

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО

**Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології**

_____ **Юлія КОЛОМІЄЦЬ**

« ____ » _____ 2026 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

**Завідувач кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття**

_____ **Олена КВАСКО**

« ____ » _____ 2026 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «Розробка біотехнології отримання біологічно активних агліконів
Arctium lappa L. шляхом ферментативного гідролізу»**

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології та біоінженерія»

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук, доцент

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

**Керівник бакалаврської кваліфікаційної
роботи**

Кандидат біологічних наук, доцент

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

Доктор біологічних наук, доцент

_____ **Артур ЛІХАНОВ**
(підпис)

Виконала

_____ **Валерія ЛУК'ЯНОВА**
(підпис)

КИЇВ – 2026

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології**

**ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
екобіотехнології та
біорізноманіття**

_____ **Олена КВАСКО**
« _____ » _____ 2026 р.

**З А В Д А Н Н Я
ДО ВИКОНАННЯ БАКАЛАВРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
ЗДОБУВАЧУ**

Лук'яновій Валерії Юріївні

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Біотехнології та біоінженерії»

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи «Розробка біотехнології отримання біологічно активних агліконів *Arctium lappa* L. шляхом ферментативного гідролізу»

затверджена наказом від 30 жовтня 2025 року № 2596 «С»

Термін подання завершеної роботи на кафедру: «22» травня 2026 р.

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: літературні та інтернет джерела, загальноприйняті методи дослідження.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Проаналізувати інтернет джерела, щодо характеристики плодів *Arctium lappa* L. та впливу ферментативного гідролізу на вивільнення потенційно важливих агліконів.
2. Охарактеризувати та описати відмінності досліджуваних зразків насіння *Arctium lappa*.
3. Дослідити, як середовище існування впливає на біологічно активний склад насіння лопуха великого.
4. Дослідити, як метод ферментативного гідролізу насіння лопуха β -глюкозидазою впливає на збільшення активності фітосполук.

Дата видачі завдань: «30» жовтня 2025 р.

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи _____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

_____ **Артур ЛІХАНОВ**
(підпис)

Завдання прийняла до виконання

_____ **Валерія ЛУК'ЯНОВА**

РЕФЕРАТ

Бакалаврська кваліфікаційна робота на тему «Розробка біотехнології отримання біологічно активних агліконів *Arctium lappa* L. шляхом ферментативного гідролізу» налічує 48 сторінок формату А4. У ній наведено 10 таблиць, 12 рисунків та використано 27 літературних джерел.

Ключові слова: ARCTIUM LAPPA L., АГЛІКОНИ, ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ, β -ГЮКОЗИДАЗА, БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ, ЛОПУХ ВЕЛИКИЙ, НАСІННЯ.

Актуальність роботи зумовлена необхідністю пошуку високоефективних природних сполук із вираженою фармакологічною активністю та розробки екологічно безпечних методів їх отримання. Лопух справжній (*Arctium lappa*) є джерелом цінних лігнанових глікозидів, проте їхня біологічна активність суттєво обмежена низькою біодоступністю через великий розмір молекул та їх гідрофільність. Доведено, що саме аглікони, які вивільняються під час ферментативного гідролізу мають здатність краще проникати крізь клітинні мембрани, виявляючи потужний антиоксидантний, протипухлинний, противірусний та протизапальний ефекти.

Метою дослідження є розробка технології ферментативного деглікозилювання вторинних метаболітів насіння *Arctium lappa* для підвищення їх біологічно активних властивостей.

Об'єктом дослідження є зразки насіння лопуха з різних регіонів України, які зростали за різних кліматичних, ґрунтових умов та абіотичних чинників.

Предметом дослідження є зміни вмісту агліконів в зразках насіння лопуха великого, під дією ферментативного гідролізу, ферментом β -гюкозидазою.

Методологія дослідження географічні, морфометричні показники, хроматографічний метод, спектрофотометричний метод, метод визначення антиоксидантної властивості, а також визначення вмісту флавоноїдів.

ABSTRACT

The bachelor's qualification work on the topic "Development of biotechnology for obtaining biologically active aglycones of *Arctium lappa* L. by enzymatic hydrolysis" consists of 48 pages of A4 format. It contains 10 tables, 12 figures and uses 27 references.

Keywords: *ARCTIUM LAPPA* L., AGLICONES, ENZYMATIC HYDROLYSIS, β -GLUCOSIDASE, BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES, GREAT BURDOCK, SEEDS.

The relevance of the work is due to the need to search for highly effective natural compounds with pronounced pharmacological activity and develop environmentally safe methods for their production. Burdock (*Arctium lappa*) is a source of valuable lignan glycosides, but their biological activity is significantly limited by low bioavailability due to the large molecular size and their hydrophilicity. It has been proven that the aglycones released during enzymatic hydrolysis have a better ability to penetrate cell membranes, exhibiting powerful antioxidant, antitumor, antiviral and anti-inflammatory effects.

The aim of the study is to develop a technology for enzymatic deglycosylation of secondary metabolites of *Arctium lappa* seeds to increase their biological activity.

The object of the study is burdock seed samples from different regions of Ukraine, grown under different climatic, soil conditions and abiotic factors.

The subject of the study is changes in the content of aglycones in burdock seed samples under the action of enzymatic hydrolysis by the enzyme β -glucosidase.

The research methodology includes: geographical and morphometric indicators, chromatographic and spectrophotometric methods, methods for determination of antioxidant activity and flavonoid content.

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1 Лопух великий (<i>Arctium lappa</i> L.). Ботанічний опис	7
1.2 Склад і функціональне значення біологічно активних речовин лопуха у дієтології, фармакології та косметології.....	10
1.3 Природна ферментація та роль гідролаз і глікозидаз у переробці рослинної сировини	13
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	16
2.1 Об'єкт дослідження.....	16
2.2 Метод екстракції розчинником	18
2.3 Метод високоефективної тонкошарової хроматографії.....	19
2.4 Метод ферментативного гідролізу насіння лопуха β -глюкозидазою	20
2.5 Метод визначення загального вмісту флавоноїдів	22
2.6 Кількісне визначення концентрації фенольних антиоксидантів	23
2.7 Статистична обробка даних.....	24
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ АНАЛІЗ	25
3.1 Опис та визначення морфометричних показників насіння <i>Arctium lappa</i> L. зібраних в різних областях України.....	25
3.2 Біохімічний склад <i>Arctium lappa</i> L. за різних умов місцезростання	29
3.3 Біологічно активний склад насіння <i>Arctium lappa</i> L. після проведення ферментативного гідролізу β -глюкозидазою.....	35
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	44

ВСТУП

Сучасна фармацевтична галузь все більше акцентує увагу на використанні рослинної сировини як джерела біологічно активних речовин з унікальними лікувальними властивостями, які можуть стати основою для створення нових ефективних, безпечних та економічно доступних лікарських засобів. Лопух великий (*Arctium lappa* L.) вже багато століть використовується в традиційній медицині різних країн. Особливе місце він посідає в етномедичній практиці країн Східної Азії, зокрема у традиційній китайській медицині. Кожна частина цієї рослини містить різні біологічно активні речовини з широким спектром дії. Нові дослідження підтверджують різносторонню біологічну активність рослини, включаючи антиоксидантну, протизапальну, антимікробну, гепатопротекторну та противірусну дію [23]. Біологічна активність *Arctium lappa* L. зумовлена наявністю широкого спектру вторинних метаболітів: флавоноїдів (кверцетин, рутин, лютеолін, кемпферол), лігнанів (арктиїн, арктигенін, лаппаолі), поліфенолів (хлорогенова, кавава кислоти, цинарин), полісахаридів (інулін, фруктоолігосахариди), стеролів та ефірних олій. Найбільш цінними є лігнани, зокрема арктиїн та його аглікон арктигенін, які містяться в насінні. Ці сполуки демонструють значну протизапальну та противірусну активності [10].

Критичною проблемою сучасної медицини є зростання кількості штамів патогенних мікроорганізмів і вірусів, резистентних до синтетичних засобів, а також їхня висока токсичність та ризик виникнення побічних ефектів під час тривалої терапії. Природні сполуки з сировини лопуха, особливо після проведення ферментативного гідролізу, мають кращу біодоступність, нижчу токсичність і багатогранний механізм дії. Технологія ферментації екстрактів відкриває шляхи отримання стандартизованих екстрактів з високим вмістом активних агліконів, що дозволяє створювати нові форми фармацевтичних препаратів [15]. У цій роботі досліджено ефективність та режими ферментації екстрактів насіння *Arctium lappa* L. β -глюкозидазою для отримання високоактивних агліконів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Лопух великий (*Arctium lappa* L.). Ботанічний опис

Лопух великий (*Arctium lappa* L.) – трав'яниста дворічна рослина, яка являє собою низькорослу розетку прикореневого листя протягом першого року, але на другий рік висота може досягати 90 – 180 см заввишки. Стебла товсті, круглі або злегка ребристі по колу, від світло-зеленого до червонувато-зеленого кольору. Молоді стебла вкриті білими павутиноподібними волосками, але з віком стають голими та мають помітні повздовжні жилки [7]. Листки лопуха характеризуються як чергові, великі (до 50 см завдовжки), широкояйцеподібної або серцеподібної форми з довгими черешками. Вони мають рідкозубчастий або суцільний край, зверху зазвичай зелені та майже голі, а внизу – сірувато-повстисті через густе опушення [20]. На верхніх стеблах знаходяться скупчення квіткових головок на коротких квітконіжках. Кожна квіткова головка має діаметр близько 19-15 мм і складається з численних дискових суцвіть та квіткових приквітків з вузькими гачкуватими кінчиками. Кожне дискове суцвіття має віночок вузькоциліндричної форми, який складається з 5 тонких вертикальних часток на верхівці. Ці суцвіття зазвичай мають рожеве або фіолетове забарвлення, хоча трапляється рідкісна форма лопуха звичайного з білими суцвіттями. Рясні приквітки зелені біля основи, жовтіють ближче до гачкуватих кінчиків. Вони мають колючки, а також павутинчасті волоски посередині. Сім'янки видовженої форми, ширші та більш усічені на одному кінці ніж на іншому, світло коричневого кольору з темними вкрапленнями. На верхівці кожна сім'янка має коронку з тонких щетинок, але з часом дозріванням вони опадають. Квітконосні приквітки забарвлюються коричневим та оточують зів'ялі квіти на верхівці, утворюючи борозди. Борозди дуже стійкі і залишаються навіть після зів'ядання листя. Коренева система складається з міцного стрижневого кореня, який знаходиться глибо в ґрунті. Лопух розмножується шляхом пересівання і часто утворює колонії різного масштабу [7].

Біохімічний склад *Arctium lappa* L.

Лопух великий є лікарською рослиною, яка походить з Азії та Європи, вона широко адаптована для вирощування в різних географічних та температурних поясах. Період вегетації триває від 8 до 12 місяців, а врожайність кореневища може сягати від 8 до 40 т/га [27]. У літературі повідомляється про багато переваг для здоров'я, пов'язаних з наявністю різних класів біологічно активних вторинних метаболітів у рослині [17].

Корінь Arctium lappa L. Корінь має циліндричну форму (45-50 см завдовжки та 3-6 см у діаметрі), тонку шкірку коричневого кольору, а внутрішня частина – від білого до жовтуватого відтінку [27]. В країнах Сходу, таких як Японія, Корея, Китай, В'єтнам, а також країнах Заходу – Німеччині та Чехії, корінь лопуха додають у раціон в свіжому вигляді. Для використання коріння з лікарською метою краще збирати його саме в перший рік життя рослини, а саме восени або ранньою весною, коли ще не сформувалося квітконосне стебло. Викопане коріння потрібно гарно промити та очистити від залишків землі, відрізати надземні частини біля кореневої шийки, а товсті кореневища потрібно повздовжньорозрізати та розкласти на паперовому листі або на тканині. Сушити сировину слід на відкритому повітрі у затінку [2]. Екстракти які готуються з різних частин лопуха, мають різні фармакологічні властивості, включаючи антиоксидантну, протизапальну, протипухлинну, протидіабетичну, антимікробну, протівірусну, протиалергічну, противиразкову, протитуберкульозну, протистерильну, протиангіостронгіліазну, гастропротекторну, антиезотеричну, гепатопротекторну, антицитотоксичну дію та дію проти висипів на шкірі.

