

Т. Н. ГОЛОВАЧ¹, В. П. КУРЧЕНКО¹, А. Д. КАЗИМИРОВ², Р. Э. ГРИГОРЯН³,
Л. В. ГАРИБЯН³, А. Д. ЛОДЫГИН³

**ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСТРАКЦИИ БИОАКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ
(*ECHINACEA PURPUREA* (L.) MOENCH) С ПРИМЕНЕНИЕМ
ЦИКЛОДЕКСТРИНА И БЕЛКОВ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ**

¹ Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

² Белорусско-голландское совместное предприятие общество с ограниченной
ответственностью «Фармлэнд», г. Минск, Республика Беларусь

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования «Северо-Кавказский федеральный университет»,
г. Ставрополь, Российская Федерация

Охарактеризована эффективность применения альтернативных экстрагентов при извлечении биоактивных соединений из травы эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). В качестве экстрагентов использовали водные растворы нативных, термообработанных и гидролизованных сывороточных белков молока, а также β-циклогексстрина. Анализ образцов экстрактов выполнен с применением газовой хроматографии–масс-спектрометрии (определение жирнокислотного состава) и АБТС теста (оценка уровня антиоксидантной активности). Установлено, что использование растворов β-циклогексстрина, термообработанных и гидролизованных белков молочной сыворотки обеспечивает увеличение выхода из травы эхинацеи пурпурной сухих веществ (в 1,3–2,3 раза), содержания фенольных соединений (в 2,9 раза) и жирных кислот, возрастание антиоксидантной активности (в 2,6–3,1 раза) по сравнению с традиционной водной экстракцией. Полученные данные подтверждают перспективность применения сывороточных белков молока и β-циклогексстрина как эффективных и безопасных экстрагентов для получения функциональных фитопрепаратов с выраженной биологической активностью.

Ключевые слова: *Echinacea purpurea*, экстракция, сывороточные белки молока, циклогексстрин, фенольные соединения, антиоксидантная активность.

Введение. Современные тенденции в области разработки функциональных продуктов питания включают активное внедрение растительных экстрактов, которые традиционно применяют в фармацевтической практике [1]. Данная направленность обусловлена доказанной безопасностью и эффективностью ряда препаратов растительного происхождения, а также наличием уникальных компонентов, зачастую не имеющих синтетических аналогов. Растительные экстракты представляют собой ценные источники биоактивных веществ (БАВ), способных позитивно влиять на организм человека [2].

Одной из приоритетных задач современной биоорганической химии является разработка инновационных технологий извлечения фенольных соединений из природных источников [3]. В частности, флавоноиды, фенольные кислоты, кумарины и дубильные вещества представляют собой гетерогенную группу полифенолов. Критическим аспектом экстракции является зависимость состава получаемых препаратов от природы и полярности используемого экстрагента [4, 5].

Echinacea purpurea (L.) Moench (эхинацея пурпурная) – один из наиболее ценных представителей лекарственных растений семейства Asteraceae [6, 7]. Растительное сырье эхинацеи пурпурной характеризуется богатым химическим составом, включающим полисахариды с иммуномодулирующими свойствами, алкиламиды, производные

гидроксикоричных кислот и эфирные масла. Известно, что полисахариды эхинацеи, представленные арабинорамногалактанами и гетероксиланами, повышают фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов, стимулируют продукцию интерлейкинов и усиливают неспецифический иммунный ответ организма [6, 8]. Фенольные соединения проявляют выраженную антиоксидантную, противовоспалительную и мембраностабилизирующую активность. Подтвержден антимикробный эффект препаратов эхинацеи против патогенных микроорганизмов, что обуславливает их эффективность при заболеваниях различной этиологии [8].

