

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-2-2567>
<https://elibrary.ru/BGILEZ>

Оригинальная статья
<https://fppt.ru>

Основные факторы, влияющие на экстракцию биологически активных соединений из клеточных культур растений



В. М. Ле*, А. А. Степанова, А. А. Шевель,
Т. А. Ларичев, С. А. Лузянин

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

Поступила в редакцию: 20.03.2025
Принята после рецензирования: 21.05.2025
Принята к публикации: 03.06.2025

*В. М. Ле: ya808@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-9546-6633>
А. А. Степанова: <https://orcid.org/0000-0001-7774-8859>
А. А. Шевель: <https://orcid.org/0009-0000-3630-2826>
Т. А. Ларичев: <https://orcid.org/0000-0003-0166-2527>
С. А. Лузянин: <https://orcid.org/0000-0001-9293-4377>

© В. М. Ле, А. А. Степанова, А. А. Шевель, Т. А. Ларичев,
С. А. Лузянин, 2025



Аннотация.

Экстракция считается начальным этапом в исследовании химического состава растительного материала. Сырые экстракты содержат биоактивные компоненты, широко используемые в фармацевтике, продуктах питания и пищевых добавках. Постоянно ведутся исследования по увеличению выхода биологически активных веществ из растительного сырья, в том числе и лекарственного, и по сокращению времени экстракции. Метод экстрагирования подбирают в зависимости от целевых веществ, которые необходимо извлечь, вида растительного сырья и строения его клеток. Оптимальные условия проведения процесса определяются в ходе эксперимента индивидуально для каждого вида растения. Цель данного исследования – выявление и оптимизация основных факторов экстракции биологически активных соединений из клеточных культур лекарственных растений с учетом технологических ограничений, обусловленных структурой и внутренним строением обрабатываемого объекта. Оптимизация процесса проводилась с помощью метода планирования эксперимента.

Исследуемые образцы – клеточные культуры *Ginkgo biloba* L., *Pulmonaria officinalis* L., *Filipendula ulmaria* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi. Переменными для изучения оптимальных значений параметров экстракции являлись концентрация этилового спирта, температура и время экстракции. Для всех полученных экстрактов определяли оптическую плотность растворов с помощью спектрофотометрического анализа. Выполняли полный факторный эксперимент с тремя варьируемыми параметрами. Дисперсионный анализ использовали для проверки соответствия математической модели, описывающей зависимость значений количества флавоноидов от основных параметров экстракции.

С помощью метода планирования эксперимента были проведены исследования, направленные на оптимизацию основных факторов экстракции биологически активных соединений из растительных клеточных культур лекарственных растений. Объемная доля растворителя – один из выявленных параметров, обеспечивающий максимально полный выход биологически активных соединений из клеточных культур растений, оказалась одинаковой для всех образцов – 70 % этиловый спирт. Оптимальное время и температура экстракции для каллусных культур *Filipendula ulmaria* L. и *Scutellaria baicalensis* Georgi равны 5 ч и 35 °С соответственно. Самыми экономическими выгодными параметрами экстракции являлись значения времени и температуры экстрактов для каллусных культур *Pulmonaria officinalis* L.: 2 ч, 30 °С. Для экстрагирования БАВ из экстрактов культур *Ginkgo biloba* L. оптимальными параметрами определили 6 ч и 55 °С.

Установлены параметры экстрагирования биологически активных соединений из клеточных культур растений, обеспечивающих максимальное извлечение флавоноидов. Результаты эксперимента могут быть использованы в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова. Лекарственные растения, *Ginkgo biloba* L., *Pulmonaria officinalis* L., *Filipendula ulmaria* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi, экстракция, биологически активные соединения, флавоноиды

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Разработка биологически активных добавок, состоящих из метаболитов растительных объектов *in vitro*, для защиты населения от преждевременного старения» (проект FZSR-2024-0008).

Для цитирования: Ле В. М., Степанова А. А., Шевель А. А., Ларичев Т. А., Лузянин С. Л. Основные факторы, влияющие на экстракцию биологически активных соединений из клеточных культур растений. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 2. С. 439–453. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-2-2567>

Factors Affecting Extraction of Bioactive Substances from Plant Cell Cultures



Violeta M. Le^{*}, Anna A. Stepanova, Arina A. Shevel,
Timothy A. Larichev, Sergey L. Luzyanin

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Received: 20.03.2025
Revised: 21.05.2025
Accepted: 03.06.2025

*Violeta M. Le: ya808@yandex.ru,
<https://orcid.org/0000-0002-9546-6633>
Anna A. Stepanova: <https://orcid.org/0000-0001-7774-8859>
Arina A. Shevel: <https://orcid.org/0009-0000-3630-2826>
Timothy A. Larichev: <https://orcid.org/0000-0003-0166-2527>
Sergey L. Luzyanin: <https://orcid.org/0000-0001-9293-4377>

© V.M. Le, A.A. Stepanova, A.A. Shevel, T.A. Larichev, S.L. Luzyanin, 2025



Abstract.

Extraction is the initial stage in the study of the chemical composition of plant material. Crude extracts contain bioactive components that can be used in pharmaceuticals, food products, and food additives. Advanced extraction methods produce more yield and consume less time. The choice of a perfect extraction method depends on the target substance, the type of plant material, and its cell structure. Optimal extraction conditions are determined experimentally for each plant species. In this research, we revealed the main extraction factors for cell cultures of medicinal plants, depending on the technological limitations caused by the internal structure of the raw material. The bioactive extraction procedure was optimized using the experimental planning method.

The study featured cell cultures of *Ginkgo biloba* L., *Pulmonaria officinalis* L., *Filipendula ulmaria* L., and *Scutellaria baicalensis* Georgi. The variables to be studied during the extraction experiments included ethyl concentration, temperature, and time. All the extracts were tested for optical density using spectrophotometry, with a full factorial experiment with three variable parameters. The data obtained underwent the analysis of variance (ANOVA) to check the mathematical model that defined the correlation between the flavonoid yield and the main extraction parameters.

Using the experimental planning method, we optimized the main factors that facilitated the extraction of bioactive compounds from medicinal plant cell cultures. The volume fraction of the solvent proved to be associated with the largest yield of bioactive compounds from the plant cell cultures. Its optimal amount was the same across the samples (70% ethyl alcohol). The optimal extraction time and temperature for callus cultures of *Filipendula ulmaria* L. and *Scutellaria baicalensis* Georgi were 5 h and 35°C, respectively. The callus cultures of *Pulmonaria officinalis* L. demonstrated the most economically advantageous extraction parameters, i.e., 2 h and 30°C. The optimal extraction parameters for *Ginkgo biloba* L. were 6 h and 55°C.

The study revealed the optimal parameters for the extraction of bioactive compounds from medicinal plant cell cultures with the maximal flavonoid yield. The results be used in further research.

Keywords. Medicinal plants, *Ginkgo biloba* L., *Pulmonaria officinalis* L., *Filipendula ulmaria* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi, extraction, biologically active compounds, flavonoids

Funding. The research was part of State Assignment on the Development of biologically active anti-aging additives from plant metabolites *in vitro* (project FZSR-2024-0008).

For citation: Le VM, Stepanova AA, Shevel AA, Larichev TA, Luzyanin SL. Factors Affecting Extraction of Bioactive Substances from Plant Cell Cultures. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(2):439–453. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-2-2567>

Введение

Лекарственные растения имеют широкий спектр применения. Сбор и обработка являются необходимыми первоначальными этапами для применения растительного сырья в различных отраслях промышленности. Например, выделенные БАВ растений могут использоваться в пищевой промышленности в качестве

биологически активных добавок для напитков, батончиков, мучных изделий и т. д.; в медицине применяются в настойках, лекарственных препаратах и др.; в сельском хозяйстве помогают бороться с вредителями и паразитами и повышать всхожесть некоторых культур [1–4]. Система подготовки лекарственных растений включает в себя правильный и своевременный сбор,

проверку подлинности, адекватную сушку и измельчение. Затем, в зависимости от целей применения биологически активного соединения, может следовать экстракция, фракционирование и его изоляция.

