
БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

УДК 615.322:633.8:582.949.27

ЭКСТРАКЦИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ТРАВЫ ТИМЬЯНА ПОЛЗУЧЕГО (*THYMUS SERPYLLUM* L.): ПОТЕНЦИАЛ КЛАССИЧЕСКИХ И АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ПОДХОДОВ

Т. Н. ГОЛОВАЧ¹⁾, В. П. КУРЧЕНКО¹⁾, Н. В. СУШИНСКАЯ¹⁾,
А. Д. ЛОДЫГИН²⁾, И. А. ЕВДОКИМОВ²⁾, Л. В. ГАРИБЯН²⁾, А. А. СИСЬКО¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Северо-Кавказский федеральный университет, ул. Пушкина, 1, 355017, г. Ставрополь, Россия

Аннотация. Проведено сравнительное исследование эффективности классических органических растворителей (этанол, метанол, хлороформа) и инновационных экстракционных систем на основе β -циклодекстрина, а также нативных, термоденатурированных и гидролизованных белков молочной сыворотки при выделении биоактивных соединений из травы тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.). Компонентный состав экстрактов определяли методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией, антиоксидантную активность оценивали по способности восстанавливать ABTS-радикал, выраженной в эквивалентах тролокса. Установлено, что применение 2,0 % раствора гидролизованных белков молочной сыворотки обеспечивает наибольший выход сухого вещества (35,5 мг/мл) и фенольных соединений (0,52 мг/мл). При изучении образцов экстрактов с 2,0 % растворами термоденатурированных и гидролизованных лактопротеинов отмечена максимальная антиоксидантная активность (1,86 и 1,56 ммоль тролокс-экв./мл соответственно). Для экстракции с использованием β -циклодекстрина, обусловленной формированием молекулярных комплексов включения, характерна выраженная селективность олигосахарида к специфичным метаболитам, включая мальтол и некоторые лактонизированные производные углеводов. Органические растворители (этанол, метанол) обеспечили максимальное извлечение монотерпеновых фенолов (тимола, карвакрола), что определяет их ценность для получения антимикробных препаратов. Результаты исследования подтверждают

Образец цитирования:

Головач ТН, Курченко ВП, Сушинская НВ, Лодыгин АД, Евдокимов ИА, Гарибян ЛВ, Сисько АА. Экстракция биоактивных соединений из травы тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.): потенциал классических и альтернативных подходов. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2026;1:40–53. EDN: ZCQXRM

For citation:

Halavach TM, Kurchenko VP, Sushynskaya NV, Lodygin AD, Evdokimov IA, Garibian LV, Sisko AA. Extraction of bioactive compounds from thyme herb (*Thymus serpyllum* L.): potential of conventional and alternative approaches. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2026;1:40–53. Russian. EDN: ZCQXRM

Сведения об авторах см. на с. 52–53.

Information about the authors see p. 52–53.

функциональную специализацию изученных экстрагентов. Альтернативные системы на основе лактопротеинов и β -циклодекстрина рекомендованы в качестве экологически безопасной замены органическим растворителям при разработке многокомпонентных фитопрепаратов с комплексной противовоспалительной и антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: *Thymus serpyllum* L.; экстракция; органический экстрагент; лактопротеин; циклодекстрин; фенольное соединение; антиоксидантная активность.

EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM THYME HERB (*THYMUS SERPYLLUM* L.): POTENTIAL OF CONVENTIONAL AND ALTERNATIVE APPROACHES

T. M. HALAVACH^a, V. P. KURCHENKO^a, N. V. SUSHYNSKAYA^a,
A. D. LODYGIN^b, I. A. EVDOKIMOV^b, L. V. GARIBIAN^b, A. A. SISCO^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bNorth-Caucasus Federal University, 1 Pushkina Street, Stavropol 355017, Russia

Corresponding author: T. M. Halavach (halavachtn@gmail.com)

Abstract. A comparative study was conducted to evaluate the efficiency of classical organic solvents (ethanol, methanol, chloroform) and innovative extraction systems based on β -cyclodextrin, as well as native, thermally denatured, and hydrolysed whey proteins in isolating bioactive compounds from thyme herb (*Thymus serpyllum* L.). The composition of the extracts was analysed using gas chromatography with mass spectrometry, and antioxidant activity was assessed based on their ability to reduce the ABTS radical and expressed as Trolox equivalents. The application of a 2.0 % aqueous solution of hydrolysed whey proteins was found to provide the highest yield of dry matter (35.5 mg/mL) and phenolic compounds (0.52 mg/mL). When analysing extract samples obtained with 2.0 % solutions of thermally denatured and hydrolysed lactoproteins, maximum antioxidant activity was observed (1.86 and 1.56 mmol Trolox equiv./mL, respectively). The extraction process facilitated by β -cyclodextrin is distinguished by the selective binding of the oligosaccharide to specific metabolites, including maltol and certain lactonised carbohydrate derivatives. Organic solvents (e. g. ethanol and methanol) maximised the extraction of monoterpenic phenols (e. g. thymol and carvacrol), making them valuable for the production of antimicrobial preparations. The research results confirm the functional specialisation of the studied extraction agents. Alternative systems based on lactoproteins and β -cyclodextrin can be recommended as cost-effective, environmentally safe substitute for organic solvents in the development of multicomponent phytopreparations with comprehensive anti-inflammatory and antioxidant activity.

Keywords: *Thymus serpyllum* L.; extraction; organic solvent; lactoprotein; cyclodextrin; phenolic compound; antioxidant activity.

Введение

В современной пищевой биотехнологии и индустрии нутрицевтиков наблюдается глобальный тренд на замену синтетических добавок натуральными ингредиентами с доказанной биологической активностью [1]. Растительное сырье служит неисчерпаемым источником фитонутриентов, таких как фенольные соединения, флавоноиды, эфирные масла и терпеноиды, которые обладают выраженным антиоксидантным, противовоспалительным и антимикробным действием [2; 3]. Тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) – фармакопейное лекарственное растение семейства Lamiaceae, активно используемое в фитотерапии. Трава тимьяна ползучего содержит различные биоактивные метаболиты, включая монотерпеноиды (тимол, карвакрол), фенольные кислоты, флавоноиды и жирные кислоты, что обуславливает перспективность применения экстрактов на его основе в составе функциональных продуктов питания и фармацевтических препаратов [4–6]. Современные исследования подтверждают высокое содержание ценных метаболитов в *T. serpyllum*. В частности, при изучении культивируемых образцов тимьяна ползучего установлено соответствие содержания эфирного масла (1,12 %), флавоноидов (2,15 %) и дубильных веществ (12,05 %) фармакопейным требованиям, что подчеркивает значимость данного источника биоактивных веществ (БАВ) [7].

Однако биологическая ценность исходного растительного сырья не всегда реализуется в конечном продукте, так как эффективность извлечения целевых компонентов критически зависит от выбранной технологии экстракции [8; 9]. Традиционные методы экстракции с использованием органических растворителей (метанола, гексана, ацетона) обеспечивают высокий выход липофильных соединений, но имеют существенные недостатки. Применение токсичных и летучих реагентов создает риски для

здоровья персонала, вызывает загрязнение окружающей среды и требует дорогостоящих стадий очистки экстрактов, что противоречит принципам устойчивого развития и зеленой химии. Жесткие термические режимы классической экстракции часто приводят к деградации термолабильных полифенолов и потере их антиоксидантной активности [10–12]. В связи с этим актуальной задачей является поиск альтернативных, экологически безопасных растворителей, которые могли бы обеспечить высокую эффективность экстракции без ущерба для качества продукта и экологии. К таким перспективным агентам относятся природные биополимеры и супрамолекулярные системы на их основе, способные улучшать растворимость гидрофобных фитосоединений в водной среде [13–15].

