

Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev, Russia, Moscow, e-mail: rector@rgau-msha.ru

Abstract: *This article presents a new method for the production of dihydroquercetin, an important biologically active substance in pharmacology, using supercritical fluid CO₂ extraction. The study demonstrates the effectiveness and promise of this approach compared to traditional extraction methods, highlighting its importance for the development of the pharmaceutical industry and science.*

Key words: *dihydroquercetin, CO₂ extraction, extractant, biologically active substances, supercritical fluids, ethyl acetate.*

УДК 597.6

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ИЗГОТОВЛЕНИИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ

Филозон Владислав Сергеевич, студент Университета ИТМО факультета биотехнологий, e-mail: flozop@yandex.com

Володарский Михаил Олегович, студент Университета ИТМО факультета биотехнологий, e-mail: michael.volodarsky@yandex.ru

Осьмак Ольга Олеговна, инженер Университета ИТМО НОЦ ИнфоХимии, e-mail: Osmak21@yandex.ru

Санников Максим Витальевич, лаборант Университета ИТМО НОЦ ИнфоХимии, e-mail: mvsannikov@itmo.ru

Ашихмина Мария Сергеевна, инженер Университета ИТМО НОЦ ИнфоХимии, e-mail: msashikhmina@itmo.ru

Национальный исследовательский университет ИТМО,
Россия, Санкт-Петербург, e-mail: od@itmo.ru

Аннотация: статья содержит экспериментальные и расчетные данные об эффективности криопротекторных веществ, используемых при криоконсервации пробиотических молочнокислых бактериальных культур, в последствии потребляемых в производстве ферментированных кисломолочных продуктов.

Ключевые слова: пробиотик, криопротекторы, квантово-химические расчеты, пищевая промышленность, молочные продукты.

Выполнено при поддержке Российского научного фонда (соглашение № 23-16-00224)

Введение. Питание человека является интересным объектом для изучения и привнесения новшеств как с научной, так и промышленной точек зрения, а

исследования в области взаимосвязи между питанием и здоровьем ведутся уже многие годы [1]. Пищевые продукты играют не только роль основного источника питательных веществ и энергии, но также позиционированы как средство поддержания и улучшения здоровья. Такие пищевые продукты названы продуктами обогащенными пищевыми продуктами. Они содержат в себе биологически активные компоненты, которые приносят полезные свойства помимо питательных. Обогащенные продукты могут включать в себя витамины, минералы, пробиотики, пребиотики, антиоксиданты и другие функциональные ингредиенты. На сегодняшний день существует серьезная проблема с нарушением работы микробиоты кишечника у людей, вызванная неправильным питанием и образом жизни. Экологические проблемы, стресс и применение антибиотиков также вызывают дисбаланс в микрофлоре кишечника. Микроорганизмы, населяющие кишечник, связаны с широким спектром заболеваний, таких как диабет, болезни сердца и головного мозга, заболевания ЖКТ и ожирение [2]. Одним из основных способов решения этой проблемы является восстановление собственной микрофлоры с помощью пробиотиков, причем самыми популярными источниками живых пробиотических бактерий на рынке являются ферментированные молочные продукты [3]. Для сохранения и транспортировки бактериальных молочнокислых пробиотических культур, с последующим восстановлением биологических функций, используют криоконсервацию. Криоконсервация подразумевает сохранение культур при отрицательных температурах. Наиболее распространенным и доступным в качестве оборудования для заморозки является морозильная камера лабораторного холодильника. Во время криоконсервации клетки испытывают физиологический стресс, вызванный образованием внеклеточных и внутриклеточных кристаллов льда, приводящих к осмотическому дисбалансу, также нуклеация воды может физически повредить мембранные структуры бактериальных клеток, а при выходе из криобиоза, при размораживании культур, происходит перекристаллизация льда, все это приводит к гибели клеток. Следствием криоконсервации помогают избежать криопротекторные вещества.