В вопросе исследования химического состава растительного материала экстракция считается начальным этапом, направленным на получение сырых экстрактов, в которые входят биоактивные компоненты, широко используемые в фармацевтике, продуктах питания и пищевых добавках.

Скорость процесса экстракции биоактивных веществ из растительного сырья зависит от выбранной технологии экстрагирования, формы и размера клеток, температуры и продолжительности процесса, соотношения между количеством сырья и экстрагентом. Благодаря увеличению значений температуры происходит денатурация клеточных мембран, вследствие чего осуществляется выход компонентов растительной клетки в раствор. Повышение температуры также позволяет ускорить процесс экстрагирования и повысить степень экстракции БАВ при наименьшей продолжительности процесса и меньшей концентрации экстрагента.

Продолжительность и температура экстракции являются важными параметрами, которые необходимо оптимизировать в том числе для минимизации энергетических затрат процесса [5–8]. Многие авторы сходятся во мнении, что повышение рабочей температуры способствует экстракции, повышая как растворимость обрабатываемого вещества, так и коэффициент диффузии, однако за пределами определенного значения биоактивные соединения могут быть денатурированы. Данные о продолжительности экстракции довольно противоречивы, т. к. варьируются в разных источниках [9–13]. Отмечается взаимосвязь температуры и продолжительности: в основном при максимально высоких температурах выбирают низкую продолжительность экстракции и, наоборот, при менее высоких температурах продолжительность процесса увеличивают [14–18].

Также на скорость протекания процесса экстракции влияет растворитель (экстрагент), выбор которого зависит от вида растительного объекта, природы биоактивных веществ и доступности экстрагента [11–13, 19]. Выход полярных соединений из клетки осуществляется за счет полярных растворителей. Вода, метанол и этанол – наиболее популярные из них. В то же время неполярные растворители (гексан, дихлорметан и др.) применяются с целью экстрагирования неполярных соединений [15, 20–25].

Каждый экстрагент имеет как преимущества, так и недостатки. Выбор экстрагента зависит от продукта, который планируется получить на выходе. Однако существуют факторы, которые следует учитывать при подборе растворителя: он должен быть селективным, т. е. извлекать активный компонент и оставлять остальной материал; безопасным; наименее затратным; растворитель не должен вступать в реакцию с экстрактом,

быстро отделяться от экстракта, легко проникать в клеточный материал, иметь низкую температуру кипения для предотвращения деградации под воздействием тепла [26]. Рисунки 1 и 2 показывают, что, как и параметры проведения процесса, метод экстрагирования влияет на выход искомого вещества [11–13, 19, 27–32].

Одним из перспективных растительных объектов считается гинкго двулопастный *Ginkgo biloba* L. В исследовании Ле и др. [33] методом жидкостной хроматографии в лекарственном растении были идентифицированы флавоноиды (кверцетин, кемпферол и изорамнетин), терпеноиды (билобалид и гинголиды), биофлавоноиды (гинкгетин, сциадопитизин и изогинкгетин) и органические кислоты (гинголевая кислота). За счет богатого химического состава *G. biloba* обладает широким спектром терапевтической активности.

Экстракты *G. biloba* являются одними из наиболее часто используемых в традиционной медицине. Noor-E-Tabassum *et al.* [34] описали применение листьев и других частей растения в медицинских целях. В традиционной китайской медицине листья *G. biloba* применяются для лечения неврологических заболеваний, нарушений органов кровообращения и заболеваний дыхательных путей. Экстракты листьев *G. biloba* находят применение в индустрии питания в качестве пищевых добавок. Орехи *G. biloba* употреблялись в пищу как гарнир, а также традиционно использовались для лечения кашля, мокроты, лихорадки, зубных болей, кожных заболеваний, гиперактивного мочевого пузыря. Семена *G. biloba* оказывают гипохолестеринемическое действие на липидный обмен веществ.

Pulmonaria officinalis L. – растение, обладающее различными видами биологической активности: антиоксидантной, противовоспалительной, антикоагулянтной, антибактериальной и нейропротекторной, находит широкое применение в различных отраслях народного хозяйства. Биологическая активность растения обуславливается наличием в составе фитоактивных компонентов (сапонины, танины, аскорбиновые кислоты, кремниевые кислоты, рутин, каротин, витамин С, аллантонины, алкалоиды и жирные кислоты). Krzyżanowska-Kowalczyk *et al.* представили состав некоторых метаболитов фенольных фракций, выделенных из *P. officinalis* [35]. В традиционной медицине траву *P. officinalis* используют в качестве смягчающего, противокашлевого, отхаркивающего, противомикробного, мочегонного, очищающего и противовоспалительного средства, а также применяют при респираторных заболеваниях и расстройствах мочевыделительной системы.

Filipendula ulmaria L. – лекарственное растение, известное своими лечебными свойствами, обусловленными содержанием полифенолов противовоспалительного, антиоксидантного и антимикробного характера. В исследовании [36] приведен компонентный состав *F. ulmaria*, состоящий из флавоноидов, фенольных гликозидов, дубильных веществ и эфирных масел.

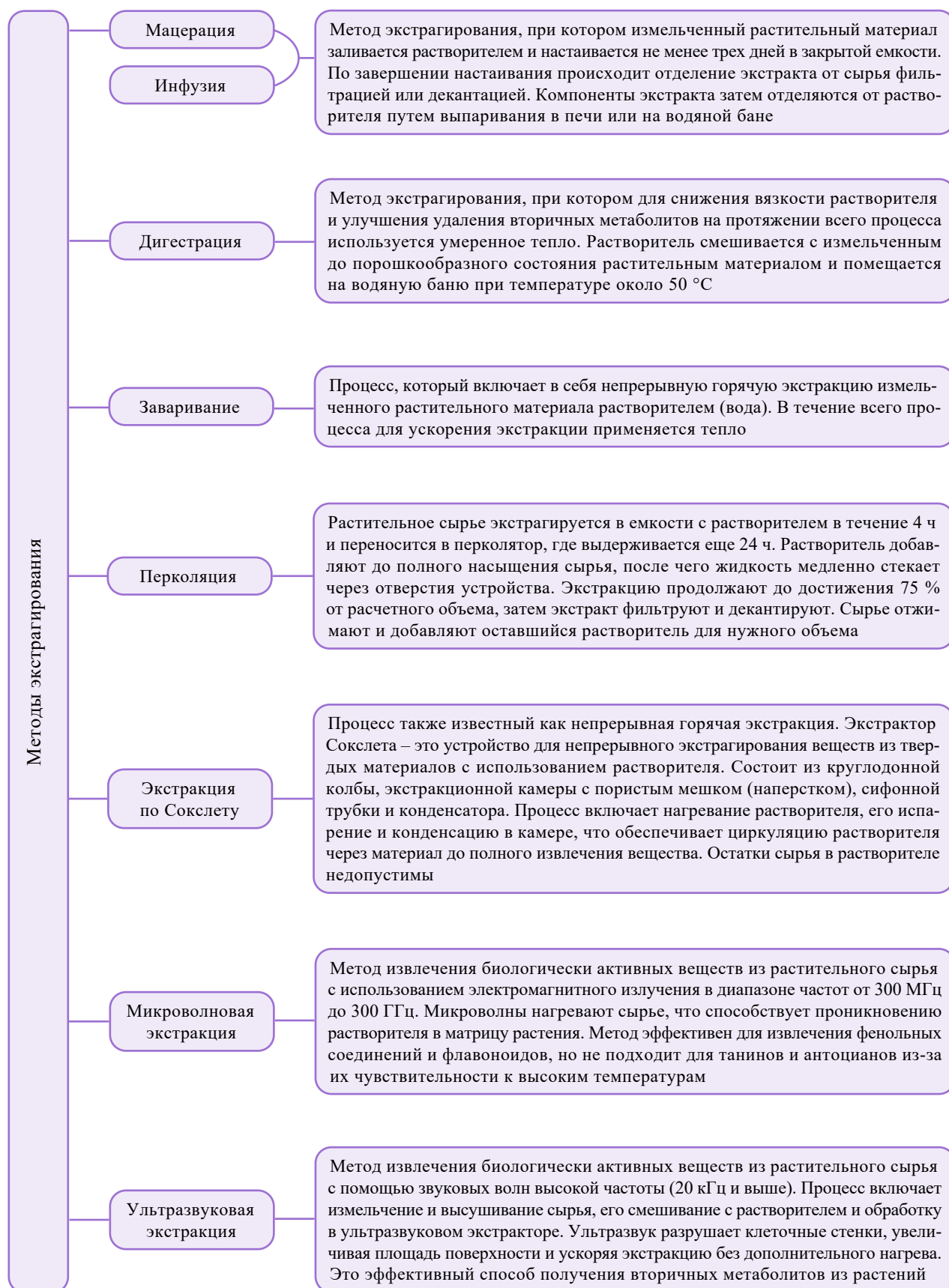


Рисунок 1. Наиболее распространенные методы экстрагирования биологически активных соединений

