.23-274-02068309-2021; ТУ 10.83.14-275-02068309-2021 и ТИ 10.83.14-275-02068309-2021; ТУ 10.83.15-276-02068309-2021 и ТИ 10.83.15-276-02068309-2021; ТУ 10.89.19-277-02068309-2021 и ТИ 10.89.19-277-02068309-2021; ТУ 10.83.12-278-02068309-2021 и ТИ 10.83.12-278-02068309-2021; ТУ 10.51.55-279-02068309-2021 и ТИ 10.51.55-279-02068309-2021).

Рассчитана себестоимость функциональных напитков на основе растительных экстрактов. Выявлено, что использование в технологии приготовления функциональных напитков экстрактов, полученных из клеточных культур растений, увеличивает себестоимость готового продукта в среднем в 1,80–2,16 раза по сравнению с применением экстрактов, полученных из надземных / подземных частей природных растений, что обусловлено высокой стоимостью компонентов питательных сред, используемых для культивирования каллусных культур и культур адвентивных корней.

Проведены опытно-промышленная апробация и внедрение готовой продукции в производство (в таблица 22).

Таблица 22 – Опытнo-промышленная апробация и внедрение готовой продукции в производство

| Продукт | Нормативные документы | Предприятие | Подтверждение |
|---|---|--------------------|--|
| <p>Густой экстракт на основе природного растительного сырья левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе природного растительного сырья женьшеня обыкновенного (<i>Panax ginseng</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе природного растительного сырья элеутерококка колючего (<i>Eleutherococcus senticosus</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе природного растительного сырья пальчатокоренника пятнистого (<i>Dactylorhiza maculata</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе природного растительного сырья диоскореи обыкновенной (<i>Dioscorea communis</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе природного растительного сырья сапожниковии растопыренной (<i>Saposhnikovia divaricata</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> женьшеня обыкновенного (<i>Panax ginseng</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> элеутерококка колючего (<i>Eleutherococcus senticosus</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> пальчатокоренника пятнистого (<i>Dactylorhiza maculata</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> диоскореи обыкновенной (<i>Dioscorea communis</i>).</p> <p>Густой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> сапожниковии растопыренной (<i>Saposhnikovia divaricata</i>).</p> | | ООО «РУСЭКС-ТРАКТ» | Акт наработки опытных образцов экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений <i>in vitro</i> |
| <p>Сухой экстракт на основе природного растительного сырья левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе природного растительного сырья женьшеня обыкновенного (<i>Panax ginseng</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе природного растительного сырья элеутерококка колючего (<i>Eleutherococcus senticosus</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе природного растительного сырья пальчатокоренника пятнистого (<i>Dactylorhiza maculata</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе природного растительного сырья диоскореи обыкновенной (<i>Dioscorea communis</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе природного растительного сырья сапожниковии растопыренной (<i>Saposhnikovia divaricata</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> женьшеня обыкновенного (<i>Panax ginseng</i>).</p> | «Экстракты на основе комплекса вторичных метаболитов, выделенных из растительного сырья и клеточных культур растений <i>in vitro</i> » ТУ 10.89.19-273-02068309-2020, ТИ 10.89.19-273-02068309-2020 | ООО «РУСЭКС-ТРАКТ» | Акт выработки промышленной партии экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений <i>in vitro</i> |