Перспективным направлением современной биотехнологии является применение нетрадиционных экстрагентов для получения растительных препаратов с заданными свойствами [9, 10]. Особый интерес представляют водные растворы сывороточных белков молока как экологически безопасные и технологически эффективные экстрагенты. Нативные белки молочной сыворотки обладают уникальными функциональными свойствами, включая способность к комплексообразованию с биоактивными соединениями [10, 11]. Термическая обработка приводит к денатурации глобулярной структуры лактопротеинов, что оказывает положительное влияние на их экстрагирующие свойства [12, 13]. Гидролизованные сывороточные белки молока отличаются высоким содержанием доступных аминокислотных радикалов различной природы, что способствует возрастанию экстрактивности БАВ. Кроме того, гидролизаты лактопротеинов проявляют биологическую активность [11, 14].

Циклические олигосахариды, или циклодекстрины, представляют собой высокоэффективные экстрагенты для солюбилизации БАВ различной природы. β -циклодекстрин (β -ЦД), состоящий из семи α -D-глюкопиранозных звеньев, обладает способностью образовывать комплексы включения с гидрофобными молекулами, что значительно повышает их растворимость в водных системах и биодоступность. Применение циклодекстринов направлено на увеличение выхода фенольных соединений из растительного сырья [15, 16].

На этом основании целесообразным представляется провести комплексный сравнительный анализ состава БАВ в вытяжках из растительного сырья *E. purpurea* при различных вариантах экстракции. Данный подход позволит оценить влияние природы экстрагента на селективность извлечения различных групп биоактивных соединений и оптимизировать условия получения экстрактов с максимальным содержанием целевых компонентов.

Цель работы – провести сравнительное исследование экстрактов из растительного сырья *E. purpurea*, полученных с использованием различных экстрагентов, оценить уровень их антиоксидантной активности.

Материалы и методы исследования. *Методика экстракции БАВ из травы эхинацеи пурпурной с использованием различных экстрагентов.* В экспериментах применяли растительное сырье *E. purpurea* (эхинацеи пурпурной травы, ЗАО «БелАсептика», Республика Беларусь), β -ЦД (м.д. ЦД 85 %, Roquette, Франция), концентрат сывороточных белков молока (КСБ, м.д. белка 80 %; Щучинский филиал ОАО «Молочный мир», Республика Беларусь), образец ферментативного гидролизата КСБ (ГКСБ, м.д. белка 80 %), полученный в лаборатории прикладных проблем биологии (БГУ).

Готовили водные растворы КСБ и ГКСБ с содержанием белка 2 %, а также 0,5 % й водный раствор β -ЦД. Проводили тепловую обработку 2 %-го раствора КСБ при 90 °C в течение 10 мин; в итоге получали раствор термообработанного белка сыворотки молока (2 %-й раствор ТКСБ). Исходные и разведенные растворы КСБ, ТКСБ, ГКСБ и β -ЦД впоследствии применяли в качестве экстрагентов.

Для экстракции БАВ готовили навески растительного сырья *E. purpurea* массой 2 г. После чего к образцам навесок добавляли экстрагент в соответствии с табл. 1. Экстракцию проводили при температуре 45 °C в течение 2 ч. На заключительной стадии проводили двухэтапную фильтрацию: 1 этап – фильтрация экстракта через синтетическое волокно

(первоначальный этап отделения жидкости от растительного сырья); 2 этап – фильтрация через бумажный фильтр (дополнительное удаление нерастворимых частиц).

Таблица 1. Приготовление экстрактов из растительного сырья *E. purpurea* с использованием различных экстрагентов

Наименование экстрагента	Разведение исходного раствора экстрагента	Масса растительного сырья, г	Объём экстрагента, мл
Вода (контроль)	–	2	40
0,5%-й раствор КСБ	1 : 3	2	40
0,5%-й раствор ТКСБ	1 : 3	2	40
1%-й раствор ТКСБ	1 : 1	2	40
2%-й раствор ТКСБ	–	2	40
0,5%-й раствор β -ЦД	–	2	40
0,5%-й раствор ГКСБ	1 : 3	2	40
1%-й раствор ГКСБ	1 : 1	2	40
2%-й раствор ГКСБ	–	2	40

Полученные экстракты лиофильно высушивали. В опытных образцах определяли выход сухих веществ (по ГОСТ 24027.2–80) и общее содержание фенольных соединений (согласно ГОСТ Р ИСО 14502–1–2010). Для проведения газовой хроматографии, совмещенной с масс-спектрометрией (ГХ–МС), проводили экстракцию опытных образцов метанолом (осч, для ГХ) при объемном соотношении 1 : 10.