Figure 1. Popular methods of bioactive extraction

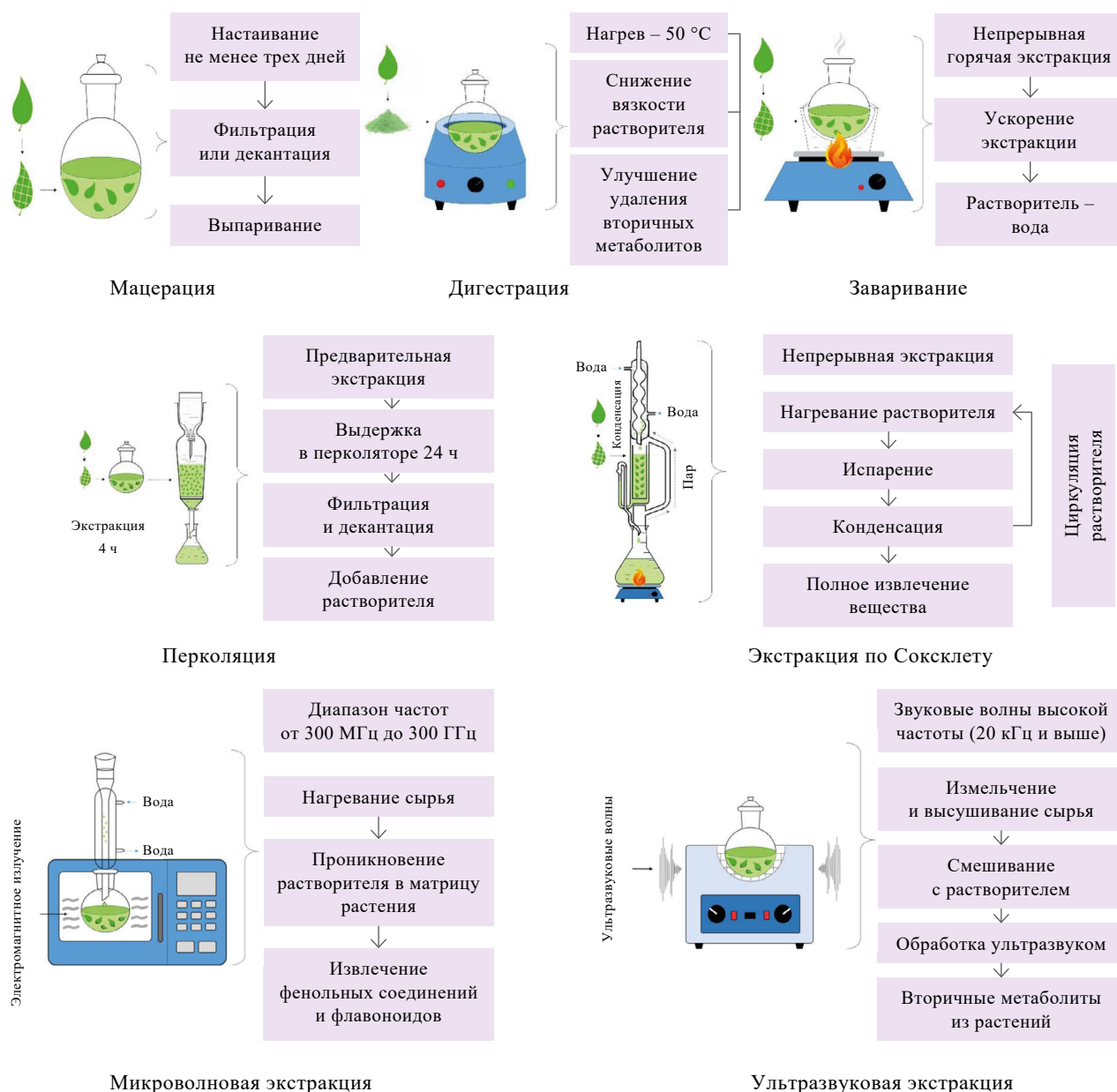


Рисунок 2. Методы экстрагирования биологически активных соединений (схемы)

Figure 2. Popular methods of bioactive extraction (schemes)

В народной медицине экстракты цветков, листьев и корней *F. ulmaria* используются в виде отваров, настоек и мазей для лечения различных заболеваний. Цветки данного растения официально рекомендованы к применению во врачебной практике из-за противовоспалительных и ранозаживляющих свойств, которые помогают справиться с ревматизмом, подагрой, простудой, лихорадкой и язвенной болезнью желудка [37].

Scutellaria baicalensis Georgi еще один представитель лекарственных трав, широко применяемых в различных отраслях промышленности благодаря биологическим и фармакологическим характеристикам. Корень растения содержит большое количество фитокомпонен-

тов – флавоноидов, гликозидов и полисахаридов [38]. *S. baicalensis* обладает высокой биологической активностью, что выражается в противовоспалительном, противовирусном, противоопухолевом, антиоксидантном и антибактериальном действии, и может бороться с инфекциями дыхательных путей, пневмонией, колитом, гепатитом и аллергическими реакциями [39].

Оптимальные условия проведения процесса определяются в ходе эксперимента индивидуально для каждого вида растения. Современные тенденции характеризуются активным развитием методик на основе математического моделирования, особенно когда перед исследователями стоят задачи по изучению большого

числа объектов с многочисленными заданными параметрами условий эксперимента.

Температура как параметр экстракции повышает эффективность процесса извлечения биологически активных соединений, потому что обеспечивает увеличение растворимости и массопереноса биологически активных соединений. Методы экстракции с применением температуры повышают проницаемость клеточных мембран и разрушают полифенольно-липопротеиновые соединения, что способствует высвобождению и извлечению биологически активных соединений. Температура влияет на быстроту кинетики экстракции и ее эффективность. Но необходимо учитывать, что биологически активные соединения могут быть термочувствительными, что ограничивает интенсификацию процесса экстрагирования за счет быстрого испарения легколетучих экстрагентов, потери некоторых летучих биологически активных соединений, а также разрушения термолабильных БАС.

Природа растворителя считается одним из важных факторов на этапе получения биологически активных соединений и имеет особое влияние на разнообразие и выход вторичных метаболитов. Отдельное внимание уделяется полярности и вязкости растворителя. В настоящем исследовании в качестве растворителя был взят этанол, т. к. он является безопасным и нетоксичным растворителем, который соответствует принципам зеленой химии, также к этой категории относятся вода и углекислый газ [40].

От выбора параметров экстракции будет зависеть конечный результат. Извлечение биологически активных соединений и их примесей имеет решающее значение, поскольку напрямую влияет на выход и чистоту соединений. Оптимальные параметры позволяют провести экстракцию максимально эффективно, что может способствовать сокращению времени экстракции, получению более чистого продукта с минимальным содержанием примесей и т. д.

Цель работы – посредством метода планирования эксперимента определить и оптимизировать ключевые факторы, влияющие на процесс и скорость экстракции биологически активных соединений из клеточных культур лекарственных растений, с учетом технологических ограничений, связанных со структурой и внутренним строением обрабатываемого объекта.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись образцы растительных клеточных культур *Ginkgo biloba* L., *Pulmonaria officinalis* L., *Filipendula ulmaria* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi.

Для исследований взяты каллусные культуры клеток семян *G. biloba* семейства *Ginkgoaceae* Engl., *P. officinalis* семейства *Boraginaceae* Juss., *F. ulmaria* семейства *Rosaceae* Juss., *S. baicalensis* семейства *Lamiaceae* Martinov, культивируемые в условиях *in vitro*. Для индукции каллусных культур клеток использовали сте-

рильные проростки с 2–4 настоящими листьями. Образование первичных каллусов наблюдали на 7–14 сутки культивирования. Для экспериментов отобраны наиболее хорошо растущие рыхлые каллусные культуры.