Актуальность. Подбор наиболее эффективного криозащитного вещества является важной темой производства заквасочных культур для ферментированных молочнокислых продуктов. Поскольку при высокой выживаемости бактериальных культур в процессе криоконсервации промышленные процессы повышают свою экономическую эффективность. Криопротекторы характеризуются различными механизмами действия, оказывая влияние на выживаемость молочнокислых бактерий при криоконсервации. Основным свойством криозащитных агентов является способность менять процесс кристаллообразования, воздействуя на центры нуклеации воды, образуя при этом сольватную оболочку вокруг молекул вещества. Экспериментальный подбор криопротекторных веществ является трудо- и энергозатратной работой по постановке различных масштабных экспериментов по определению концентрации, композиции веществ и токсическому эффекту на бактериальные клетки. Для ускорения проведения экспериментальных работ применяются квантово-химические расчеты (DFT), учитывающие на молекулярном уровне

получение аддуктов, образующихся в ходе реакции образования межмолекулярных водородных связей вода – криопротектор. Из полученных расчетных данных строятся предположения об эффективности криопротекторного агента.

Цель и задачи. Целью работы является постановка квантово-химического эксперимента и его корреляция с полученными экспериментальными данными. В ходе работы были поставлены следующие задачи: культивирование с последующей криоконсервацией бактериальной культуры, расчет выживаемости, эффективности криоконсервации.

Объекты и методы исследований. *Streptococcus thermophilus 56-45* был приобретен у БРЦ ВКПМ (Москва, Россия). Бактерии культивировали на питательной среде M-17 (HiMedia, Индия) в течение 18-19 часов при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Бактериальную массу осаждали при помощи центрифугирования при 4000 g в течение 10 мин. Надосадочную жидкость сепарировали. К биомассе в соотношении 1:2. добавляли 10%-ый стерильный раствор криопротекторов (сахарозы, маннозы и рибозы). Полученные образцы криоконсервировали в течение 7 дней при температуре -25°C . Эффективность криопротекторных веществ оценивали по выживаемости *S. thermophilus 56-45* после процесса криоконсервации при помощи метода Коха в двух повторностях. Процент выживаемости оценивали по формуле:

$$\frac{\text{Кол-во КОЕ после криоконсервации}}{\text{Кол-во КОЕ до криоконсервации}} \times 100\%, \text{ КОЕ – колониеобразующие единицы.}$$

DFT-расчет свободной энергии Гиббса сольватации молекул ди- и моносахаридов. Квантово-химические расчеты выполнены методом теории функционала плотности при помощи программного пакета Orca 5.0.3 функционалом B3LYP-D3, при помощи вспомогательного базисного набора def2-TZVP с учетом растворителя (вода).

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования было установлено, что сахара, выступающие в качестве криопротекторов, различной природы оказывают разное влияние на выживаемость бактерий в ходе криоконсервации. Так, наилучшими криозащитными свойствами обладает 10%-ый раствор сахарозы. Менее эффективный криозащитный агент, чем сахароза – манноза. Наихудший результат проявила рибоза. Данные, полученные в ходе эксперимента приведены в табл. 1.

Таблица 1

Экспериментальные данные, полученные в результате криоконсервации

Криопротектор (10%-ый раствор)	10^{10} КОЕ/мл	Выживаемость %
Манноза	48 ± 3	$43,6 \pm 2,7$
Рибоза	37 ± 2	$33,6 \pm 1,8$
Сахароза	99 ± 3	$90 \pm 2,7$

До криоконсервации: $110 \cdot 10^{10}$ КОЕ/мл, (концентрация клеток приведена к одному показателю степени для удобства расчетов). Процент выживаемости рассчитывался по формуле:

$$\frac{\text{Кол} - \text{во КОЕ после криоконсервации}}{\text{Кол} - \text{во КОЕ до криоконсервации}} \times 100\%$$

Расчетные данные представлены на рис. 1:

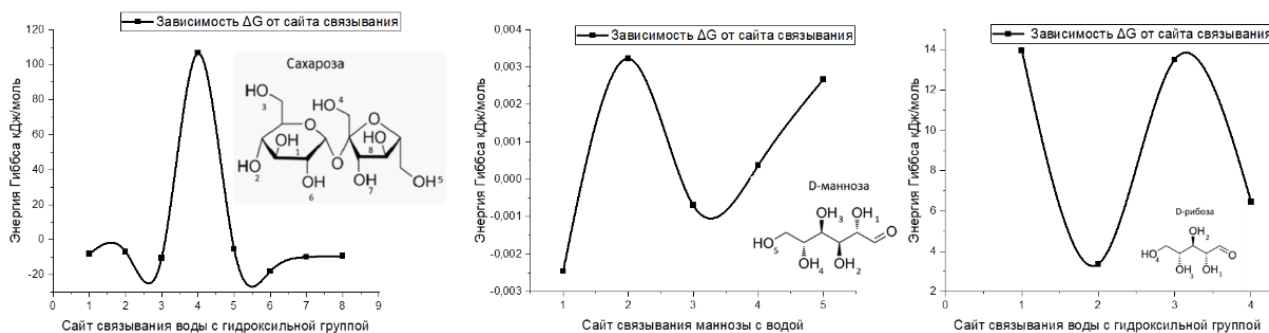


Рисунок 1 – Зависимость энергии Гиббса от сайта лигандного присоединения к молекуле криопротектора

По расчетным значениям были построены зависимости энергий Гиббса от сайтов связываний воды с молекулами криопротекторов. Наименьшая энергия Гиббса получена у молекулы сахарозы: -18,03 кДж/моль. У маннозы: -6,43 кДж/моль, у рибозы: 3,37 кДж/моль. Исходя из полученных значений наилучшим криопротекторным агентом будет сахароза.

Выводы. Наилучший криозащитный эффект оказал 10%-ый раствор сахарозы, выживаемость бактериальной культуры *S. termophilus*. 56-45 составила 90%, результаты, полученные в ходе лабораторного эксперимента коррелируются с полученными расчетными данными. Манноза является менее эффективным криозащитным агентом, чем сахароза, выживаемость бактерий составила 43,6%, а энергия связывания на 11,6 кДж/моль больше, чем у сахарозы. Рибоза проявила наименьшие криопротекторные свойства. Выживаемость бактерий с 10%-ым раствором рибозы составляет 33,6%, а энергия связывания положительная, 3,37 кДж/моль, из полученных расчетных данных следует, что реакция получения аддукта не протекает в заданных при расчете условиях. Из результатов проведенной работы можно сделать вывод о том, что применение DFT-расчетов можно использовать для прогнозирования эффективности криопротекторных веществ, однако эксперимент все еще остается необходимой итерацией для предсказания криозащитных агентов, поэтому отказаться от него в полной мере нельзя. Квантово-химические расчеты могут помочь на этапе первичного скрининга доступных для криоконсервации веществ. Так же стоит учитывать индивидуальные особенности культур микроорганизмов, применение которых с некоторыми из криозащитных веществ не может быть в полной мере

биосовместимо. Расчет веществ с высокой молекулярной массой (белки, пептиды) не может быть произведен в полной мере без использования высоких вычислительных мощностей, но даже с доступом к ним рассчитать электронную плотность белка – трудозатратная работа. Решением может стать расчет только активных сайтов белка или пептида.