Методика определения БАВ в экстрактах методом ГХ–МС. Состав жирных кислот (ЖК) в полученных экстрактах *E. purpurea* исследовали с использованием хромато-масс-спектрометрической системы, включающей газовый хроматограф Agilent 6850 с масс-селективным детектором Agilent 5975B (Agilent Technologies, США). Для анализа применяли капиллярную колонку DB-5MS (5 % Phenyl Methyl Siloxane, J&W 122–5062; Agilent Technologies, США) длиной 60 м с внутренним диаметром 0,25 мм. Идентификацию ЖК состава осуществляли с использованием библиотеки масс-спектров NIST0.5a. Относительно суммарной массы экстрактивных веществ определяли содержание индивидуальных соединений (%). Для построения тепловых карт соединений, выявленных в экстрактах по результатам ГХ–МС, применяли on-line инструмент ClustVis [17].

Методика оценки антиоксидантной активности (АОА) биоактивных веществ из экстрактов травы эхинацеи пурпурной. Для определения антирадикальных свойств опытных образцов вытяжек использовали АБТС метод. Он основан на применении модельной системы для получения катион радикала (АБТС радикала) и спектрофотометрической регистрации результатов. В качестве стандарта при оценке уровня АОА использовали тролокс. Детальная методика эксперимента представлена в статье [18].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с применением однофакторного дисперсионного анализа [19]. Статистически значимыми считали различия между группами данных при уровне $p < 0,05$. Итоговый результат на графиках и в таблицах представляли в виде среднего арифметического значения ($n = 3$). Построение графиков осуществляли в программе Microsoft Office 2021 Excel (MS Corporation, США).

Результаты и их обсуждение. В рамках первичной оценки эффективности экстракции в различных тест-системах (КСБ, ТКСБ, ГКСБ, β -ЦД) проведен сравнительный анализ опытных образцов экстрактов *E. purpurea* согласно содержанию сухого вещества растительного происхождения. По результатам исследования увеличение выхода сухого

вещества в экстрактах из травы эхинацеи пурпурной установлено при извлечении растворами ТКСБ (0,5–2 %), ГКСБ (0,5 и 1 %) и β -ЦД (0,5 %), что в 1,3–2,3 раза превышает традиционную водную экстракцию (рисунок 1). Так, на первом этапе исследования максимальная экстрактивность выявлена при использовании раствора термообработанных белков молочной сыворотки. Данное явление обусловлено относительно высокими гидрофобными свойствами глобулярных сывороточных белков, подвергнутых нагреванию. Термоденатурация приводит к экспонированию неполярных областей, ранее скрытых в белковой макромолекуле, и впоследствии обеспечивает более эффективное экстрагирование гидрофобных соединений из растительного сырья [12, 13]. Гидролизаты сывороточных белков молока также характеризуются высокой гидрофобностью, что связано с высвобождением из глобулярной структуры белков аминокислот с неполярными радикалами [11, 14]. Наряду с этим, β -ЦД отличается уникальной способностью образовывать комплексы включения с гидрофобными структурами, которые сопоставимы с объемом внутренней полости циклического олигосахарида (262 Å³), например, с флавоноидами и фенольными кислотами [15, 16].