Пробоподготовка образцов заключалась в измельчении высушенного растительного материала клеточных культур растений в лабораторной мельнице ЛЗМ-1М (ГНУ ВНИИЗерна, Россия) и просеивании через сито с размером пор 1 мм. Далее мелкодисперсный порошок массой 3 г заливали 260 мл этилового спирта (Кемеровская фармацевтическая фабрика, Россия) и подвергали экстракции в статических условиях.

Экстракция биологически активных компонентов из растительного материала клеточных культур проводилась в двукратной повторности на водяной бане ПЭ-4310 (Экросхим, Россия) с обратным холодильником. Для определения влияния условий экстрагирования на кинетику процесса в качестве независимых переменных использовались концентрация этилового спирта, температура экстракции, время экстракции. Значения концентрации этилового спирта как выбранного параметра одной из независимых переменных для эксперимента были равны 30, 50 и 70 %.

Определение содержания общей суммы флавоноидов для всех видов образцов после экстракции проводили по оптической плотности на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ Спектр, Россия). Проводили как прямую, так и дифференциальную спектрофотометрию с использованием реактивов $AlCl_3$ и H_3BO_3 , позволяющих выявить флавоноиды, а также их структурные особенности, такие как положение гидроксильных групп и остатков сахаров. Для флавоноидов в УФ-спектре характерны две интенсивные полосы поглощения: в длинноволновой области 320–380 нм и в коротковолновой области 240–270 нм.

Дифференциальная спектрофотометрия, которая основана на реакции комплексообразования флавоноидов с раствором алюминия хлорида при длине волны 400 ± 5 нм, осуществлялась для определения флавоноидов в образце *P. officinalis*. Эта реакция является селективной для флавоноидов и приводит к bathochromному сдвигу в длинноволновую область, что дает возможность отделить флавоноиды от большой группы фенольных соединений (изофлавоноиды, фенолоксилоты). Количественное определение суммы флавоноидов проводили с использованием удельного показателя поглощения комплекса рабочего стандартного образца рутин с 5 % раствором алюминия хлорида в рамках исследования [41].

Значения оптической плотности применяли для проведения многофакторного эксперимента с тремя вариabельными параметрами (табл. 1). Результаты обрабатывали с использованием модуля дизайна процессов программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США). Согласно предварительным исследованиям, функции отклика должны быть нелинейными, поэтому уровней варьирования три: –1, 0 и +1.

Таблица 1. Постановка многофакторного эксперимента

Table 1. Multifactorial experiment: design

Параметр	Переменная	Уровень варьирования		
		–1	0	+1
Время экстракции, ч	x_1	2	4	6
Температура, °C	x_2	30	50	70
Концентрация этилового спирта, %	x_3	30	50	70

В качестве параметров независимых переменных приняты время экстрагирования со значениями: 2, 4 и 6 ч; температура экстракции – 30, 50, 70 °C; концентрация экстрагента – 30, 50, 70 %. После определения пределов изменения факторов нижнему присвоили значение –1, среднему – 0 и верхнему пределу – 1. Данные многофакторного эксперимента по оптимизации условий проведения процесса экстракции биологически активных соединений из растительных образцов подвергали регрессионному анализу.

Результаты и их обсуждение

В таблице 2 представлены результаты влияния заданных параметров на полноту экстракции флавоноидов из экстрактов каллусных культур *Ginkgo biloba* L., *Pulmonaria officinalis* L., *Filipendula ulmaria* L. и *Scutellaria baicalensis* Georgi. Данные получены посредством спектрофотометрических исследований флавоноидов в УФ-спектре.

С увеличением времени и концентрации этилового спирта содержание флавоноидов в экстракте *G. biloba* увеличивалось почти в два раза.

Для полноты экстракции флавоноидов из *P. officinalis* достаточно 2 ч и повышенной концентрации этилового спирта. Образец экстракта из каллусных культур *F. ulmaria* показал неоднозначные результаты, однако можно предположить, что с учетом погрешности достаточно 2 ч экстракции при повышенном содержании этилового спирта. Для экстрактов каллусных культур *S. baicalensis* полноту выхода БАВ обеспечивают 70 % этиловый спирт и 6 ч экстракции.

Результаты зависимости оптической плотности, а соответственно, и количества извлеченных флавоноидов от температуры процесса экстрагирования биологически активных соединений из *G. biloba*, *S. baicalensis*, *F. ulmaria*, *P. officinalis* представлены в виде кривых на рисунке 3.

Существенное влияние на скорость процесса экстрагирования оказывала температура экстракции. По кривым зависимости процесса экстрагирования БАВ от температуры можно судить о кинетике процесса. На полноту экстракции повышение температуры оказывало влияние только в случае с образцом *Ginkgo biloba* при длительности процесса 4 и 6 ч (рис. 3).

Для рационального и логически взаимосвязанного планирования экспериментальных исследований по экстракции БАВ из культур растений был проведен многофакторный эксперимент для исследуемых образцов.

В настоящей работе набор данных был следующий: наблюдаемый отклик – оптическая плотность, Y_i – целевая функция, i – номер исследуемого образца (1 – *Ginkgo biloba* L.; 2 – *Pulmonaria officinalis* L.; 3 – *Filipendula ulmaria* L.; 4 – *Scutellaria baicalensis* Georgi). Данные многофакторного эксперимента представлены в таблице 3.

Результаты многофакторного эксперимента обрабатывали с использованием модуля дизайна процессов программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США).

Согласно результатам многофакторного эксперимента, при заданных значениях оптической плотности влияние рассматриваемых факторов (время, температура и концентрация растворителя) на целевую функцию неоднозначное. Определяющим фактором выступает видовая принадлежность лекарственного растения. Поэтому при исследовании процесса экстракции необходимо учитывать влияние всех трех факторов на целевую функцию процесса. Также при статистическом анализе не стоит отбрасывать факторы, определенные как незначимые, из рассмотрения в уравнениях регрессии: они могут добавить новой информации об изучаемом явлении. Данные многофакторного эксперимента по оптимизации условий проведения процесса экстракции флавоноидов лекарственных растений подвергли регрессионному анализу. В некоторых образцах лекарственных растений влияние факторов сокращалось до одного.

Подобранные на основании выводов многофакторного эксперимента рекомендуемые параметры для каждого исследуемого образца *in vitro* лекарственного растения использовали в дальнейших исследованиях. Таким образом, в последующем для каждого растения использовали 9 экстрактов, полученных при параметрах, приведенных в таблице 4.

Дисперсионный анализ использовался для проверки соответствия математической модели, описывающей зависимость значений количества флавоноидов от основных параметров экстракции. Полученные результаты для всех образцов экстрактов культур клеток лекарственных растений свидетельствовали о соответствии полученной математической модели. По результатам проведенных исследований для извлечения наибольшего количества флавоноидов из экстрактов рекомендованы следующие значения параметров процесса экстракции (табл. 5).

Рассмотрено влияние основных факторов на выход флавоноидов в процессе экстракции из клеточных культур растений. Экспериментально обоснованы температура, концентрация и время проведения процесса экстрагирования, установлена зависимость значений количества флавоноидов от основных параметров экстракции.