Основними біологічно активними речовинами в керенях лопуха виступають леткі сполуки, танін, β -еудесмол, кавова та хлорогенова кислоти, інουλін, трахелогенін, ситостерол- β -D-глюкопіранозид, лапаол, терпени, поліїни, арктиїн, арктигенін та діарктигенін [27].

Листя Arctium lappa L. Листя лопуха великого (*Arctium lappa L.*) становить великий інтерес для сучасної біотехнології та фармакології, завдяки своєму унікальному поєднанню біоактивних сполук.

Основними компонентами в складі лисття виступають поліфеноли, зокрема похідні кавової кислоти, серед яких важливе місце посідає хлорогенова кислота, яка забезпечує сильний антиоксидатний захист клітин. Також повідомляється, що в листі присутні специфічні секвітерпенові лактони (онопордопікрин та цинаропікрин), які проявляють виражену протизапальну, анальгетичну та протипухлинну дію і дубильні речовини, що сприяють швидкому відновленню тканин і мають бактерицидні властивості. Хоча найбільша концентрація лігнанових сполук міститься саме у насінні, певна їх частина також зосереджена в листі [20].

У дослідженнях повідомляється, що листя лопуха має деякі антимікробні властивості, проти деяких штамів бактерій, які зустрічаються при ендодонтичних інфекціях, таких як *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Pseudomonas aeruginosa*, проти *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Micrococcus luteus* [12].

Завдяки такому складу, екстракти з листя виявляють здатність пригнічувати медіатори запалень, мають гепатопротекторну функцію, захищаючи печінку від токсичних речовин. Також описується здатність препаратів на основі лисття лопуха інгібувати альфа-глюкозидазу, що вказує на його антидіабетичні властивості [20].

Насіння Arctium lappa L. Плід аркти (*F. arctii*) – це стиглі висушені плоди *Arctium lappa L.*. Використовуються як традиційний лікарський засіб проти кашлю, запалень, для зняття жару, детоксикації, раку та діабету у різних регіонах Китаю, Японії, Ірану, Європи, Авганістану, Індії тощо. Насіння має довгу оберненояйцеподібну форму, трохи приплюснуті і вигнуті, 5-7 мм завдовжки та 2-3 мм завширшки, має декілька повздовжніх смуг. Насіння лопуха має високу адаптивність і стійкість до холоду, посухи та лужного рН ґрунту.

Основними хімічними складовими насіння виступають лігнани, серед яких ключову роль займають арктиїн та його аглікон арктигенін. Також окрім лігнанів до складу насіння входять жирні олії, такі як ленолева та олеїнова, фітостероли (бета-ситостерин, стигмастерин), а ще флавоноїди та фенольні сполуки. Маючи такий склад, насіння демонструє широкий спектр біологічної дії, а саме протизапальні властивості шляхом інгібування прозапальних цитокінів, має виражений антиоксидантний ефект, захищаючи клітини від окисного стресу та проявляє значний протипухлинний потенціал, здатний індукувати апоптоз ракових клітин [9].

Дослідження підтверджують, що арктигенін демонструє широкий спектр противірусної активності до різних типів вірусів, включаючи вірус грипу А (IAV), вірус герпесу (HSV-1), вірус японського енцефаліту (JEV) та вірус імунodefіциту людини (ВІЛ-1). В статтях зазначається, що арктигенін ефективно прегнічує реплікацію вірусу грипу А, шляхом інгібування синтезу вірусних білків на ранніх стадіях інфекційного циклу. Крім прямого впливу на реплікацію вірусу, арктигенін проявляє здатність пригнічувати секрецію поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAg) та е-антигену (HBeAg), що вказує на його потенціал у лікуванні хронічного гепатиту типу В [22]. Фенольні компоненти, такі як кавова та хлорогенова кислоти теж проявляють сильну інгібуючу дію на герпесвірус та аденовірус [19].

1.2 Склад і функціональне значення біологічно активних речовин лопуха у дієтології, фармакології та косметології

Зазначається, що американські травники знайомі з лопухом ще з часів заселення країни і використовували його переважно для очищення крові та як знеболювальне. Корінь має велику харчову цінність, тому в народі його називають «картоплею для бідних». Згідно з даними Міністерства сільського господарства США, корінь забезпечує організм великою кількістю вуглеводів, білка та клітковини (Табл.1.1). Серед мінералів він містить кальцій, калій,

магній, фосфор та селен. Також він має гарний вітамінний склад, включаючи вітаміни групи В, вітамін С, Е та К. Містить амінокислоти, такі як аспаргінова, глютамінова кислоти, аргінін, пролін та лізин [18].

Таблиця 1.1 – Вміст основних харчових компонентів *Arctium lappa* L.

Корінь лопуха, сирий	Харчова цінність на 100 г
Енергетична цінність	302 кДж (72 ккал)
Вуглеводи	17,34 г
Цукри	2,9 г
Харчові волокна	3,3 г
Жири	0,15 г
Білки	1,53 г

Дієтологія. У дієтології лопух цінується саме як джерело пребіотичних волокон. Корінь містить велику кількість інуліну (до 45-70% вуглеводів) та фруктоолігосахаридів, які є пребіотиками. Ці речовини селективно стимулюють розвиток корисної мікрофлори кишечника (біфідобактерії та лактобактерії), покращують травлення, підвищують засвоєння мінералів (кальцію, магнію), регулюють рівень глюкози та ліпідів у крові [16]. Корінь лопуха відрізняється низьким вмістом крохмалю, високою кількістю олігосахаридів, а також містить фруктани, які є стійкими до травних ферментів людини. Корінь зазвичай вживають сирим або приготованим, і після збору сировини вони містять приблизно 80% вологи та високу активність поліфенолоксидази, що скорочує термін зберігання. Тому оскільки попит на використання більш функціональних компонентів у харчових продуктах зростає, використання коріння як додатковий компонент для приготування хлібобулочних виробів є дуже актуальним на сьогоднішній день [13]. Порошок кореня лопуха використовують як добавку до випічки, чаїв та функціональних продуктів харчування для зниження їх калорійності, покращення мікробіоти та профілактики ожиріння, діабету 2 типу та запальних захворювань кишечника. Інулін виділений з коріння лопуха також діє як низькокалорійний замінник жиру та цукру в продуктах [16].

Фармакологія. Біологічно активні речовини лопуха виявляють широкий спектр фармакологічних ефектів. Антиоксидантна дія обумовлена наявністю поліфенолів (хлорогенова, кавава кислоти) та флавоноїдів, які активують шлях NrF2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2) зменшують утворення активних форм кисню, підвищують активність сепероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази. Це захищає клітини від окисного стресу, важких металів та сприяє гепатопротекції [10]. Протидіабетична дія лопуха пов'язана з інуліном та арктигеніном, які активують AMPK (activated protein kinase), інгібують α -глюкозидазу, знижують глюкозу крові, покращують інсуліночутливість, зменшують гіперліпідемію та утворення кінцевих продуктів глікації. Протипухлинна дія проявляється через індукцію апоптозу, пригнічення антигенезу, міграції клітин. Арктигенін ефективний проти раку молочної залози, печінки, підшлункової залози, лейкемії (особливо за умо глюкозного голодування). Інші ефекти включають гепатопротекторний, нейропротекторний, антимікробний, пребіотичний та імуномодулюючий. Поліфеноли та лігнани також проявляють антиалергічну, антиобезитну та кардіопротекторну властивість. Також у клінічних дослідженнях чай або екстракт на основі кореня лопуха показав ефективність при остеоартриті, акне, ожирінні та інфекціях *H. pylori* [23,10].

Косметологія. У косметології лопух застосовується через свою антиоксидантну, протизапальну та регенеруючу властивість. Поліфеноли та флавоноїди листків і кореня зменшують окисний стрес шкіри, стимулюють синтез колагену, покращують еластичність та зменшують зморшки. Екстракти кореня традиційно використовують для «очищення крові» та лікування шкірних захворювань, таких як екзема, акне, фурункуліоз та псоріаз, завдяки антимікробній та протизапальній дії. Арктигенін з насіння проявляє освітлювальний ефект, зменшує синтез меланіну, вирівнює тон шкіри, а також діє як анти-ейджинг агент. Саме листкові екстракти найбільш ефективні для анти-ейджингу та зволоження шкіри. Зазвичай екстракти додають до кремів, масок, лосьйонів, шампунів (проти лупи, для зміцнення волосся) [10,8].

1.3 Природна ферментація та роль гідролаз і глікозидаз у переробці рослинної сировини

Природна ферментація – це спонтанний або контрольований біохімічний процес, під час якого ендogenousні ферменти самої рослини або ферменти мікроорганізмів, таких як бактерії, дріжджі, гриби розщеплюють складні макромолекули (полісахариди, глікозиди, поліфеноли та білки) на більш простіші та біодоступні біологічні активні форми. Цей процес відбувається без додавання синтетичних компонентів і часто ініціюється при механічному пошкодженні тканин рослин, зберіганні, сушінні або традиційній переробці (приготування чаїв, настоїв, ферментованих продуктів харчування). Природна ферментація виступає ключовим етапом, який підвищує біологічну активність сировини, покращує органолептичні властивості та збільшує засвоюваність поживних речовин і часто знижує антинутриєнти [16].

Гідролази – це великий клас ферментів, які каталізують реакції гідролізу з участю молекул води, розриваючи ефірні, глікозидні, пептидні та інші зв'язки. У рослинній переробці гідролази відіграють головну роль у деполімеризації складних полісахаридів (інуліну до фруктоолігосахаридів), вивільнення агліконів з глікозидів та активації вторинних метаболітів. Глікозидази зокрема β -глікозидази, які є підкласом гідролаз і специфічно гідролізують β -глікозидні зв'язки в глікозидах, перетворюючи неактивні або менш біодоступні глікозиди на біологічно активні аглікони. Це значно підвищує їхню біодоступність, фармакологічну активність та внтиоксидантний потенціал [26].

Поліфенолоксидаза (РРО) є одним з найважливіших ендogenousних окислювальних ферментів, що бере активну участь у ферментації. Це мідь вмісний фермент, який окислює моно- та дифеноли (наприклад, хлорогенову кислоту та катехіни) до о-хінонів. Утворені у ході ферментації, хінони далі полімеризуються з утворенням коричневих пігментів, таких як теафлавінів, теарубігінів та танінів. РРО відповідає за ферментативне потемніння при пошкодженні тканин рослин і часто змінює антиоксидантну активність

кінцевого продукту, зменшує вміст вільних поліфенолів, в той час формуючи нові сполуки з характерним смаком і запахом [21].

У багатьох рослинних сировинах природна ферментація поєднує ендogenous ферменти рослини з мікробними. Бактерії (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*), дріжджі та гриби (*Aspergillus*, *Trichoderma*) продукують додаткові глікозидази та гідролази, які розщеплюють полісахариди та вивільняють коротколанцюгові жирні кислоти, пребіотики та аглікони. Це покращує пробіотичні властивості продукту, біологічну активність та органолептичні показники [24]. Гідролази, а саме інулінози (фруктан β -фруктозидази) спеціалізуються на розщепленні β -(2 $\rightarrow$ 1) - зв'язків у інулін типу фруктанах. У коренеплодах, багатих на інулін, ці ферменти перетворюють дволанцюговий інулін на коротколанцюгові фруктоолігосахариди, які мають сильні пребіотичні властивості та краще ферментуються кишковою мікрофлорою [16].