Особое положение среди инновационных экстрагентов занимают циклодекстрины (ЦД) – циклические олигосахариды, обладающие уникальным свойством образовывать комплексы включения типа «гость – хозяин». Благодаря гидрофобной внутренней полости и гидрофильной внешней поверхности молекулы β -ЦД способны инкапсулировать малорастворимые полифенолы и компоненты эфирных масел [16–18]. Это обстоятельство не только повышает их растворимость в воде и биодоступность, но и защищает от окисления и термического разрушения в процессе переработки и хранения. Ряд современных исследований демонстрируют, что экстракция с использованием водных растворов ЦД по эффективности сопоставима с традиционными методами экстракции с применением органических растворителей или превосходит их, являясь при этом полностью безопасной для пищевого применения [19; 20].

Другим перспективным направлением является использование белков молочной сыворотки в качестве функциональных носителей и экстрагентов. Сывороточные белки (β -лактоглобулин, α -лактальбумин) – амфифильные макромолекулы, способные за счет нековалентного взаимодействия связывать широкий спектр лигандов, включая витамины, жирные кислоты и полифенолы [21–23]. Модификация структуры белков путем термической обработки или ферментативного гидролиза создает дополнительные возможности для интенсификации массообмена. Частичная денатурация лактопротеинов приводит к экспонированию скрытых гидрофобных участков, что увеличивает их сорбционную способность по отношению к липофильным БАВ [24; 25]. Ферментативный гидролиз позволяет получить пептиды с выраженными поверхностно-активными свойствами, которые действуют как природные эмульгаторы и солюбилизаторы, способствуя извлечению труднорастворимых веществ из растительной матрицы. Комплексы «белок – полифенол» не только повышают стабильность фитонутриентов, но и могут маскировать их вязкий вкус и горечь, что важно для органолептического профиля функциональных продуктов [26; 27]. Эффективность применения творожной сыворотки в качестве экстрагента для получения фитосубстанций из *T. serpyllum* подтверждена данными об увеличении выхода экстрактивных веществ и снижении содержания тяжелых металлов в целевом продукте [28].

Ранее проведенные собственные исследования продемонстрировали высокую биоактивность пептидов, полученных путем ферментативного гидролиза сывороточных белков, а также их способность образовывать устойчивые комплексы включения с β -ЦД, что синергетически усиливает антиоксидантный эффект [29–31]. Большинство работ по оценке экстрагирующей способности классических растворителей и альтернативных белковых систем для лекарственного сырья носят фрагментарный характер и не дают системного представления о влиянии типа экстрагента на компонентный профиль и антиоксидантную активность фитосубстанций.

Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка эффективности извлечения биоактивных соединений из травы *T. serpyllum* с использованием классических (этанол, метанол, хлороформ) и альтернативных (водных растворов нативных, термоденатурированных и гидролизированных белков молочной сыворотки, β -ЦД) экстрагентов для обоснования технологии получения растительных экстрактов функционального назначения.

Материалы и методы исследования

В работе использовали образцы растительного сырья (травы) тимьяна ползучего производства ООО «НПК “Биотест”» (Беларусь). Для создания экстракционных систем применяли экстрагенты различной химической природы. Группу классических органических растворителей составили этанол (96,0 %), метанол (99,8 %) и хлороформ (99,0 %) квалификации «ч. д. а.». Группа альтернативных экстрагентов включала β -ЦД с массовой долей основного вещества 85,0 % (*Roquette*, Франция), концентрат сывороточных белков молока (КСБ) с массовой долей белка 80,0 % (Щучинский филиал ОАО «Молочный мир», Беларусь) и ферментативный гидролизат КСБ (ГКСБ) с массовой долей белка 80,0 %, полученный в научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета Белорусского государственного университета. Перед проведением экстракции готовили водные растворы альтернативных агентов: 0,5 % раствор β -ЦД, а также 2,0 % растворы нативных (КСБ) и гидролизированных (ГКСБ) лактопротеинов. Часть раствора нативного КСБ подвергали тепловой обработке при температуре 90 °C в течение 10 мин для получения термоденатурированных образцов (ТКСБ). Для экстракции применяли исходные и разведенные водные растворы альтернативных экстрагентов: 0,5 % раствор КСБ, 0,5, 1,0 и 2,0 % растворы ТКСБ и ГКСБ, 0,5 % раствор β -ЦД.

Методика экстракции БАВ из растительного сырья. Извлечение биоактивных соединений из травы *T. serpyllum* проводили методом мацерации. При использовании органических растворителей (этанола, метанола, хлороформа) к навеске растительного сырья массой 2,0 г добавляли 18,0 мл соответствующего экстрагента и выдерживали смесь при температуре 20–25 °С в течение 24 ч. Полученные экстракты фильтровали через бумажные фильтры и лиофильно высушивали.

Извлечение БАВ согласно альтернативному варианту осуществляли из навесок растительного сырья массой 2,0 г с добавлением дистиллированной воды, водных растворов 0,5 % КСБ, 0,5, 1,0 и 2,0 % ТКСБ, 0,5, 1,0 и 2,0 % ГКСБ, 0,5 % β -ЦД в объеме 40 мл. Процесс экстракции проводили при температуре 45 °С в течение 2 ч. На завершающем этапе экстракты последовательно фильтровали через синтетическое волокно и бумажный фильтр, после чего подвергали лиофильной сушке. Для анализа методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ – МС) проводили дополнительную экстракцию полученных образцов с применением метанола квалификации «ос. ч.» при объемном соотношении 1 : 10. В лиофилизированных образцах определяли выход сухого вещества гравиметрическим методом (согласно ГОСТ 15113.4-2021¹), который заключается в выпаривании растворителя и высушивании остатка до постоянной массы. Общее содержание фенольных соединений устанавливали в соответствии с ГОСТ Р ИСО 14502-1-2010². Данный метод основан на спектрофотометрическом измерении интенсивности окраски синего комплекса, образующегося при химическом взаимодействии полифенолов в составе экстрактов с реактивом Фолина – Чокалтеу, с итоговым пересчетом результатов в эквивалентах галловой кислоты.

Методика определения БАВ в экстрактах методом ГХ – МС. Поликомпонентный состав полученных экстрактов 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 % фенилметилсилоксан, J&W 122–5062; *Agilent Technologies*) длиной 60 м с внутренним диаметром 0,25 мм. Относительно суммарной массы экстрактивных веществ определяли содержание индивидуальных соединений (в %). Параметры газохроматографического разделения: газ-носитель – гелий, объемная скорость потока 1 мл/мин, ввод пробы объемом 1 мкл с делением потока 70 : 1, температурная программа в диапазоне 35–280 °С, общая продолжительность анализа 60 мин. Масс-селективное детектирование проводили при температуре источника ионов 230 °С и температуре квадруполя 150 °С. Идентификацию состава БАВ осуществляли с использованием библиотеки масс-спектров NIST 05. Для построения тепловых карт соединений, выявленных в экстрактах по результатам ГХ – МС, применяли онлайн-инструмент *ClustVis* [32].

Методика оценки антиоксидантной активности (АОА) экстрактов из растительного сырья. В целях определения АОА образцов экстрактов использовали ABTS-метод. Методика проведения эксперимента описана в работе [33]. Указанный метод предполагает оценку АОА опытных образцов по их способности восстанавливать стабильный катион-радикал на основе 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS^{•+}). Для его генерирования использовали реакцию окисления ABTS персульфатом калия. В качестве стандарта антиоксиданта применяли водорастворимый аналог витамина Е – тролокс. Степень восстановления катион-радикала (в %) рассчитывали на основании снижения оптической плотности реакционной смеси относительно уровня сигнала контрольной пробы ABTS^{•+} (100 %). Получали графики, отражающие зависимость степени восстановления ABTS^{•+} от концентрации сухого вещества в тестируемых экстрактах и образцах тролокса. В соответствии с полученными уравнениями определяли значение IC₅₀ – концентрацию, при которой восстанавливается 50 % катион-радикала. Итоговую АОА экстрактов рассчитывали в эквивалентах тролокса (*Trolox equivalent antioxidant capacity*, TEAC-анализ) на основе соотношения значений IC₅₀ стандартного и опытного образцов.

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) [34]. Для множественных парных сравнений применяли критерий Тьюки при заданном уровне групповой доверительной вероятности (0,95) [35]. Итоговые результаты расчетов на графиках отражали как среднее арифметическое значение $\pm$ стандартное отклонение ($n = 3$), значимые различия между группами данных обозначали с применением буквенных индексов. Оформление графического материала осуществляли в программе *Excel* пакета *Microsoft Office 2021* (*Microsoft Corporation*, США).