Библиографический список

1. Ohlhorst S.D. et al. Nutrition research to affect food and a healthy life span // J. Nutr. 2013. Vol. 143, № 8. P. 1349–1354.
2. Zhu S. et al. The progress of gut microbiome research related to brain disorders // J. Neuroinflammation. 2020. Vol. 17, № 1. P. 25.
3. Zommiti M., Feuilloley M.G.J., Connil N. Update of Probiotics in Human World: A Nonstop Source of Benefactions till the End of Time // Microorganisms. 2020. Vol. 8, № 12. P. 1907.
4. Патент № 2222808 С2 Российская Федерация, МПК G01N 33/02. Прибор для исследования структурно-механических свойств пищевых материалов : № 2001115809/13 : заявл. 08.06.2001 : опубл. 27.01.2004 / А. Н. Пирогов, Д. В. Доня ; заявитель Кемеровский технологический институт пищевой промышленности
5. Фоменко, Е. В. Перспективы использования инновационного оборудования для повышения экономической эффективности предприятий пищевых производств / Е. В. Фоменко, О. Н. Беспалова, А. Х. Х. Нугманов // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2010. – № 2-3(314-315). – С. 114-115.
6. Оптимизация рецептуры многокомпонентных продуктов методами теории подобия и пути ее практической реализации / А. Х. Х. Нугманов, Л. М. Титова, И. Ю. Алексанян, Е. В. Фоменко // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – № 4(39). – С. 63-70
7. Изучение кинетических закономерностей и моделирование тепло- и массопереноса в процессе сушки джекфрута / И. Ю. Алексанян, Ю. А. Максименко, А. Х. Х. Нугманов, Т. С. Нгуен // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2020. – № 1. – С. 8-22. – DOI 10.36107/spfp.2020.212.
8. Алексанян, И. Ю. Моделирование процесса сушки дисперсного материала в кипящем слое / И. Ю. Алексанян, Л. М. Титова, А. Х. Х. Нугманов // Техника и технология пищевых производств. – 2014. – № 3(34). – С. 96-102

THE APPLICATION OF CRYOPRESERVATION METHODS FOR THE PRESERVATION OF PROBIOTIC CULTURES USED IN THE MANUFACTURE OF FUNCTIONAL FOOD PRODUCTS

Philozop Vladislav Sergeevich, student at ITMO University, Faculty of Biotechnology, e-mail: fllozop@yandex.com

Mikhail Olegovich Volodarsky, student at ITMO University, Faculty of Biotechnology, e-mail: fllozop@yandex.com

Osmak Olga Olegovna, engineer at ITMO University REC Infochemistry,

e-mail: fllozop@yandex.com

Sannikov Maxim Vitalievich, laboratory assistant at ITMO University REC

Infochemistry, e-mail: fllozop@yandex.com

Ashikhmina Maria Sergeevna, engineer of ITMO University REC Infochemistry, e-

mail: msashikhmina@itmo.ru

National Research University ITMO,
Russia, St. Petersburg, e-mail: od@itmo.ru

Abstract: *the article contains experimental and calculated data on the effectiveness of cryoprotective substances used in the cryopreservation of probiotic lactic acid bacterial cultures, subsequently consumed in the production of fermented milk products.*

Key words: *probiotic, cryoprotectors, quantum chemical calculations, food industry, dairy products.*

УДК 663.252

ТЕРМОВИНИФИКАЦИЯ КАК СПОСОБ УСКОРЕНИЯ БРОЖЕНИЯ КРАСНЫХ ВИН

Филонова Татьяна Юрьевна, студентка Технологического института,
ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА
имени К.А. Тимирязева», e-mail: iks.eks@yandex.ru

Гаспарян Шаген Вазгенович, канд. с.-х. наук, доцент кафедры
технологии хранения и переработки плодоовощной и растениеводческой
продукции, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет –
МСХА имени К.А. Тимирязева», e-mail: gas_shag@rgau-msha.ru

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА
имени К.А. Тимирязева», Россия, Москва, e-mail: rector@rgau-msha.ru

Аннотация: в данной статье представлено вторичное теоретическое исследование о влиянии процесса термовинификации на химический состав в производстве красных вин, а также на скорость брожения виноградного сусла.

Ключевые слова: термовинификация, брожение, химический состав винограда, красный виноград, скорость брожения.

Актуальность. Создание качественных красных виноматериалов является одним из самых сложных процессов в виноделии, а также целью виноделов для повышения конкурентоспособности Российских вин с Зарубежными. Большое влияние при производстве красных вин на их качество оказывают многие