Найкращим прикладом природної ферментації є переробка чайного листя (*Camellia sinensis*) при виробництві чорного чаю. Під час пошкодження листя активується ендogenous поліфенолоксидаза (РРО) та пероксидаза. РРО окислює катехіни (епігаллокатехіни галат, епікатехін) до о-хінонів, які далі полімеризуються з утворенням теафлавінів та теарубігінів. У процесі ферментації чорного чаю РРО відіграє головну роль, а мікробна активність може доповнювати окислення [14]. У коренях цикорію (*Cichorium intybus*), схожого за вмістом інуліну до лопуха, природна та лактатна ферментація з *Lactobacillus* підвищує антиоксидантну активність, вивільняє аглікони поліфенолів і покращує пребіотичні властивості [16]. Природна ферментація женьшеню (*Panax ginseng*) з *Lactobacillus* або *Aspergillus* призводить до деглікозилювання гінсенозидів, що значно підвищує їхню біологічну активність (антизапальну, протиракову, антидіабетичну). Ферментований червоний женьшень демонструє кращі результати порівняно з не ферментованим [4]. Ферментація какао-бобів, є одним з найбільш складних природних процесів у харчовій промисловості, що триває близько 4-7 днів. Він включає мікробну деградацію пульпи (дріжджі, молочнокислі та оцтовокислі бактерії) та внутрішню ендogenous ферментацію

самого боба. Мікроорганізми метаболізують цукри пульпи з утворенням етанолу, молочної та оцтової кислот, що підвищує температуру до 40-50 °C і знижує рН з 7 до 4-4,5, саме це призводить до загибелі зародка і руйнування клітинних мембран бобу [25]. У ферментації какао ключову поліфенолоксидаза, після якої відбувається зміна смаку, продукт втрачає свою гіркоту та терпкість і утворює коричневий колір. Антоціани гідролізуються глікозидазами (α -галактозидазою, α -арабінозидазою) з вивільненням агліконів. Пектинази (ендогенні та мікробні) деградують пектин пульпи, полегшуючи дифузію кислот. Внаслідок цього процесу вміст вільних поліфенолів знижується на 20-70% і формуються попередники (пептиди, вільні амінокислоти, редукуючі цукри) [11].

Відносно лопуха, то ферментація особливо виражена в коренях та насіння завдяки високому вмісту інуліну (до 40-70% сухої маси) та глікозиду арктиїну. Інουλін в коріння рослини під дією ендогенних інуліноз або мікробних гідролаз частково гідролізується до пребіотичних фруктоолігосахаридів. При пошкодженні тканин кореня, активується поліфенолоксидаза, що викликає потемніння та окислення хлорогенової кислоти, змінюючи антиоксидантний профіль [16]. У плодах лопуха прородна або контрольована ферментація за участі β -глюкозидаз призводить до гідролізу арктиїну з подальшим утворенням арктигеніну – аглікону з більш вищою біологічною активністю (протизапальною, протипухлинною, антиоксидантною). Арктиїн має низьку біодоступність, тому ферментація підвищує вміст арктигеніну в декілька разів. У дослідженнях зазначається, що ферментація порошку насіння лопуха грибами *Aspergillus awamori* та *Trichoderma reesei* дозволяє досягти конверсії арктиїну на рівні 99,84% з виходом арктигеніну 19,51 мг/г [26]. Лактатна ферментація кореня лопуха *Lactobacillus casei* значно змінює хімічний склад і біологічну активність.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Об'єкт дослідження

Об'єктом дослідження є зібрані зразки насіння *Arctium lappa* L. з різних регіонів України. Насіння було обране для дослідження саме через його легку доступність, порівняно з іншими частинами, такими як корінь чи листя. Насіння довго зберігається, не потребує додаткового висушування, а також легко піддається механічному впливу.

Насіння було зібране у Чернігівській, Київській, Полтавській та Житомирській областях (Рис. 2.1). Рослини росли за різних кліматичних та ґрунтових умов, мали різний вік, тому мають різний активний склад (Табл. 2.2).



Рисунок 2.1 – Точки відбору досліджуваних зразків насіння *Arctium lappa*

Перший зразок насіння лопуха був відібраний у місті Малин Житомирської області не далеко від багатоквартирного комплексу. Лопух характеризувався не великою висотою близько 80 см. Другий об'єкт зростав в Києві, а саме в Голосіївському районі біля Китаївських озер. На вигляд лопух був не першого року, більше метру заввишки. Третій зразок плодів лопуха був відібраний у

населеному пункті Дейманівка Чернігівської області. Сама рослина була уже старою, висотою близько 1,5 метра. Лопух ріс на узбіччі дороги, але не далеко від лісу. Четвертий зразок був зібраний в Чернігівській області в населеному пункті Линовиця недалеко від полів. Рослина була високою та старою на вигляд. П'ятий зразок насіння лопуха був відібраний у Полтавській області в населеному пункті Бербениці у невеликому лісі поруч з дорогою. Лопух був відносно молодий та мав висоту близько 60-70 см (Табл.2.1).

Таблиця 2.1 – Можливі природні та антропогенні чинники впливу на лопух
Arctium lappa L. за умов різної місцевості

Місця відбирання сировини	Середньорічна температура, (°C)	Середньорічна відносна вологість, (%)	Можливий антропогенний вплив
Малин, Житомирська обл.	7-8	73-78	Забруднення будівельними матеріалами
Київ, Голосіївський район	7,4-9	75-79	Викиди сміття, яке довго розкладається
Дейманівка, Чернігівська обл.	6-8	70-74	Домішки піску та щебню, викиди сміття на узбіччя
Линовиця Чернігівська обл.	7-8	75-80	Забруднення хімічними речовинами та пестицидами
Бербениці, Полтавська обл.	6-8	72-75	Забруднення хімічними речовинами та сміттям

Таблиця 2.2. – Точне місце збору насіння *Arctium lappa* L та ґрунтові умови

Місце зростання рослини	Тип ґрунту	Координати
Малин, Житомирська обл.	Урбаноземні ґрунти	50,77114° Пн, 29,23686° Сх
Київ, Голосіївський район	Алювіальні лучно-болотні ґрунти	50,36828° Пн, 30,54265° Сх
Дейманівка, Чернігівська обл.	Суглинковий чорноземні ґрунти	50,64527° Пн, 32,86786° Сх
Линовиця Чернігівська обл.	Лучно-чорноземні ґрунти	50,48518° Пн, 32,39355° Сх
Бербениці, Полтавська обл.	Деградовані чорноземні ґрунти	50,46538° Пн, 33,01272° Сх

2.2 Метод екстракції розчинником

Метод екстракції розчинником ґрунтується на властивостях розчинності різних компонентів досліджуваного матеріалу в розчиннику. Перед початком екстрагування цільових речовин, сировину подрібнюють для кращого вивільнення основних компонентів. Зазвичай розчинники обирають за розташуванням в порядку збільшення ліпофільності, спершу вода, метанол, етанол, н-бутанол, ацетон, етилацетат і петролейний ефір. Для екстракції активних компонентів головне обрати розчинник, який активно розчиняє бажані інгредієнти і не розчиняє інші не цільові речовини. Метанол і етанол є напівполярними розчинниками, можуть розчиняти алкалоїди, глікозиди та цукри. Під час екстрагування рослинних матеріалів з невідомим біологічно активним складом зазвичай використовують воду та етиловий спирт. Тому оскільки точний активний вміст і різноманітність компонентів плодів *Arctium lappa* L., невідома, було обрано саме етиловий спирт концентрацією 70% [3].

Для приготування 10 мл розчину етилового спирту концентрацією 70%, було взято 7,37 мл 95% етилового спирту та 2,63 мл дистильованої води. Зразки насіння масою приблизно 0,1 грам переносили у ступку, розтирали до мілкої фракції та поміщали у мікропробірки. Після цього додавали по 1000 мкл 70%

етилового спирту в Eppendorf до зразків насіння з різних областей, та залишали екстрагуватися на декілька днів.

2.3 Метод високоефективної тонкошарової хроматографії

Високоефективна тонкошарова хроматографія (ВЕТШХ) – це метод вдосконаленої форми інструментальної ТШХ, що передбачає за собою використання високоефективних шарів сорбентів. Система ВЕТШХ складається з трьох основних елементів: стаціонарної фази (сорбенту), рухомої фази (розчинника, що проявляє досліджувані компоненти) та речовин, що розділяються. Сорбентами для ВЕТШХ виступають тверді, пористі матеріали з відносно високою питомою поверхнею, наносяться тонким шаром на плоску поверху, зазвичай виготовлену зі скла, металу чи пластику. Рухома фаза є розчином який складається з одного або декількох речовин.

Утримання аналізованих речовин в ВЕТШХ описується так званим коефіцієнтом R_f , який визначається як відношення відстані однієї початкової точки до центру хроматографічної зони (x) та відстані рухомої фази від початкової точки до фронту розчинника (f):

$$R_f = \frac{x}{f},$$

R_f становить значення від 0 (розчинена речовина залишається у точці нанесення зразка) до 1 (розчинена речовина піднімається з фронтом розчинника) і є основною величиною, що використовується для визначення розділених компонентів [5].

Хроматографічне профілювання складу біологічно активних речовин зразків плодів лопуха проводили методом високоефективної тонкошарової хроматографії на пластинках Silica gel 60 (Merck, Німеччина) довжиною 150 мм, висотою 68 мм, лінія старту розташовувалась на відстані 8 мм від краю пластинки. Хроматографія проводилась у системі розчинників хлороформ –

оцтова кислота – метанол – вода (v/v/v/v – 60:32:12:8). На стартову лінію вносили 5 зразків насіння по три повторності об'ємом 5 мкл. Після просушування хроматограму досліджували в УФ (365 нм).

Хроматографічне профілювання складу насіння *Arctium lappa* L. після ферментації β -глюкозидазою проводили методом високоефективної тонкошарової хроматографії на силікагелі з розміром пластинки 150 x 68 мм, у системі розчинників: етилацетат – мурашина кислота – оцтова кислота – вода (v/v/v/v – 100:11:11:25). На стартову лінію наносили 2 зразки ферментованого насіння лопуха та 1 зразок без ферментації по 4 повторності об'ємом 5 мкл. Після просушування пластинки проводили дослідження в УФ (365 нм).

2.4 Метод ферментативного гідролізу насіння лопуха β -глюкозидазою

У статтях зазначається, що ферментативний гідроліз насіння лопуха значно підвищує вміст його активних компонентів, а також ініціює перехід лігнану арктиїну у його глікозидну форму арктигенін. Для процесу ферментації було обрано саме фермент β -глюкозидазу, оскільки в досліді описується високе підвищення концентрації біологічно активних речовин саме за дією цього ферменту (Рис.2.3).

Для ферментації було використано β -глюкозидазу, яку виробляє *Agrobacterium sp.* американського виробника Megazyme (Табл. 2.3) [6].

