

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2592>
<https://elibrary.ru/MKODYV>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Продукты углекислотной экстракции как биоактиваторы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*



Л. В. Пермякова¹, Л. А. Рябоконева^{1,*}, И. Ю. Сергеева¹,
С. С. Лашицкий¹, Я. Ли², Ю. Хуан³

¹ Кемеровский государственный университет^{ROR}, Кемерово, Россия

² Северо-восточный сельскохозяйственный университет^{ROR}, Харбин, Китай

³ Харбинский университет коммерции^{ROR}, Харбин, Китай

Поступила в редакцию: 29.05.2025

Принята после рецензирования: 04.07.2025

Принята к публикации: 08.07.2025

*Л. А. Рябоконева: lara.ryavokoneva22@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-3282-9326>

Л. В. Пермякова: <https://orcid.org/0000-0003-1996-8903>

И. Ю. Сергеева: <https://orcid.org/0000-0002-1686-0131>

С. С. Лашицкий: <https://orcid.org/0000-0001-9468-9088>

Я. Ли: <https://orcid.org/0000-0002-5796-4367>

Ю. Хуан: <https://orcid.org/0000-0001-8150-4902>

© Л. В. Пермякова, Л. А. Рябоконева, И. Ю. Сергеева,

С. С. Лашицкий, Я. Ли, Ю. Хуан, 2025



Аннотация.

Улучшение метаболических функций дрожжевой культуры различными приемами – одно из направлений совершенствования биотехнологических процессов. Поиск новых источников биостимуляторов нацелен на природные ресурсы, в качестве которых могут выступать *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L., и неструктивные методы извлечения ценных компонентов сырья, такие как сверхкритическая флюидная экстракция. Цель работы – исследовать воздействие CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* на ферментативную и физиологическую активность дрожжевой культуры.

Объекты исследования – CO₂-экстракты *T. officinale* и *T. pratense*, полученные сверхкритической флюидной экстракцией при рабочем давлении от 8,0 до 20,0 МПа и температуре 40 °С; производственные пивные дрожжи. Химический состав экстрактов определяли газовой хроматографией, бродильную активность дрожжей – методом Варбурга.

Определены рациональные параметры сверхкритической флюидной экстракции: для *T. officinale* рабочее давление – 15,0 МПа, для *T. pratense* – 8,0–15,0 МПа. В результате сверхкритической флюидной экстракции получены отдельные фракции CO₂-экстрактов, различающиеся внешним видом (от жидких до воскообразных), значением показателя преломления (чем больше рабочее давление, тем выше величина показателя), химическим составом (смесь углеводов, фенольных соединений, жирных кислот, кетонов, альдегидов, спиртов), потенциальной биологической активностью (антибактериальной, антиоксидантной и др.). Представлены результаты изменения химического состава CO₂-экстрактов при продолжительном хранении. Исследованы спектрограммы и химический состав образцов CO₂-экстрактов исходных и после продолжительного выдерживания. Отмечено уменьшение концентрации и преобразования полифенолов, флавоноидов и других компонентов эфирных масел. Проведен анализ микробиологического состояния CO₂-экстрактов: после хранения / использования в течение 30 суток при температуре 20–24 °С в пробах выявлено наличие грамотрицательных бактерий; при 2–4 °С без света, а также в свежеполученных экстрактах – отсутствие микрофлоры. Обработка дрожжей водными растворами CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в течение 20–30 мин в количестве 0,2–2,0 % к объему биомассы способствовала увеличению бродильной активности в среднем на 220 % и снижению количества мертвых клеток.

Результаты свидетельствуют о перспективности использования CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в качестве биостимулирующих препаратов дрожжевой культуры.

Ключевые слова. Флюидная CO₂-экстракция, химический состав, биоактиваторы, *Saccharomyces cerevisiae*, *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense*, бродильная активность, физиологические показатели

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00134, <https://rscf.ru/project/24-26-00134/>

Для цитирования: Пермякова Л. В., Рябоконева Л. А., Сергеева И. Ю., Лашицкий С. С., Ли Я. и др. Продукты углекислотной экстракции как биоактиваторы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 3. С. 607–623. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2592>

Carbon Dioxide Extraction Products as Biostimulators for Yeast *Saccharomyces cerevisiae*



Larisa V. Permyakova¹, Larisa A. Ryabokoneva^{1,*},
Irina Yu. Sergeeva¹, Sergey S. Lashitskiy¹, Yang Li², Yuyang Huang³

¹ Kemerovo State University^{ROR}, Kemerovo, Russia

² Northeast Agricultural University^{ROR}, Harbin, China

³ Harbin University of Commerce^{ROR}, Harbin, China

*Larisa A. Ryabokoneva: lara.ryabokoneva22@mail.ru,

<https://orcid.org/0000-0003-3282-9326>

Larisa V. Permyakova: <https://orcid.org/0000-0003-1996-8903>

Irina Yu. Sergeeva: <https://orcid.org/0000-0002-1686-0131>

Sergey S. Lashitskiy: <https://orcid.org/0000-0001-9468-9088>

Yang Li: <https://orcid.org/0000-0002-5796-4367>

Yuyang Huang: <https://orcid.org/0000-0001-8150-4902>

© L.V. Permyakova, L.A. Ryabokoneva, I.Yu. Sergeeva,
S.S. Lashitskiy, Y. Li, Y. Huang, 2025



Received: 29.05.2025

Revised: 04.07.2025

Accepted: 08.07.2025

Abstract.

Yeast cultures with advanced metabolic indicators improve various industrial biotechnological processes. New sources of biostimulators involve mainly natural resources, e.g., *Taraxacum officinale* Wigg. or *Trifolium pratense* L., as well as non-destructive extraction methods, e.g., supercritical fluid extraction (SCFE). This research featured the effect of CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* on the enzymatic and physiological profiles of yeast culture.

The experiment involved CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* obtained by SCFE at 8.0–20.0 MPa and 40°C, as well as industrial brewer's yeast. The method of gas chromatography made it possible to reveal the chemical composition of the extracts while the Warburg method revealed the fermentation activity of the yeast.

The rational parameters of SCFE for *T. officinale* included a working pressure of 15.0 MPa while for *T. pratense* it was 8.0–15.0 MPa. The separate fractions of CO₂ extracts obtained with SCFE differed in many aspects. The appearance varied from liquid to waxy. The refractive index correlated with the working pressure. The chemical composition was represented by different mixes of hydrocarbons, phenolic compounds, fatty acids, ketones, aldehydes, and alcohols. The bioactive potential demonstrated antibacterial, antioxidant, and other properties. The analysis involved the chemical composition of the CO₂ extracts during long-term storage based on spectrograms and chemical composition. It showed a decrease in the concentration and transformation of polyphenols, flavonoids, and other essential oil components. The microbiological profile of the CO₂ extracts was as follows: on storage day 30 at 20–24°C, they contained gram-negative bacteria. However, no microflora was detected when the storage conditions were 2–4°C in the dark. The initial extracts were also microflora-free. When treated with aqueous solutions of CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* for 20–30 min in an amount of 0.2–2.0% biomass volume, the yeast increased their fermentation activity by an average of 220% while the dead cell count went down.

In this research, the CO₂ extracts of *T. officinale* and *T. pratense* demonstrated good prospects as industrial yeast biostimulators.

Keywords. Supercritical CO₂ extraction, chemical composition, biostimulators, *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense*, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation activity, physiological parameters

Funding. The research was supported by the Russian Science Foundation, Grant No. 24-26-00134, <https://rscf.ru/project/24-26-00134/>

For citation: Permyakova LV, Ryabokoneva LA, Sergeeva IYu, Lashitskiy SS, Li Y, et al. Carbon Dioxide Extraction Products as Biostimulators for Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(3): 607–623. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-3-2592>

Введение

Актуальной задачей, стоящей перед биотехнологическими производствами, основанными на жизнедеятельности дрожжей *Saccharomyces*, является интенсификация наиболее длительных стадий с сохранением

высокого качества конечного продукта. Один из векторов решения данной проблемы – поиск доступных, малозатратных способов регулирования физиолого-биохимических характеристик дрожжевой культуры. К ним относят приемы с использованием биостиму-

ляторов различной природы – как химической (синтетической), так и естественной (растительной, животной, микробной). Для гигиенической безопасности в приоритете натуральность источников происхождения БАВ. Важен фактор распространенности отечественного сырьевого ресурса с позиции импортозамещения стимулирующими добавками подобного типа [1].

Предложены приемы повышения биокаталитического потенциала дрожжей (пекарских, пивных, спиртовых), улучшение показателей физиологического состояния культуры с использованием экстрактов растительного лекарственного (хмель, аралия маньчжурская), кормового (лебеда сибирская), плодового-ягодного и овощного сырья, отходов ряда пищевых производств [2–7].

В качестве перспективных источников БАВ и активаторов дрожжевой культуры могут служить клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) и одуванчик обыкновенный (*Taraxacum officinale* Wigg.). Эти растения имеют широкий географический ареал распространения, химический состав сырья отличается разнообразием, что обуславливает его ценные свойства и области применения.

T. officinale содержит углеводы (поли- и олигосахариды), белки (включая лектины), аминокислоты (в том числе незаменимые), витамины (А, В1, В2, В4, С, РР, β -каротин) и минеральные элементы (магний, железо, цинк, кальций, натрий, калий, фосфор). Присутствуют тараксерол, фарадиол, арнидиол и др. терпеновые углеводороды, каротиноиды, фитостеролы, фенольные гликозиды, эфирные масла (определяют фармакологическую активность этого растительного сырья) [8–11].