Окончание таблицы 22

| | | | |
|---|---|-----------------------------------|--|
| <p>Сухой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> элеутерококка колючего (<i>Eleutherococcus senticosus</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> пальчатокоренника пятнистого (<i>Dactylorhiza maculat</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> диоскореи обыкновенной (<i>Dioscorea communis</i>).</p> <p>Сухой экстракт на основе клеточных культур растений <i>in vitro</i> сапожниковии растопыренной (<i>Saposhnikovia divaricata</i>).</p> | <p>«Экстракты на основе комплекса вторичных метаболитов, выделенных из растительного сырья и клеточных культур растений <i>in vitro</i>» ТУ 10.89.19-273-02068309-2020, ТИ 10.89.19-273-02068309-2020</p> | <p>ООО «РУСЭКСТРАКТ»</p> | <p>Акт наработки опытных образцов экстрактов на основе природного растительного сырья и клеточных культур растений <i>in vitro</i></p> |
| <p>Тонизирующий чайный напиток на основе черного чая.</p> <p>Тонизирующий чайный напиток на основе зеленого чая.</p> | <p>«Тонизирующий чайный напиток» ТУ 10.83.14-275-02068309-2021, ТИ 10.83.14-275-02068309-2021</p> | <p>ООО «НПО Сибирка»</p> | <p>Акт выработки опытно-промышленной партии тонизирующих чайных напитков</p> |
| <p>Тонизирующий чайный напиток на основе фиточая.</p> | <p>«Фиточай» ТУ 10.83.15-276-02068309-2021, ТИ 10.83.15-276-02068309-2021</p> | <p>ООО «НПО Сибирка»</p> | <p>Акт выработки опытной партии фиточая</p> |
| <p>Концентрат – основа облепихового морса.</p> <p>Концентрат – основа клюквенного морса.</p> <p>Концентрат – основа черносмородинового морса.</p> | <p>«Концентрат – основа морсов иммуномодулирующего действия» ТУ 10.32.23-274-02068309-2021, ТИ 10.32.23-274-02068309-2021</p> | <p>ООО НПО «Здоровое питание»</p> | <p>Акт выработки опытно-промышленной партии концентратов – основ морсов иммуномодулирующего действия</p> |
| <p>Гранулированный черничный кисель.</p> <p>Гранулированный земляничный кисель.</p> <p>Гранулированный красносмородиновый кисель.</p> | <p>«Гранулированный ягодный кисель» ТУ 10.89.19-277-02068309-2021, ТИ 10.89.19-277-02068309-2021</p> | <p>ООО НПО «Здоровое питание»</p> | <p>Акт выработки опытно-промышленной партии гранулированного ягодного киселя</p> |
| <p>Напиток на основе молочной сыворотки с калиной.</p> <p>Напиток на основе молочной сыворотки с брусникой.</p> <p>Напиток на основе молочной сыворотки с ежевикой.</p> | <p>«Напиток на основе молочной сыворотки, обогащенный вторичными метаболитами» ТУ 10.51.55-279-02068309-2021, ТИ 10.51.55-279-02068309-2021</p> | <p>ООО «СибБарс»</p> | <p>Акт выработки опытной партии напитков на основе молочной сыворотки, обогащенных вторичными метаболитами</p> |
| <p>Напиток на основе молочной сыворотки с калиной.</p> <p>Напиток на основе молочной сыворотки с брусникой.</p> <p>Напиток на основе молочной сыворотки с ежевикой.</p> | <p>«Напиток на основе молочной сыворотки, обогащенный вторичными метаболитами» ТУ 10.51.55-279-02068309-2021, ТИ 10.51.55-279-02068309-2021</p> | <p>ООО «СибБарс»</p> | <p>Акт внедрения результатов исследования</p> |
| <p>Растворимый сухой напиток на основе кофе.</p> <p>Растворимый сухой напиток на основе цикория.</p> <p>Растворимый сухой напиток на основе топинамбура.</p> | <p>«Растворимый сухой напиток антиоксидантного действия» ТУ 10.83.12-278-02068309-2021, ТИ 10.83.12-278-02068309-2021</p> | <p>ООО «СибБарс»</p> | <p>Акт выработки опытно-промышленной партии растворимого сухого напитка антиоксидантного действия</p> |
| <p>Растворимый сухой напиток на основе кофе.</p> <p>Растворимый сухой напиток на основе цикория.</p> <p>Растворимый сухой напиток на основе топинамбура.</p> | <p>«Растворимый сухой напиток антиоксидантного действия» ТУ и ТИ 10.83.12-278-02068309-2021</p> | <p>ООО «СибБарс»</p> | <p>Акт внедрения результатов исследования</p> |

ВЫВОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

1. Проанализирован химический состав, показатели качества и безопасности нативного растительного сырья, установлено высокое содержание вторичных метаболитов. Корневище с корнями левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) богаты флавоноидами – $602,39 \pm 17,28$ мг/г сухой массы, и фенольными кислотами $124,94 \pm 2,61$ мг/г сухой массы; в корнях женьшеня обыкновенного (*Panax ginseng*) доминировали гинзенозиды – $4,08 \pm 0,16$ мг/г сухой массы; корневище элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus*) содержало фенольные кислоты – $7,62 \pm 0,23$ мг/г сухой массы, среди которых преобладала кофейная кислота ($4,62 \pm 0,23$ мг/г); клубни пальчатокоренника пятнистого (*Dactylorhiza maculata*) преимущественно содержали флавоноиды – $17,89 \pm 0,34$ мг/г сухой массы; корни диоскорей обыкновенной (*Dioscorea communis*) – сапонины ($7,41 \pm 0,11$ мг/г); в корнях сапожниковии растопыренной (*Saposhnikovia divaricata*) преобладают хромоны – $13,17 \pm 0,26$ мг/г сухой массы. Показана антимикробная и антиоксидантная активность экстрактов.