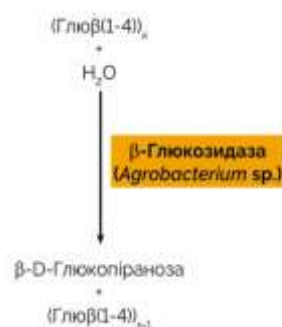


Рисунок 2.2 – β -глюкозидаза (*Agrobacterium sp.*)

<https://www.megazyme.com/beta-glucosidase-agrobacterium-sp>

Таблиця 2.3. – Характеристика ферменту β -глюкозидази (*Agrobacterium*)

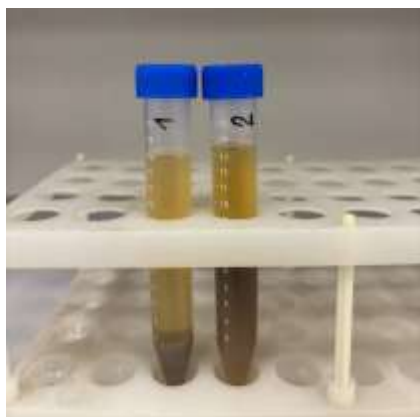
Назва	β -глюкозидаза
Джерело	<i>Agrobacterium sp</i>
Молекулярна маса	52200
Концентрація	Постачається в концентрації 400 Од/мл
Експресія	Рекомбінантний з <i>Agrobacterium sp</i>
Специфічність	Гідроліз термінальних невідновлювальних β -D-глюкозильних залишків із вильненням β -D-глюкози
Питома активність	140 Од/мг (40 °C, pH 7.0 на p-нітрофеніл β -глюкозиді)
Визначення одиниці	Одна одиниця активності β -глюкозидази визначається як кількість ферменту, необхідна для вивільнення одного мкмоль з p-нітрофенілу (pNP) за хвилину з p-нітрофеніл- β -D-глюкопіранозиду (10мМ) у натрій-фосфатному буфері (50мМ), pH 7.0 при 40 °C
Оптимум pH	6.5
Температурний оптимум	50 °C

Спершу 2 г насіння лопуха екстрагують 20 мл окропу та ставляють на водяну баню при температурі 70 °C протягом 2-х годин. Після цього водний екстракт насіння розливають у дві пробірки по 9900 мкл.

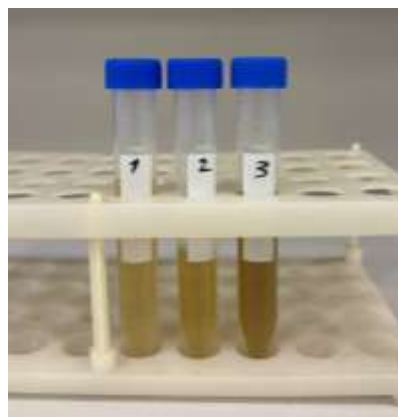
У зразок №1 додають 52 мкл (20 Од) β -глюкозидази *Agrobacterium sp.* (Megazyme, США) який доведений дистильованою водою до 100 мкл, а у пробірку №2 додають 26 мкл (20 Од) ферменту теж доведеного до 100 мкл. Пробірки з доданими концентраціями ферментів за вказаними рекомендаціями виробника було переміщено у водяну баню при температурі 40 °C з періодичним перемішуванням. Ферментація проходила 2 години. Після цього зразки охолоджують та очищають від твердих часток насіння за допомогою центрифуги.

Етап очистки передбачає відбір надосадової рідини в інші пробірки та переміщення їх у центрифугу (MICROmed) та центрифугувати їх протягом 10 хв

при 4000 об/хв. Повторити цей етап з трьома зразками ще два рази для кращого осадження залишків насіння (Рис. 2.3).



а)



б)

Рисунок 2.3 – а) ферментовані зразки насіння до центрифугування; б) зразки після центрифугування з різною концентрацією β -глюкозидази та контроль відповідно

2.5 Метод визначення загального вмісту флавоноїдів

Кількісний вміст флавоноїдів у зразках насіння лопуха з різних областей визначали методом спектрофотометрії (СФ Optizen Pop) при $\lambda = 510$ нм з використанням алюмінію хлориду (AlCl_3), що базується на здатності іонів Al^{3+} утворювати комплекси з флавоноїдами. Готували розчини досліджуваних зразків екстрактів насіння; брали по 20 мкл спиртового екстракту (70%) (для ферментованих зразків брали по 50 мкл екстракту) змішували з 980 мкл дистильованої води та додавали 75 мкл 5% розчину нітриту натрію (NaNO_2), залишали реагувати за кімнатної температури протягом 5 хв. Далі додавали 75 мкл 10% розчину AlCl_3 , залишали на 5 хв і в реакційну суміш додавали 500 мкл 1М розчину натрій гідроксиду (NaOH) і 850 мкл води [1]. Калібрувальний графік будували за рутином. Перерахунок вмісту загальних флавоноїдів у зразках насіння лопуха великого проводили за формулою:

$$\text{Вміст } \left(\frac{\text{мг}}{\text{г}}\right) = \frac{(\text{Конц.} \times V_{\text{розчинника}})}{m \times 1000}, \text{ де}$$

Конц. – концентрація вмісту флавоноїдів у кюветі, мкг/мл;

$V_{\text{розчинника}}$ – об'єм розчинника для екстракції насіння лопуха;

m – маса насіння використаного для екстракції.

2.6 Кількісне визначення концентрації фенольних антиоксидантів

Концентрацію фенольних антиоксидантів у спиртових екстрактах насіння з різних областей України та ферментованих зразків визначали методом спектрофотометрії за Бренд-Вільямсом з використанням вільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразила (DPPH).

Реакційна суміш містила 100 мкл екстракту, 875 мкл 80% етилового спирту та 1000 мкл 0,2мМ розчину DPPH. Контрольний зразок містив 975 мкл етилового спирту та 1000 мкл 0,2мМ розчину DPPH. Вміст пробірок добре перемішували та залишали у темному місці за кімнатної температури протягом 30 хв. Оптичну густину реакційної суміші визначали за довжиною хвиль 517 нм. Інгібування DPPH у відсотках розраховують за формулою:

$$I_{\text{H DPPH}} = \frac{100 \times (D_{\text{к}} - D_{\text{о}})}{D_{\text{к}}}, \text{ де}$$

$D_{\text{к}}$ – оптична густина за відсутності антиоксидантів (контрольний зразок);

$D_{\text{о}}$ – оптична густина за наявності фенольних антиоксидантів.

Антиоксидантну активність екстрактів насіння лопуха виражали в $\mu\text{М-екв Trolox}$.

2.7 Статистична обробка даних

Результати морфометричного і спектрофотометричного аналізів, а також фотоденситометрії фітохімічних профілів представлені в таблицях, як середнє значення $\pm$ стандартна похибка ($m \pm SE$), а також коефіцієнту варіації (CV, %).

Аналіз головних компонент (АГК), дискримінантний і ортогонально-дискримінантний аналізи найменших квадратів та інші методи багатовимірної статистичного аналізу виконували на платформі MetaboAnalyst 6.0 (Канада). Достовірність відмінностей між середніми значеннями ($p < 0,05$) визначали методом дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) і апостеріорним тестом Т'юкі.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ АНАЛІЗ

3.1 Опис та визначення морфометричних показників насіння *Arctium lappa* L. зібраних в різних областях України

Плоди *Arctium lappa* L. маю характерну будову та приналежність до родини *Asteraceae*. Сім'янки мають видовжену, деякою мірою сплюснуту клиноподібну форму з вираженою асиметрією кінців, де апікальний кінець значно ширший, а базальний має загострену та звужену форму. Поверхня насінин лопуха великого вкрита тонким околоплоднем з чітким рельєфом з наявними борознами та наявністю ребер різної глибини та ширини. Колір плодів варіюється від темно-коричневого до оливкового з пігментацією різної інтенсивності (Рис. 3.1).



Рисунок 3.1 – Вигляд зразків насіння *Arctium lappa* L. та рослин з яких вони були зібрані. А-Малин, Б-Київ, В-Дейманівка, Г-Линовиця, Д-Бербениці

Плоди лопуха великого, були зібрані 8 вересня біля багатоквартирних будинків у місті Малин Житомирської області. Вони характеризуються відносно рівномірним коричневим кольором з помітними світлішими повздовжніми

смугама. Форма чітко видовжена, а поверхня матова з глибокими борознами, також спостерігається найінтенсивніша пігментація серед усіх досліджуваних зразків.

Сім'янки *Arctium lappa* L. зібрані в Голосіївському районі Києва 24 вересня біля Китаївських озер, характеризуються світлішим забарвленням із помітним сірувато-коричневим відтінком із чіткішими світлими вкрапленнями між борознами. Форма плодів більш роздута, що надає їм масивного вигляду в порівнянні з іншими зразками.

Насіння лопуха великого, який зростав у населеному пункті Дейманівка Чернігівської області, було зібране 13 вересня поруч із сільською дорогою з одного боку і лісом з іншого. Цей зразок вирізняється більш помітнішими повздовжніми борознами та ледь помітним металічним блиском на поверхні деяких сім'янок. Форма проміжна між видовженою та середньою.

Насіння лопуха, зібране 2 жовтня в містечку Линовиця на Чернігівщині не далеко від полів, має світло-оливковий відтінок, майже не помітну пігментацію та не надто глибокі борозни. Форма сім'янок вузька та дещо вигнута з більш плавними контурами.

Плоди *Arctium lappa* зібрані також 2 жовтня в населеному пункті Бербениці Полтавської області біля лісу, визначаються своїм оливково-сіруватим кольором з часткою пігментацією та невеликими повздовжніми борознами. Насіння має видовжену та злегка розширену ближче до основи форму.

Морфометричні показники насіння *Arctium lappa* демонструють значну варіабельність (Табл. 3.1). Найменші за шириною сім'янки ($2,10 \pm 0,19$ мм) були зібрані в Малині при довжині $6,60 \pm 0,32$ мм (співвідношення $L/W = 3,14$). Найширші плоди лопуха великого були зареєстровані в Києві ($3,23 \pm 0,35$ мм при довжині $6,85 \pm 0,53$ мм, $L/W = 2,12$). Найбільшу довжину мають сім'янки з Линовиці $7,42 \pm 0,50$ мм при ширині $3,00 \pm 0,30$ мм ($L/W = 2,47$). У Дейманівці плоди мають середні розміри, $2,80 \pm 0,27$ мм у ширину та $6,95 \pm 0,31$ мм у довжину. Сім'янки з Бербениць демонструють ширину $2,94 \pm 0,16$ мм та довжину

6,79 ± 0,30 мм. Зразки насіння лопуха великого, зібрані у Дейманівці та Бербеницях, мали найменшу варіабельність розміру.

Таблиця 3.1. – Морфометричні показники (мм) насіння *Arctium lappa* L.
за різних умов місцезростання

Малин		Київ		Дейманівка		Линовиця		Бербениці	
ШР*	ДЖ	ШР	ДЖ	ШР	ДЖ	ШР	ДЖ	ШР	ДЖ
2,24	6,43	2,94	7,22	2,79	6,85	3,01	7,55	3,04	6,65
2,31	6,22	3,16	6,03	3,12	6,65	2,95	6,94	2,73	6,60
1,98	6,74	3,07	6,95	2,39	6,86	2,64	7,52	2,92	6,63
1,88	6,99	3,74	7,18	2,93	7,44	3,42	7,67	3,06	7,27
Середні значення (мм)									
2,10	6,60	3,23	6,85	2,80	6,95	3,00	7,42	2,94	6,79

* ШР – ширина, ДЖ - довжина

Маса насіння *Arctium lappa* L. також зсуттєво відрізняється залежно від екологічних умов зростання (табл. 3.2). Найбільша маса спостерігається у зразках насіння з міста Малин (198,5 ± 1,02 г), що вказує на щільну будову та кращий запас поживних речовин. Найменша маса фіксується в Дейманівці (156,5 ± 4,74 г). Проміжні показники маси насіння були визначені в Києві (189,5 ± 6,54 г), Бербеницях (175,9 ± 4,66 г) та Линовиці (167,4 ± 2,61 г). Також варто зазначити, що найменшу варіабельність маси (CV = 1,08 %) продемонстрували сім'янки з Малина, а найбільшу масу – з Києва (CV = 6,90 %).