Результаты и их обсуждение

Исследование продемонстрировало существенные различия в эффективности экстракции сухого вещества из травы *T. serpyllum* при использовании 12 различных экстрагирующих систем. Как отражено на рис. 1, максимальная экстрактивность (35,5 мг/мл, что в 2,0 раза превышает водный контроль) достигнута

¹ГОСТ 15113.4-2021. Концентраты пищевые. Гравиметрические методы определения массовой доли влаги. Введ. 01.01.2022. М. : Рос. ин-т стандартизации, 2021. III, 11 с.

²ГОСТ Р ИСО 14502-1-2010. Чай. Метод определения общего содержания полифенолов. Введ. 01.01.2012. М. : Стандартинформ, 2012. IV, 10 с.

при использовании гидролизovaných белков молочной сыворотки (ГКСБ) в концентрации 2,0 %. Кроме того, показано увеличение экстрактивности с возрастанием концентрации гидролизата (0,5–2,0 % ГКСБ). Это обстоятельство обусловлено тем, что ферментативный гидролиз приводит к высвобождению амфипатических пептидных фрагментов с гидрофобными доменами, способными одновременно взаимодействовать с полярными полифенолами и неполярными растительными метаболитами [26; 27]. Применение 0,5 % β -ЦД обеспечило увеличение выхода сухого вещества в 1,7 раза за счет образования нековалентных комплексов включения с ароматическими флавоноидами. Они формируются посредством вандерваальсовых взаимодействий и водородных связей, что связано с увеличением растворимости инкапсулированных молекул [17; 19; 20]. В случае использования нативных (КСБ) и термоденатурированных (ТКСБ) белков молочной сыворотки независимо от их концентрации отмечена средняя эффективность экстракции сухого вещества (25,0–28,2 мг/мл). Следует отметить, что нагревание более 60 °C сопряжено с разрыванием полипептидных цепей и экспонированием гидрофобных участков лактопротеинов [24; 25].

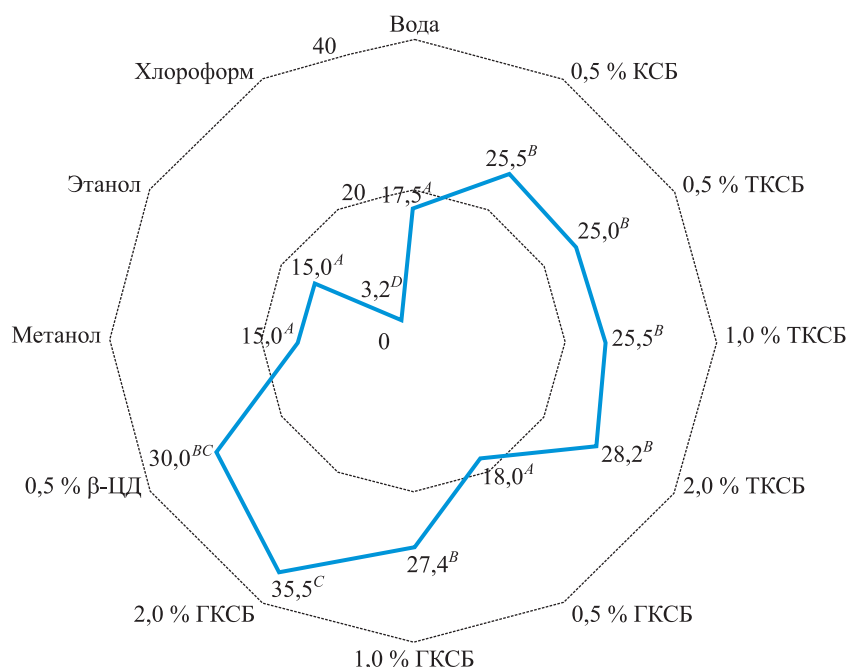


Рис. 1. Содержание сухого вещества растительного происхождения в экстрактах из травы *T. serpyllum*, мг/мл.

Значения без общей буквы (A–D) в пределах ряда данных указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Fig. 1. Plant-derived dry matter content in extracts from *T. serpyllum* herb, mg/mL.

Values without a common letter (A–D) within a data series indicate significant differences at $p < 0.05$

Органические растворители (метанол, этанол) оказались малоэффективными, а хлороформ обеспечил минимальный выход сухого вещества (15,0 и 3,2 мг/мл соответственно), что указывает на специфичность компонентного состава *T. serpyllum*. Хотя классические методы экстракции с использованием полярных спиртов традиционно рекомендуют в фитохимии для выделения полифенолов и алкалоидов, в данном случае показатели экстракции метанолом и этанолом не превысили водный контроль. Неэффективность хлороформа объясняется его низкой полярностью: в отличие от метанола и этанола он селективно извлекает липофильные соединения [36; 37].

Сравнительное исследование компонентного состава экстрактов из травы *T. serpyllum*. Метод ГХ – МС был ключевым аналитическим методом для характеристики компонентного состава экстрактов, полученных с использованием различных экстрагирующих систем (воды, 0,5 % КСБ, 1,0 % ТКСБ, 1,0 % ГКСБ, 0,5 % β -ЦД, метанола, этанола, хлороформа). Идентификация шести основных групп БАВ и их количественное определение позволили построить тепловую карту относительного содержания различных метаболитов в образцах экстрактов (рис. 2). Выявлено, что каждая экстрагирующая система обладает специфичным молекулярным профилем и селективностью к определенным классам вторичных метаболитов. Данный эффект определяется физико-химическими свойствами молекул экстрагента и их способностью к избирательному взаимодействию с фитоконпонентами.