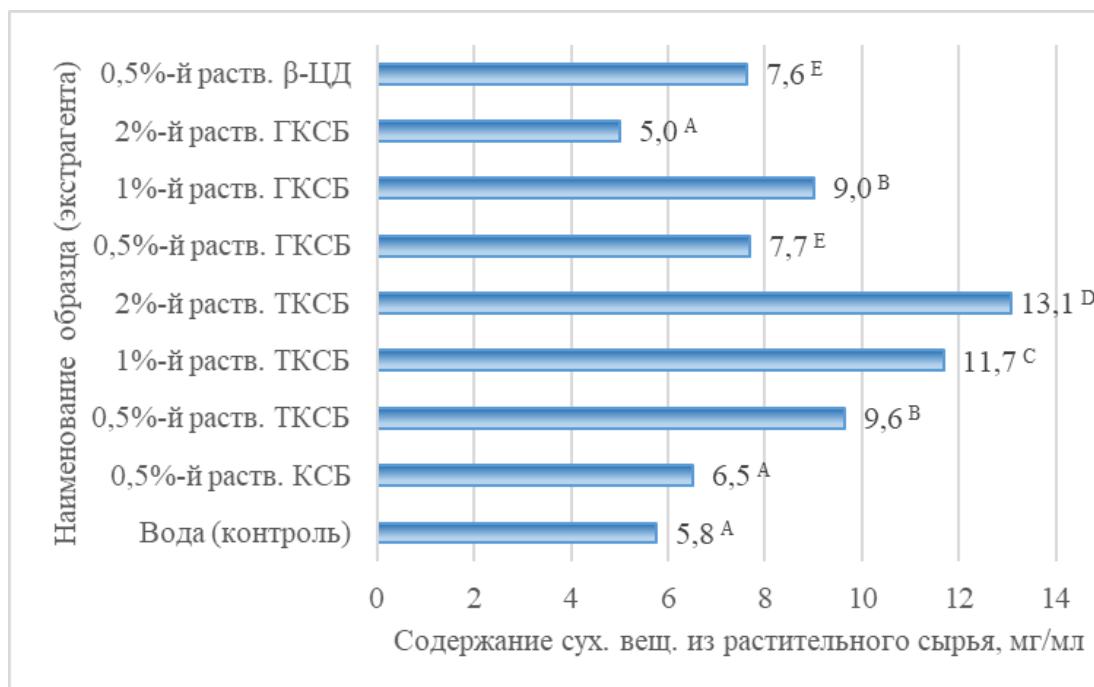


Рисунок 1. Содержание сухого вещества растительного происхождения в экстрактах из травы эхинацеи пурпурной. Значения без общей буквы (А–Е) в пределах ряда данных указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Для углубленного исследования состава жирных кислот в экстрактах травы эхинацеи пурпурной использовали газовую хроматографию с масс-спектрометрией. Сравнительная характеристика экстрактов, полученных с применением 0,5 %-х растворов КСБ, ТКСБ, ГКСБ и β -ЦД, отражена на тепловой карте, совмещенной с кластерным анализом (рисунок 2).

По итогам ГХ–МС анализа в экстрактах обнаружены насыщенные (миристиновая, пальмитиновая и стеариновая) и ненасыщенные ЖК (олеиновая и линолевая) в различном соотношении. В частности, наибольшее количество пальмитиновой и олеиновой кислот выявлено при экстрагировании 0,5 %-м раствором β -ЦД, а также при использовании 0,5 %-го раствора ГКСБ. Максимальное содержание линолевой кислоты отмечено в экстракте с 0,5 %-м раствором КСБ. Сопоставимый уровень пальмитиновой кислоты отмечен для тест-систем с КСБ и ТКСБ. При классической водной экстракции обнаружена лишь олеиновая кислота. Согласно ЖК профилю, тестируемые экстракты разделяются на два кластера. Первый кластер объединяет экстракты, которые получены с применением гидролизата и

β -ЦД, обогащенные пальмитиновой и олеиновой кислотами. Во второй кластер включены тест-системы, предполагающие водную экстракцию, внесение КСБ и ТКСБ. В данном случае наличие сывороточных белков молока обусловливает увеличение выхода ЖК по сравнению с контрольной водной экстракцией.