2. Для культивирования каллусных культур каждого из растений были подобраны индивидуальные питательные среды, экспериментально обоснованы параметры культивирования *in vitro*: в темноте, при температуре $23\text{ }^{\circ}\text{C}$, в течение 28 суток. Для выращивания корневых культур рекомендуется использовать штамм почвенных агробактерий для трансформации – *Agrobacterium rhizogenes* A4, классическую среду Гамборга, культивирование вести в темноте при температуре $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 5 недель при перемешивании (100 об/мин).

3. Подобраны параметры экстракции природного растительного сырья и клеточных культур *in vitro* растений 40 %-ным этиловым спиртом методом мацерации: температура $40\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$, гидромодуль 1:5–20, продолжительность 2–4 ч в зависимости от растения; методом циркуляционного экстрагирования: гидромодуль 1:10–20, продолжительность 2–4 ч в зависимости от растения; методом микроволновой экстракции: гидромодуль 1:5–20, мощность излучения 200–500 Вт, продолжительность 20–40 мин в зависимости от растения. Полученные результаты показали, что микроволновая экстракция изучаемого растительного сырья позволяет достичь более высокого уровня извлечения целевых БАВ (6,0–34,2 %) при меньшей продолжительности процесса по сравнению с мацерацией и перколяцией.

4. Проанализирован компонентный состав изучаемых образцов. Максимальное содержание целевых БАВ отмечено в экстрактах полученных микроволновой экстракцией. Экстракты культуры адвентивных корней левзеи сафлоровидной (*R. Carthamoides*) содержали апигенин ($53,15 \pm 2,55$ мг/мл) и кофейную кислоту ($45,44 \pm 2,23$ мг/мл). В составе экстрактов каллусной культуры женьшеня обыкновенного (*P. Ginseng*) доминировали панаксозид ($27,37 \pm 1,37$ мг/мл) и гинзенозид RB1 ($16,65 \pm 0,83$ мг/мл). В экстрактах корневой культуры элеутерококка колючего (*E. Senticosus*) содержание кофейной кислоты составило ($13,34 \pm 0,67$ мг/мл), элеутерозидов – ($14,05 \pm 0,67$ мг/мл). Экстракты каллусной культуры пальчатокоренника пятнистого (*D. maculata*) содержали рутин ($24,06 \pm 1,20$ мг/мл) и кверцетин ($21,47 \pm 1,07$ мг/мл). Доминирующие вторичные метаболиты диоскорей обыкновенной (*D. communis*) – это диосцин ($15,04 \pm 0,76$ мг/мл) и спиростенол А ($14,94 \pm 0,75$ мг/мл); для корневой культуры сапожниковии растопыренной (*S. Divaricata*) отмечено максимальное содержание перв-О-глюкозилцимифугина ($42,54 \pm 2,13$ мг/мл), 4'-О-β-D-глюкозил-5-О-метилвисамминола ($37,78 \pm 1,90$ мг/мл) и гамаудола ($32,41 \pm 1,62$ мг/мл). Все экстракты, полученные из клеточных культур растений *in vitro*, демонстрировали более высокие концентрации вторичных метаболитов по сравнению с экстрактами надземных и подземных частей растений. Согласно

ОФС.1.4.1.0021.15 и ОФС.1.5.3.0009.15 все исследуемые образцы экстрактов по содержанию тяжелых металлов соответствуют требованиям нормативной документации, следовательно, могут быть использованы в технологиях пищевых продуктов и напитков. Получены результаты, свидетельствующие об отсутствии токсичности у изучаемых экстрактов по отношению к хемилюминесценции *V. fischeri*. В экспериментах *in vitro* доказано наличие у экстрактов, полученных из биомассы каллусных и корневых культур растений, антимикробных свойств по отношению к патогенным и условно патогенным тест-штаммам. Доказана антиоксидантная активность экстрактов двумя методами.