Таблица 2. Влияние заданных параметров на полноту экстракции флавоноидов из экстрактов культур лекарственных растений *in vitro* ($P = 95\%$)Table 2. Effect of extraction parameters on flavonoid yield from medicinal plant extracts *in vitro* ($P = 95\%$)

<i>Ginkgo biloba</i> L.	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	30								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,4172 ± 0,0025	0,3698 ± 0,0036	0,4014 ± 0,0030	0,3980 ± 0,0053	0,4691 ± 0,0053	0,5029 ± 0,0033	0,3720 ± 0,0010	0,4917 ± 0,0036	0,5797 ± 0,0041
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	50								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,2163 ± 0,0010	0,4510 ± 0,0035	0,4194 ± 0,0010	0,3946 ± 0,0015	0,4059 ± 0,0010	0,5436 ± 0,0022	0,4465 ± 0,0030	0,5413 ± 0,0020	0,5278 ± 0,0029
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	70								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
<i>Pulmonaria officinalis</i> L.	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,3111 ± 0,0022	0,3630 ± 0,0010	0,5977 ± 0,0015	0,4578 ± 0,0028	0,5278 ± 0,0019	0,7896 ± 0,0031	0,4510 ± 0,0034	0,4759 ± 0,0028	0,4826 ± 0,0010
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	30								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,8724 ± 0,0056	0,7467 ± 0,0030	1,4159 ± 0,0061	1,0550 ± 0,0074	1,0660 ± 0,0075	1,6016 ± 0,0077	0,7995 ± 0,0070	0,8519 ± 0,0063	1,0895 ± 0,0056
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	50								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		1,1202 ± 0,0059	1,0279 ± 0,0036	1,2398 ± 0,0077	1,1019 ± 0,0063	1,0940 ± 0,0049	1,0825 ± 0,0070	0,9918 ± 0,0039	0,9135 ± 0,0030	1,2322 ± 0,0066
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	70								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
<i>Filipendula ulmaria</i> L.	Содержание флавоноидов, мг/мл		1,5332 ± 0,0085	1,2917 ± 0,0072	1,6027 ± 0,0080	1,2884 ± 0,0074	1,2631 ± 0,0065	1,4459 ± 0,0057	1,2549 ± 0,0061	0,9313 ± 0,0060	1,4982 ± 0,0073
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	30								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,7790 ± 0,0058	2,2744 ± 0,0100	3,0519 ± 0,0321	0,8832 ± 0,0066	2,5448 ± 0,0132	2,6815 ± 0,0299	0,7273 ± 0,0030	2,5281 ± 0,0126	4,0131 ± 0,0356
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	50								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2 ч	4 ч	6 ч	2 ч	4 ч	6 ч	2 ч	4 ч	6 ч
	Содержание флавоноидов, мг/мл		1,1514 ± 0,0051	3,1343 ± 0,0311	4,4108 ± 0,0665	1,1751 ± 0,0062	3,0207 ± 0,0226	3,8165 ± 0,0420	1,0994 ± 0,0048	3,0769 ± 0,0301	3,4617 ± 0,0310
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	70								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		3,0916 ± 0,0225	3,5590 ± 0,0423	5,2950 ± 0,0725	2,4136 ± 0,0099	3,6098 ± 0,0459	4,1499 ± 0,0621	3,0284 ± 0,0235	4,1636 ± 0,0627	4,7847 ± 0,0632

Продолжение таблицы 2

<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	30								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,3687 ± 0,0066	0,5756 ± 0,0053	0,4939 ± 0,0038	0,3238 ± 0,0032	0,3319 ± 0,0033	0,3244 ± 0,0025	0,3014 ± 0,0028	0,2637 ± 0,0014	0,2249 ± 0,0021
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	50								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,6221 ± 0,0068	0,3734 ± 0,0026	0,4980 ± 0,0056	0,4199 ± 0,0057	0,3847 ± 0,0020	0,4172 ± 0,0030	0,2299 ± 0,0050	0,3420 ± 0,0010	0,3305 ± 0,0010
	Параметры экстракции	Концентрация этилового спирта, %	70								
		Температура, °C	30			50			70		
		Время, ч	2	4	6	2	4	6	2	4	6
	Содержание флавоноидов, мг/мл		0,7370 ± 0,0070	0,6417 ± 0,0065	0,6061 ± 0,0067	0,5181 ± 0,0066	0,3330 ± 0,0020	0,3899 ± 0,0029	0,3948 ± 0,0040	0,3549 ± 0,0047	0,3836 ± 0,0026

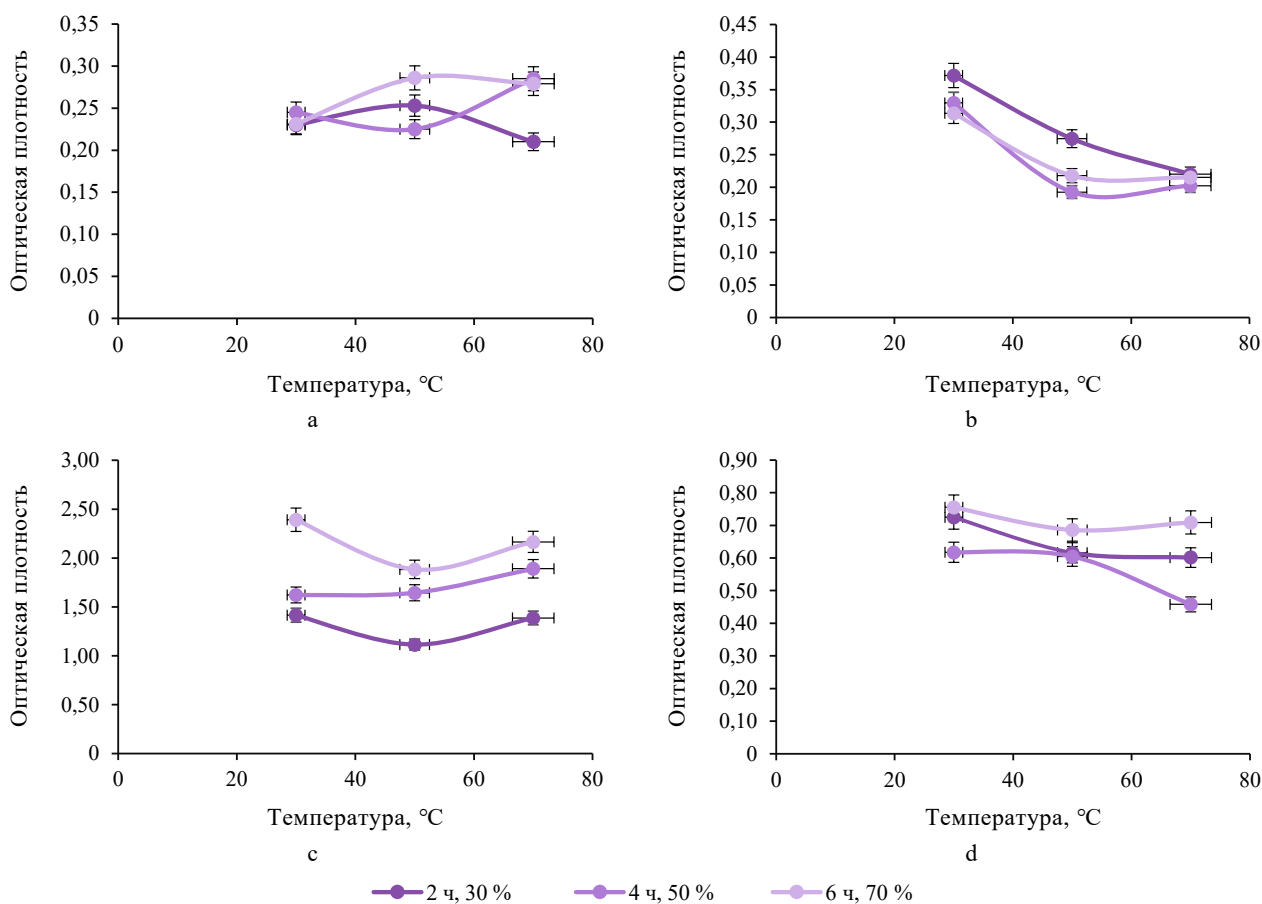


Рисунок 3. Зависимость процесса экстрагирования биологически активных соединений от температуры ($p \leq 0,05$): а – *Ginkgo biloba* L., б – *Pulmonaria officinalis* L., в – *Scutellaria baicalensis* Georgi, д – *Filipendula ulmaria* L. (Для построения кривых зависимости оптической плотности от температуры взяты результаты максимального содержания флавоноидов за 2, 4 и 6 ч)

Figure 3. Effect of extraction temperature ($p \leq 0.05$) on bioactive yield: а – *Ginkgo biloba* L., б – *Pulmonaria officinalis* L., в – *Scutellaria baicalensis* Georgi, д – *Filipendula ulmaria* L. (The dependence curves of optical density and temperature involved the maximal content of flavonoids for 2, 4, and 6 h)