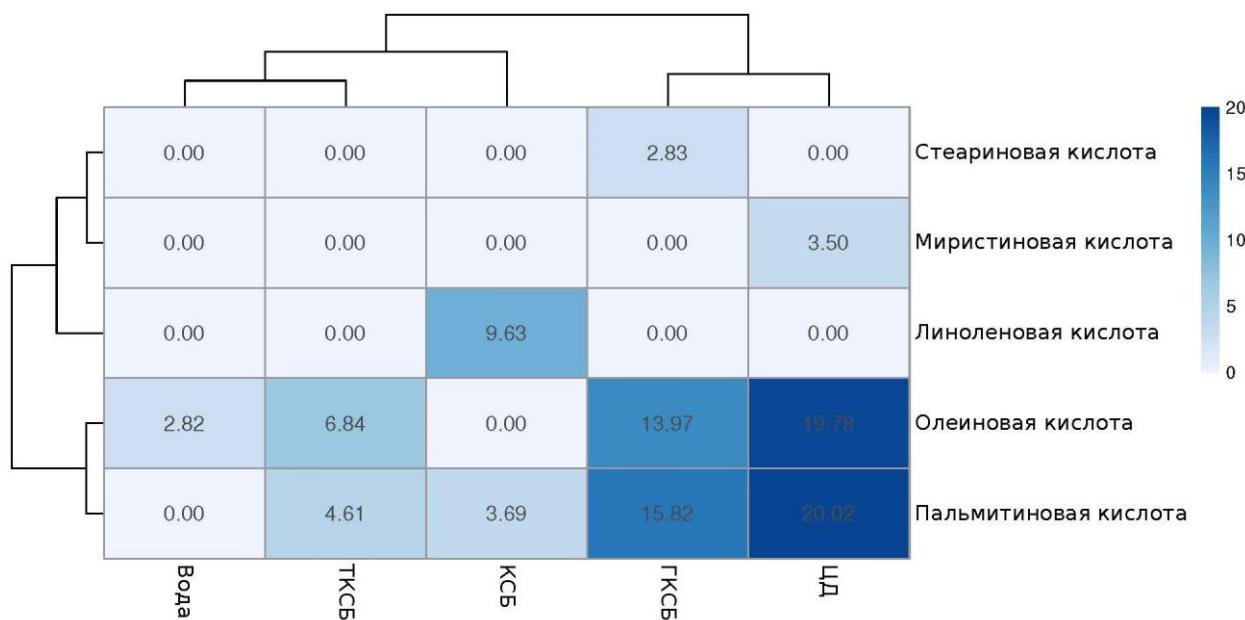


Рисунок 2. Тепловая карта относительного содержания (%) жирных кислот в экстрактах из травы эхинацеи пурпурной, полученных с применением различных экстрагентов (вода, КСБ, ТКСБ, ГКСБ и β -ЦД)

Следовательно, эффективность экстракции жирных кислот (согласно суммарному содержанию ЖК) возрастает в тест-системах с сывороточными белками молока в ряду «ТКСБ–КСБ–ГКСБ». Максимальный выход жирных кислот отмечен при использовании в качестве экстрагента β -ЦД. По итогам эксперимента применение гидролизата и β -ЦД обеспечивает наиболее эффективное извлечение жирных кислот из травы эхинацеи пурпурной.

На следующем этапе оценен уровень антиоксидантной активности экстрактов из травы эхинацеи пурпурной согласно общему содержанию фенольных соединений (в пересчете на галловую кислоту) и способности восстанавливать АБТС радикал (в эквивалентах тролокса), что отражено на рисунке 3.

Максимальное содержание фенольных веществ установлено при экстракции соединений из травы эхинацеи пурпурной 1 и 2 %-ми растворами термообработанных и гидролизованных сывороточных белков молока, а также 0,5 %-м раствором β -ЦД. Наивысший уровень АОА отмечен для образцов, полученных в результате экстракции 1 %-м раствором гидролизованных сывороточных белков молока и 0,5 %-м раствором β -ЦД. Относительно высокими радикал-восстанавливающими свойствами также обладают экстракты, приготовленные с применением 1 и 2 %-х растворов термообработанных белков молочной сыворотки. Минимальный уровень АОА выявлен для водных экстрактов из травы эхинацеи пурпурной.