5. Подобраны рациональные параметры ультрафильтрационной очистки: давление 0,5 Мпа, диаметр пор мембран 5–15 кДа, 2–4 цикла очистки в зависимости от растения. Определены оптимальные параметры очистки растительных экстрактов хроматографическим методом с использованием в качестве стационарной фазы силикагеля с октадецильной группой C_{18} с размером 2,5 и 3,5 мкм и скоростью элюции 5 и 10 мл/мин. Доказано, что хроматографический метод очистки является более эффективным по сравнению с ультрафильтрационным методом и позволяет повысить содержание действующих БАВ в экстрактах в 1,34–2,49 раз. Подобраны параметры концентрирования растительных экстрактов в вакуум-выпарной установке при глубине вакуума 75 кПа, температуре 65 и 75 °С в течение 1,5–2,0 ч. Выпаривание растворителя позволяет повысить концентрацию действующих БАВ в густых экстрактах в 2,99–6,75 раз. Подобраны рациональные параметры распылительного высушивания: температура 60–80 °С, скорость подачи раствора 6–10 мл/мин, скорость потока воздуха 20–30 м³/ч; сублимационной сушки – при температуре минус 30 °С в течение 8–12 ч. Доказано, что способ высушивания экстрактов не оказывает влияния на уровень содержания в них целевых биологически активных веществ. Экстракты, полученные методом распылительного высушивания, характеризуются более высоким содержанием мелкодисперсных фракций, в то время как насыпная плотность и гигроскопичность экстрактов, полученных сублимационным высушиванием, превышают данные показатели для экстрактов, полученных в результате распылительной сушки, в среднем в 1,5–2,0 раза.

6. На основе полученных результатов собственных исследований разработаны технологические схемы производства: густых экстрактов на основе природного растительного сырья, густых экстрактов на основе клеточных культур растений, сухих экстрактов на основе природного растительного сырья и сухих экстрактов на основе клеточных культур. Обоснованы условия хранения.

7. На основе полученных экстрактов разработаны рецептуры и процессуальные схемы производства функциональных напитков. С применением густых экстрактов получали напиток на основе молочной сыворотки, обогащенный вторичными метаболитами; тонизирующий чайный напиток (на основе черного, зеленого чая и фиточая) и концентрат – основа морсов иммуномодулирующего действия; на основе сухих экстрактов – растворимый сухой напиток антиоксидантного действия и гранулированный ягодный кисель профилактической направленности. Дана оценка показателям качества, безопасности и функциональным характеристикам. На полученные продукты разработана техническая документация.

8. Дана оценка экономической эффективности внедрения предлагаемых технологий. Проведена опытно-промышленная апробация и промышленные внедрения на предприятиях отрасли: ООО «РУСЭКСТРАКТ», ООО «НПО Сибирка», ООО НПО «Здоровое питание», ООО «СибБарс», полученные результаты используются в учебном процессе Кемеровского государственного университета.

**Основные публикации по материалам диссертации:
Монография**

1. Просеков, А. Ю. Биоактивность полифенолов из растений, выращенных *in vitro*: монография / А. Ю. Просеков, И. С. Милентьева, **А. И. Лосева**. – Кемерово: КемГУ, 2023. – 211 с.

Статьи в рецензируемых научных изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus и Web of Science

2. Ivanova, S. Application of Computer Technologies to the Study of Bas Properties in Biological Systems / S. Ivanova, L. Dyshlyuk, A. Dmitrieva, **A. Loseva**, M. E. A. Khelef, V. Pavsky // Data Science and Algorithms in Systems. CoMeSySo 2022. Lecture Notes in Networks and Systems. – 2023. – V. 597. DOI: 10.1007/978-3-031-21438-7_32.

3. Faskhutdinova, E. R. Effects of bioactive substances isolated from Siberian medicinal plants on the lifespan of *Caenorhabditis elegans* / E. R. Faskhutdinova, A. S. Sukhikh, V. M. Le, V. I. Minina, M. E. A. Khelef, **A. I. Loseva** // Foods and Raw Materials. – 2022. – 10(2). – V. 340–352. – DOI: 10.21603/2308-4057-2022-2-534.

4. Fedorova, A. M. Geroprotective activity of transcinnamic acid isolated from the Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis*) / A. M. Fedorova, L. S. Dyshlyuk, I. S. Milentyeva, **A. I. Loseva**, O. A. Neverova, M. E. A. Khelef // Food Processing: Techniques and Technology. – 2022. – Т. 52. – № 3. – С. 582–591. – DOI: 10.21603/2074-9414-2022-3-2388.