Таблиця 3.2. – Маса 1000 насінин (г) лопуха великого за різних умов місцезростання

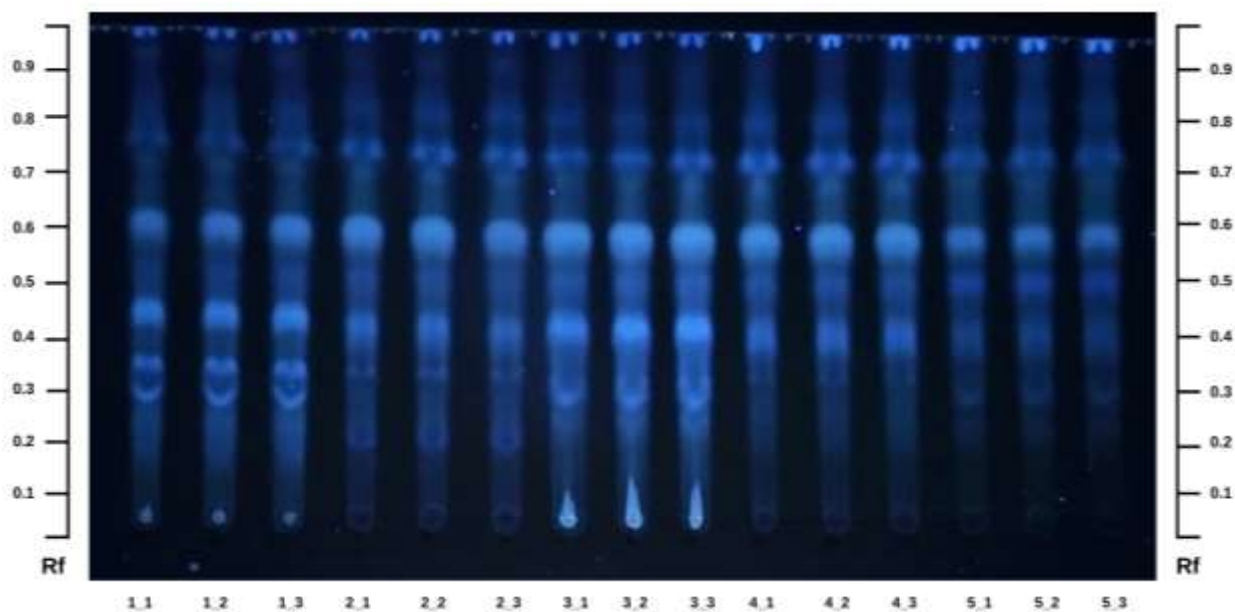
Регіон	Маса, г	σ	CV, %
Малин	198,5 $\pm$ 1,02	2,05	1,08
Київ	189,5 $\pm$ 6,54	13,07	6,90
Дейманівка	156,5 $\pm$ 4,74	9,48	6,06
Линовиця	167,4 $\pm$ 2,61	5,23	3,12
Бербениці	175,9 $\pm$ 4,66	9,33	5,30

Arctium lappa L. є представником рудеральної рослинності, тому проявляє характерні фенотипові зміни в залежності від місцезростання, що і може бути основним чинником такої варіації розміру, маси, форми, кольору та інших ознак. У місті Малин лопух великий зростає в умовах урбаністичного навантаження, тому сім'янки сформувались найвужчі, більш видовжені та темного кольору з глибокими борознами. Інтенсивна пігментація та зменшення ширини може свідчити про захисну реакцію рослини на забруднення ґрунту будівельними матеріалами та значний дефіцит поживних речовин та води. В Києві, біля озер краща забезпеченість вологою та вища трофічність ґрунту сприяли формуванню найбільш масивних плодів, що свідчить про сприятливі умови для накопичення запасних речовин у сім'янках, що також підвищує їхню життєздатність. У Дейманівці, де лопух зростає в умовах лісового мікроклімату з дорожнім фактором, посприяло утворенню плодів з вираженими борознами та металічним блиском. Такий профіль формування сім'янок може свідчити про адаптацію механічного стресу. У Линовиці були наявні найбільш сприятливі гідротермічні умови та родючі ґрунти для зростання лопуха, тому це посприяло максимальній довжині сім'янок. Але оскільки поблизу полів є значне забруднення пестицидами, то це могло вплинути на формування такого світло-оливкового кольору насіння та часткову пігментацію по всій площині. У Бербеницях лопух зростає за умов затіненого лісового клімату, що могло призвести до формування сім'янок світло-коричневого кольору з частковою пігментацією.

3.2 Біохімічний склад *Arctium lappa* L. за різних умов місцезростання

Екстракцію насіння лопуха великого здійснювали 40%, 70%, 95% етиловим спиртом та 80% метанолом, щоб оцінити та обрати найкращий розчин для повної оцінки біологічно активного складу лопуха. Після проведення оцінки, було визначено, що 70% етанол найкраще екстрагує основні компоненти *Arctium lappa* L.

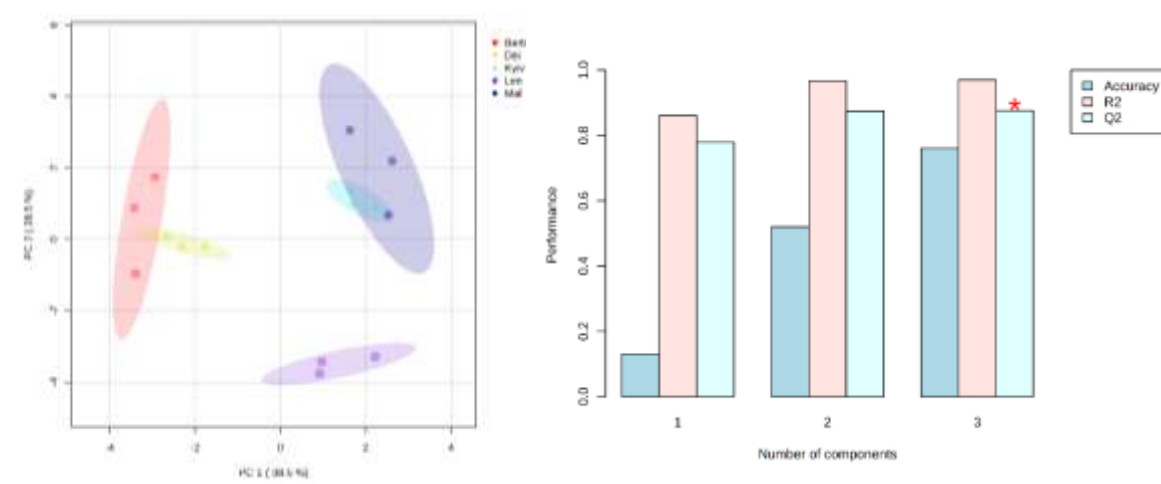
Хроматографічний аналіз екстрактів плодів лопуха великого з різних областей України показав високу стабільність активних компонентів, які нарахували 15 індивідуальних сполук (Рис. 3.2). Основні речовини були визначені за яскравою флуорисценцією під дією УФ (355 нм), що характеризує чіткий профіль фітосполук притаманний для лопуха великого. Консервативними для більшості екстрагованих зразків були сполуки з коефіцієнтом утримання $R_f \sim 0,43$ та $R_f \sim 0,58$. Також спостерігалась помітна варіабельність деяких сполук залежно від популяції. Найбільш помітно кількісний склад сполук досліджуваних зразків відрізнявся за значеннями $R_f \sim 0,32$, $R_f \sim 0,26$ та $R_f \sim 0,21$.



Рисинук 3.2 – Хроматографія спиртових екстрактів *Arctium lappa* L. 1_1-1_3 – Малин; 2_1-2_3 – Київ; 3_1-3_3 – Линовиця; 4_1-4_3 – Дейманівка; 5_1-5_3 – Бербениці.

Зокрема, у екстрактах насіння з міста Малин спостерігається більша інтенсивність середньополярних сполук, а в зразках з Бербениць переважали більш полярні компоненти. Зразки насіння лопуха великого з Києва, Линовиці та Дейманівки демонстрували найбільш подібні між собою профілі сполук.

Аналіз головних компонент (PCA) продемонстрував чітке групування зразків залежно від їх місцезростання (Рис. 3.3 а). Перша головна компонента (PC1) має 38,5% варіації, а друга (PC2) – 28,5% у підсумку отримуємо 67,0%. Таке значення свідчить про суттєву структуру даних. Зразок екстракту насіння лопуха з Бербениць (Verb) утворили чіткий окремий кластер у лівій частині графіка з негативним значенням PC1 та значним розкидом по PC2, що свідчить про найбільшу хімічну особливість. Зразок із Дейманівки (Dei) сформував компактну еліпсоподібну фігуру ліворуч від центру графіка. Зразки з Києва (Kyiv), Линовиці (Len) та Малина (Mal) знаходяться в правій частині, також можна зазначити що Малин і Линовиця мають часткове перекриття, що вказує на схожість фітосполук.



а)

б)

Рисунок 3.3 – Результати дискримінантного аналізу спиртових екстрактів насіння *Arctium lappa* L. графік розподілу зразків за компонентами (а); гістограма крос валідації моделі дискримінантного аналізу (б)

Для класифікації зразків насіння *Arctium lappa* L. також була побудована модель часткових найменших квадратів дискримінантного аналізу (PLS-DA) (Рис. 3.3 б). Модель продемонструвала значення коефіцієнта детермінації (R^2) 0,98, прогностична здатність (Q^2) 0,87, а точність класифікації (Accuracy) 77%.

Ієрархічний кластерний аналіз (HCL) остаточно підтвердив надійність результатів PCA (Рис. 3.4 а). До першого кластеру увійшли зразки насіння з Малина, Києва та Линовиці, а до другого – зразки з Дейманівки та Бербениць. Найвищий ступінь схожості спостерігався між зразками з Малина та Києва. Зразок насіння лопуха великого зібраний в Бербеницях відокремлювався найбільшою гілкою, що вказує на найбільшу відмінність від інших досліджуваних зразків.

За допомогою аналізу значущості змінних (Volcano plot) було виявлено сполуки, які найбільше відрізняють групи (Рис. 3.4 б). Найвищий рівень значущості ($p < 0,05$) продемонструвала сполука з Rf 0,43. Також статистично важливими були сполуки з Rf 0,02, 0,58 та 0,68.

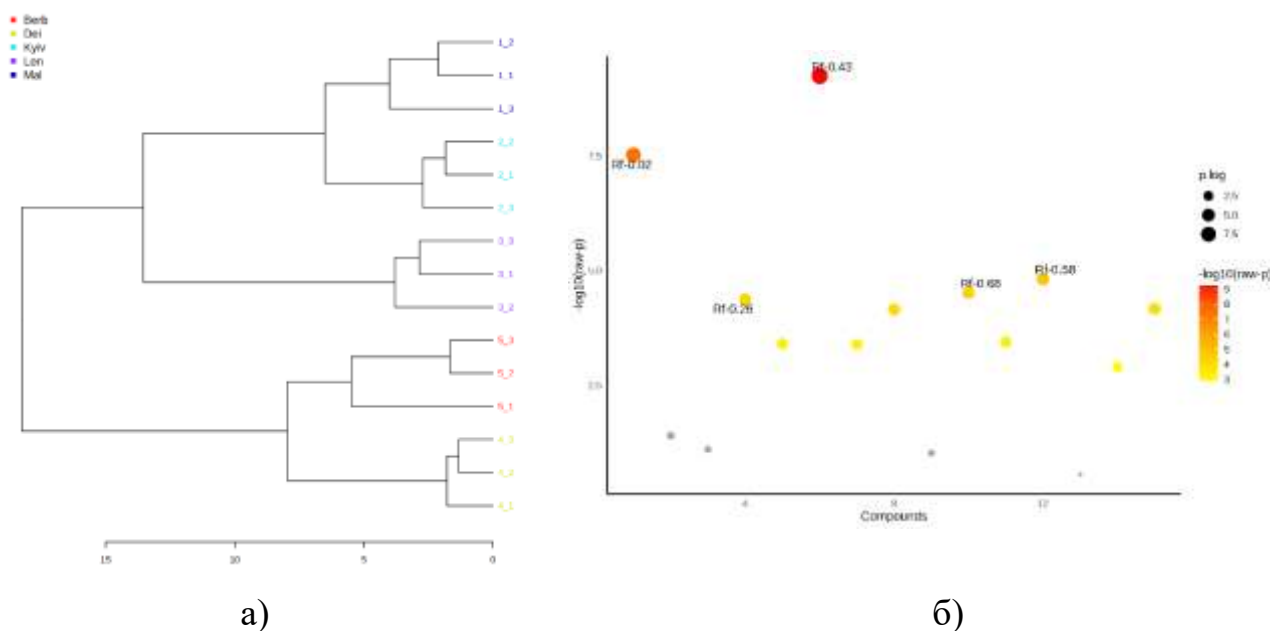


Рисунок 3.4 – Кластерний аналіз екстрактів насіння лопуха великого (а); аналіз значущості змінних сполук в екстрактах насіння лопуха з різних областей України