T. pratense характеризуется высоким содержанием таких сахаров, как глюкоза и галактоза, наличием арабинозы, рамнозы и ксилозы. В его составе обнаружены аминокислоты (аспарагиновая, глутаминовая, пролин, глицин, цистеин, лейцин, лизин, триптофан, метионин), витамины (А, С, Е, К), макро- и микроэлементы (калий, фосфор, магний, натрий, кальций, сера, железо, алюминий, кремний, марганец). В сырье присутствуют различные группы фенольных веществ: флавоноиды (рутин, цинарозид, кверцетин), изофлавоноиды (формонетин, биоханин, генистеин, олонин, дайдзин), антоцианы, фенолкарбоновые кислоты, кумарины и дубильные вещества [12–16].

Извлечение БАВ из растительного сырья осуществляется многочисленными методами, условно подразделяемыми на традиционные и современные. К первой группе относятся мацерация, перколяция, экстракция Сокслета и др. [17, 18]. Они характеризуются простотой применения, однако обладают низкой диффузионной эффективностью и длительным временем экстракции [17, 19]. Вторая группа включает методы с высоким уровнем извлечения фитонутриентов: экстракция ультразвуковая, микроволновая, экстракция под давлением (докритическая и сверхкритическая) [17, 20–22]. Последний способ на данный момент считается наиболее перспективным для выделения БАВ.

Экстракция под давлением предполагает выдерживание растительного сырья в сосудах под высоким давлением при температуре 35–40 °С. В зависимости от технологических параметров выделяют докритическую экстракцию (давление растворителя ниже его критической точки; для CO_2 – до 0,739 МПа) и сверхкритическую (давление выше критической точки; для CO_2 – более 0,739 МПа) [21–23]. Диапазон температур, подбираемых в зависимости от способа, сырья и природы извлекаемых веществ, обычно составляет 30–100 °С, давление – 3,5–20,0 МПа [23].

Сверхкритическая флюидная экстракция (СКФЭ) с использованием углекислоты обладает рядом преимуществ перед традиционными методами. СКФЭ является экологически чистым методом с легко удаляемым растворителем, что гарантирует получение высококачественного экстракта без остаточного содержания растворителей [17, 23]. Путем регулирования давления и температуры можно точно контролировать селективность процесса, извлекая конкретные соединения и минимизируя экстрагирование нежелательных компонентов. Низкая температура экстракции позволяет сохранить термолабильные БАВ. Это делает СКФЭ подходящей для извлечения ценных веществ, легко разрушающихся при высоких температурах, характерных для других методов. В данной работе для экстракции растительного сырья выбран метод СКФЭ.

Существуют сведения об использовании сока свежей наземной части *T. officinale* для корректировки среды дрожжегенерирования в спиртовом производстве [24], а также о применении CO_2 -шротов *T. officinale* и *T. pratense* для повышения биокаталитического потенциала пивных дрожжей [25]. Однако в литературе отсутствуют данные об использовании CO_2 -экстрактов в качестве биостимуляторов жизненной активности дрожжей, включая экстракты *T. officinale* и *T. pratense*. Многокомпонентный состав *T. officinale* и *T. pratense* позволяет предположить, что CO_2 -экстракты из этих видов растительного сырья могут рассматриваться как перспективные источники жизненно необходимых для нормального развития дрожжевой культуры соединений.

Цель исследования – оценка потенциальной возможности использования CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в качестве активаторов биотехнологических функций дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования – CO_2 -экстракты *Taraxacum officinale* Wigg., *Trifolium pratense* L.; дрожжи пивные низового брожения.

Для получения CO_2 -экстрактов использовали растительное сырье *T. officinale* и *T. pratense*, произрастающее в Кемеровской области – Кузбассе. Свежее сырье (наземная часть) собрано в период вегетации (май-июнь 2023, 2024 г., д. Осиновка Кемеровской области, Россия). Наземные части растений высуши-

вали естественным путем без доступа прямого солнечного света, измельчали на ножевой мельнице РМ-120 (ВИБРОТЕХНИК, Россия).

Полупромышленную установку (ООО «СО2EXT», Россия), представляющую собой экстрактор закрытого типа, с тремя рабочими колонками использовали для сверхкритической флюидной экстракции (СКФЭ). Две колонки вместимостью по 10 л и одна – 1 л. В состав установки также входят три сепаратора, позволяющие максимально увеличить расход CO_2 и фракционировать получаемый экстракт. Оборудование полностью автоматизировано. Схема установки представлена на рисунке 1.

Параметры обработки сырья: температура в рабочей колонке – 40 °С, давление экстракции – от 8,0 до 20,0 МПа. Давление в сепараторах 6,0; 5,0; 4,0 МПа; температура 30, 30, 25 °С соответственно; длительность экстрагирования – 60 мин при каждом значении давления. В ряде случаев для экстрагирования использовали соразтворитель – 96 %об. этиловый спирт, который добавляли к CO_2 в количестве 2 %.

Производственные пивные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* низового брожения штамм Rh были взяты после окончания процесса ферментации 11 % суслу (ООО ТД «Золотая сова», г. Кемерово, Россия).

Методы исследования. В CO_2 -экстрактах определяли:

- коэффициент преломления рефрактометрическим методом согласно ГОСТ ISO 6320–2012;
- химический состав газохроматографическим методом с масс-спектрометрией газовым хромато-масс-спектрометром GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu, Япония). Параметры процесса: капиллярная колонка MDN1

(твердосвязанный метилсиликон, 30 м × 0,25 мм, Sigma-Aldrich, США), объем инжектора – 1 мкл, температура инжектора – 200 °С, деление потока – 1:10, температура интерфейса – 210 °С, температура детектора – 200 °С, скорость потока газа-носителя (He) – 0,8 см³/мин, температурная программа: 100 °С в течение 2 мин, 5 °С/мин до 120 °С, 20 °С/мин до 260 °С, затем 260 °С в течение 2 мин. Идентификация масс от 1,5 до 1,900 m/z;

– спектры оптического поглощения с помощью спектрофотометра СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия) при стандартных условиях в диапазоне длин волн 200–800 нм в кюветах шириной 10 мм. Раствором сравнения при измерении спектров служили этиловый спирт из пищевого сырья с объемной долей 96 % и гексан; – наличие посторонней микрофлоры путем поверхностного посева на твердую питательную среду МПА [26]. Образец отбирали микробиологической петлей и штрихом сеяли в чашки Петри на среду МПА, после помещали в термостат (при 30 °С). По истечении трех дней отмечали наличие посторонней микрофлоры. Если в чашках присутствовали колонии микроорганизмов, окрашивали их по Граму и подвергали микроскопированию с целью идентификации.

В дрожжах до и после обработки экстрактами оценивали биокаталитический потенциал (бродильную активность) модифицированным методом Варбурга по объему CO_2 , выделившегося за 60 мин [27]; физиологическое состояние по наличию в биомассе нежизнеспособных (окрашиванием пробы раствором метиленовым синим) и почкующихся клеток методом прямого микроскопирования (×600) с использованием бинокулярного микроскопа Levenhuk 850B (Китай) и камеры Горяева.

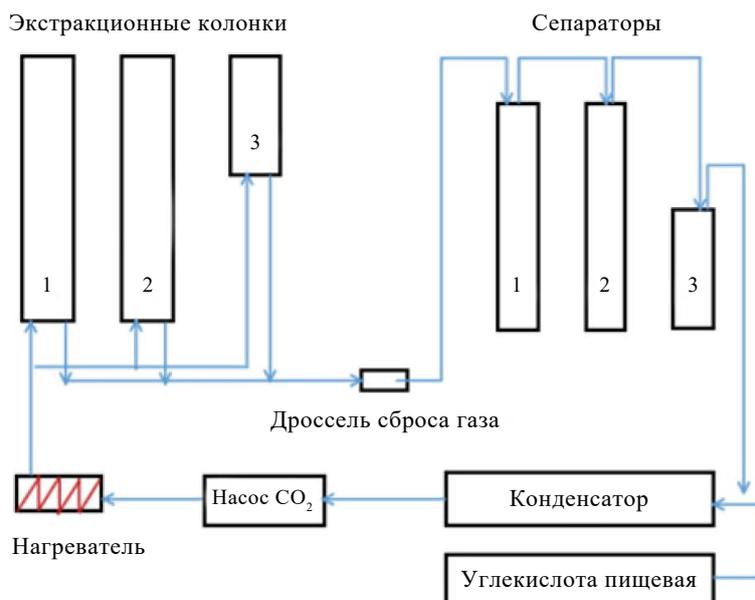


Рисунок 1. Схема установки углекислотной экстракции

Figure 1. Carbon dioxide extraction plant

Для выявления посторонней микрофлоры в дрожжах, обработанных CO₂-экстрактами, готовили разведение 1:10³, 1:10⁴, делали посев в чашки Петри на среду Сабуро глубинным методом, термостатировали при температуре 30 °С [26]. Затем сравнивали размер выросших колоний обработанных дрожжей по отношению к необработанным.

Первичная обработка результатов проводилась в программе MS Excel 365. Данные представлены в виде среднего арифметического ± стандартная ошибка среднего (M ± m). Различия в средних значениях считали достоверными при уровне вероятности $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Оценка физико-химических показателей CO₂-экстрактов. В результате экстракции сырья в зависимости от давления в рабочей колонке и в сепараторе были получены различные фракции CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. (табл. 1), отличающиеся количественным выходом; внешним видом; физико-химическими свойствами и химическим составом. В процессе экстрагирования *T. officinale* при давлении в рабочей колонке 8,0 МПа выход продукта во всех трех сепараторах отсутствовал, в отличие от *T. pratense*. Максимальный выход экстракта *T. officinale* наблюдался в сепараторе 2 при давлении 20,0 МПа – 82,0 % от общей массы экстракта, в то время как для *T. pratense* при давлении 15,0 МПа из сепаратора 3 – 45,5 %. При этом в последнем случае суммарный выход экстракта был почти в 2 раза больше, чем из *T. officinale*: 3,57 г/100 г СВ и 1,81 г/100 г СВ соответственно.