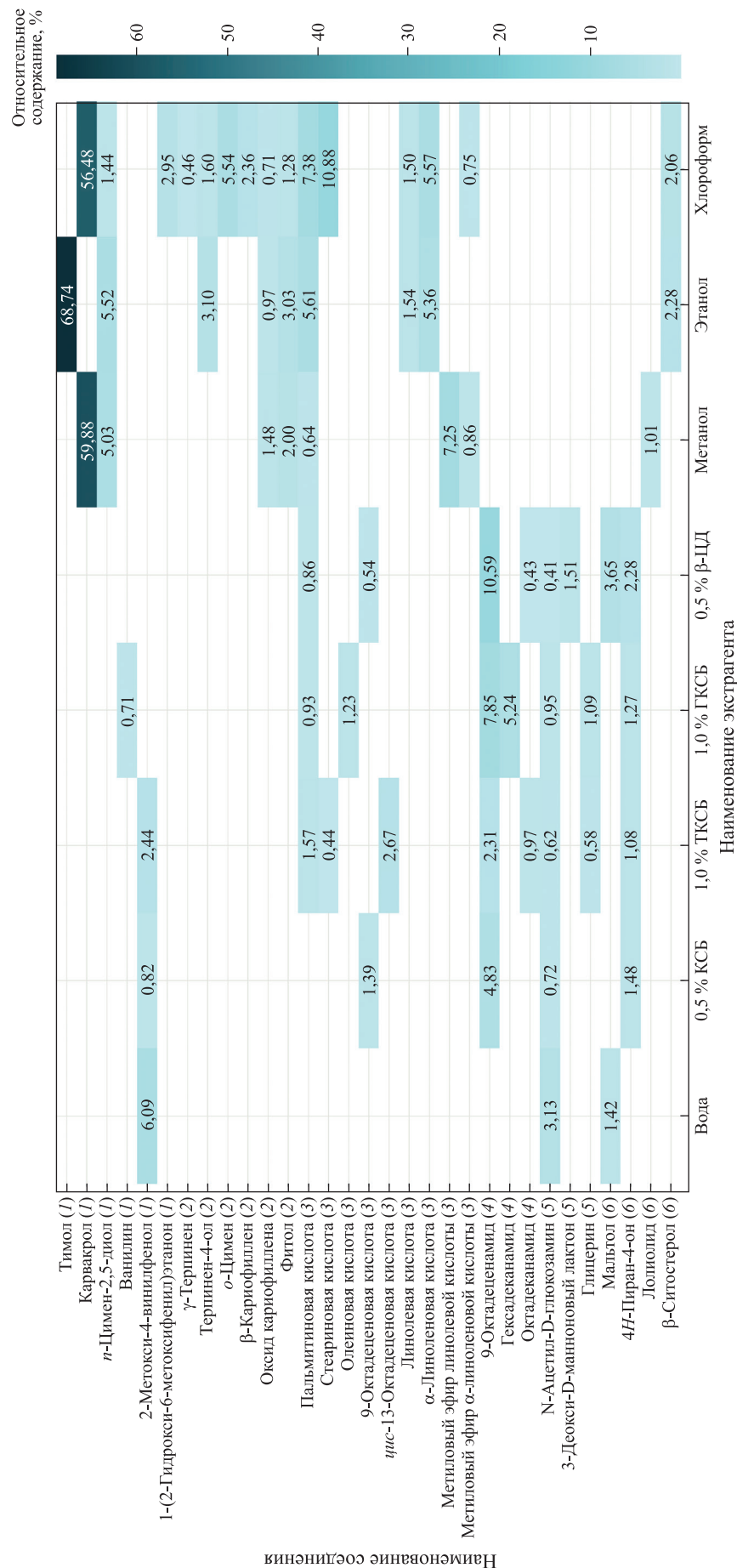


Рис. 2. Тепловая карта относительного содержания биоактивных соединений в экстрактах из травы *T. serpyllum*, полученных с применением различных экстрагентов. Основные группы БАВ: 1 – фенольные соединения; 2 – терпены и терпеноиды; 3 – жирные кислоты и их метиловые эфиры; 4 – амиды жирных кислот; 5 – производные углеводов и многоатомные спирты; 6 – кислородсодержащие гетероциклы, лактоны и стерины

Fig. 2. Heatmap of relative content of bioactive compounds in extracts from *T. serpyllum* herb obtained using various extraction solvents. Main groups of biologically active substances: 1 – phenolic compounds; 2 – terpenes and terpenoids; 3 – fatty acids and their methyl esters; 4 – fatty acid amides; 5 – carbohydrate derivatives and polyhydric alcohols; 6 – oxygen-containing heterocycles, lactones and sterols

Использование различных экстрагирующих систем при обработке травы *T. serpyllum* приводит к извлечению специфичного набора из 31 биоактивного соединения, распределяющегося на шесть основных классов метаболитов. Представленный анализ направлен на систематизацию данных о компонентном составе экстрактов в контексте их практического применения в качестве пищевых добавок и фармацевтических субстанций.

Классические органические растворители как инструмент извлечения липофильных и летучих компонентов. По итогам исследований этанол демонстрирует выраженную селективность к гидрофобным монотерпеновым фенолам и терпеноидам, что определяет его ценность для получения антимикробных препаратов. Максимальное извлечение тимола (68,74 %), превосходящее содержание этого соединения в случае применения других экстрагирующих систем, достигается именно при использовании этанола. Данный результат объясняется оптимальным соответствием полярности этанола структуре монотерпеновых фенолов. Обнаружение терпинен-4-ола (3,10 %) и фитола (3,03 %) подтверждает высокую селективность этанола в отношении спирто- и фенолсодержащих терпеноидов [38].

Жирные кислоты также интенсивно извлекаются этанолом, причем преимущественно в этаноловом экстракте представлены полиненасыщенные соединения (см. рис. 2). α -Линоленовая кислота обнаружена в метанольном и хлороформном экстрактах в соизмеримых количествах (5,36 и 5,57 % соответственно), что говорит о сопоставимой эффективности этих растворителей при извлечении полиненасыщенных липидов. Содержание пальмитиновой кислоты (5,61 %) и метилового эфира линолевой кислоты (7,25 % при метанольной экстракции) свидетельствует о способности данных экстрагентов извлекать как свободные жирные кислоты, так и их эфиры. В этанольном экстракте наряду с полифенолами обнаружен β -ситостерол (2,28 %), что указывает на возможность извлечения этим растворителем липофильных растительных стеролов.

С точки зрения применения в пищевой и фармацевтической промышленности этанольные экстракты *T. serpyllum* представляют собой перспективную основу для получения антибактериальных, противовирусных и антифунгальных препаратов благодаря высокому содержанию тимола и других монотерпеновых фенолов. Наличие значительных количеств полиненасыщенных жирных кислот (ω -3 и ω -6) дополнительно повышает ценность этанольных экстрактов как функциональных пищевых ингредиентов с кардиопротективной активностью [39].

Метанольный экстракт характеризуется максимальным содержанием карвакрола (59,88 %), превосходящим его содержание в хлороформе (56,48 %), что указывает на определяющее значение полярности метанола для извлечения этого компонента из растительного сырья. Помимо извлечения основных монотерпеновых фенолов, метанол оказался особенно эффективным для извлечения их окисленных производных. В значительном количестве также выявлены *n*-цимен-2,5-диол (тимогидрохинон; 5,03 %) и оксид кариофиллена (окисленный сесквитерпен; 1,48 %). Высокие показатели извлечения целевых компонентов в настоящем исследовании согласуются с литературными данными о богатом биохимическом составе *T. serpyllum*. Содержание флавоноидов (2,15 %) и дубильных веществ (12,05 %) в траве тимьяна ползучего [7] подтверждает значительный ресурсный потенциал сырья и обосновывает эффективность экстракционных подходов.

В метанольных экстрактах отмечено высокое содержание жирных кислот и их метиловых эфиров (см. рис. 2). Обнаружение метиловых эфиров линолевой кислоты (7,25 %) и α -линоленовой кислоты (0,86 %) свидетельствует о селективности метанола к полиненасыщенным жирным кислотам и их производным. Одновременное выявление линолевой кислоты (1,54 %), α -линоленовой кислоты (5,36 %) и пальмитиновой кислоты (0,64 %) подтверждает высокую эффективность метанола как универсального экстрагента липидной фракции из растительного материала, обеспечивающего извлечение как свободных, так и этерифицированных форм жирных кислот.

Практическое применение метанольных экстрактов ограничивается токсичностью метанола, однако после полного испарения растворителя экстракты пригодны для последующего получения концентратов БАВ. Высокое содержание окисленных терпеноидных производных (оксида кариофиллена, тимогидрохинона) предполагает повышенные противовоспалительные свойства по сравнению с таковыми этанольных экстрактов [40].

Хлороформ проявляет выраженную селективность к наиболее липофильным компонентам растительной ткани. Среди изученных экстрагирующих систем именно хлороформ обеспечивает максимальное извлечение насыщенных жирных кислот. Количество стеариновой кислоты (10,88 %) в 25 раз превышает ее содержание в 1,0 % растворе ТКСБ (0,44 %), а доля пальмитиновой кислоты (7,38 %) остается неизменно высокой во всех липофильных системах. Этот результат объясняется тем, что насыщенные жирные кислоты требуют максимально неполярного растворителя для эффективного процесса экстракции.

В хлороформном экстракте также обнаруживаются терпены, недоступные в метанольных и этанольных экстрактах. Исключительно в хлороформе присутствуют монотерпен *o*-цимен (5,54 %) и сесквитерпен β -кариофиллен (2,36 %). Для углеводородных терпенов, включая γ -терпинен (0,46 %), хлороформ также оказался наиболее эффективным экстрагентом. Фенольные соединения в хлороформе представлены в меньшей степени, однако некоторые липофильные варианты все же обнаруживаются (1-(2-гидроксигидрокси-6-метоксифенил)этанол; 2,95 %), что указывает на наличие в хлороформном экстракте биполярных молекул гидроксикетонов.

С фармацевтической точки зрения хлороформные экстракты обладают наибольшей липотропностью и могут использоваться для получения дерматологических препаратов, направленных на восстановление липидного барьера кожи. Высокое содержание насыщенных жирных кислот также предполагает потенциал для получения эмульгаторов и поверхностно-активных компонентов. Однако токсичность хлороформа существенно ограничивает его применение в пищевой промышленности [41].