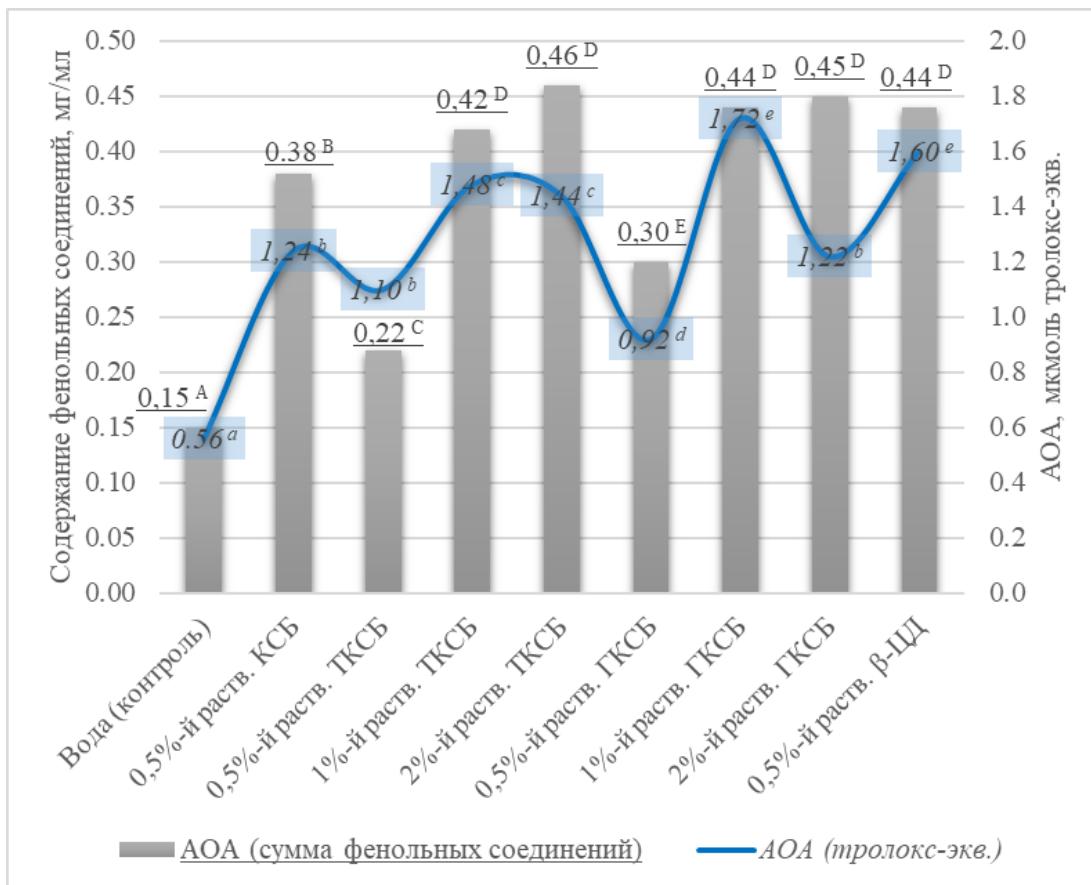


Рисунок 3. Антиоксидантная активность экстрактов из травы эхинацеи пурпурной. Значения без общей буквы (А–Е, а–е) в пределах ряда данных указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

По итогам оценки антирадикального потенциала опытных образцов, в качестве эффективных экстрагентов рекомендовано применение 1 %-х растворов термообработанных и гидролизованных сывороточных белков молока, наряду с 0,5 %-м раствором β -ЦД. Повышение концентрации сывороточных белков молока и их гидролизата не привело к увеличению экстрактивности, поэтому применение 2 %-х растворов нецелесообразно.

В целом, проведенные исследования позволили выявить наиболее перспективные экстрагенты (ТКСБ, ГКСБ и β -ЦД) для получения биоактивных веществ фенольной природы из травы эхинацеи пурпурной. При использовании рекомендованных экстрагентов достигается увеличение антиоксидантного потенциала по сравнению с традиционной водной экстракцией в 2,6–3,1 раза (в реакции с АБТС радикалом), тогда как общее количество фенольных соединений возрастает в 2,9 раза.