По внешнему виду фракции CO₂-экстракта *T. officinale* ЭО1–ЭО4 и CO₂-экстракта *T. pratense* ЭК1–ЭК5 представляли продукт жидкой консистенции, прозрачный, с различными оттенками зеленого и желтого цветов. При давлении выше 15,0 МПа повышался

выход тугоплавких, воскообразных, нерастворимых в воде веществ, что характерно для фракций ЭО5–ЭО6 и ЭК5–ЭК7. Цвет массы этих фракций зелено-желтый, оранжевый или темно-коричневый. Использование высокого давления в рабочей колонке (20,0 МПа) и соразворителя (этилового спирта) позволило получить жидкий продукт (ЭО7 и ЭК8) светло-зеленого цвета с включениями воскоподобных частиц.

Значения коэффициента преломления (табл. 1) отдельных фракций коррелировали с давлением CO₂ экстракции. Наличие воскоподобных веществ – сложной смеси восков, свободных длинноцепочечных жирных кислот, гидрооксикислот, диолов, длинноцепочечных алифатических углеводородов и кетонов, способствует увеличению показателя преломления [28]. Среднее значение показателя для CO₂-экстрактов *T. officinale* – 1,4785 ± 0,0002 [29], коэффициент преломления для эфирного масла из *T. pratense* находится в пределах 1,4630–1,4720 [30], что говорит о верификации полученных результатов.

Учитывая органолептические характеристики, параметры получения CO₂-экстрактов, значения коэффициента преломления, для дальнейшего анализа химического состава методом газовой хроматографии выбрали отдельные фракции: для *T. pratense* – ЭК1, ЭК3, ЭК6, ЭК8, для *T. officinale* – ЭО1 и ЭО4. В таблицах 2 и 3 представлены данные по преобладающим в CO₂-экстрактах веществам. Компонентный анализ извлеченных фракций CO₂-экстрактов позволил выявить общие характеристики их состава. Фракции представляют сложную смесь веществ, которые относятся к жирным кислотам и их эфирам, кислородсодержащим эфирам, углеводородам различной структуры, фенольным веществам различных групп и строения.

В составе фракции ЭК1 CO₂-экстракта *T. pratense* обнаружено более 91 вещества, не идентифицировано 5 компонентов. Распределение (% от массы всех

Таблица 1. Характеристика параметров получения и показатель преломления фракций CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L.

Table 1. Fractions of CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L.: production parameters and refractive index

CO ₂ -экстракты							
<i>Taraxacum officinale</i> Wigg.				<i>Trifolium pratense</i> L.			
Кодировка образца	№ фракции	Давление в рабочей колонке / давление в сепараторе, МПа	Коэффициент преломления ± 0,0002	Кодировка образца	№ фракции	Давление в рабочей колонке / давление в сепараторе, МПа	Коэффициент преломления ± 0,0002
ЭО1	1	15,0/6,0	1,4715	ЭК1	1	8,0/6,0	1,4451
ЭО2	2	15,0/5,0	1,4825	ЭК2	2	8,0/5,0	1,4489
ЭО3	3	15,0/4,0	1,4715	ЭК3	3	8,0/4,0	1,4405
ЭО4	4	20,0/6,0	1,4725	ЭК4	4	15,0/5,0	1,4625
ЭО5	5	20,0/5,0	1,4848	ЭК5	5	15,0/4,0	1,4625
ЭО6	6	20,0/4,0	1,4918	ЭК6	6	20,0/6,0	1,4680
ЭО7	7	20,0/6,0; 5,0; 4,0*	1,4751	ЭК7	7	20,0/5,0	1,4705
				ЭК8	8	20,0/6,0; 5,0; 4,0*	1,4725

Примечание: * – экстракт получен CO₂ экстракцией с применением соразворителя (96 % этиловый спирт).

Note: * – the extract was obtained by CO₂ extraction with 96% ethyl alcohol co-solvent.

Таблица 2. Преобладающие вещества в отдельных фракциях CO₂-экстрактов *Trifolium pratense* L.Table 2. Major substances in separate fractions: CO₂ extracts of *Trifolium pratense* L.

Вещество	Содержание, % от суммы обнаруженных веществ	Химический класс вещества
Фракция ЭК1		
Неофитадиен	17,42	Терпены
Генеикозан	11,72	Циклические углеводороды
Лупейл ацетат	12,00	Тритерпеноидные эфиры
Люпеол	6,87	Фитостерол
бета-Амирин	4,62	Терпены
Гептадекан	4,04	Углеводороды
Эйкозан	2,35	Углеводороды
Фракция ЭК3		
2(3Н)-Фуранон, дигидро-5-тетрадецил	32,42	Кислородсодержащие соединения
2Н-Пиран-2-он,6-гептилтетрагидро-(CAS)	7,56	Циклические углеводороды
Гептадеканал	4,45	Кислородсодержащие соединения
1-Трикозанол	3,74	Спирты
Фракция ЭК6		
3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол	43,27	Спирты
Неофитадиен	35,48	Терпены
Гександиевая кислота, бис (2-этилгексил) эфир (КАС)	11,09	Эфиры карбоновых кислот
Фракция ЭК8		
1Н-пурин-6-амин, [(2-фторфенил) метил]-(CAS)	11,13	Н-содержащие
Циклогексаноксим тертио-бутил-4	11,24	Углеводороды
2,4,4,6,6,8,8-гептаметил-1-нонен	5,38	Терпены

Таблица 3. Преобладающие вещества в отдельных фракциях CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg.Table 3. Major substances in separate fractions: CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg.

Вещество	Содержание, % от суммы обнаруженных веществ	Химический класс вещества
Фракция ЭО1		
Гександиевая кислота, бис(2-этилгексил) эфир	44,04	Эфиры карбоновых кислот
Неофитадиен	5,18	Терпены
гамма-ситостерол	3,01	Фенолы
Фитол	1,29	Терпены
Фракция ЭО4		
79,12-октадекадиеновая кислота (Z, Z)-метиловый эфир	13,8	Эфиры карбоновых кислот
альфа-амирин	5,29	Терпены
3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол	2,69	Терпены
Люпеол	3,57	Терпены

компонентов смеси) по группам веществ следующее: углеводородная составляющая – 9,80; циклические углеводороды – 15,36; кислородосодержащие соединения – 2,66; терпеноидные эфиры – 23,70; терпеновые соединения – 35,00 (табл. 2). Имеются представители и других групп, но в значительно меньшем количестве. По данным [31, 32], в экстрактах, извлеченных

разными способами, в том числе с помощью углекислотной экстракции, отмечено высокое содержание гликозидов, терпеновых веществ, изофлавоноидов. Жирнокислотный состав полученных CO₂-экстрактов *T. pratense* характеризуется наличием олеиновой, линоленовой, пальмитиновой кислот, а также их сложных эфиров [33].

Обнаруженные вещества характеризуются различной фармакологической активностью. Например, в составе фракции ЭК1 выявлен эйкозан (табл. 2), относящийся к классу алканов и обладающий мощным антиоксидантным действием [34]. В зависимости от места произрастания сырья содержание данного компонента может варьироваться от 4,5 до 17,8 % [33]. Большая часть терпеновых эфиров обладает противомикробной или противовирусной активностью. Для идентифицированного в составе той же фракции люпеола и лупейл ацетата доказана противоопухолевая и апоптозная активность [35]. В этой фракции обнаружены и другие вещества, но в значительно меньших количествах (менее 1 % от суммы обнаруженных соединений, не приведены в табл. 2), однако имеющих высокую биологическую активность: (Е)-5-октадецен – антибактериальную [36], 2-пентадеканон,6,10,14-триметил-(CAS); н-тетракозанол-1 – антиоксидантную [37–39]; 9,19-циклоланост-24-ен-3-ол,(3,бета,)- – подавляющую секрецию противовоспалительных цитокинов [40].

Во фракции ЭК3 присутствуют вещества, проявляющие сильную антибактериальную активность, в частности тридеканал, гептадеканал [41], 1-трикозанол [42]. Для фракции ЭК6 отмечено высокое содержание веществ с противомикробной и противовоспалительной активностью: 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол и неофитадиен [43, 44]. Фракция Э8 наряду с указанными в таблице 2 компонентами содержит уникальные вещества: 6,10,13-триметилтетрадеканол, обладающий антигенными свойствами [45], и детиобиотин, являющийся стимулятором роста микроорганизмов [46].

Фракция ЭО1 CO_2 -экстракта *T. officinale* более чем на 70 % (от суммы обнаруженных веществ) состоит из карбоновых кислот и их эфиров. Из терпеновых соединений представлен фитол (табл. 3), входящий в состав хлорофилла, витаминов Е и К, служащий стимулятором роста молочнокислых бактерий [47]. Присутствует большое количество циклических соединений (7,67 %). Для фракции ЭО4 характерно повышенное содержание терпеновых веществ и фитостеролов: 19,10 и 6,19 % соответственно от суммы выявленных компонентов. Присутствуют вещества с антиокислительной способностью: 3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол; альфа-амирин [43, 48].

Влияние длительности хранения на спектральные характеристики CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense*. Продолжительность хранения / использования CO_2 -экстрактов может отразиться на их химическом составе. Исследовали спектрограммы и химический состав образцов CO_2 -экстрактов *T. officinale* фракции ЭО1 и *T. pratense* L. фракций ЭК1, ЭК2, ЭК3 (расшифровка кодировки в табл. 1) непосредственно после получения (контроль 1) и спустя 30 суток хранения при различных параметрах: температура 2–4 °С без доступа света (контроль 2) и температура 20–24 °С в условиях естественной освещенности в прозрачной

таре (опытные варианты *T. officinale* ЭО1.1, *T. pratense* ЭК1.1; ЭК2.1; ЭК3.1). Результаты представлены на рисунке 2 и в таблице 4.