Альтернативные белковые системы как инновационные экстрагенты. Согласно экспериментальным данным раствор нативных белков молочной сыворотки (0,5 % КСБ) проявляет наименьшую экстрактивность среди изученных систем, однако демонстрирует специфичный молекулярный профиль, отличный от других белковых образцов. Наиболее значимым результатом является обнаружение в экстракте 9-октадеценамида (олеаида; 4,83 %), тогда как максимальное содержание данного БАВ (10,59 %) отмечено в β -ЦД-экстракте. Так, нативные лактопротеины содержат достаточное количество гидрофобных доменов для взаимодействия с амидами жирных кислот, хотя изменение конформации белков значительно повышает эффективность этого взаимодействия.

Обогащение КСБ-экстракта 4*H*-пиран-4-оном (1,48 %) и *N*-ацетил-D-глюкозамином (0,72 %) указывает на способность нативных белков взаимодействовать с полярными углеводными структурами (см. рис. 2). Однако содержание полифенолов в КСБ-экстракте является минимальным, что отражает компактную глобулярную структуру нативных белков, при которой гидрофобные домены главным образом локализованы внутри макромолекул. Практическое значение КСБ-экстрактов относительно ограничено; их использование целесообразно при необходимости получения экстрактов с минимальной модификацией растительного материала [42].

В случае применения раствора термоденатурированных белков молочной сыворотки (1,0 % ТКСБ) показано значительное обогащение экстракта амидами жирных кислот и рядом сопутствующих биоактивных соединений. Концентрация олеаида в ТКСБ-экстракте достигает 2,31 %, что составляет менее половины от его содержания в КСБ-экстракте (4,83 %). Однако это обстоятельство связано не со снижением сродства денатурированных белков к амидам, а с более полным извлечением других компонентов, конкурирующих за взаимодействие с экспонированными гидрофобными доменами белков. Содержание *N*-ацетил-D-глюкозамина на уровне 0,62 % указывает на то, что денатурация белков практически не влияет на эффективность извлечения гидрофильных углеводных составляющих.

Обнаружение в ТКСБ-экстракте 2-метокси-4-винилфенола (2,44 %) подтверждает развертывание белков при денатурации и экспонирование гидрофобных доменов, которые способны взаимодействовать с ароматическими структурами. Паттерн распределения 4*H*-пиран-4-она (1,08 %) указывает на промежуточные характеристики ТКСБ относительно нативных и гидролизованных лактопротеинов. Денатурация лактопротеинов создает условия для селективного взаимодействия с полярными гетероциклическими структурами. ТКСБ-экстракты демонстрируют потенциал в качестве промежуточной системы между классическими и инновационными подходами [43].

В свою очередь, раствор гидролизованных белков молочной сыворотки (1,0 % ГКСБ) проявляет наиболее разнообразный молекулярный профиль экстракции. Это обстоятельство объясняется тем, что ферментативный гидролиз пептидных связей генерирует амфипатические пептидные фрагменты, одновременно обладающие полярными и неполярными группами. В результате ГКСБ-экстракт оказывается обогащен спектром БАВ. Полученные данные о насыщенном молекулярном профиле образца ГКСБ подтверждаются литературными данными, согласно которым сывороточные экстракты *T. serpyllum* обладают не только высокой экстрактивностью, но и выраженными антиоксидантными и антимикробными свойствами, что обосновывает перспективность их использования в пищевых и фармацевтических технологиях [28].

В относительно высокой концентрации в ГКСБ-экстракте представлены амиды жирных кислот – олеамид (7,85 %), гексадеканамид (5,24 %) и октадеканамид (0,97 %). Данное обогащение объясняется специфичностью амфипатических пептидов к связыванию с амидами жирных кислот. Обнаружение ванилина исключительно в ГКСБ-экстракте (0,71 %) подтверждает специфичность гидролизованных лактопротеинов к взаимодействию с ароматическими фенольными соединениями. Полярные компоненты

в ГКСБ-экстракте демонстрируют разнообразие: N-ацетил-D-глюкозамин (0,95 %), 4H-пиран-4-он (1,27 %), глицерин (1,09 %), что подтверждает способность амфипатических систем взаимодействовать как с полярными, так и с гидрофобными молекулами. Выявление олеиновой кислоты (1,23 %) указывает на селективность ГКСБ к моновенасыщенным жирным кислотам.

Согласно известным данным гидролизованные лактопротеины обладают противовоспалительными и иммуномодулирующими свойствами и могут применяться в качестве функциональных пищевых добавок и нутрицевтиков [27; 29]. Биodeградируемость гидролизата и его статус как безопасного продукта согласно стандартам FDA (Управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарствами) и EFSA (Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов) [44] позволяют считать ГКСБ перспективной экстрагирующей системой для разработки новых функциональных пищевых продуктов.

Наряду с традиционными экстрагентами и системами на основе лактопротеинов рассмотрен β -ЦД как специализированный экстрагент с уникальной селективностью (см. рис. 2). Для раствора β -ЦД характерен иной механизм извлечения БАВ по сравнению с их извлечением органическими растворителями и белковыми системами. β -ЦД представляет собой циклический олигосахарид с гидрофобной полостью диаметром 6,0–6,5 Å, способной инкапсулировать гидрофобные молекулы. Данный механизм комплексообразования типа «гость – хозяин» определяет уникальную селективность циклодекстрина к определенным молекулярным структурам, недоступным другим экстрагирующим системам [16–18].

В β -ЦД-экстракте олеамид (9-октадеценамид) выявлен в максимальной концентрации (10,59 %). Гексадеканамид не обнаруживается в данной системе, однако олеамид остается преобладающим амидом жирных кислот. Очевидно, что полость β -ЦД оптимально соответствует размерам молекулы олеамида, обеспечивая ее стабильную инкапсуляцию.

Наиболее примечательной особенностью β -ЦД-экстракта является наличие соединений, не обнаруживаемых в других экстрактах. На примере *цис*-13-октадеценовой кислоты (2,67 %) продемонстрировано, что β -ЦД способен селективно инкапсулировать *цис*-изомеры ненасыщенных жирных кислот. Мальтол (3,65 %) достигает в β -ЦД-экстракте максимального содержания, что может быть связано с образованием устойчивых комплексов включения. 3-Деокси-D-манноновый лактон (1,51 %) также обнаружен исключительно в β -ЦД-экстракте, что указывает на специфичность полости β -ЦД к лактонизированным производным моносахаридов.

Кроме того, в β -ЦД-экстракте выявлены несколько изомеров олеиновой кислоты и другие представители ненасыщенных жирных кислот. 9-Октадеценвая кислота (0,54 %), пальмитиновая кислота (0,86 %) и прочие жирные кислоты присутствуют в нем в концентрациях, отличных от их содержания в органических растворителях (см. рис. 2). Следовательно, β -ЦД не является универсальным экстрагентом для липидной фракции.

В результате проведенного исследования β -ЦД-экстрактов выявлено, что наличие мальтола и редких углеводных производных позволяет рассматривать данную систему как перспективный источник специфических биоактивных соединений для пищевых и фармацевтических технологий [3; 45].

Вода как экстрагирующая среда проявляет высокую селективность к полярным компонентам травы *T. serpyllum*. Максимальное содержание 2-метокси-4-винилфенола (6,09 %) в водном экстракте обусловлено гидрофильностью метоксильных групп, что определяет превышение его концентрации в 2,5–7,4 раза относительно концентрации в белковых системах (см. рис. 2). N-ацетил-D-глюкозамин (3,13 %) и 1,2,3-пропантриол-1-ацетат присутствуют в образце благодаря их выраженным гидрофильным свойствам. Однако водный экстракт лишен липофильных компонентов (монотерпеновых фенолов, жирных кислот и амидов) вследствие несовместимости полярной системы экстракции с гидрофобными соединениями.

Водные экстракты *T. serpyllum* имеют потенциал использования в составе функциональных пищевых напитков и нутрицевтических препаратов, обогащенных антиоксидантными полисахаридными комплексами и метоксилированными фенолами. Данные экстракты не содержат остатков органических растворителей, что способствует их применению в пищевой и фармацевтической промышленности [4].