Высокая экстрактивность рассмотренных тест-систем (ТКСБ, ГКСБ и β -ЦД) в отношении веществ фенольной природы определяется их выраженным гидрофобными свойствами. Так, термоденатурация и гидролиз лактопротеинов обусловливают экспонирование неполярных гидрофобных структур. Наряду с этим, благодаря наличию в конической структуре β -ЦД гидрофобной полости также достигается сопоставимый уровень экстрактивности.

Следует отметить, что нативные сывороточные белки молока обладают антиоксидантным потенциалом, обусловленным антирадикальными свойствами аминокислот [11, 14]. Кроме того, в результате гидролиза АОА лактопротеинов возрастает за счет дополнительного экспонирования аминокислот с протон- и электрон-донорными свойствами [20]. В свою очередь, β -ЦД обеспечивает устойчивость БАВ в составе комплексов включения за счет экранирования от разрушающего воздействия факторов среды, наряду с возрастанием антиоксидантной активности включенных соединений [15, 16, 21].

Заключение. Согласно результатам исследования, применение предложенных экстрагентов – в частности, нативных, термообработанных и гидролизованных сывороточных белков молока, а также β -циклогексстраина – значительно повышает эффективность извлечения биоактивных соединений из травы *E. purpurea*. Комплексный анализ экстрактов показал увеличение выхода сухих веществ, содержания фенольных соединений, жирных кислот и уровня антиоксидантной активности по сравнению с традиционной водной экстракцией. Максимальная эффективность достигается при использовании 1 %-х растворов термообработанных и гидролизованных сывороточных белков молока, а также 0,5 %-го раствора β -циклогексстраина. Представленное исследование указывает на высокий потенциал альтернативных экстрагентов для создания функциональных препаратов с выраженной антиоксидантной активностью, востребованных в пищевой и фармацевтической промышленности.

Литература:

- [1]. Rutkowska J., Pasqualone A. Plant Extracts as Functional Food Ingredients // Foods. 2025. Vol. 14, № 3. P. 374.
- [2]. Future Market Insights. Functional Food Ingredients Market Size & Growth 2025-2035 // Future Market Insights. 2025. URL: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/functional-food-ingredients-market> (date of access: 20.07.2025)
- [3]. Alara O.R., Abdurahman N.H., Ukaegbu C.I. Extraction of phenolic com-pounds: A review // Curr. Res. Food Sci. 2021. Vol. 4. P. 200–214.
- [4]. Osorio-Tobón J.F. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds // J. Food Sci. Technol. 2020. Vol. 57, № 12. P. 4299–4315.
- [5]. Lama-Muñoz A., Contreras M. del M. Extraction Systems and Analytical Techniques for Food Phenolic Compounds: A Review // Foods. 2022. Vol. 11, № 22. P. 3671.
- [6]. Burlou-Nagy C., Bánica F., Jurca T. et al. *Echinacea purpurea* (L.) Moench: Biological and Pharmacological Properties. A Review // Plants. 2022. Vol. 11, № 9. P. 1244.
- [7]. Ahmadi F., Kariman K., Mousavi M., Rengel Z. Echinacea: Bioactive Com-pounds and Agronomy // Plants. 2024. Vol. 13, № 9. P. 1235.
- [8]. Saeidnia S., Manayi A., Vazirian M. *Echinacea purpurea*: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods // Pharmacogn. Rev. 2015. Vol. 9, № 17. P. 63.
- [9]. Jiang L., Zhang Z., Qiu C., Wen J. A Review of Whey Protein-Based Bioactive Delivery Systems: Design, Fabrication, and Application // Foods. 2024. Vol. 13, № 15. P. 2453.
- [10]. Saubanova M., Oleinikova Y., Rapoport A. et al. Bioactive Peptides De-rived from Whey Proteins for Health and Functional Beverages // Fermentation. 2024. Vol. 10, № 7. P. 359.
- [11]. Minj S., Anand S. Whey Proteins and Its Derivatives: Bioactivity, Functionality, and Current Applications // Dairy. 2020. Vol. 1, № 3. P. 233–258.
- [12]. Wolz M., Kulozik U. Thermal denaturation kinetics of whey proteins at high protein concentrations // Int. Dairy J. 2015. Vol. 49. P. 95–101.
- [13]. Anema S.G., McKenna A.B. Reaction kinetics of thermal denaturation of whey proteins in heated reconstituted whole milk // J. Agric. Food Chem. 1996. Vol. 44, № 2. P. 422–428.
- [14]. Luparelli A., Trisciuzzi D., Schirinzi W.M. et al. Whey Proteins and Bioactive Peptides: Advances in Production, Selection and Bioactivity Profiling // Biomedicines. 2025. Vol. 13, № 6. P. 1311.
- [15]. Sip S., Gościwiak A., Szulc P. et al. Assisted Extraction with Cyclodextrins as a Way of Improving the Antidiabetic Activity of Actinidia Leaves // Pharmaceutics. 2022. Vol. 14, № 11. P. 2473.
- [16]. Kazlauskaitė J.A., Ivanauskas L., Bernatoniene J. Cyclodextrin-Assisted Extraction Method as a Green Alternative to Increase the Isoflavone Yield from *Trifolium pratensis* L. Extract // Pharmaceutics. 2021. Vol. 13, № 5. P. 620.
- [17]. Metsalu T., Vilo J. ClustVis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap // Nucleic Acids Res. 2015. Vol. 43, W1. P. W566–W570.
- [18]. Aarland R.C., Bañuelos-Hernández A.E., Fragoso-Serrano M. et al. Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* ex-tracts // Pharm. Biol. 2016. Vol. 55, № 1. P. 649–656.
- [19]. Chambers J.M., Freeny A., Heiberger R.M. Analysis of variance; Designed experiments // Stat. Models in S / ed. J.M. Chambers, T.J. Hastie. Pacific Grove: Wadsworth & Brooks/Cole, 1992. Chap. 5. P. 145–190.