Изменений в качественно-количественном составе CO_2 -экстрактов контрольных образцов 1 и хранившихся при низкой температуре в отсутствии прямого солнечного света (контроль 2) не наблюдалось (на рис. 2 представлены данные для образцов контроля 1 – ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3). В то же время полученные результаты свидетельствуют об изменении отдельных групп веществ (снижении их содержания, превращении в другие соединения) в процессе хранения опытных образцов в сравнении с контрольными. Причина, вероятно, связана с процессами окисления, полимеризации индивидуальных представителей фенольных и других групп соединений под воздействием факторов окружающей среды: неоптимальной температуры, солнечного света, кислорода. В исследованиях [49–52] также отмечается уменьшение концентрации и преобразования полифенолов, флавоноидов, компонентов эфирных масел растительных экстрактов с увеличением температуры (в диапазоне 0–25 °С), длительности хранения (до 6–12 месяцев), доступа кислорода, воздуха и света. В условиях эксперимента трансформация отдельных компонентов CO_2 -экстрактов приводила к появлению веществ, которые при дальнейшей обработке дрожжей, возможно, окажут негативное влияние на жизненную активность культуры.

Оценка микробиологического состояния CO_2 -экстрактов и дрожжевой культуры. CO_2 -экстракты, используемые для обработки дрожжей, должны не только проявлять эффективность воздействия с точки зрения активации культуры, но и быть микробиологически безопасными для нее. Задача данного этапа исследования – оценка микробиологических показателей CO_2 -экстрактов и дрожжевой культуры после обработки экстрактами.

С учетом приведенных выше данных по изменению отдельных групп веществ в экстрактах в процессе хранения / использования (рис. 2, табл. 4) были выполнены посеvy на среду МПА CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense*, полученных сразу после окончания экстрагирования и после 30 суток хранения при температуре 20–24 °С и доступа света. В экстрактах, хранившихся в течение месяца (ЭО1.1, ЭК1.1, ЭК2.1, ЭК3.1), обнаружены палочковидные грамотрицательные бактерии (рис. 3, табл. 5). При посеве свежеприготовленных экстрактов (ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3) посторонняя микрофлора в пробах отсутствовала.

В дрожжах, обработанных 1 % растворами ЭО1.1, ЭК1.1, ЭК2.1, ЭК3.1, при посеве на среду Сабуро обнаружен рост палочковидных бактерий (рис. 4 и табл. 6, из указанного перечня образцов представлен ЭО1.1). Одной из возможных причин данной микробиологической картины является изменение химического состава и снижение и / или полная утрата антиоксидантной и антимикробной активности CO_2 -экстрактов

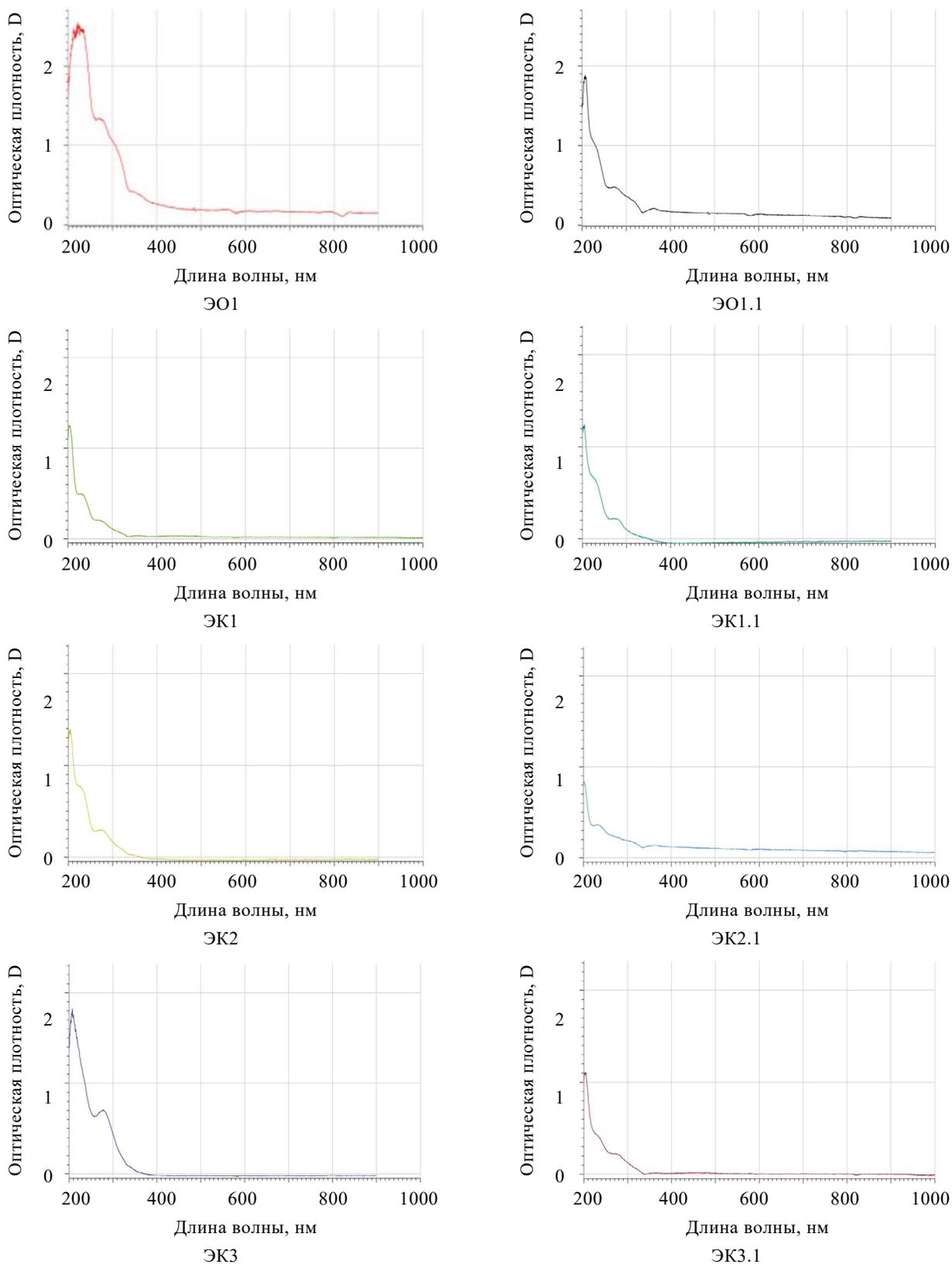


Рисунок 2. Спектрограммы образцов CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. непосредственно после получения (ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3) и через 30 суток хранения при температуре 20–24 °С и доступе света (ЭО1.1, ЭК1.1, ЭК2.1, ЭК3.1)

Figure 2. Spectrograms of fresh CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. vs. on storage day 30 at 20–24°C and different light modes

Таблица 4. Влияние хранения CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. на качественный состав отдельных групп БАВ

Table 4. Effects of storage of CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on composition of individual bioactive groups

Образец исходный / после хранения	Длина волны, нм	Предполагаемая группа веществ	Изменение после хранения
ЭО1/ЭО1.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Значительный спад высоты пика – снижение концентрации веществ группы изофлавоноидов
	300–400	Хлорогеновая кислота и производные формы цинарода (лютеолозид) [54, 55]	Изменение характерных пиков более выражен при 370 нм – возможная перегруппировка веществ
ЭО1/ЭО1.1	450–500	Пигменты [56]	Пик менее выражен – снижение концентрации веществ данной группы
	217	Кафтаровая кислота [54]	Меньшая высота пика – возможно снижение концентрации кафтаровой кислоты
ЭК1/ЭК1.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Пик сглажен – снижение концентрации веществ данной группы
	217	Кафтаровая кислота [54]	Значительный спад высоты пика – снижение концентрации кафтаровой кислоты
ЭК2/ЭК2.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Смещение пика в 300–400 нм – изомеризация веществ данной группы, возможно новообразование производных форм лютеолозида
	217	Кафтаровая кислота [54]	Значительное изменение характерного пика – преобразование в другое соединение фенольной группы веществ (спектр не идентифицирован)
ЭК3/ЭК3.1	200–300	Изофлавоноиды [53]	Изменение характерных пиков более активных групп выражен при 370 нм – вероятно перегруппировка веществ



Рисунок 3. Чашки Петри с посевом CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. (ЭО1.1) и *Trifolium pratense* L. (ЭК1.1, ЭК3.1) на среду МПА

Figure 3. Petri dishes seeded with CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on meat infusion agar

вследствие окисления, полимеризации фенольных и иных веществ, изначально обладающих указанными свойствами. Низкая антимикробная активность или ее деградация создает предпосылки для развития микрофлоры на этапе использования CO₂-экстрактов. На подобную тенденцию к потере биологической активности в процессе хранения растительных экстрактов указывают и другие исследования [49, 50, 52]. В посевах образцов дрожжей после обработки растворами свежеполученных экстрактов (ЭО1, ЭК1, ЭК2, ЭК3) присутствовали колонии только основной культуры без наличия посторонней микрофлоры (рис. 4 и табл. 6, из приведенного перечня образцов приведен ЭК1).

Разница в количестве клеток обработанных дрожжей и в контроле визуально не видна.

Влияние CO₂-экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* на ферментативную и физиологическую активность дрожжей. Задачей данного этапа исследования являлось выявление закономерностей и определение рациональных параметров воздействия CO₂-экстрактов растительного сырья на ферментативный потенциал и физиологическое состояние дрожжевой культуры. Для обработки водно-дрожжевой суспензии (1:1) использовали жидкие CO₂-экстракты *T. officinale* и *T. pratense*, что обусловлено простотой использования и приготовления из них водных растворов.