Альтернативные экстрагенты (нативные, термоденатурированные и гидролизованные белки молочной сыворотки, β -ЦД) извлекают качественно иной спектр биоактивных соединений из травы тимьяна ползучего по сравнению со спектром БАВ, извлекаемым классическими растворителями. ГКСБ обеспечивает максимальный выход сухого вещества (см. рис. 1) за счет амфипатической природы пептидов, одновременно накапливая соединения с известным антиоксидантным потенциалом (ванилин, 2-метокси-4-винилфенол) (см. рис. 2). β -ЦД селективно инкапсулирует отдельные метаболиты, включая мальтол и 3-деокси-D-манноновый лактон, что отражает специфичность механизмов комплексообразования данной системы.

Классические органические растворители обогащают экстракты преимущественно монотерпеновыми фенолами (тимолом, карвакролом), обладающими выраженным антимикробным действием, но относительно невысокой АОА [5; 39]. Альтернативные системы (КСБ, ТКСБ, ГКСБ, β -ЦД) демонстрируют синергетический профиль полярных и неполярных компонентов, что обуславливает необходимость экспериментальной оценки их комплексного антиоксидантного потенциала для подтверждения возможности применения в качестве безопасных заменителей органических реагентов.

В связи с вышеизложенным на следующем этапе был оценен уровень АОА экстрактов из травы тимьяна ползучего, полученных с применением альтернативных экстрагентов. Как отражено на рис. 3, АОА определяли по общему содержанию фенольных соединений (в пересчете на галловую кислоту) и способности восстанавливать ABTS-радикал (в эквивалентах тролокса).

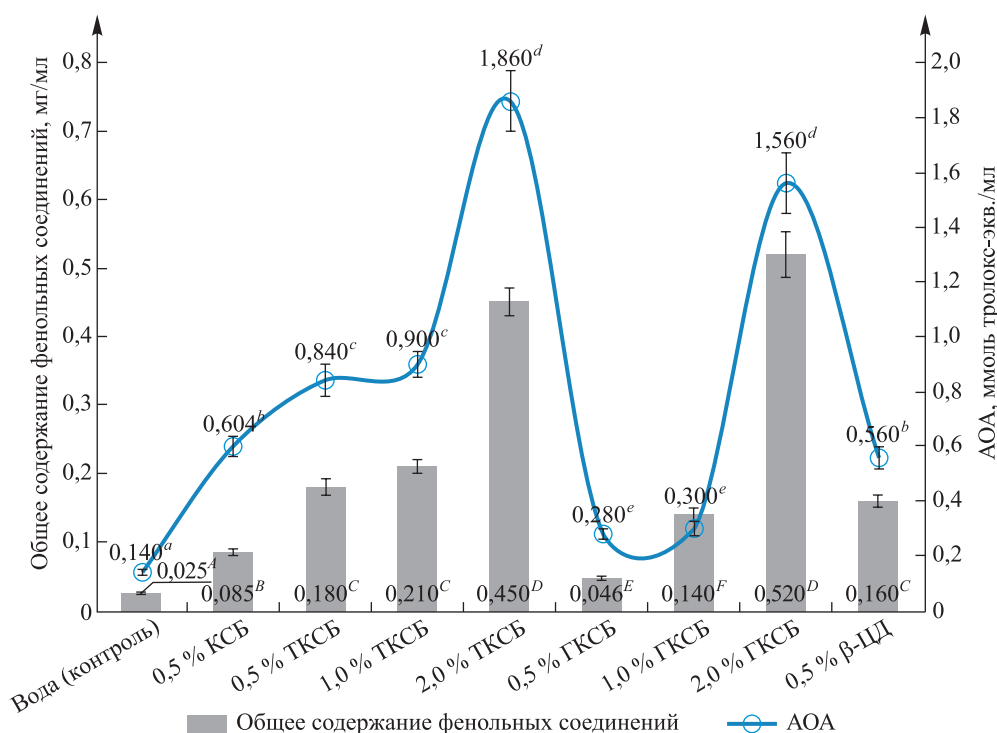


Рис. 3. Антиоксидантная активность экстрактов из травы *T. serpyllum*.

Значения без общей буквы (A–F, a–d) в пределах ряда данных указывают на достоверные различия при $p < 0,05$

Fig. 3. Antioxidant activity of extracts from *T. serpyllum* herb.

Values without a common letter (A–F, a–d) within a data series indicate significant differences at $p < 0.05$

Исследование АОА образцов экстрактов выявило существенные различия в способности восстанавливать ABTS-радикал в зависимости от типа и концентрации применяемого экстрагента. Максимальное содержание фенольных соединений достигнуто при использовании 2,0 % растворов термоденатурированных и гидролизированных белков молочной сыворотки (0,45 и 0,52 мг/мл соответственно). При повышении концентрации данных экстрагентов от 0,5 до 2,0 % продемонстрировано возрастание антиоксидантного действия ТКСБ- и ГКСБ-экстрактов в 2,5 и 10,4 раза соответственно.

Вместе с тем наивысший уровень АОА в реакции с ABTS-радикалом установлен в случае применения 2,0 % растворов ТКСБ и ГКСБ (1,86 и 1,56 ммоль тролокс-экв./мл соответственно) (см. рис. 3). Следовательно, максимальная АОА в проведенном эксперименте соответствует наивысшему содержанию фенольных соединений, что обусловлено спектром экстрагируемых полифенолов. Данный результат объясняется тем, что процесс термической денатурации приводит к экспонированию ранее скрытых гидрофобных доменов белковых макромолекул, которые с повышенной эффективностью взаимодействуют с полифенолами, в частности с соединениями, обладающими выраженной способностью к восстановлению катион-радикалов [24; 25; 43]. При использовании 0,5 и 1,0 % ГКСБ отмечена относительно низкая АОА (0,28 и 0,30 ммоль тролокс-экв./мл соответственно), что указывает на нелинейный характер зависимости антиоксидантного действия от концентрации экстрагента. Данное явление может быть связано с тем, что при низких концентрациях пептиды лишь частично экстрагируют

полифенолы из растительного материала. В случае применения 2 % ГКСБ достаточное количество амфипатических пептидов обеспечивает полное высвобождение и активацию полифенолов [26; 27], проявляющиеся в резком возрастании АОА до 1,56 ммоль тролокс-экв./мл. Высокий антирадикальный потенциал сывороточных экстрактов *T. serpyllum* подтвержден и в исследовании [28], где с применением DPPH-теста установлена АОА на уровне 64,8–68,5 %, что указывает на перспективность внедрения данных систем.

Экстракты, полученные с использованием 0,5 % раствора β -ЦД, проявили умеренный уровень АОА – 0,56 ммоль тролокс-экв./мл при содержании фенольных соединений 0,16 мг/мл (см. рис. 3). Относительно низкая концентрация полифенолов в β -ЦД-экстрактах может быть связана со специфичностью механизма комплексообразования, при котором преимущественно извлекается ограниченный набор биоактивных соединений, включая мальтол и отдельные лактонизированные производные углеводов. Исходя из этого, β -ЦД-экстракты целесообразно рассматривать как вспомогательные системы при разработке специализированных фармацевтических и пищевых продуктов, содержащих селективно извлеченные БАВ [45].

Минимальные показатели как содержания фенольных соединений, так и АОА зафиксированы для водного экстракта (см. рис. 3), что отражает его ограниченную способность к извлечению из растительного сырья липофильных и амфипатических компонентов, обладающих выраженным антирадикальным эффектом. Однако водные экстракты характеризуются высокой селективностью к полярным углеводным структурам и метоксилированным фенолам, что обуславливает их потенциальную пригодность для изготовления функциональных напитков и нутрицевтических препаратов [4].

Согласно экспериментальным данным в качестве эффективных экстрагентов для получения образцов с выраженной АОА обоснованно использовать 2,0 % растворы термоденатурированных и гидролизованных белков молочной сыворотки. Итоги исследования подтверждают высокий потенциал альтернативных экстрагирующих систем на основе сывороточных лактопротеинов как безопасных заменителей органических растворителей при разработке биоактивных биотехнологических препаратов.