5. Dyshlyuk, L. S. Callus cultures of *Thymus Vulgaris* and *Trifolium Pratense* as a source of geroprotectors / L. S. Dyshlyuk, A. M. Fedorova, **A. I. Loseva**, N. I. Ereemeeva // Food Processing: Techniques and Technology. – 2021. – Т. 51. – № 2. – С. 423–432. DOI: 10.21603/2074-9414-2021-2-423-432.

6. Milentyeva, I. S. Secondary metabolites *in vitro* cultures of siberian medicinal plants: content, antioxidant properties, and antimicrobial characteristics / I. S. Milentyeva, V. M. Le, O. V. Kozlova, N. S. Velichkovich, A. M. Fedorova, **A. I. Loseva**, V. P. Yustratov // Foods and Raw Materials. – 2021. – Т. 9. – № 1. – С. 153–163. – DOI: 10.21603/2308-4057-2021-1-153-163.

7. Оценка геропротекторного потенциала сквалена на модели *Caenorhabditis elegans* / А. Д. Веснина, В. Ф. Долганюк, А. И. Дмитриева, **А. И. Лосева**, И. С. Милентьева // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. – 2022. – Т. 14. – № 6. – С. 51–69. – DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-51-69.

8. Дышлюк, Л. С. Исследование показателей безопасности экстрактов каллусных культур *Pulmonaria Officinalis* и их фитохимического состава на наличие биологически активных веществ с потенциальными геропротекторными свойствами / Л. С. Дышлюк, М. Ю. Дроздова, **А. И. Лосева** // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2021. – Т. 1. – № 2 (37). – С. 260–271. – DOI: 10.21285/2227-2925-2021-11-2-260-271.

Статьи в рецензируемых научных изданиях, входящих в RSCI

9. Федорова, А. М. Оптимизация экстрагирования активных веществ каллусных и корневых культур *Panax ginseng* / А. М. Федорова, **А. И. Лосева**, Л. С. Дышлюк, В. И. Минина // Ползуновский вестник. – 2021. – № 4. – С. 60–69. – DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2021.04.009.

Статьи в журналах перечня ВАК, относящиеся к категории К1- К2

10. Асякина, Л. К. Перспективы применения растений Сибирского федерального округа в производстве продуктов питания функционального назначения / Л. К. Асякина, **А. И. Лосева**, И. С. Милентьева, А. Ю. Просеков, В. И. Минина // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2022. – Т. 10. – № 4. – С. 5–17. – DOI: 10.14529/food220401.

11. **Лосева, А. И.** Исследование химического состава клеточных культур *Dioscorea Caucasica* в связи с получением источника БАВ с кардиопротекторным потенциалом / **А. И. Лосева**, В. И. Минина, А. В. Позднякова, Е. В. Остапова // Новые технологии. – 2021. – Т. 17. – № 6. – С. 35–47. – DOI: 10.47370/2072-0920-2021-17-6-35-47.

12. **Лосева, А. И.** Биотехнология выращивания каллусных культур ятрышника шлемовидного – перспективного источника биоактивных веществ / **А. И. Лосева**, А. В. Позднякова, А. Ю. Просеков, Е. В. Остапова, О. Г. Альтшулер // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2021. – Т. 9. – № 4. – С. 13–22. – DOI: 10.14529/food210402.
13. Дышлюк, Л. С. Перспективы развития мирового рынка растительных экстрактов / Л. С. Дышлюк, В. А. Бортникова, **А. И. Лосева**, О. А. Неверова, А. В. Позднякова // Социально-экономический и гуманитарный журнал. – 2022. – № 4. – С. 118–127. – DOI: 10.36718/2500-1825-2022-4-118-127.
14. Асякина, Л. К. Российский рынок функциональных продуктов питания для здорового образа жизни человека / Л. К. Асякина, А. А. Степанова, Т. В. Тамарзина, **А. И. Лосева**, Н. С. Величкович // Социально-экономический и гуманитарный журнал. – 2022. – № 3. – С. 29–41. – DOI: 10.36718/2500-1825-2022-3-29-41.
15. Коновалов, К. Л. Развитие производства пищевых предприятий на основе изучения потребительского спроса / К. Л. Коновалов, И. К. Куприна, **А. И. Лосева**, Е. А. Вагайцева, Е. И. Тенешев // Пищевая промышленность. – 2012. – № 5. – С. 64–67.
16. Мусина, О. Н. Получение эмульсионных продуктов как пример инновационно-проектной деятельности в пищевой отрасли / О. Н. Мусина, **А. И. Лосева**, Е. А. Сафонова, М. Т. Шулбаева, Е. М. Пахарукова, К. Л. Коновалов // Пищевая промышленность. – 2012. – № 9. – С. 10–12.
17. Коновалов, К. Л. Белково-липидные композиты повышенной биологической ценности, ориентированные на достижение максимального технологического эффекта / К. Л. Коновалов, М. Т. Шулбаева, **А. И. Лосева**, А. С. Шебукова, В. Ю. Богер // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2011. – № 1. – С. 51–55.
18. Архипов, А. Н. Разработка технологии пастообразных молочных продуктов / А. Н. Архипов, И. Ю. Трифонов, **А. И. Лосева** // Техника и технология пищевых производств. – 2011. – № 3 (22). – С. 51–54.
19. Коновалов, К. Л. Растительные пищевые композиты полифункционального назначения / К. Л. Коновалов, М. Т. Шулбаева, **А. И. Лосева**, О. Н. Мусина // Пищевая промышленность. – 2010. – № 7. – С. 8–11.