Таблица 3. Данные многофакторного эксперимента

Table 3. Multifactorial experiment: data

Уровни факторов			Оптическая плотность			
x_1	x_2	x_3	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
2,0	30,0	30,0	0,230	0,2085	0,4317	0,3903
2,0	30,0	50,0	0,253	0,1886	0,5126	0,4365
2,0	30,0	70,0	0,210	0,1787	0,3994	0,3674
2,0	50,0	30,0	0,209	0,3002	0,3760	1,0529
2,0	50,0	50,0	0,253	0,1922	0,5175	1,1727
2,0	50,0	70,0	0,263	0,1620	0,4226	1,1653
2,0	70,0	30,0	0,223	0,2640	0,6725	1,3974
2,0	70,0	50,0	0,268	0,1889	0,7548	1,2333
2,0	70,0	70,0	0,302	0,1448	0,5279	1,8233
4,0	30,0	30,0	0,141	0,3208	0,5415	0,5553
4,0	30,0	50,0	0,22	0,2312	0,5334	0,5658
4,0	30,0	70,0	0,243	0,1470	0,4846	0,5323
4,0	50,0	30,0	0,245	0,2106	0,5006	1,4339
4,0	50,0	50,0	0,225	0,2156	0,5299	1,3836
4,0	50,0	70,0	0,285	0,1967	0,4499	1,4085
4,0	70,0	30,0	0,231	0,2658	0,5945	1,9995
4,0	70,0	50,0	0,286	0,2300	0,5248	1,7362
4,0	70,0	70,0	0,279	0,1916	0,5911	1,5790
6,0	30,0	30,0	0,183	0,3717	0,7245	1,4150
6,0	30,0	50,0	0,248	0,2747	0,6160	1,1146
6,0	30,0	70,0	0,245	0,2201	0,6012	1,3870
6,0	50,0	30,0	0,206	0,3295	0,6175	1,6221
6,0	50,0	50,0	0,279	0,1927	0,6048	1,6446
6,0	50,0	70,0	0,256	0,2024	0,4578	1,8900
6,0	70,0	30,0	0,310	0,3137	0,7553	2,3913
6,0	70,0	50,0	0,395	0,2179	0,6858	1,8839
6,0	70,0	70,0	0,259	0,2151	0,7090	2,1652

Примечание: x_1 – время экстрагирования, ч; x_2 – температура экстракции, °C; x_3 – концентрация экстрагента, %.

Note: x_1 – extraction time, hour; x_2 – extraction temperature, °C; x_3 – extractant concentration, %.

Таблица 4. Параметры выделения флавоноидов из экстрактов лекарственных растений

Table 4. Isolation parameters for flavonoids from medicinal plant extracts

Образец	Параметры экстракции	Значение параметра								
<i>Ginkgo biloba</i> L.	Концентрация этилового спирта, %	30	30	30	50	50	50	70	70	70
	Температура, °C	50	70	70	50	70	70	50	50	55
	Время, ч	4	4	6	4	4	6	4	2	6
<i>Pulmonaria officinalis</i> L.	Концентрация этилового спирта, %	30	30	50	50	50	70	70	70	70
	Температура, °C	30	30	30	50	30	30	30	30	50
	Время, ч	6	4	2	2	6	2	4	6	2
<i>Filipendula ulmaria</i> L.	Концентрация этилового спирта, %	30	30	70	70	70	70	70	70	70
	Температура, °C	30	50	30	30	35	30	50	50	50
	Время, ч	6	6	2	4	5	6	2	6	6
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Концентрация этилового спирта, %	30	50	50	70	70	70	70	70	70
	Температура, °C	70	30	50	30	50	50	70	70	35
	Время, ч	6	6	6	6	4	6	4	6	5

Таблица 5. Значения параметров процесса экстракции по результатам дисперсионного анализа (ANOVA)

Table 5. ANOVA extraction parameters

Образец	x_1 (ч)	x_2 (°C)	x_3 (%)
<i>Ginkgo biloba</i> L.	6	55	70
<i>Pulmonaria officinalis</i> L.	2	30	70
<i>Filipendula ulmaria</i> L.	5	35	70
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	5	35	70

Зависимость значений оптической плотности от технологических параметров описали уравнениями регрессий (1)–(4):

$$Y_1 = 0,0338 - 0,0408x_1 - 0,0004x_2 + 0,0096x_3 + 0,0039x_1^2 + 0,0000x_2^2 - 0,00004x_3^2 + 0,0004x_1x_2 - 0,0001x_1x_3 - 0,0000x_2x_3 \quad (1)$$

$$Y_2 = 0,4498 + 0,0220x_1 - 0,0021x_2 - 0,0078x_3 + 0,0020x_1^2 + 0,0000x_2^2 + 0,0001x_3^2 - 0,0003x_1x_2 - 0,0002x_1x_3 + 0,0000x_2x_3 \quad (2)$$

$$Y_3 = 0,6112 - 0,0036x_1 - 0,0178x_2 + 0,0096x_3 + 0,0123x_1^2 + 0,0002x_2^2 - 0,0001x_3^2 - 0,0008x_1x_2 - 0,0004x_1x_3 + 0,0000x_2x_3 \quad (3)$$

$$Y_4 = -1,0125 + 0,0683x_1 + 0,0697x_2 - 0,0251x_3 + 0,0301x_1^2 - 0,0004x_2^2 + 0,0003x_3^2 - 0,0015x_1x_2 - 0,0010x_1x_3 - 0,0000x_2x_3 \quad (4)$$

Значения коэффициентов детерминации R^2 для растений *G. biloba*, *P. officinalis*, *F. ulmaria* и *S. baicalensis* составляют 0,696; 0,794; 0,934; 0,795 соответственно. Эти значения показывают, что основными факторами, влияющими на процесс экстракции БАВ, являются продолжительность, температура и концентрация растворителя, а также что уравнения регрессий (1)–(4) обеспечивают от удовлетворительной до отличной аппроксимации данных.

Особая ценность уравнений статистической регрессии заключается не столько в их точности при описании изучаемых процессов, сколько в тенденциях, которые они помогают выявить. Для образцов *S. baicalensis* и *P. officinalis* продолжительность процесса определяет прямую зависимость, т. е. с увеличением продолжительности экстракции оптическая плотность увеличивалась. Температура раствора для образцов каллусных культур *P. officinalis* и *S. baicalensis* определяет прямую зависимость (с увеличением температуры экстракции увеличивалась оптическая плотность раствора), для остальных – обратную.

Концентрация растворителя для образцов *G. biloba* и *F. ulmaria* определяет прямую зависимость. Для образцов каллусных культур растений совокупное влияние продолжительности и температуры имеет прямую зависимость, а концентрации растворителя и продолжительности, растворителя и температуры – обратную. Если учесть только значимые факторы, то из уравнений (1)–(4) получим:

$$Y_1 = 0,0338 + 0,0096x_3 - 0,0000x_3^2 \quad (1')$$

$$Y_2 = 0,4498 - 0,0078x_3 \quad (2')$$

$$Y_3 = 0,6112 - 0,0178x_2 + 0,0123x_1^2 + 0,0002x_2^2 - 0,0008x_1x_2 \quad (3')$$

$$Y_4 = -1,0125 + 0,0697x_2 - 0,0004x_2^2 \quad (4')$$

В таблице 6 приведены наибольшие значения оптической плотности экстрактов БАВ каллусных культур лекарственных растений по результатам анализа критических точек функций (1)–(4) трех независимых переменных с учетом 5 % статистической погрешности.

При данных значениях варьируемых параметров экспериментально установленные значения оптической плотности экстрактов составили от 0,1 до 1,8.

Для того, чтобы проверить работоспособность математической модели, которая описывает влияние таких контролируемых переменных факторов, как время экстракции, температура раствора и концентрация растворителя, на величину оптической плотности (1)–(4) или (1')–(4') провели дисперсионный анализ (ANOVA). Результаты проведенного анализа для каждого образца лекарственных растений свидетельствовали об адекватности полученной математической модели.

Профили желательности представляют собой зависимость между предполагаемыми откликами величины оптической плотности раствора и желательностью откликов от 0 (очень нежелательно) до 1 (очень желательно). Анализ профилей желательности показал, что максимальная оптическая плотность раствора достигается при значении технологических параметров процесса, представленных в таблице 6.