- [20]. Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Yantsevich A.V. et al. Effect of hydrolysis degree with Alcalase on antioxidant and antigenic properties of whey and colostrum protein hydrolysates // J. Agric. Food Res. 2024. Vol. 15. P. 100975.
- [21]. Halavach T.M., Kurchenko V.P., Tarun E.I., Dudchik N.V. et al. Influence of Complexation with β - and γ -Cyclodextrin on Bioactivity of Whey and Colostrum Peptides // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol. 24, № 18. P. 13987.

T. M. HALAVACH¹, V. P. KURCHENKO¹, A. D. KAZIMIROV², R. E. GRIGORIAN³, L. V. GARIBIAN³,
A. D. LODYGIN³

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF BIOACTIVE COMPOUND EXTRACTION FROM THE HERB OF PURPLE CONEFLOWER (*ECHINACEA PURPUREA* (L.) MOENCH) USING CYCLODEXTRIN AND WHEY PROTEINS

¹ Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

² Belarusian–Dutch Joint Venture Limited Liability Company “Pharmland”, Minsk, Republic of Belarus

³ Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “North-Caucasus Federal University”, Stavropol, Russian Federation

Summary

The study evaluated the effectiveness of alternative extractants for isolating bioactive compounds from the aerial parts of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Aqueous solutions of native, heat-treated, and hydrolyzed whey proteins, along with β -cyclodextrin, were applied as extraction media. The resulting extracts were analyzed by gas chromatography–mass spectrometry to determine fatty acid profiles, and the ABTS assay was used to assess antioxidant activity. The results demonstrated that using β -cyclodextrin and whey protein solutions (particularly heat-treated and hydrolyzed forms) significantly enhanced extraction efficiency. Compared to traditional water extraction, these systems yielded 1.3–2.3 times more dry matter, 2.9 times higher phenolic content, increased levels of fatty acids, and 2.6–3.1 times greater antioxidant activity. These findings highlight the potential of whey proteins and β -cyclodextrin as efficient and safe extractants for producing functional herbal formulations with pronounced bioactivity.

Keywords: *Echinacea purpurea*, extraction, whey proteins, cyclodextrin, phenolic compounds, antioxidant activity.