Заключение

Установлено, что эффективность извлечения биоактивных соединений из травы *T. serpyllum* и компонентный состав экстрактов определяются физико-химической природой экстрагента. Классические органические растворители проявляют выраженную селективность к липофильным метаболитам. Так, этанол и метанол максимально извлекают монотерпеновые фенолы (тимол, карвакрол) и полиненасыщенные жирные кислоты, а хлороформ обогащает экстракты насыщенными жирными кислотами и углеводородными терпенами.

Белки молочной сыворотки благодаря своей амфифильной природе обеспечивают извлечение более широкого спектра соединений. Нативные лактопротеины селективны преимущественно к жирным амидам, тогда как термическая денатурация предположительно за счет экспонирования гидрофобных доменов расширяет диапазон связываемых метаболитов, включая в него фенольные соединения и азотсодержащие гетероциклы. Наибольшая экстрактивная способность достигнута при использовании гидролизованных форм. В частности, 2,0 % раствор гидролизата белков молочной сыворотки обеспечивает максимальный выход сухого вещества и фенольных соединений, что обусловлено образованием амфипатических пептидов, способных к взаимодействию как с полярными, так и с неполярными компонентами растительной матрицы.

В случае применения β -ЦД реализуется принципиально иной механизм извлечения, основанный на супрамолекулярном комплексообразовании типа «гость – хозяин». Данный подход обеспечивает селективную инкапсуляцию специфических метаболитов, включая мальтол и лактонизированные производные моносахаридов, что открывает перспективы для получения специализированных фитопрепаратов. Водная экстракция, напротив, строго ограничена полярными соединениями и неэффективна для извлечения липофильных фракций.

Анализ АОА выявил, что максимальные значения АОА (1,86 и 1,56 ммоль тролокс-экв./мл) и содержания полифенолов (0,45 и 0,52 мг/мл) достигаются при использовании 2,0 % растворов термоденатурированных и гидролизованных лактопротеинов соответственно. При этом установлено, что экстракты, обогащенные полифенолами, проявляют наибольший антирадикальный эффект.

Совокупность полученных данных обосновывает дифференцированный подход к выбору экстракционной системы в зависимости от целевой направленности конечного продукта. Альтернативные экстрагенты на основе модифицированных белков молочной сыворотки и β -ЦД могут быть рекомендованы в качестве эффективной и экологически безопасной замены органическим растворителям при разработке многокомпонентных фитопрепаратов с выраженным антиоксидантным потенциалом.

Библиографические ссылки

1. Dima C, Assadpour E, Dima S, Jafari SM. Bioavailability and bioaccessibility of food bioactive compounds; overview and assessment by *in vitro* methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2020;19(6):2862–2884. DOI: 10.1111/1541-4337.12623.
2. Gomes SVF, Portugal LA, dos Anjos JP, de Jesus ON, de Oliveira EJ, David JP, et al. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box – Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in Passiflora species. *Microchemical Journal*. 2017;132:28–35. DOI: 10.1016/j.microc.2016.12.021.
3. Vignesh A, Amal TC, Sarvalingam A, Vasanth K. A review on the influence of nutraceuticals and functional foods on health. *Food Chemistry Advances*. 2024;5:100749. DOI: 10.1016/j.focha.2024.100749.
4. Jalil B, Pischel I, Feistel B, Suarez C, Blainski A, Spreemann R, et al. Wild thyme (*Thymus serpyllum* L.): a review of the current evidence of nutritional and preventive health benefits. *Frontiers in Nutrition*. 2024;11:1380962. DOI: 10.3389/fnut.2024.1380962.
5. Mrkonjić Ž, Kaplan M, Milošević S, Božović D, Sknepnek A, Miletić D, et al. Green extraction approach for isolation of bioactive compounds in wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) herbal dust – chemical profile, antioxidant and antimicrobial activity and comparison with conventional techniques. *Plants*. 2024;13(6):897. DOI: 10.3390/plants13060897.
6. Sonmezdag AS, Kelebek H, Selli S. Characterization of aroma-active and phenolic profiles of wild thyme (*Thymus serpyllum*) by GC-MS-olfactometry and LC-ESI-MS/MS. *Journal of Food Science and Technology*. 2016;53(4):1957–1965. DOI: 10.1007/s13197-015-2144-1.
7. Пупыкина КА, Анищенко ИЕ, Красюк ЕВ, Жигунов ОЮ, Шигапов ЗХ. К биохимии некоторых представителей рода *Thymus* L. в культуре. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2025;26(6):1263–1271. DOI: 10.30766/2072-9081.2025.26.6.1263-1271.
8. Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*. 2018;13(1):20. DOI: 10.1186/s13020-018-0177-x.
9. Byrne FP, Jin S, Paggiola G, Petchey THM, Clark JH, Farmer TJ, et al. Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides. *Sustainable Chemical Processes*. 2016;4:7. DOI: 10.1186/s40508-016-0051-z.
10. Ameer K, Shahbaz HM, Kwon J-H. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017;16(2):295–315. DOI: 10.1111/1541-4337.12253.
11. Picot-Allain C, Mahomoodally MF, Ak G, Zengin G. Conventional *versus* green extraction techniques – a comparative perspective. *Current Opinion in Food Science*. 2021;40:144–156. DOI: 10.1016/j.cofs.2021.02.009.
12. Palos-Hernández A, González-Paramás AM, Santos-Buelga C. Latest advances in green extraction of polyphenols from plants, foods and food by-products. *Molecules*. 2025;30(1):55. DOI: 10.3390/molecules30010055.
13. Nadar SS, Rao P, Rathod VK. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: a review. *Food Research International*. 2018;108:309–330. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.03.006.
14. Wang Ya, Han Q, Wang Yi, Qin D, Luo Q, Zhang H. Self-assembly, rheological properties and antioxidant activities of chitosan grafted with tryptophan and phenylalanine. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2020;597:124763. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2020.124763.
15. de Souza Mesquita LM, Contieri LS, e Silva FA, Bagini RH, Bragagnolo FS, Strieder MM, et al. *Path2Green*: introducing 12 green extraction principles and a novel metric for assessing sustainability in biomass valorization. *Green Chemistry*. 2024;26(19):10087–10106. DOI: 10.1039/d4gc02512a.
16. Matencio A, Navarro-Orcajada S, García-Carmona F, López-Nicolás JM. Applications of cyclodextrins in food science. A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2020;104:132–143. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.08.009.
17. Kazlauskaitė JA, Ivanauskas L, Bernatoniene J. Cyclodextrin-assisted extraction method as a green alternative to increase the isoflavone yield from *Trifolium pratensis* L. extract. *Pharmaceutics*. 2021;13(5):620. DOI: 10.3390/pharmaceutics13050620.
18. Cid-Samamed A, Rakmai J, Mejuto JC, Simal-Gandara J, Astray G. Cyclodextrins inclusion complex: preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food Chemistry*. 2022;384:132467. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132467.
19. Sip S, Gościński A, Szulc P, Walkowiak J, Cielecka-Piontek J. Assisted extraction with cyclodextrins as a way of improving the antidiabetic activity of *Actinidia* leaves. *Pharmaceutics*. 2022;14(11):2473. DOI: 10.3390/pharmaceutics14112473.
20. Radan M, Jovanović M, Čujić Nikolić N, Mudrić J, Janković T, Bigović D, et al. Cyclodextrin-assisted extraction as a green alternative for the recovery of phenolic compounds from *Helichrysum plicatum* DC. flowers. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2024;39:101547. DOI: 10.1016/j.scp.2024.101547.
21. Xiao Y, Ahmad T, Belwal T, Aadil RM, Siddique M, Pang L, et al. A review on protein based nanocarriers for polyphenols: interaction and stabilization mechanisms. *Food Innovation and Advances*. 2023;2(3):193–202. DOI: 10.48130/FIA-2023-0021.
22. Mao T, Akshat FNU, Mitiwalage I, Sasidharan S, Alvarez CM, Wescombe P, et al. Preferential binding of polyphenols in black-currant extracts with milk proteins and the effects on the bioaccessibility and antioxidant activity of polyphenols. *Foods*. 2024;13(4):515. DOI: 10.3390/foods13040515.
23. Jiang L, Zhang Z, Qiu C, Wen J. A review of whey protein-based bioactive delivery systems: design, fabrication, and application. *Foods*. 2024;13(15):2453. DOI: 10.3390/foods13152453.
24. Li Hongbo, Zhao Tingting, Li Hongjuan, Yu Jinghua. Effect of heat treatment on the property, structure, and aggregation of skim milk proteins. *Frontiers in Nutrition*. 2021;8:714869. DOI: 10.3389/fnut.2021.714869.
25. Coşkun Ö, Raak N, Corredig M. Heat induced interactions in whey protein depleted milk concentrates: comparison of ultrafiltration and microfiltration. *Food Hydrocolloids*. 2023;137:108354. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2022.108354.
26. Saadi S, Makhoulouf C, Nacer NE, Halima B, Faiza A, Kahina H, et al. Whey proteins as multifunctional food materials: recent advancements in hydrolysis, separation, and peptidomimetic approaches. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2024;23(1):e13288. DOI: 10.1111/1541-4337.13288.
27. Luparelli A, Trisciuzzi D, Schirinzi WM, Caputo L, Smiraglia L, Quintieri L, et al. Whey proteins and bioactive peptides: advances in production, selection and bioactivity profiling. *Biomedicine*. 2025;13(6):1311. DOI: 10.3390/biomedicine13061311.
28. Насруллаева ГМ, Кузнецова ЕА, Бондарев НИ, Бриндза Я, Альхуссейни Х. Свойства сыровоточного экстракта травы *Thymus serpyllum* L. *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*. 2021;4:90–94.