Таблица 6. Критические значения параметров функций регрессий значений оптической плотности экстрактов БАВ каллусных культур лекарственных растений

Table 6. Critical values for regression functions of optical density of bioactive extracts obtained from medicinal callus cultures

Образец	x_1 (ч)	x_2 (°C)	x_3 (%)
<i>Ginkgo biloba</i> L.	6,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0	70,0 ± 0,0
<i>Pulmonaria officinalis</i> L.	2,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0	69,0 ± 0,0
<i>Filipendula ulmaria</i> L.	2,5 ± 0,5	41,0 ± 2,0	45,0 ± 2,0
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	2,5 ± 0,1	70,0 ± 0,0	48,0 ± 2,0

Таблица 7. Рекомендуемые значения параметров процесса экстракции биологически активных соединений из образцов *in vitro* лекарственных растенийTable 7. Optimal values for bioactive extraction from medicinal plant samples *in vitro*

Образец	x_1 (ч)	x_2 (°C)	x_3 (%)
<i>Ginkgo biloba</i> L.	6	55	70
<i>Pulmonaria officinalis</i> L.	2	30	70
<i>Filipendula ulmaria</i> L.	5	35	70
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	5	35	70

На основе результатов теоретических и экспериментальных исследований в рамках рассматриваемых выборок значений для достижения максимальной оптической плотности рекомендованы следующие рациональные значения технологических параметров процесса экстракции (табл. 7).

Два параметра процесса экстрагирования оказались различными для всех объектов исследования – время экстракции и температура.

При выборе *G. biloba* в качестве объекта обработки для достижения максимального количества экстрагируемых биологически активных соединений по результатам теоретических и экспериментальных исследований рекомендуются следующие параметры процесса экстракции: 70 % этиловый спирт, продолжительность 6 ч и температура 55 °C.

Для *F. ulmaria* и *S. baicalensis* оптимальные параметры выделения биологически активных соединений составляют 70 % этиловый спирт, продолжительность экстракции – 5 ч при 35 °C. Температура экстракции характеризуется относительно невысокими значениями для этих двух объектов, но время экстракции достаточно продолжительное, что, предположительно, обусловлено структурными особенностями расточенного материала и влияния указанной температуры экстракции.

Для образца *P. officinalis* оптимальные параметры экстракции – 70 % этиловый спирт, продолжительность 2 ч при температуре 30 °C.

От выбора как совокупности технологических параметров, так и их значений зависит эффективность технологического процесса, в том числе и экстракции биологически активных веществ из растительного сырья, которая играет важную роль в разных условиях: как в лабораторных, так и в производственных. Более того, доля успеха и подлинность полученных результатов зависят от полноты учета влияния всех параметров (вид растворителя, качественное выполнение методов экстракции, фракционирование и идентификация). Периодическое совершенствование и модификация методов извлечения биологически активных веществ из растительных клеток облегчают процессы исследования и улучшают понимание механизмов влияния на его качественные и количественные характеристики.

Выводы

С помощью метода планирования эксперимента были проведены исследования, направленные на оптимизацию основных факторов экстракции биологически активных соединений из растительных клеточных культур лекарственных растений.

Выявлены факторы, влияющие на процесс экстракции и его скорость, а также определены оптимальные значения процесса, которые обеспечивают максимальное извлечение биологически активных соединений при минимальных временных затратах и с учетом технологических ограничений, обусловленных структурными и внутренними особенностями объекта.

Объемная доля растворителя, один из выявленных параметров, обеспечивающий максимально полный выход биологически активных соединений из клеточных культур растений, оказалась одинаковой для всех образцов – 70 % этиловый спирт. Оптимальное время и температура экстракции для каллусных культур *Filipendula ulmaria* L. и *Scutellaria baicalensis* Georgi равны 5 ч и 35 °C соответственно.

Самыми экономически выгодными параметрами экстракции являлись значения времени и температуры экстрактов для каллусных культур *Pulmonaria officinalis* L.: 2 ч, 30 °C. Для экстрагирования БАВ из экстрактов культур *Ginkgo biloba* L. оптимальными параметрами определили 6 ч и 55 °C.

Критерии авторства

Авторы были в равной степени вовлечены в написание рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The authors were equally involved in the research and bear equal responsibility for any potential cases of plagiarism.

Conflict of interest

The authors reported no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы / References

1. Матросова Ю. В., Овчинников А. А., Овчинникова Л. Ю., Брюханов Д. С., Ляпин О. А. и др. Использование в рационах кормления цыплят-бройлеров биологически активных веществ. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2022. № 1. С. 287–289. [Matrosova YV, Ovchinnikov AA, Ovchinnikova LYu, Bryukhanov DS, Lyapin OA, *et al.* The use of biologically active substances in the feeding diets of broiler chickens. Izvestia Orenburg State Agrarian University. 2022;(1):287–289. (In Russ.)] <https://doi.org/10.37670/2073-0853-2022-93-1-287-291>
2. Кузнецов Н. М. Использование биологически активных веществ из сока алоэ вера (*Áloë vera*) для производства медицинских пластырей. Природные ресурсы Земли и охрана окружающей среды. 2022. Т. 3. № 2. С. 71–73. [Kuznetsov NM. The use of biologically active substances from aloe vera (*Áloë vera*) juice for the production of medical patches. Natural resources of the Earth and environmental protection. 2022;3(2):71–73. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/CGHAEW>
3. Кох Д. А., Кох Ж. А. Пектинсодержащий порошок из замороженных выжимок мелкоплодных яблок в производстве зернового хлеба. Ползуновский вестник. 2024. № 2. С. 118–123. [Koch DA, Koch ZA. Pectin-containing powder from frozen pomace of small-fruited apples in grain bread production. Polzunovskiy vestnik. 2024;(2):118–123. (In Russ.)] <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2024.02.015>
4. Исмаилов В. Я., Пушня М. В., Родионова Е. Ю., Снесарева Е. Г. Разработка новых методов биологической защиты сои от основных вредителей: Сборник тезисов Краевой отчетной конф. грантодержателей Кубанского научного фонда. Сочи, 24–25 июня 2021 г. 2021. С. 148–150. [Ismailov VYa, Pushnya MV, Rodionova EYu, Snesareva EG. Development of new methods of biological protection of soybean against major pests: Proceedings of the Regional reporting conf. of grant holders of the Kuban Science Foundation, Sochi, June 24–25, 2021. 2021;148–150. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PSQADF>
5. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI. Extraction of phenolic compounds: A review. Current Research in Food Science. 2021;4:200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
6. Grillo G, Boffa L, Binello A, Mantegna S, Cravotto G, *et al.* Cocoa bean shell waste valorisation; extraction from lab to pilot-scale cavitation reactors. Food Research International. 2019;115:200–208. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.057>
7. Титова Л. М., Алексанян И. Ю. Исследование кинетики процесса экстрагирования в технологии комплексной переработки цитрусовых. Вестник Астраханского государственного технического университета. 2013. № 1. С. 35–38. [Titova LM, Aleksanyan IYu. Study of kinetics in the process of extraction technology of complex citrus fruits processing. Vestnik of Astrakhan state technical university. 2013;(1):35–38. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/QAHLSH>
8. Abubakar A, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
9. Ingle KP, Deshmukh AG, Padole DA, Dudhare MS, Moharil MP, *et al.* Phytochemicals: Extraction methods, identification, and detection of bioactive compounds from plant extracts. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2017;6(1):32–36.
10. Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength, and limitation. Medicinal and Aromatic Plants. 2015;4(3):1–10. <http://dx.doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
11. Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2014;2(5):115–119.
12. Chávez-González ML, Sepúlveda L, Verma DK, Luna-García HA, Rodríguez-Durán LV, *et al.* Conventional and emerging extraction processes of flavonoids. Processes. 2020;8(4):434. <https://doi.org/10.3390/pr8040434>
13. Sanz V, Flórez-Fernández N, Domínguez H, Torres MD. Clean technologies applied to the recovery of bioactive extracts from *Camellia sinensis* leaves agricultural wastes. Food and Bioproducts Processing. 2020;122:214–221. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.05.007>
14. Motikar PD, More PR, Arya SS. A novel, green environment-friendly cloud point extraction of polyphenols from pomegranate peels: A comparative assessment with ultrasound and microwave-assisted extraction. Separation Science and Technology. 2021;56(6):1014–1025. <https://doi.org/10.1080/01496395.2020.1746969>
15. Petrotos K, Giavasis I, Gerasopoulos K, Mitsagga C, Papaioannou C, *et al.* Optimization of vacuum-microwave-assisted extraction of natural polyphenols and flavonoids from raw solid waste of the orange juice producing industry at industrial scale. Molecules. 2021;26(1):246. <https://doi.org/10.3390/molecules26010246>
16. Trujillo-Mayol I, Céspedes-Acuña C, Silva FL, Alarcón-Enos J. Improvement of the polyphenol extraction from avocado peel by assisted ultrasound and microwaves. Journal of Food Process Engineering. 2019;42(6):e13197. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13197>
17. Rodríguez De Luna SL, Ramírez-Garza RE, Serna Saldívar SO. Environmentally friendly methods for flavonoid extraction from plant material: Impact of their operating conditions on yield and antioxidant properties. The Scientific World Journal. 2020;2020:6792069. <https://doi.org/10.1155/2020/6792069>
18. Majekodunmi SO. Review of extraction of medicinal plants for pharmaceutical research. Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences. 2015;3(11):521–527.