Теплова карта ілюструє особливості профілів фенольних сполук у зразку екстрактів насіння лопуха великого (Рис. 3.5). Зразок насіння з Бербениць виділяється найвищим рівнем накопичення великої кількості фенольних сполук, що відображено темно-червоними блоками на зображенні. Найвищі концентрації спостерігаються для сполук з Rf 0,26, 0,88, 0,58 та 0,43. Також на карті відображається знижений вміст деяких полярних сполук (сині блоки). Зразок екстракту з Малина навпаки демонструє високий вміст полярних сполук з Rf 0,05, 0,37, 0,02 та високим вмістом сполуки з Rf 0,94. А сполуки з середньою полярністю мають знижений вміст. Зразок екстракту з Линовиці характеризуються відносно проміжним вміст активних компонентів, але сполуки з Rf 0,52 та 0,94 мають високий вміст. Також зразки мають знижений вміст найбільш полярних сполук з Rf 0,05-0,21. Зразок з Києва демонструє збалансований профіль сполук з найвищими концентраціями при Rf 0,73, 0,98 та 0,68 і зниженим вмістом сполук з Rf 0,26 та 0,43 порівняно з екстрактом з Бербениць. Зразок екстракту насіння лопуха з Дейманівки виявився з найнижчим загальним рівнем більшості фенольних сполук, винятком є помірно високий вміст сполук з Rf 0,77 та 0,37.

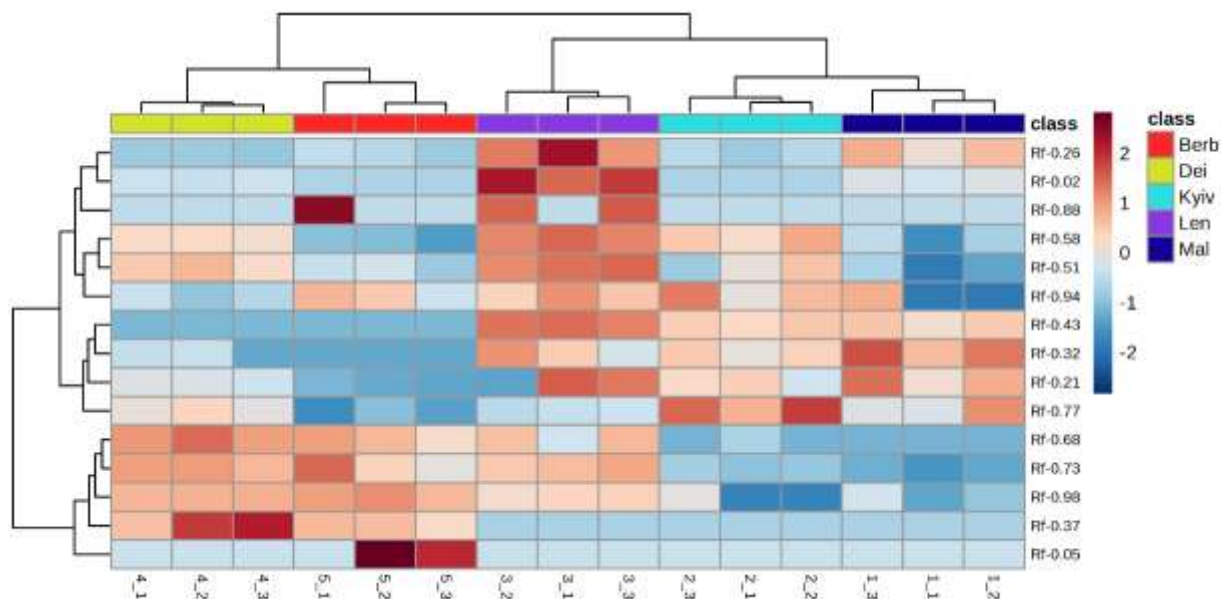


Рисунок 3.5 – Теплова карта розподілу комплексу вторинних метаболітів в екстрактах насіння *Arctium lappa* L. за різного місцезростання

*Визначення загального вмісту флавоноїдів у зразках насіння *Arctium lappa*.*

Кількісне визначення загального вмісту флавоноїдів у спиртових екстрактах насіння лопуха великого проводили спектрофотометричним методом (Табл. 3.3). Найвищий вміст флавоноїдів було зафіксовано у зразку насіння з Линовиці – 0,86 мг/г сухої сировини. Друге місце займає екстракт насіння з Малина – 0,83 мг/г. Зразки з Дейманівки (0,75 мг/г) та Києва (0,74 мг/г) характеризуються близьким профілем вмісту флавоноїдів. Найнижче значення вмісту флавоноїдів було отримане у зразках з Бербениць – 0,63 мг/г, що на 27% нижче порівняно з вмістом у зразках з Линовиці.

Таблиця 3.3. – Вміст загальних флавоноїдів у екстрактах плодів *Arctium lappa* L. з різних регіонів

№	Регіон	ABS (510 нм)	Сопс. в кюветі, мкг/мл	Вміст флавоноїдів, мг/г сухої сировини
1	Малин	0,134	55,125	0,83
2	Київ	0,120	49,308	0,74
3	Линовиця	0,139	57,295	0,86
4	Дейманівка	0,122	50,128	0,75
5	Бербениці	0,101	41,760	0,63

За результатами отриманими за допомогою спектрофотометричного аналізу можна зазначити, що вони частково узгоджуються з даними, які були отримані під час аналізу хроматограми.

*Визначення концентрації фенольних антиоксидантів у зразках насіння *Arctium lappa* L..*

Антиоксидантну активність спиртових екстрактів насіння лопуха великого визначали методом Бренд-Вільямса з використанням стабільного вільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрилгідрозилу (DPPH) (Табл. 3.4). Найвищу

антиоксидантну активність було зафіксовано у зразках насіння з Бербениць – 1,71 mM TE/г сухої сировини. Зразки насіння, які були відібрані в Києві (1,58 mM TE/г), Дейманівці (1,56 mM TE/г) та Линовиці (1,55 mM TE/г) продемонстрували високі близькі між собою значення. Найнижчу антиоксидантну активність було отримано у зразках насіння з міста Малин – 1,06 mM TE/г.

Таблиця 3.4. – Антиоксидантна активність спиртових екстрактів плодів *Arctium lappa* L. з різних регіонів

№	Регіон	ABS (517 нм)	Активність в аліквоті, μM TE	Антиоксидантна активність, mM TE/г
1	Малин	-0,355	70,37	1,06
2	Київ	-0,530	105,02	1,58
3	Линовиця	-0,523	103,61	1,55
4	Дейманівка	-0,526	104,12	1,56
5	Бербениці	-0,576	114,16	1,71

Одержані дані свідчать про значні відмінності функціонального складу насіння лопуха великого в залежності від місця та умов зростання. Насіння з Бербениць хоч і мало найнижчий вміст флавоноїдів, виявило найвищу здатність нейтралізувати вільні радикали. А зразок з Малина навпаки мав найвищу концентрацію флавоноїдів, але проявив найнижчу антиоксидантну активність. Дані які були отримані під час аналізу зразків плодів *Arctium lappa* L. з різних регіонів України свідчать про велику різницю фітосполук та їх активність, оскільки вони піддавались різним чинникам навколишнього середовища.

Відсилаючись на комплексний аналіз хроматографічних профілів, кількісного вмісту флавоноїдів та антиоксидантну активність для проведення ферментації було обрано зразок з Бербениць Полтавської області, оскільки саме ці плоди лопуха характеризуються найбільш унікальним фенольним профілем та найвищою антиоксидантною активністю, що робить його перспективним

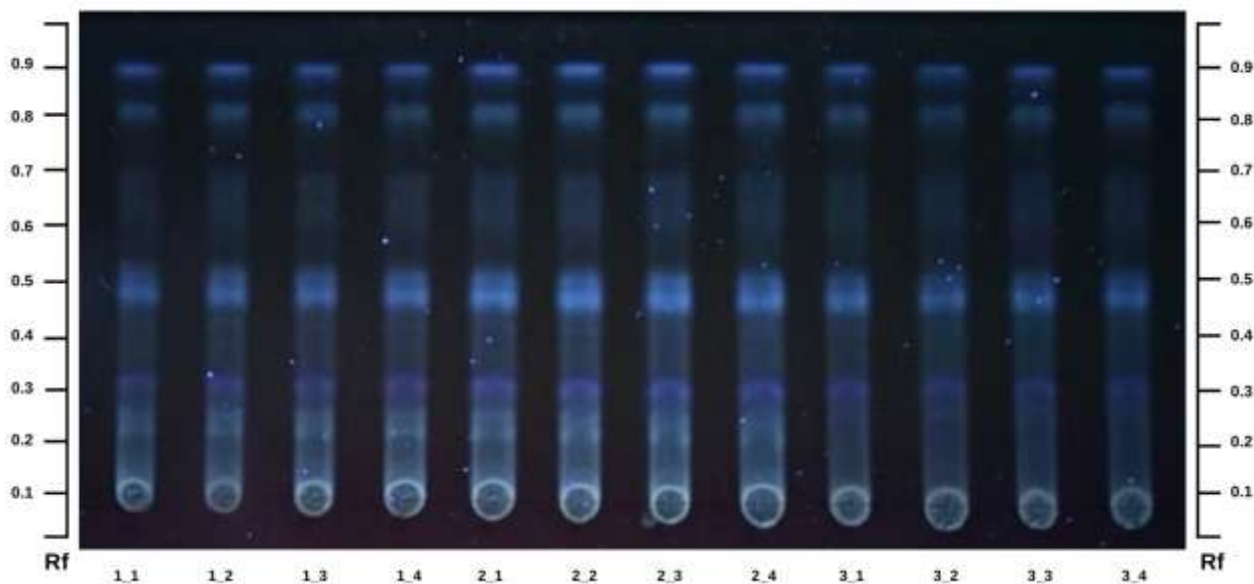
зразком для подальшого ферментативного гідролізу з метою підвищити біодоступність та функціональні властивості біологічно активних компонентів.

3.3 Біологічно активний склад насіння *Arctium lappa* L. після проведення ферментативного гідролізу β -глюкозидазою

Для проведення ферментативного гідролізу було обране насіння лопуха великого з Бербениць, оскільки в попередніх дослідженнях цей зразок продемонстрував найкращі результати активного складу.

Хроматографічний аналіз водно-спиртових екстрактів насіння *Arctium lappa* L. з Бербениць до та після ферментації β -глюкозидазою (*Agrobacterium* sp.) виявив значні зміни в профілі фенольних сполук (Рис. 3.6). На хроматограмі було ідентифіковано 15 індивідуальних сполук, що характеризувалися різною інтенсивністю під дією УФ (355 нм). Консервативними для 3 досліджуваних зразків виявились зони з $R_f \sim 0,43$ та $R_f \sim 0,58$. В той же час ферментація 2-х перших зразків спричинила помітні якісні та кількісні зміни профілів при $R_f \sim 0,91, 0,83, 0,61, 0,44$ та $0,35$.