Таблица 5. Морфологическая характеристика и культуральные свойства CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. (посев на среду МПА)

Table 5. Morphology and cultural properties of CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on meat infusion agar

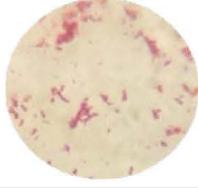
	Образец			
	ЭО1.1	ЭК1.1	ЭК3.1	
Колонии при световой микроскопии				
Микроскопическая картина				
Форма колонии	–	Ризоидная	Круглая	Круглая
Размер	–	Крупный	Мелкий	Мелкий
Цвет	Белый	Белый	Белый	Желтый
Рельеф	Плоский	Кратерообразный	Выпуклый	Выпуклый
Поверхность	Гладкая	Морщинистая	Гладкая	Гладкая
Прозрачность	Полупрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная
Характер края	Гладкий	Волнистый	Гладкий	Гладкий
Структура	Гомогенная	Однородная	Однородная	Однородная
Консистенция	Сухая	Кожистая	Вязкая	Вязкая
Наименование микроорганизма	Палочковидные бактерии Г ⁻	Палочковидные бактерии Г ⁻	Палочковидные бактерии Г ⁻	Кокки



Рисунок 4. Чашки Петри с посевом дрожжей на среду Сабуро (контроль – дрожжи, необработанные экстрактами)

Figure 4. Petri dishes with yeast seeding on Saburo medium vs. untreated control

Воскоподобные CO₂-экстракты требуют растворения в спирте. Дальнейшее применение в таком виде для обработки дрожжевой культуры может негативно отразиться на ее жизнеспособности.

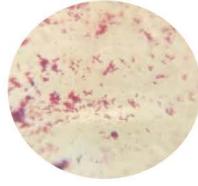
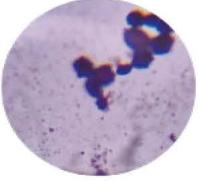
Воздействие на дрожжевую суспензию осуществляли CO₂-экстрактами *T. officinale* и *T. pratense*, полученными при давлении экстракции 15,0 и 8,0 МПа (фракция ЭО1 – экстракт одуванчика и ЭК1 – экстракт клевера), в виде 1 % водного раствора, добавляемого в разных количествах (%) к объему дрожжей. Выдержка 30 мин выбрана в соответствии с особенностями подготовки дрожжей в условиях производства [1–5] с последующим отбором проб для оценки бродильной активности (характеризует активность комплекса ферментов,

катализирующих спиртовое брожение) и показателей физиологического состояния биомассы.

Использование дозировок ЭО1 в диапазоне 2–20 % к объему дрожжей повысило бродильную активность культуры от 5,7 (при дозе 2 %) до 3,4 раз (при дозе 20 %) по отношению к контролю (дрожжи без обработки) (рис. 5а). Снижение дозы ЭО1 в 10 раз (0,2–2,0 %) также обеспечивает высокий уровень стимуляции биокаталитического потенциала дрожжей, но в меньшей степени (рис. 5б), в среднем в 2,2 раза. В этом интервале дозировок более эффективной оказалась обработка дрожжей ЭО1 в количестве 0,2–1,0 % к объему суспензии: активность возрастала в 2,4–2,5 раза по отношению к контролю.

Таблица 6. Морфологическая характеристика и культуральные свойства дрожжей после обработки экстрактами (посев на среду Сабуро, контроль – дрожжи, необработанные экстрактами)

Table 6. Morphological characteristics and cultural properties of yeast after experimental treatment: Saburo medium vs. untreated control

	Образец		
	ЭО1.1	ЭК1	Контроль
Колонии при световой микроскопии			
Микроскопическая картина			
Форма колонии	–	Круглая	Круглая
Размер	–	Мелкий	Мелкий
Цвет	Белый	Желтый	Желтый
Рельеф	Плоский	Выпуклый	Выпуклый
Поверхность	Гладкая	Гладкая	Гладкая
Прозрачность	Полупрозрачная	Непрозрачная	Непрозрачная
Характер края	Гладкий	Гладкий	Гладкий
Структура	Гомогенная	Однородная	Однородная
Консистенция	Сухая	Вязкая	Вязкая
Наименование микроорганизма	Палочковидные бактерии Г ⁻	Дрожжи	Дрожжи

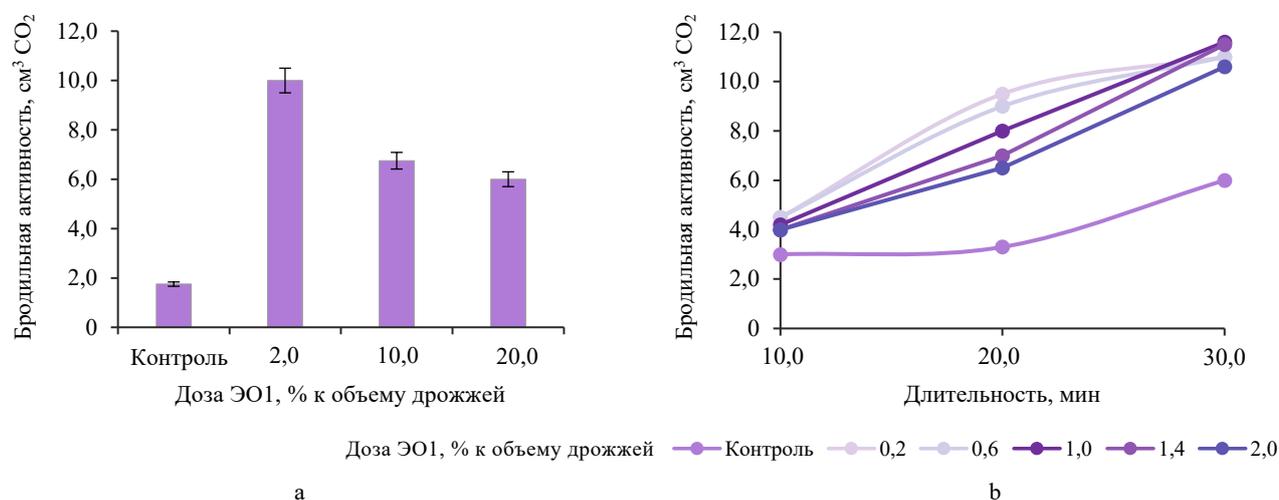


Рисунок 5. Бродильная активность дрожжей в зависимости от а) дозы CO₂-экстракта *Taraxacum officinale* Wigg. и б) длительности обработки

Figure 5. Fermentation activity of yeast depending on a) dose of CO₂ extract of *Taraxacum officinale* Wigg.; b) treatment time

При расширении диапазона количества вносимого CO₂-экстракта (от 0,2 до 20,0 %), но снижении концентрации водного раствора до 0,1 % наблюдался резкий спад (в 1,3–1,8 раза) бродильной активности опытных образцов в сравнении с контролем. Значительное увеличение дозы ЭО1 (40 и 80 % к объему дрожжевой

суспензии) и концентрации водного раствора до 1,0 % положительного действия на активность ферментов не оказало: в опытных образцах бродильная активность была в 4,0 и 16,0 раз ниже, чем в контрольном варианте.

Наиболее вероятная причина отсутствия эффекта связана с длительным использованием экстракта (в тече-

ние месяца). Анализ спектрограмм ЭО1 до и после хранения – ЭО1 и ЭО1.1 соответственно (рис. 2, табл. 4) свидетельствует о снижении количества идентифицированных веществ, в том числе оказывающих благоприятное воздействие на дрожжевую культуру. Наряду с этим возможно новообразование других соединений с низкой биологической активностью и / или угнетающих дрожжи. Кроме того, обнаружено инфицирование фракции ЭО1.1 посторонней микрофлорой (рис. 3, табл. 5), что также негативно отражалось на жизнеспособности обработанных дрожжей. С учетом этого важно соблюдать параметры хранения и использования CO₂-экстрактов.

Принимая во внимание достаточно высокий уровень ферментативной активности дрожжей после воздействия CO₂-экстрактом *T. officinale* в относительно низких дозировках (рис. 5b), дальнейшее исследование с CO₂-экстрактом *T. pratense* проводили в этом же диапазоне концентраций. Характер изменения биокаталитической активности после воздействия на дрожжи 1 % водного раствора фракции ЭК1 CO₂-экстракта *T. pratense* в количестве 0,2–2,0 % к объему микробной суспензии аналогичен обработке CO₂-экстрактом *T. officinale*. Бродильная активность дрожжевой культуры также возрастала, но в сравнении с ЭО1 той же концентрации и дозировки (рис. 5b) в меньшей степени (в среднем в 1,5 и в 2,5 раза соответственно). Во всех случаях (ЭО1 и ЭК1) уже через 20 мин обработки разница в ферментативной активности между опытными и контрольным вариантами видна, значение показателя находилось на высоком уровне, что позволяет ограничиться длительностью воздействия CO₂-экстрактов, равной 20–30 мин. Это также согласуется с рекомендуемым временем активации дрожжей в других исследованиях и в условиях производства [1–5].

Для более глубокого изучения процесса активации дрожжевой культуры провели оценку взаимосвязи между параметрами получения CO₂-экстрактов (рабочим давлением и давлением в сепараторах, табл. 2)

и их влиянием на ферментативную активность дрожжей (рис. 6). Для обработки культуры использовали CO₂-экстракты *T. officinale* и *T. pratense* в однотипной концентрации водного раствора (1 %) и дозировке (2 % к объему дрожжевой суспензии).