Материалы симпозиумов, конгрессов, конференций

20. **Лосева, А. И.** Фитохимический состав экстракта растения *Amelanchier ovalis*, произрастающего на территории Сибирского федерального округа / **А. И. Лосева**, Л. С. Дышлюк, М. Дроздова, И. С. Милентьева // I Международный конгресс «Новейшие достижения в области медицины, здравоохранения и здоровьесберегающих технологий». – Кемерово, 2022. – С. 250–253.
21. Петрова, А. А. Определение содержания полифенолов и антиоксидантной активности в напитках на основе чайного гриба с добавлением экстрактов душистых трав различной концентрации / А. А. Петрова, Н. В. Изгарышева, О. В. Беляева, **А. И. Лосева** // I Международный конгресс «Новейшие достижения в области медицины, здравоохранения и здоровьесберегающих технологий». – Кемерово, 2022. – С. 339–342.
22. **Лосева, А. И.** Изучение антиоксидантных свойств сухого экстракта каллусной культуры тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*) / **А. И. Лосева**, А. М. Федорова, Ю. А. Ерофеева, И. С. Милентьева // Международная научно-практическая конференция «От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК». – Екатеринбург, 2022. – С. 189–191.
23. Милентьева, И. С. Изучение влияния биоактивных веществ экстракта корневой культуры *in vitro* женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) на рост дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* Y-564 / И. С. Милентьева, А. М. Федорова, **А. И. Лосева**, В. Минина //

Международная научно-практическая конференция «Инновационные биотехнологии природных и синтетических биологически активных веществ». – Минск, 2022.

24. Федорова, А. М. Изучение биологически активных веществ растительного происхождения с антиоксидантными свойствами / А. М. Федорова, Л. К. Асякина, И. С. Миленетьева, У. А. Петрикеева, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 136–138.

25. Хильшер, М. С. Микроводоросли – перспективное сырье для пищевой промышленности / М. С. Хильшер, Л. С. Дышлюк, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 142–143.

26. Юревич, Н. В. Перспективы использования биомассы древесины для получения биоактивных веществ / Н. В. Юревич, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 149–150.

27. Функциональный кисломолочный напиток, обогащенный антиоксидантами Облепихи крушиновидной / М. С. Завьялова, Л. С. Дышлюк, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 235–236.

28. Дроздова, М. Ю. Влияние экстракта Бадана толстолистного на рост дрожжей / М. Ю. Дроздова, Л. С. Дышлюк, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 469–470.

29. Лияскина, И. Г. Исследование антимикробной активности Копеечника забытого (*Hedysarum neglectum* Ledeb.) / И. Г. Лияскина, Л. К. Асякина, Н. В. Фотина, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 500–501.

30. Фокина, А. Д. Изучение антиоксидантных свойств экстрактов корня Одуванчика и перспектив их использования в производстве БАД / А. Д. Фокина, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 556–557.

31. Чундерова, Е. С. Женьшень обыкновенный как перспективный источник биологически активных веществ в функциональном питании / Е. С. Чундерова, Н. В. Фотина, **А. И. Лосева**, Л. К. Асякина // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 583–584.