У зразках, які були ферментовані β -глюкозидазою спостерігається підвищення зон з вищими значеннями R_f , що свідчить про ефективний гідроліз глікозидних форм та їх перехід до агліконів. Варіант зразка до якого було додано 20 Од ферменту виявив більш інтенсивне підвищення зон з $R_f \sim 0,91$ та $R_f \sim 0,83$ порівняно зі зразком до якого було додано 10 Од ферменту. Якщо порівнювати з контрольним зразком без ферменту, то ферментовані зразки демонструють суттєву трансформацію фенольного профілю.



Рисинук 3.6 – Хроматографія ферментованих β -глюкозидазою (*Agrobacterium* sp.) водно-спиртових екстрактів *Arctium lappa* L. з Бербениць. 1_1-1_4 – зразок з додаванням 20 Од β -глюкозидази; 2_1-2_4 – зразок з додаванням 10 Од β -глюкозидази; 3_1-3_4 – контрольний зразок без ферменту

Аналіз головних компонент показав чітке розділення ферментованих зразків від контрольного зразка (Рис. 3.7 а). Перша головна компонента (PC1) зображає 45,4% варіації, а друга (PC2) – 22,8%. Контрольний зразок (N, зелений еліпс) утворює компактну групу в правій частині графіка. Ферментовані зразки Ph-1 (блакитний овал) та Ph-2 (фіолетовий овал) знаходяться відокремлено від контролю, але при цьому ферментований зразок (Ph-2) демонструє більший внутрішньогруповий розкид, що може бути пов'язано з різною концентрацією ферменту.

Також була побудована модель часткових найменших квадратів дискримінантного аналізу (PLS-DA) (Рис. 3.7 б). Модель продемонструвала значення коефіцієнта детермінації (R^2) 0,98, прогностична здатність (Q^2) 0,80, а точність класифікації (Accuracy) 78%. Отримані метрики підтверджують надійність моделі для відокремлення ферментованих зразків від контрольного.

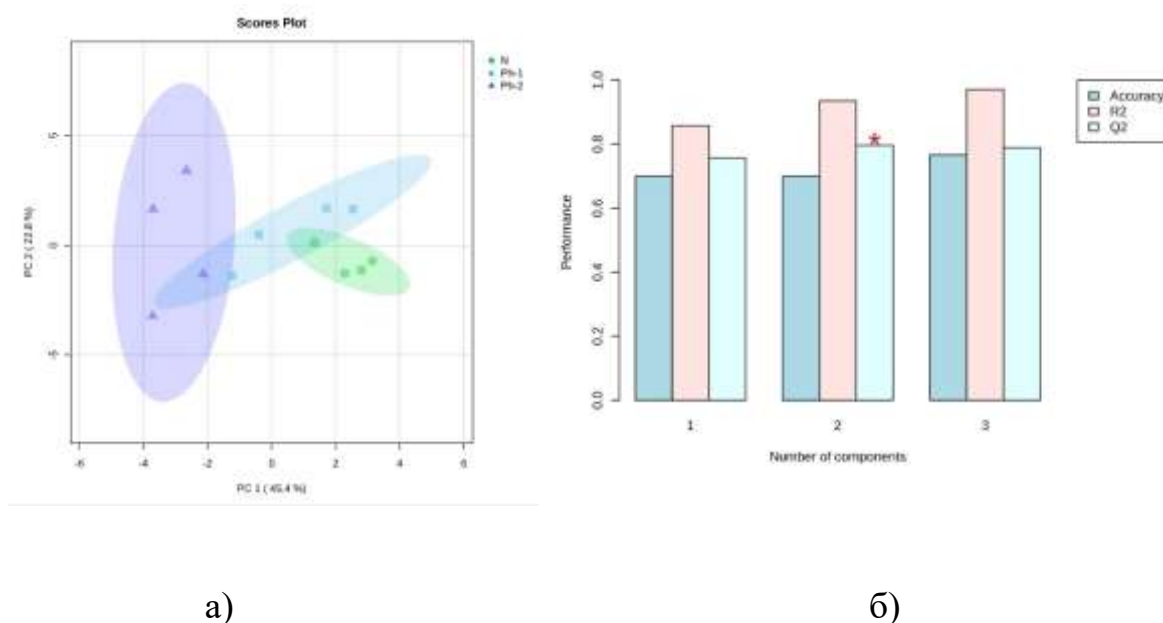
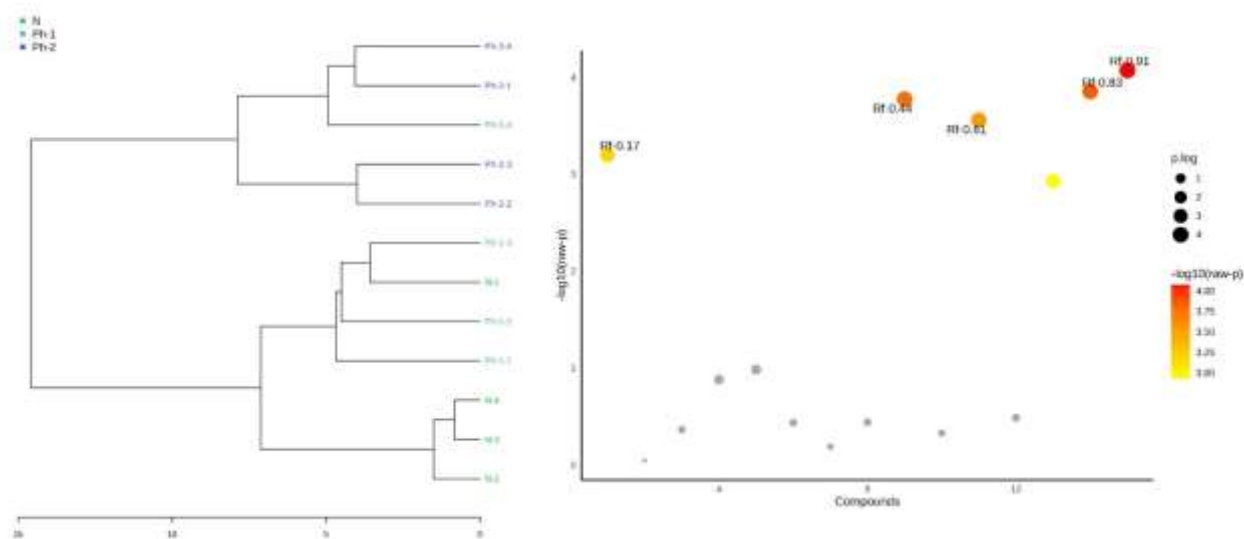


Рисунок 3.7 – Результати дискримінантного аналізу ферментованих зразків насіння *Arctium lappa* L. графік розподілу зразків за компонентами (а); гістограма крос валідації моделі дискримінантного аналізу (б)

Дендрограма ієрархічного кластерного аналізу чітко відокремили усі три зразки на два основних кластери (Рис. 3.8 а). Перший кластер повністю включав лише контрольний зразок (N), а другий кластер об'єднав ферментовані зразки (Ph-1 та Ph-2). Цей аналіз підтвердив суттєву зміну хімічних сполук насіння лопуха великого під дією різних концентрацій β -глюкозидази.

За допомогою аналізу значущості змінних (Volcano plot) було виявлено деякі сполуки, які статистично ($p > 0,05$) змінили вміст під дією ферментативного гідролізу (Рис. 3.8 б). Найбільш значущими маркерними зонами виявились сполуки з Rf 0,91, 0,83, 0,61 та 0,44. Збільшення вмісту цих компонентів у ферментованих зразках свідчить про накопичення агліконних форм флавоноїдів.



а)

б)

Рисунок 3.8 – Кластерний аналіз ферментованих зразків насіння лопуха великого під дією β -глюкозидази (а); аналіз значущості змінних сполук в ферментованих екстрактах насіння лопуха під дією β -глюкозидази (*Agrobacterium sp.*)

Теплова карта ілюструє суттєві зміни вмісту фенольних сполук, що відбулися під час ферментації β -глюкозидазою (Рис. 3.9). Контрольні зразки (N), розташовані у лівій частині теплової карти з переважною зниженою кількістю полярних сполук (низький Rf), що на карті зображено блакитними клітинками. Ферментований зразок Ph-1, який містив 20 Од ферменту та Ph-2, який містив 10 Од ферменту утворюють окремий кластер, відокремлений від контрольного зразка. Найвищий вміст сполук спостерігається з Rf 0,91, 0,83, 0,44, 0,61, 0,35 та 0,31. Цей аналіз підтвердив ефективність методів ферментативного гідролізу насіння лопуха та свідчить про перетворення глікозидів в їх активні агліконні форми.

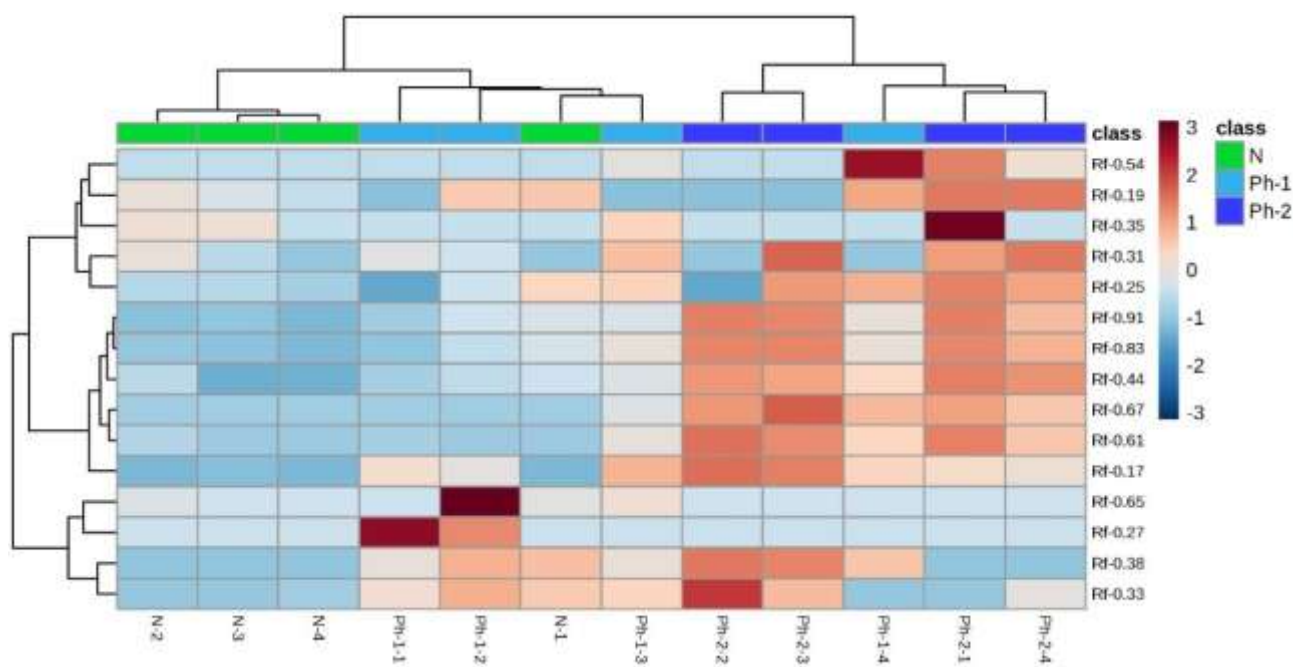


Рисунок 3.9 –Теплова карта розподілу біологічно активних компонентів у ферментованих зразках насіння *Arctium lappa* L. та контролі

*Визначення загального вмісту флавоноїдів у ферментованих β -глюкозидазою зразках насіння *Arctium lappa* L. з Бербениць.*

Вміст загальних флавоноїдів у ферментованих та контрольному зразку визначали спектрофотометричним методом у комплексі з хлоридом алюмінію при довжині хвиль 510 нм (Табл. 3.5). Найвищий показник був зафіксований у зразку насіння, який містив 10 Од ферменту – 6,24 мг/г сухої сировини, що аж на 12,6 % вище за концентрацію флавоноїдів у контрольному зразку (5,54 мг/г). У зразку насіння, який містив 20 Од ферменту вміст флавоноїдів склав 4,95 мг/г, що трохи нижче за вмісту у контрольному зразку. Проаналізовані дані свідчать, що найбільш ефективніше пройшла ферментація зразка, який містив 10 Од ферменту, тобто менша концентрація посприяла інтенсифікації переходу глікозидів у їх активну агліконну форму.