CO₂-экстракты исследуемого сырья, полученные при давлении в экстракторе 15,0 МПа и давлении в сепараторе 5,0 МПа (ЭО2, ЭК4), изменяют бродильную активность в значительно меньшей степени (в 1,5–1,8 раза) в сравнении с экстрактами, извлеченными при других параметрах. Однако при том же рабочем давлении, но величине давления в сепараторе ниже (4,0 МПа) в случае CO₂-экстракта *T. officinale* (ЭО3) наблюдается максимальный рост ферментативной активности. Чуть ниже эффективность воздействия на дрожжи фракции ЭО4, извлеченной при давлении рабочем 20,0 МПа и в сепараторе – 5,0 МПа.

Особой разницы в результативности действия CO₂-экстрактов *T. pratense*, полученных при однотипном рабочем давлении 8,0 МПа и давлении в сепараторе 4,0 (ЭК2) и 6,0 (ЭК1) МПа, не выявлено. В то же время эти параметры обеспечили в среднем 50 % прирост бродильной активности по отношению к рабочему давлению – 15,0 и в сепараторе – 5,0 МПа (ЭК4). В среднем биокаталитический потенциал дрожжей при обработке исследуемыми CO₂-экстрактами в 2 раза больше, чем в контроле, при этом эффективность воздействия CO₂-экстрактов *T. officinale* на 22 % выше, чем *T. pratense*.

Наблюдаемые изменения в уровне ферментативной активности обусловлены качественно-количественным составом веществ, присутствующих в отдельных фракциях (табл. 2, 3). Например, одним из факторов, стимулирующих активность дрожжей в случае обработки CO₂-экстрактами *T. officinale*, является наличие в них фитостеролов, являющихся важнейшими компонентами клеточных мембран.

Трансформация условий внешней среды в совокупности с внутриклеточными метаболическими

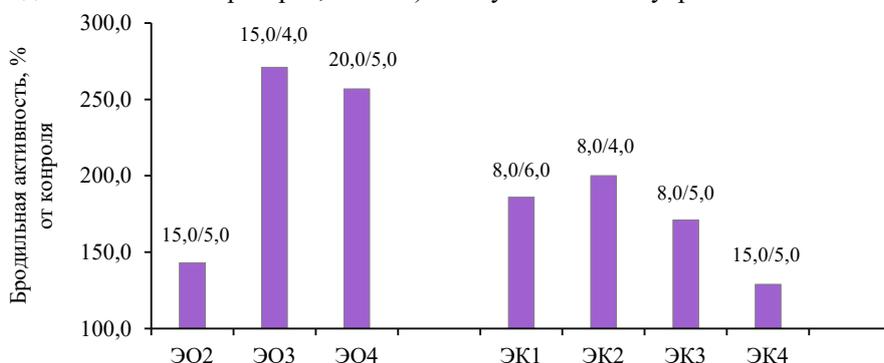


Рисунок 6. Бродильная активность дрожжей в зависимости от параметров получения CO₂-экстрактов *Taraxacum officinale* Wigg. (ЭО2, ЭО3, ЭО4) и *Trifolium pratense* L. (ЭК1, ЭК2, ЭК3, ЭК4) (цифры сверху – значение давления, Мпа, рабочего / в сепараторе)

Figure 6. Effect of parameters of CO₂ extracts of *Taraxacum officinale* Wigg. and *Trifolium pratense* L. on fermentation activity of yeast (the numbers above indicate the pressure, MPa, working pressure / in the separator)

процессами приводит к выработке клетками активных форм кислорода и вызывает окислительный стресс дрожжей, что в дальнейшем отрицательно отражается на протекании технологических процессов, выходе готового продукта и его качестве [57, 58]. Присутствие в экстрактах компонентов с антиоксидантной активностью позволяет предотвратить образование активных форм кислорода и тем самым окислительный стресс. В то же время угнетение культуры могут вызывать вещества с антибактериальным действием, в частности присутствие в ЭК1 гептадеканала.

Приведенные результаты показывают, что для получения CO_2 -экстрактов *T. officinale* наиболее эффективно использовать рабочее давление 15,0 и 20,0 МПа и давление в сепараторе 4,0 и 5,0 МПа соответственно. Для экстрактов *T. pratense* оптимальными являются рабочее давление 8,0 МПа и давление в сепараторе 4,0–6,0 МПа.

Выявлено положительное влияние CO_2 -экстрактов на физиологическое состояние дрожжей, обработанных 1 % растворами ЭО1 и ЭК1. В результате воздействия ЭО1 в интервале дозировок от 0,2 до 2,0 % к объему дрожжевой суспензии количество нежизнеспособных клеток снизилось на 21–57 % в сравнении с контрольным образцом (дрожжи без обработки), содержание почкующихся клеток возросло в 3–5 раз. Аналогичная тенденция наблюдалась при обработке дрожжей ЭК1 в тех же дозах, однако результативность была несколько ниже, чем в случае ЭО1: снижение концентрации мертвых клеток в среднем составило 25 % по отношению к контролю, прирост активно размножающихся клеток – в 2,5 раза. Изменение количества почкующихся клеток после обработки CO_2 -экстрактом *T. officinale* согласуется с результатами, полученными после воздействия на спиртовые дрожжи сока из того же сырья. В последнем случае увеличение почкующихся клеток составило лишь 9 % [24], что подтверждает высокую эффективность извлечения БАВ методом СКФЭ в сравнении с другими способами.

Выводы

Для *Taraxacum officinale* Wigg. и *Trifolium pratense* L. рациональным параметром флюидной экстракции является проведение процесса при низком давлении, позволяющем получить CO_2 -экстракты в жидком состоянии, что упрощает их использование для активации дрожжевой культуры. Химический состав извлеченных фракций CO_2 -экстрактов представляет сложную смесь жирных кислот и их эфиров, кислородсодержащих эфиров, углеводов, фенольных соединений разных типов.

Анализ микробиологических показателей CO_2 -экстрактов, хранившихся в течение месяца при температуре 20–24 °С, выявил наличие в пробах палочковидных бактерий, что связано с неоптимальными параметрами хранения образцов и возможной деградацией в этих условиях БАВ, включая антимикробные соединения.

В свежеполученных экстрактах отсутствуют загрязнения микробиологического характера. Потенциальная обсемененность CO_2 -экстрактов должна учитываться при активации дрожжей. Для минимизации окислительных процессов и сохранения биологической активности CO_2 -экстрактов на этапе хранения необходимо поддерживать температурный режим (2–4 °С) и отсутствие солнечного света.

Обработка дрожжей водными растворами CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в условиях рациональных параметров (дозировка от 0,2 до 2,0 % к объему биомассы, длительность экспозиции 20–30 мин) способствует повышению бродильной активности клеток (в среднем в 2,2 раза) и благоприятно отражается на показателях физиологического состояния культуры. Это позволяет говорить о целесообразности использования CO_2 -экстрактов *T. officinale* и *T. pratense* в качестве биостимулирующих добавок.

Критерии авторства

Л. В. Пермякова – существенный вклад в концепцию и постановку исследования, переработка первого варианта статьи, обработка результатов проекта; Л. А. Рябоконева – получение экспериментальных результатов, проведение СКФЭ, анализ полученных фракций (определение показателя преломления, химического состава), написание первого варианта рукописи; И. Ю. Сергеева – обработка полученных результатов и редактирование статьи, окончательное утверждение версии для публикации; С. С. Лашицкий – получение экспериментальных результатов исследования микробиологического состояния экстрактов и оценка их влияния на ферментативную и физиологическую активность дрожжей; Я. Ли – обсуждение и верификация результатов эксперимента; Ю. Хуан – верификация результатов эксперимента.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что не имеют конфликта интересов, который мог бы повлиять на результаты и интерпретацию представленного исследования.

Contribution

L.V. Permyakova developed the research concept and design, proofread the draft, and processed the results; L.A. Ryabokoneva obtained experimental results, conducted the SCFE experiment, analyzed the obtained fractions for the refractive index and chemical composition, and drafted the manuscript; I.Yu. Sergeeva processed the results and proofread the manuscript; S.S. Lashitskiy obtained the experimental results and assessed the enzymatic and physiological activity of yeast; Y. Li and Y. Huang verified the experimental results.

Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Пермякова Л. В. Классификация стимуляторов жизненной активности дрожжей. Техника и технология пищевых производств. 2016. Т. 42. № 3. С. 46–55. [Permyakova LV. Classification of preparatiopns to promote yeast vital activity. Food Processing: Techniques and Technology. 2016;42(3):46–55. (In Russ.)]
2. Клиндухова Ю. О. Совершенствование технологии хлебобулочных изделий с использованием продуктов переработки хмеля. Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2012. № 2–3. С. 33. [Klindukhova YuO. Improving the technology of bakery products using hop processing products. Izvestiya vuzov. Food technology. 2012;(2–3):33. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PAMCJB>
3. Palagina MV, Plekhova NG, Cherevach EI. The influence of plant extracts on the functional activity and intracellular metabolite of brewer’s yeast. International Journal of Applied and Fundamental Research. 2012;(2).
4. Sergeeva I, Permyakova L, Markov A, Ryabokoneva L, Atuchin V, et al. Peptides of yeast *Saccharomyces cerevisiae* activated by the aquatic extract of *Atriplex sibirica* L. ACS Food Science & Technology. 2024;4(1):173–189. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00455>
5. Кузьмина С. С., Козубаева Л. А., Егорова Е. Ю., Кулуштаева Б. М., Смольникова Ф. Х. Активность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в условиях стресс-провокации плодово-ягодными экстрактами. Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 4. С. 819–831. [Kuzmina SS, Kozubaeva LA, Egorova EYu, Kulushtayeva BM, Smolnikova FKh. Effect of berry extracts on *Saccharomyces cerevisiae* yeast. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):819–831. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-819-831>
6. Садикова М. И., Мухамадиев Б. Т. Использование плодовоовощных криопорошков в пищевой технологии. Universum: Химия и биология. 2021. № 4. С. 46–49. [Sadikova MI, Muhammadiyev BT. Use of fruit vegetable cryopowders in food technology. Universum: Chemistry and Biology. 2021;(4):46–49. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/LMMQIQ>
7. Krikunova LN, Meleshkina EP, Vitol IS, Dubinina EV, Obodeeva ON. Grain bran hydrolysates in the production of fruit distillates. Foods and Raw Materials. 2023;11(1):35–42. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-550>
8. Laila U, Kaur J, Sharma K, Singh J, Rasane P, et al. Dandelion (*Taraxacum officinale*): A promising source of nutritional and therapeutic compounds. Recent Advances in Food, Nutrition & Agriculture. 2025;16(1):41–56. <https://doi.org/10.2174/012772574X293072240217185616>
9. Евстафьев С. Н., Тигунцева Н. П. Биологически активные вещества одуванчика лекарственного *Taraxacum officinale* Wigg. (обзор). Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2014. №1. С. 18–29. [Evstafev SN, Tiguntseva NP. Biologically active substances of dandelion *Taraxacum officinale* Wigg. (Review). Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2014;(1):18–29. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/SADNOV>
10. Платонов В. В., Хадарцев А. А., Валентинов Б. Г., Сухих Г. Т., Дунаев В. А. и др. Химический состав гексанового экстракта корней дикорастущего одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinalic* Wigg., семейство астровые – *Asteraceae*). Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2022. Т. 16. № 2. С. 106–126. [Platonov VV, Khadartsev AA, Valentinov BG, Sukhikh GT, Dunaev VA, et al. Chemical composition of hexane extract of wild dandelion root (*Taraxacum officinalic* Wigg., *Asteraceae* family). Journal of new medical technologies, eEdition. 2022;16(2):106–126. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24412/2075-4094-2022-2-3-3>
11. Milovanović S, Grzegorzczak A, Świątek Ł, Boguszewska A, Kowalski R, et al. Phenolic, tocopherol, and essential fatty acid-rich extracts from dandelion seeds: Chemical composition and biological activity. Food and Bioproducts Processing. 2023;142:70–81. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.09.005>
12. Шевцов А. А., Дранников А. В., Дерканосова А. А., Торшина А. А., Ориничева А. А., и др. Исследование кормовой белковой добавки из растительного сырья со свойствами фитобиотика. Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2020. Т. 82. № 3. С. 65–70. [Shevtsov AA, Drannikov AV, Derkanosova AA, Torshina AA, Orinicheva AA, et al. Study of a fodder protein supplement from plant raw materials with phytobiotic properties. Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(3):65–70. (In Russ.)] <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-3-65-70>
13. Жалолов И. Ж., Абдурахмонова С. Б. Исследование макро- и микроэлементов растения *Trifolium pratense* методом ICP-MS. Universum: Химия и биология. 2023. Т. 2–1. С. 35–38. [Jalolov I, Abdurahmonova S. Investigation of macro and micro elements of the plant *Trifolium pratense* by the ICP-MS method. Universum: Chemistry and Biology. 2023;2–1:35–38. (In Russ.)] <https://doi.org/10.32743/UniChem.2023.104.2.14909>
14. Belashova OV, Kozlova OV, Velichkovich NS, Fokina AD, Yustratov VP, et al. A phytochemical study of the clover growing in Kuzbass. Foods and Raw Materials. 2024;12(1):194–206. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2024-1-599>
15. Бекузарова С. А., Шабанова И. А. Семеноводство клевера лугового. Владикавказ: Издательство ФГБОУ ВО «Горский госагроуниверситет»; 2020. 224 с. [Bekuzarova SA, Shabanova IA. Seed production of red clover. Vladikavkaz: Izdatel’stvo FGBOU VO “Gorsk State Agrarian University”; 2020. 224 p. (In Russ.)]
16. Андреева В. Ю., Калинин Г. И., Полуэктова Т. В., Гуляева В. А. Сравнительное исследование фенольных соединений видов рода клевер (*Trifolium* L.) флоры Сибири. Химия растительного сырья. 2018. № 1. С. 97–104. [Andreeva VIU, Kalinkina GI, Poluektova TV, Guliaeva VA. The comparative study of phenolic compounds in *Trifolium* L. species in Siberia. Chemistry of plant raw material. 2018;(1):97–104. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2018011846>

17. Кони́чев А. С., Баури́н П. В., Фе́доровский Н. Н., Мара́хова А. И., Яку́бович Л. М. и др. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки. Вестник московского государственного областного университета. Серия: естественные науки. 2011. № 3. С. 49–54. [Konichev A, Baurin P, Fedorovskiy N, Marakhova A, Yakubovich L, et al. Traditional and modern methods of extraction of biology active substances from plant materials: Perspective, dignities, limitations. Bulletin of the MSRU. Series: Natural sciences. 2011;(3):49–54. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/OFOKXD>
18. Abubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. 2020;12(1):1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
19. Абашкин И. А., Елеев Ю. А., Глухан Е. Н., Кучинский Е. В., Афанасьев В. В. Методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья (обзор). Химия и технология органических веществ. 2021. № 2. С. 43–59. [Abashkin IA, Eleev YuA, Glukhan EN, Kuchinsky EV, Afanasyev VV. Extraction methods for biologically active substances from plant materials (Review). Chemistry and Technology of Organic Substances. 2021;(2):43–59. (In Russ.)] https://doi.org/10.54468/25876724_2021_2_43
20. Елапов А. А., Кузнецов Н. Н., Марахова А. И. Применение ультразвука в экстракции биологически активных соединений из растительного сырья, применяемого или перспективного для применения в медицине (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10. № 4. С. 96–116. [Elapov AA, Kuznetsov NN, Marakhova AI. The use of ultrasound in the extraction of biologically active compounds from plant raw materials, used or promising for use in medicine (Review). Drug development & registration. 2021;10(4):96–116. (In Russ.)] <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-96-116>
21. Старокадомский Д., Титенко А., Камарали А., Куц В., Малоштан С. и др. Обзор научных работ по технологиям экстрагирования биокомпонентов из растительного сырья. Сверхкритическая CO₂-экстракция – эффективный новый метод решения глобальной проблемы утилизации и качества растительного и органического сырья. “GLOBUS” Технические науки. 2021. Т. 7. № 3. С. 9–24. [Starokadomsky D, Titenko A, Kamarali A, Kuts V, Maloshtan S, Barkholenko V. et al. Review of scientific works on technologies for extraction of biocomponents from vegetable raw materials. Supercritical CO₂ extraction is an effective new method for solving the global problem of utilization and quality of plant and organic raw materials. Globus: Technical sciences. 2021;7(3):9–24. (In Russ.)] <https://doi.org/10.52013/2713-3079-39-3-2>
22. Tzima S, Georgiopolou I, Louli V, Magoulas K. Recent advances in supercritical CO₂ extraction of pigments, lipids and bioactive compounds from microalgae. Molecules. 2023;28(3):1410. <https://doi.org/10.3390/molecules28031410>
23. Zoccali M, Donato P, Mondello L. Recent advances in the coupling of carbon dioxide-based extraction and separation techniques. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2019;116:158–165. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.028>
24. Калужина О. Ю. Содержание биологически активных веществ в экстракте одуванчика и его влияние на физиологию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Известия оренбургского государственного аграрного университета. 2013. № 5. С. 197–199. [Kaluzhina OYu. The content of biologically active elements in the dandelion extract and its impact on the physiology of yeasts *Saccharomyces cerevisiae*. Izvestia Orenburg State Agrarian University. 2013;(5):197–199. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/RHAAWN>
25. Пермякова Л. В., Сергеева И. Ю., Рябоконева Л. А., Лашицкий С. С. Применение CO₂-шротов как стимуляторов жизненной активности пивных дрожжей. АПК России. 2025. Т. 32. № 1. С. 113–120. [Permyakova LV, Sergeeva IY, Ryabokoneva LA, Lashitsky SS. Application of CO₂-ferments as stimulators of vital activity of brewer’s yeast. Agro-industrial complex of Russia. 2025;32(1):113–120. (In Russ.)] <https://doi.org/10.55934/2587-8824-2025-32-1-113-120>
26. Качмазов Г. С. Дрожжи броидильных производств. Практическое руководство. СПб: Лань; 2022. 224 с. [Kachmazov GS. Yeasts of fermentation industries. Practical guide: Study guide. St. Petersburg: Lan’; 2022. 224 p.]
27. Давыденко С. Г. Создание и применение нового экспресс-метода оценки качества семенных дрожжей. Пиво и напитки. 2012. № 5. С. 20–23. [Davydenko SG. The creation and application of a new rapid method of assessing the quality of the seed yeast. Beer and beverages. 2012;(5):20–23. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PDHVLR>
28. Соболев И. В., Родионова Л. Я., Барышева И. Н. Изучение возможности получения пектиновых экстрактов высокой чистоты. Политематический сетевой электронный научный журнал кубанского государственного аграрного университета. 2016. № 123. С. 79–89. [Sobol IV, Rodionova LYa, Barisheva IN. Exploring the possibility of obtaining pectin extracts of high purity. Polythematic online scientific journal of Kuban STATE agrarian University. 2016;(123):79–89. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21515/1990-4665-123-004>
29. Струпан Е. А., Типсина Н. Н., Струпан О. А. Химический состав дикорастущего лекарственного сырья, произрастающего в Красноярском крае. Вестник КрасГАУ. 2008. № 1. С. 124–126. [Strupan EA, Tipsina NN, Strupan OA. Chemical composition of wild medicinal raw materials growing in Krasnoyarsk Krai. Bulletin of KSAU. 2008;(1):124–126. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/IIRHDB>
30. Daneshnia F, Amini A, Chaichi MR. Berseem clover quality and basil essential oil yield in intercropping system under limited irrigation treatments with surfactant. Agricultural Water Management. 2016;164(Part 2):331–339. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.10.036>
31. Butkutė B, Lemežienė N, Padaruskas A, Norkevičienė E, Taujenis L. Chemical composition of zigzag clover (*Trifolium medium* L.). Breeding Grasses and Protein Crops in the Era of Genomics. 2018. pp. 83–87. https://doi.org/10.1007/978-3-319-89578-9_15