32. Подбор оптимальных параметров распылительного высушивания экстракта корневой культуры Женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) / И. С. Миленетьева, Л. А. Проскурякова, А. М. Федорова, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 59–61.

33. Мята перечная (*Menta piperita* L.): особенности и применение / А. П. Низоленко, Л. К. Асякина, Н. В. Фотина, **А. И. Лосева** // Пищевые инновации и биотехнологии: сборник тезисов X Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых под общей редакцией А. Ю. Просекова. – Кемерово, 2022. – С. 88–89.

34. **Лосева, А. И.** Подбор эмульгирующих композиций для производства функциональных продуктов с учетом специфики промышленного региона / **А. И. Лосева** // Пищевые

продукты и здоровье человека: материалы Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых Министерство образования и науки Российской Федерации, ФГБОУ ВПО "Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)". – Кемерово, 2012. – С. 31–32.

35. Фасхутдинова, Е. Р. Биологическая активность кверцетина– эффективной пищевой добавки / Е. Р. Фасхутдинова, И. С. Милентьева, **А. И. Лосева**, Л. А. Проскурякова // Актуальные проблемы современной науки, техники и образования: тезисы докладов 81-й Международной научно-технической конференции. – Магнитогорск, 2023. – С. 262.

36. Федорова, А. М. Изучение биофункциональных и токсикологических свойств полифенолов, выделенных из растительного сырья / А. М. Федорова, И. С. Милентьева, **А. И. Лосева** // XI Инновационной конвент Кузбасс: образование, наука, инновации, молодежный вклад в развитие научно-образовательного центра «Кузбасс». – Кемерово, 2023. – С. 201–205.

37. Фасхутдинова, Е. Р. Исследование влияния биологически активных веществ Гинкго двулопастного на накопление карбонилированных белков в экспериментах *in vivo* / Е. Р. Фасхутдинова, Л. К. Асякина, **А. И. Лосева** // VI Симпозиум «Междисциплинарные подходы в биологии, медицине и науках о Земле: теоретические и прикладные аспекты»: материалы симпозиума XVIII (L) Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Образование, наука, инновации: вклад молодых исследователей», приуроченной к 50-летию КемГУ / науч. ред. Ф. Ю. Кайзер; Кемеровский государственный университет. – Кемерово: КемГУ, 2023. – Вып. 24. – С. 394–396.

38. Федорова, А. М. Изучение нейропротекторной активности экстракта корневой культуры *in vitro* женьшеня настоящего (*Panax ginseng* С. А. Мей) / А. М. Федорова, И. С. Милентьева, **А. И. Лосева**, Л. А. Проскурякова // VI Симпозиум «Междисциплинарные подходы в биологии, медицине и науках о Земле: теоретические и прикладные аспекты»: материалы симпозиума XVIII (L) Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Образование, наука, инновации: вклад молодых исследователей», приуроченной к 50-летию КемГУ / науч. ред. Ф. Ю. Кайзер; Кемеровский государственный университет. – Кемерово: КемГУ, 2023. – Вып. 24. – С. 397–399.

Патенты Российской Федерации и зарубежные

39. Патент РФ № 2783445 МПК А61К 36/539 (2006.01) А61К 125/00 (2006.01) С07Н 1/08 (2006.01) С07Н 17/07 (2006.01) Способ выделения и очистки байкалина из корневых культур шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis Georgi*) / Просеков А. Ю., Дышлюк Л. С., Дмитриева А. И., Дроздова М. Ю., Асякина Л. К., Федорова А. М., Ле В. М., Позднякова А. В., **Лосева А. И.**; заявитель и патентообладатель Кемеровский государственный университет. – № 2022112151, заявл. 05.05.2022; опубл. 14.11.2022.

40. Патент РФ № 2792775 МПК А23L 33/10 (2016.01) А23L 33/145 (2016.01) А23С 21/00 (2006.01) Способ получения биологически активной добавки на основе молочной сыворотки и растительного экстракта / Просеков А. Ю., Дышлюк Л. С., Милентьева И. С., Асякина Л. К., Федорова А. М., **Лосева А. И.**; заявитель и патентообладатель Кемеровский государственный университет. – № 2022112230, заявл. 05.05.2022; опубл. 24.03.2023.

41. Заявка на изобретение РФ 2023105526. Геронейропротектор на основе байкалина / Просеков А. Ю., Дышлюк Л. С., **Лосева А. И.**; Дроздова М.Ю., Дмитриева А.И., заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», заявл. 10.03.2023.