29. Halavach TM, Kurchenko VP, Tarun EI, Yantsevich AV, Shchur VV, Tsygankow VG, et al. Effect of hydrolysis degree with Al-calase on antioxidant and antigenic properties of whey and colostrum protein hydrolysates. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2024;15:100975. DOI: 10.1016/j.jafr.2024.100975.
30. Halavach TM, Kurchenko VP, Tarun EI, Dudchik NV, Yatskou MM, Lodygin AD, et al. Influence of complexation with β - and γ -cyclodextrin on bioactivity of whey and colostrum peptides. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(18):13987. DOI: 10.3390/ijms241813987.
31. Головач ТН, Ловкис ЗВ, Курченко ВП, Янцевич АВ, Тарун ЕИ, Дудчик НВ и др. Биологически активные гидролизаты белков молока и их комплексы включения с циклодекстринами. *Техника и технология пищевых производств*. 2024;54(3):461–482. DOI: 10.21603/2074-9414-2024-3-2521.
32. Metsalu T, Vilo J. *ClustVis*: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using principal component analysis and heatmap. *Nucleic Acids Research*. 2015;43(W1):W566–W570. DOI: 10.1093/nar/gkv468.
33. Aarland RC, Bañuelos-Hernández AE, Frago-Serrano M, Sierra-Palacios EC, Díaz de León-Sánchez F, Pérez-Flores LJ, et al. Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* extracts. *Pharmaceutical Biology*. 2017;55(1):649–656. DOI: 10.1080/13880209.2016.1265989.
34. Chambers JM, Freeny AE, Heiberger RM. Analysis of variance; designed experiments. In: Chambers JM, Hastie TJ, editors. *Statistical models in S*. Pacific Grove: Wadsworth & Brooks/Cole Advanced Books & Software; 1992. p. 145–190.
35. Miller RG Jr. *Simultaneous statistical inference*. 2nd edition. New York: Springer-Verlag; 1981. XVI, 299 p. (Springer series in statistics).
36. Brglez Mojzer E, Knez Hrnčič M, Škerget M, Knez Ž, Bren U. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*. 2016;21(7):901. DOI: 10.3390/molecules21070901.
37. Sun S, Yu Y, Jo Y, Han JH, Xue Y, Cho M, et al. Impact of extraction techniques on phytochemical composition and bioactivity of natural product mixtures. *Frontiers in Pharmacology*. 2025;16:1615338. DOI: 10.3389/fphar.2025.1615338.
38. Lefebvre T, Destandau E, Lesellier E. Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: a review. *Journal of Chromatography A*. 2021;1635:461770. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461770.
39. Galovičová L, Borotová P, Valková V, Vukovic NL, Vukic M, Terentjeva M, et al. *Thymus serpyllum* essential oil and its biological activity as a modern food preserver. *Plants*. 2021;10(7):1416. DOI: 10.3390/plants10071416.
40. Shin S-B, Ko M-J. Enhanced process for efficient extraction of oxygenated monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris* L.) using subcritical water. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2025;142:217–224. DOI: 10.1016/j.jiec.2024.07.026.
41. Sguizzato M, Esposito E, Cortesi R. Lipid-based nanosystems as a tool to overcome skin barrier. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(15):8319. DOI: 10.3390/ijms22158319.
42. Jauregi P, Guo Y, Adeloje JB. Whey proteins – polyphenols interactions can be exploited to reduce astringency or increase solubility and stability of bioactives in foods. *Food Research International*. 2021;141:110019. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.110019.
43. Bogahawaththa D, Vasiljevic T. Denaturation of selected bioactive whey proteins during pasteurization and their ability to modulate milk immunogenicity. *Journal of Dairy Research*. 2020;87(4):484–487. DOI: 10.1017/s0022029920000989.
44. Boboua SYB, Wen Q, Zhang L, Chen Y, Yu J, Chen P, et al. Valorization of animal waste proteins for agricultural, food production, and medicinal applications. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2024;8:1366333. DOI: 10.3389/fsufs.2024.1366333.
45. Nicolaescu OE, Belu I, Mocanu AG, Manda VC, Rău G, Pîrvu AS, et al. Cyclodextrins: enhancing drug delivery, solubility and bioavailability for modern therapeutics. *Pharmaceutics*. 2025;17(3):288. DOI: 10.3390/pharmaceutics17030288.

Получена 03.01.2026 / исправлена 04.02.2026 / принята 06.02.2026.
Received 03.01.2026 / revised 04.02.2026 / accepted 06.02.2026.

Авторы:

Татьяна Николаевна Головач – кандидат биологических наук, доцент; ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Владимир Петрович Курченко – кандидат биологических наук, доцент; заведующий научно-исследовательской лабораторией прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Наталья Владимировна Сушинская – старший научный сотрудник лаборатории прикладных проблем биологии кафедры общей экологии и методики преподавания биологии биологического факультета.

Алексей Дмитриевич Лодыгин – доктор технических наук, доцент; заведующий кафедрой прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А. Г. Храмцова.

Authors:

Tatsiana M. Halavach, PhD (biology), docent; leading researcher at the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology. halavachtn@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-2096-8030>

Vladimir P. Kurchenko, PhD (biology), docent; head of the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

kurchenko@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0002-4859-2389>

Natallia V. Sushynskaya, senior researcher at the laboratory of applied biology, department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

sushynskayan@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0003-4036-9825>

Aleksei D. Lodygin, doctor of science (engineering), docent; head of the department of applied biotechnology, faculty of food engineering and biotechnology named after Academician A. G. Khramtsov.

alodygin@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>

Иван Алексеевич Евдокимов – доктор технических наук, профессор; заведующий базовой кафедрой технологии молока и молочных продуктов факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А. Г. Храмцова.

Лиана Валериевна Гарибян – аспирантка кафедры прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А. Г. Храмцова. Научный руководитель – А. Д. Лодыгин.

Антон Александрович Сисъко – студент биологического факультета. Научный руководитель – Т. Н. Головач.

Ivan A. Evdokimov, doctor of science (engineering), full professor; head of the basic department of milk and dairy products technology, faculty of food engineering and biotechnology named after academician A. G. Khramtsov.

ievdokimov@ncfu.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5396-1548>

Liana V. Garibian, postgraduate student at the department of applied biotechnology, faculty of food engineering and biotechnology named after academician A. G. Khramtsov.

liana.garibian@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0001-5153-0373>

Anton A. Sisko, student at the department of general ecology and methods of biology teaching, faculty of biology.

bio.sisko@bsu.by