32. Kolodziejczyk-Czepas J. Trifolium species – The latest findings on chemical profile, ethnomedicinal use and pharmacological properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2016;68(7):845–861. <https://doi.org/10.1111/jphp.12568>
33. Sabudak T, Ozturk M, Goren AC, Kolak U, Topcu G. Fatty acids and other lipid composition of five *Trifolium* species with antioxidant activity. Pharmaceutical Biology. 2009;47(2):137–141. <https://doi.org/10.1080/13880200802439343>
34. Uddin MR, Akhter F, Abedin J, Shaikh AA, Al Mansur MA, et al. Comprehensive analysis of phytochemical profiling, cytotoxic and antioxidant potentials, and identification of bioactive constituents in methanolic extracts of *Sonneratia apetala* fruit. Heliyon. 2024;10(13):e33507. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33507>
35. Suwito H, Heffen WL, Cahyana H, Suwarso WP. Isolation, transformation, anticancer, and apoptosis activity of lupeyl acetate from *Artocarpus integra*. AIP Conference Proceedings. 2016;1718:080004. <https://doi.org/10.1063/1.4943339>
36. Scanu M, Toto F, Petito V, Masi L, Fidaleo M, et al. An integrative multi-omic analysis defines gut microbiota, mycobiota, and metabolic fingerprints in ulcerative colitis patients. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2024;14:1366192. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1366192>
37. Авдеева Е. Ю., Краснов Е. А., Шилова И. В. Компонентный состав фракции *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. с высокой антиоксидантной активностью. Химия растительного сырья. 2008 № 3. С. 115–118. [Avdeeva EYu, Krasnov EA, Shilova IV. Component composition of the fraction *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. with high antioxidant activity. Chemistry of plant raw materials. 2008;(3):115–118. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/JUVDAB>
38. Katanić J, Boroja T, Stanković N, Mihailović VB, Mladenović M, et al. Bioactivity, stability and phenolic characterization of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. Food & Function. 2015;6(4):1164–1175. <https://doi.org/10.1039/c4fo01208a>
39. Skanda S, Vijayakumar BS. Antioxidant and antibacterial potential of crude extract of soil fungus *Periconia* sp. (SSS-8). Arabian Journal for Science and Engineering. 2022;47(6):6707–6714. <https://doi.org/10.1007/s13369-021-06061-0>
40. Круглякова А. А., Раменская Г. В. Бета-ситостерин: свойства, подходы к количественному определению. Вестник национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова. 2016. Т. 11. № 4. С. 35–38. [Kruglyakova AA, Ramenskaya GV. Beta-sitosterin: Properties, approaches to quantitative analysis. Bulletin of Pirigov National Medical & Surgical Center. 2016;11(4):35–38. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XVRTLN>
41. Siyumbwa SN, Ekeuku SO, Amini F, Emerald NM, Sharma D, et al. Wound healing and antibacterial activities of 2-Pentadecanone in streptozotocin-induced Type 2 diabetic rats. Pharmacognosy Magazine. 2019;15(62):71–77. https://doi.org/10.4103/pm.pm_444_18
42. Fujita K, Chavasiri W, Kubo I. Anti-*Salmonella* activity of volatile compounds of Vietnam coriander. Phytotherapy Research. 2015;29(7):1081–1087. <https://doi.org/10.1002/ptr.5351>
43. Akomolafe SF. Chemical composition, cytotoxic and antimicrobial activity of essential oil from *Tetracarpidium Conophorum* leaves. Journal of Food Science & Nutrition. 2024;10:181. <https://doi.org/10.24966/FSN-1076/100181>
44. Al-Rajhi AMH, Qanash H, Almuhayawi MS, Al Jaouni SK, Bakri MM, et al. Molecular interaction studies and phytochemical characterization of *Mentha pulegium* L. constituents with multiple biological utilities as antioxidant, antimicrobial, anticancer and anti-hemolytic agents. Molecules. 2022;27(15):4824. <https://doi.org/10.3390/molecules27154824>
45. Беленовская Л. М., Битюкова Н. В., Бобылева Н. С., Буданцев А. Л., Данчул Т. Ю. и др. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Дополнения к I тому. СПб, М.: Товарищество научных изданий КМК; 2018. 409 с. [Belenovskaya LM, Bitjukova NV, Bobyleva NS, Budancev AL, Danchul TYu, et al. Plant resources of Russia. Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Supplements to Volume 1. St. Petersburg, Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK; 2018. 409 p.]
46. Макеева А. С., Сидорин А. В., Иштуганова В. В., Падкина М. В., Румянцев А. М. Влияние дефицита биотина на экспрессию генов в клетках дрожжей *Komagataella phaffii*. Биохимия. 2023. Т. 88. № 9. С. 1655–1666. [Makeeva AS, Sidorin AV, Ishtuganova VV, Padkina MV, Rummyantsev AM. Effect of biotin starvation on gene expression in *Komagataella phaffii* cells. Biochemistry. 2023;88(9):1655–1666. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0320972523090166>
47. Chen Y, Wang Y, He L, Wang L, Zhao J, et al. Zein/fucoidan-coated phytol nanoliposome: Preparation, characterization, physicochemical stability, *in vitro* release, and antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2024;104(12):7536–7549. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13575>
48. Стоянова Я. В., Стреляева А. В., Кузнецов Р. М., Стреляев Н. Д., Боброва Е. И. Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья травы пижмы обыкновенной и недопустимой примеси к сырью растений рода лютик. Вестник смоленской государственной медицинской академии. 2023. Т. 22. № 2. С. 215–222. [Stoyanova YaV, Strelyaeva AV, Kuznetsov RM, Strelyaev ND, Bobrova EI. Pharmacognostic study of herb of *Tanacetum vulgare* L. medicinal plant raw materials and unacceptable admixture of the genus ranunculus plants raw materials. Vestnik of the Smolensk State Medical Academy. 2023;22(2):215–222. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/PWKQWQ>
49. Mikiška A, Krofta K. Assessment of changes in hop resins and polyphenols during long-term storage. Journal of The Institute of Brewing. 2012;118(3):269–279. <https://doi.org/10.1002/jib.40>
50. Соловьёва Н. Л., Сокуренько М. С. Технологии повышения стабильности полифенольных соединений в лекарственных препаратах (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. № 4. С. 82–91. [Solovieva NL, Sokurenko MS. Technologies to improve the stability of polyphenolic compounds in drug discovery (Review). Drug development & registration. 2016;(4):82–91. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/XCIYWU>

51. Курегян А. Г., Степанова Э. Ф., Печинский С. В., Оганесян Э. Т. Модель стабилизации субстанций каротиноидов. Хранение и переработка сельхозсырья. 2020. № 4. С. 55–66. [Kuregyan AG, Stepanova EF, Pechinsky SV, Oganesyanyan ET. Carotenoid substance stabilization model. Storage and Processing of Farm Products. 2020;(4):55–66. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36107/spfp.2020.345>
52. Shi L, Zhao W, Yang Z, Subbiah V, Suleria HAR. Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. Environmental Science and Pollution Research. 2022;29(54):81112–81129. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6>
53. Куркин В. А., Цибина А. С. Новые подходы к стандартизации травы монарды дудчатой. Тонкие химические технологии. 2020. Т. 15. № 4. С. 30–38. [Kurkin VA, Tsibina AS. New approaches for the standardization of the *Monarda fistulosa* herb. Fine Chemical Technologies. 2020;15(4):30–38. (In Russ.)] <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2020-15-4-30-38>
54. Тринеева О. В., Сливкин А. И., Сафонова Е. Ф. Определение гидроксикоричных кислот, каротиноидов и хлорофилла в листьях крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.). Химия растительного сырья. 2015. № 3. С. 105–110. [Trineeva OV, Slivkin AI, Safonova EF. Determination of hydroxycinnamic acids, carotenoids and chlorophyll in the leaves of Stinging nettle (*Urtica dioica* L.). Chemistry of plant raw materials. 2015;(3):105–110.] (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.201503522>
55. Куркин В. А., Азнагулова А. В. Фитохимическое исследование надземной части одуванчика лекарственного. Химия растительного сырья. 2017. № 1. С. 99–105. [Kurkin VA, Aznagulova AV. Phytochemical study of aerial parts of *Taraxacum officinale* Wigg. Chemistry of plant raw materials. 2017;(1):99–105. (In Russ.)] <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017011027>
56. Лукашов Р. И., Гурина Н. С. Факторы повышения экстракции гидроксикоричных кислот из одуванчика лекарственного корней. Аспирантский вестник Поволжья. 2024. Т. 24. № 2. С. 86–92. [Lukashou RI, Gurina NS. Factors increasing the hydroxycinnamic acids extraction from dandelion roots. Aspirantskiy vestnik Povolzhiya. 2024;24(2):86–92. (In Russ.)] <https://doi.org/10.35693/AVP636701>
57. Bleoancă I, Bahrin GE. Overview on brewing yeast stress factors. Romanian Biotechnological Letters. 2013; 18(5):8559–8572.
58. Guan N, Li J, Shin H-D, Du G, Chen J, *et al.* Microbial response to environmental stresses: From fundamental mechanisms to practical applications. Applied Microbiology and Biotechnology. 2017;101(10):3991–4008. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8264-y>