Таблиця 3.5. – Вміст загальних флавоноїдів у ферментованих та контрольному зразках насіння *Arctium lappa* L.

Варіант	Повторність	ABS (510 нм)	Сопс. в кюветі, мкг/мл	Вміст флавоноїдів, мг/г
Зразок екстракту з 20 Од ферменту	1	0,075	30,712	4,30
	2	0,110	45,472	6,37
	3	0,072	29,792	4,17
Середнє		0,086	35,33	4,95 ± 1,23
Зразок екстракту з 10 Од ферменту	1	0,094	38,633	5,41
	2	0,134	54,317	7,60
	3	0,099	40,683	5,70
Середнє		0,109	44,54	6,24 ± 1,18
Контрольний зразок	1	0,091	37,342	5,23
	2	0,095	39,320	5,50
	3	0,102	42,017	5,88
Середнє		0,096	39,56	5,54 ± 0,33

Результати отримані при аналізі вмісту флавоноїдів узгоджуються з даними які були отримані при аналізу хроматограми і підтверджують посилення активності біологічно активних речовин у насінні лопуха за дією β -глюкозидази.

*Визначення концентрації фенольних антиоксидантів у ферментованих β -глюкозидазою зразках насіння *Arctium lappa* L. з Бербениць.*

Антиоксидантну активність спиртових екстрактів насіння лопуха великого визначали методом Бренд-Вільямса з використанням стабільного вільного радикалу 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразилу (DPPH) (Табл. 3.6). Ферментація зразків насіння лопуха з Бербениць β -глюкозидазою підвищила їхню антиоксидантну активність. Найвищу антиоксидантну активність виявив зразок насіння, який містив 10 Од ферменту (1,18 mM TE/г сухої сировини), що аж на 26,1 % більше

в порівнянні з контрольним зразком. Антиоксидантна активність зразка, який містив 20 Од ферменту (1,11 mM TE/г) збільшилась на 19,0 % у порівнянні з контрольним зразком.

Таблиця 3.6. – Вміст загальних фенольних антиоксидантів у ферментованих та контрольному зразках насіння *Arctium lappa* L.

№	Зразок	ABS (517 нм)	Активність в аліквоті, $\mu\text{M TE}$	Антиоксидантна активність, mM TE/г
1	Зразок екстракту з 20 Од ферменту	-0,375	74,18	1,11
2	Зразок екстракту з 10 Од ферменту	-0,397	78,63	1,18
3	Контрольний зразок	-0,315	62,33	0,94

Після проведення аналізу хроматограми, вмісту флавоноїдів та фенольних антиоксидантів у насіння лопуха великого з Бербениць після ферментативного гідролізу β -глюкозидазою було виявлено позитивні зміни в хімічному профілі та біологічній активності фітосполук. Ці результати свідчать про перспективу використання ферментативного гідролізу для підвищення та кращого вивільнення функціональних компонентів у плодах *Arctium lappa* L..

ВИСНОВКИ

Комплексне дослідження плодів *Arctium lappa* L., зібраних із різних регіонів України продемонструвало перспективність застосування технології ферментації для підвищення вмісту цінних сполук у рослинній сировині.

1. Встановлено, що загальний вміст і концентрації біологічно активних речовин у насінні лопуха великого залежить від умов місцезростання рослин.

2. Зразки сировини з міста Малин Житомирської області характеризувались високим вмістом флавоноїдів (0,83 мг/г), але низьким проявом антиоксидантної активності (1,06 mM TE/г). На таку різницю показників могло вплинути середовище з урбаністичними ґрунтами, які були забруднені будівельним сміттям та іншими людськими факторами.

3. Зразки плодів з міста Київ характеризувалися середнім вмістом флавоноїдів (0,74 мг/г) і також середньою антиоксидантною властивістю (1,58 mM TE/г). Такі показники свідчать, що середовище з достатньою кількістю вологи та великим вмістом поживних компонентів добре впливає на активний склад плодів лопуха великого.

4. Зразки насіння з населеного пункту Линовиця Чернігівської області характеризувалось найвищим вмістом флавоноїдів (0,86 мг/г) та середнім значенням антиоксидантної властивості (1,55 mM TE/г). Таке не співпадіння показників могло бути спричинене тим, що лопух зростав не далеко від полів, які обробляються пестицидами.

5. Зразки насіння лопуха, які були відібрані теж на Чернігівщині в населеному пункті Дейманівка характеризувалися проміжним значенням вмісту флавоноїдів (0,75 мг/г) та середнім значенням антиоксидантної активності (1,56 mM TE/г). Такі показники свідчать, що лісові умови та навіть забруднення дорожніми викидами не завадило рослині пристосуватись та накопичувати біологічно активні сполуки.

6. Зразок сировини з населеного пункту Бербениці Полтавської області характеризувався найнижчим вмістом флавоноїдів (0,63мг/г), але вміст

фенольних антиоксидантів виявився найвищим (1,71 mM TE/г). Така різниця могла бути спричинена тим, що рослина перебувала у конкуренції за поживні речовини з іншими представниками лісової біоти та не отримувала їх у достатній кількості. За своїм унікальним складом цей зразок виявився найбільш цікавим та був обраний для подальшого проведення ферментативного гідролізу.

7. Ферментація насіння лопуха великого з Бербениць була проведена β -глюкозидазою (*Agrobacterium sp.*) та підтвердила свою високу ефективність. У результаті ферментації відбулося значне гідролітичне перетворення глікозидів у їх активні аглікони, що спостерігалось у підвищенні інтенсивності зон з Rf 0,91, 0,83, 0,61, збільшенні загального вмісту флавоноїдів (12,6 %) в порівнянні з неферментованим зразком та підвищення їхньої антиоксидантної активності на 19,0-26,1 %.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Грищенко К., Смирнова О. Дослідження процесів ферментативного гідролізу рослинної сировини. Технічні науки: науковий журнал. 2025. № 6 (1). С. 145-151.
URL: https://www.tech.vernadskyjournals.in.ua/journals/2025/6_2025/part_1/33.pdf
2. Ковальова А.М., Журавель І.О. Фармакогностичне дослідження рослин роду *Arctium*. Матеріали науково-практичної конференції НФаУ. Харків, 2024. С. 61-62. URL: <https://dspace.nuph.edu.ua/bitstream/123456789/33717/1/61-62.pdf>
3. Спосіб екстракції натуральних активних інгредієнтів з рослинної сировини. XJCistanche: іноваційні технології екстракції. 2024. URL: <https://ua.xjcistanche.com/news/method-for-extracting-natural-active-ingredient-67671272.html>
4. Aman W., Khan S., Rahman A. Extraction and therapeutic potential of plant-derived aglycones. PMC (PubMed Central). 2024. Vol. 111, art. 126794. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11126794/>
5. Bano M., Ahmed N. Bioactive compounds from *Arctium lappa* L. and their pharmacological properties. Springer Chapters in Plant Sciences. 2014. P. 85-102. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-007-7735-4_4
6. Beta-Glucosidase from *Agrobacterium* sp.: enzymatic assay and technical specification. Megazyme Product Documentation. 2023. URL: <https://www.megazyme.com/beta-glucosidase-agrobacterium-sp>
7. Burdock (*Arctium* spp.): growth, harvesting, and medicinal uses. Project Food Forest. 2016. URL: <https://projectfoodforest.org/2016/08/16/burdock-arctium-spp/>
8. Capasso R., Izzo A.A. Phytochemical analysis and cosmetic applications of burdock root extracts. MDPI Cosmetics. 2023. Vol. 10, no. 1. P. 10. URL: <https://www.mdpi.com/2079-9284/10/1/10>

9. Chan Y.S., Cheng L.N. A review of the pharmacological effects of *Arctium lappa* (Burdock). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2022. Vol. 74, no. 3. P. 321-333. URL: <https://academic.oup.com/jpp/article/74/3/321/6382157>
10. Chen J., Wang X., Li Y. Evaluation of biologically active aglycones isolated via enzymatic hydrolysis. *PMC (PubMed Central)*. 2024. Vol. 113, art. 11335715. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11335715/>
11. Gao T., Lin Z. Structural characterization of secondary metabolites from *Arctium lappa* roots. *PMC (PubMed Central)*. 2023. Vol. 101, art. 10121394. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10121394/>
12. Gromova L., Petrova M. Determination of lignan aglycones in *Arctium lappa* L. extracts. *De Gruyter Chemistry*. 2017. Vol. 15, no. 1. P. 112-119. URL: <https://www.degruyterbrill.com/document/doi/10.1515/chem-2017-0012/html>
13. Kim J.H., Lee Y.B. Optimization of enzymatic hydrolysis for extracting bioactive components from plant matrices. *LWT – Food Science and Technology*. 2018. Vol. 89. P. 412-419. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817309532>
14. Liu Y., Zhang H. In vitro antioxidant of actigenin and arctiin derivatives. *PMC (PubMed Central)*. 2023. Vol. 100, art. 10039259. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10039259/>
15. Lu L., Huang W. Functional genomics of secondary metabolite biosynthesis in medicinal plants. *Frontiers in Plant Science*. 2019. Vol. 10. Art. 834. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/plantscience/articles/10.3389/fpls.2019.00834/full>
16. Mylonis I., Siozios S. Extraction strategies for dietary fibers and bioactive molecules from burdock roots. *Food Research International*. 2021. Vol. 139. Art. 109145. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996920309145>
17. Predrag L., Marina D. Validated HPLC method for the determination of arctiin and arctigenin in plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2009. Vol. 49, no. 4. P. 982-987. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708509001642>

18. Solanke N. Medicinal Plants: An Aspects in Food Processing. ResearchGate Publication. 2024. URL: <https://www.researchgate.net/profile/Nikhil-Solanke/publication/384862783>
19. Sohn E.H., Kim J.H. Anti-inflammatory effects of *Arctium lappa* root extracts in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Inflammopharmacology. 2011. Vol. 19, no. 2. P 89-96. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10787-010-0062-4>
20. Tang Y., Wang M. Chemistry and biodiversity of lignans isolated from Asteraceae family. Chemistry & biodiversity. 2022. Vol. 19, no. 6. Art. e20220061. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbdv.20220061>
21. Tsai T.H., Lin C.Y. Assessment of the hepatoprotective effects of arctigenin in animal models. PubMed/NCIB. 2016. PMID: 27314765. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27314765/>
22. Wang D., Geng J. Arctiin and arctigenin: A review of their anticancer activities and mechanisms. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2018. Vol. 97. P. 752-761. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332217321534>
23. Wang L., Zhao X. Therapeutic benefits of burdock oligosaccharides in metabolic disorders. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2022. Vol. 153. Art. 113493. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332222014937>
24. Wang Z., Zhang L. Systematic analysis of the pharmacokinetic properties of plant-derived aglycones. Frontiers in Pharmacology. 2024. Vol. 15. Art. 1447077. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2024.1447077/full>
25. Xu Z., Luan L. Recent advances in the isolation and purification of bioactive lignans. Critical reviews in Food Science and Nutrition. 2020. Vol. 60, no. 14. P. 2315-2328. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2019.1581726>
26. Zang Y., Li S. Enhanced production of bioactive aglycones via microbial fermentation and enzymatic hydrolysis. Frontiers in Microbiology. 2021. Vol. 12. Art. 663116.

URL:<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2021.663116/full>

27. Zhao J., Wang Y. Application of Bio-interface materials in the stabilization of plant enzymes. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2021. Vol. 11, no. 6. P. 14312-14325. URL: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2021/08/20695837123.28262842.pdf>