19. Hossain MA, Al-Hdhrami SS, Weli AM, Al-Riyami Q, Al-Sabahi JN. Isolation, fractionation and identification of chemical constituents from the leaves crude extracts of *Mentha piperita* L grown in sultanate of Oman. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2014;4(Suppl. 1):S368–S372. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1051>
20. Chemat F, Rombaut N, Sicaire AG, Meullemiestre A, Fabiano-Tixier AS, et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. Ultrasonics Sonochemistry. 2017;34:540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
21. Gil-Martín E, Forbes-Hernández T, Romero A, Cinciosi D, Giampieri F, et al. Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products. Food Chemistry. 2022;378:131918. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131918>
22. Chel-Guerrero LD, Oney-Montalvo JE, Rodríguez-Buenfil IM. Phytochemical characterization of by-products of habanero pepper grown in two different types of soils from Yucatán, Mexico. Plants. 2021;10(4):779. <https://doi.org/10.3390/plants10040779>
23. Велямов Ш. М., Велямов М. Т., Уразбаев Ж. З., Бакытжан Т. Н., Абитбекова А. У. Функциональные компоненты питания: технология получения концентрата, содержащего ликопин, из томатного сырья. FOOD METAENGINEERING. 2025. Т. 3. № 1. С. 33–41. [Velyamov ShM, Velyamov MT, Urazbayev ZhZ, Bakytzhan TN, Abitbekova AU. Functional components in nutrition: Technology for producing a lycopene-containing concentrate from tomato raw materials. FOOD METAENGINEERING. 2025;3(1):33–41. (In Russ.)] <https://doi.org/10.37442/fme.2025.1.77>
24. Toro-Uribe S, Ibañez E, Decker EA, Villamizar-Jaimes AR, López-Giraldo LJ. Food-safe process for high recovery of flavonoids from cocoa beans: Antioxidant and HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis. Antioxidants. 2020;9(5):364. <https://doi.org/10.3390/antiox9050364>
25. Cassol L, Rodrigues E, Noreña CPZ. Extracting phenolic compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. calyx using microwave assisted extraction. Industrial Crops and Products. 2019;133:168–177. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.023>
26. Arboleda Meija JA, Parpinello GP, Versari A, Conidi C, Cassano A. Microwave-assisted extraction and membrane-based separation of biophenols from red wine lees. Food and Bioproducts Processing. 2019;117:74–83. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.06.020>
27. Gerardi C, D'amico L, Migoni D, Santino A, Salomone A, et al. Strategies for reuse of skins separated from grape pomace as ingredient of functional beverages. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2020;8:645. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00645>
28. Chaves JO, de Souza MC, da Silva LC, Lachos-Perez D, Torres-Mayanga PC, et al. Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. Frontiers in Chemistry. 2020;8:507887. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.507887>
29. Dzah CS, Duan Y, Zhang H, Wen C, Zhang J, et al. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. Food Bioscience. 2020;35:100547. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100547>
30. Skenderidis P, Leontopoulos S, Petrotos K, Giavasis I. Optimization of vacuum microwave-assisted extraction of pomegranate fruits peels by the evaluation of extracts' phenolic content and antioxidant activity. Foods. 2020;9(11):1655. <https://doi.org/10.3390/foods9111655>
31. Nutter J, Fernandez MV, Jagus RJ, Agüero MV. Development of an aqueous ultrasound-assisted extraction process of bioactive compounds from beet leaves: A proposal for reducing losses and increasing biomass utilization. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021;101(5):1989–1997. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10815>
32. Кригер О. В., Шепель Е. И. Влияние способа получения экстрактов цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.) на содержание биологически активных веществ и антимикробную активность. FOOD METAENGINEERING. 2024. Т. 2. № 2. С. 22–34. [Kriger OV, Shepel EI. The effect of the preparation method on the content of biologically active substances and antimicrobial activity of extracts of marigold flowers (*Tagetes patula* L.). FOOD METAENGINEERING. 2024;2(2):22–34. (In Russ.)] <https://doi.org/10.37442/fme.2024.2.49>
33. Le V, Sukhikh A, Larichev T, Ivanova S, Prosekov A, et al. Isolation of the main biologically active substances and phytochemical analysis of *Ginkgo biloba* callus culture extracts. Molecules. 2023;28(4):1560. <https://doi.org/10.3390/molecules28041560>
34. Noor-E-Tabassum, Das R, Lami MS, Chakraborty AJ, Mitra S, et al. *Ginkgo biloba*: A treasure of functional phytochemicals with multimedicinal applications. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2022;2022(1):8288818. <https://doi.org/10.1155/2022/8288818>
35. Krzyżanowska-Kowalczyk J, Kowalczyk M, Ponczek MB, Pecio Ł, Nowak P, et al. *Pulmonaria obscura* and *Pulmonaria officinalis* extracts as mitigators of peroxynitrite-induced oxidative stress and cyclooxygenase-2 inhibitors-in vitro and in silico studies. Molecules. 2021;26(3):631. <https://doi.org/10.3390/molecules26030631>
36. Dyshlyuk L, Vesnina AD, Dmitrieva AI, Kozlova OV, Prosekov AY. Optimization of parameters for obtaining callus, suspension, and root cultures of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) to isolate the largest number of biologically active substances with geroprotective properties. Brazilian Journal of Biology. 2024;84:e257074. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.257074>

37. Sukhikh SA, Astakhova LA, Golubcova YuV, Lukin AA, Prosekova EA, *et al.* Rasshchepkin functional dairy products enriched with plant ingredients. *Foods and Raw Materials*. 2019;7(2):428–438. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-2-428-438>
38. Milentyeva IS, Fedorova AM, Larichev TA, Altshuler OG. Biologically active compounds in *Scutellaria baicalensis* L. callus extract: Phytochemical analysis and isolation. *Foods and Raw Materials*. 2023;11(1):172–186. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-564>
39. Vesnina AD, Milentyeva IS, Le VM, Fedorova AM, Altshuler OG, *et al.* Quercetin isolated from *Hedysarum neglectum* Ledeb. as a preventer of metabolic diseases. *Foods and Raw Materials*. 2025;13(1):192–201. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2025-1-633>
40. Bubalo MC, Vidović S, Radojčić IR, Jokić S. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioproducts Processing*. 2018;109:52–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.03.001>
41. Андреева В. Ю., Калинкина Г. И., Полуэктова Т. В., Гуляева В. А. Сравнительное исследование фенольных соединений видов рода клевер (*Trifolium* L.) флоры Сибири. *Химия растительного сырья*. 2017. № 1. С. 97–104. [Andreeva VYu, Kalinkina GI, Poluektova TV, Guliaeva VA. The comparative study of phenolic compounds in *Trifolium* L. species in Siberia. *Chemistry of plant raw material*. 2017;(1):97–104. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018011846>