

non-homologous sequences; (ii) real sequences that are shuffled to preserve compositional properties; or (iii) sequences that are generated randomly based upon a DNA or protein sequence model. Analytic statistical results invariably use the last of these definitions of chance, while empirical results based on simulation and curve-fitting may use any of the definitions. The parser, which is similar to the program, and converts the information about each high scoring pairwise alignment (HSP) to one text line. To analyze the BLAST algorithm and its refinements, we need first to review the statistics of high-scoring local alignments. BLAST employs a substitution matrix, which specifies a score s_{ij} for aligning each pair of amino acids i and j . Given two sequences to compare, the original BLAST program seeks equal-length segments within each that, when aligned to one another without gaps, have maximal aggregate score. Not only the single best segment pair may be found, but also other locally optimal pairs (3.5–7), whose scores cannot be improved by extension or trimming. Such locally optimal alignments are called 'high-scoring segment pairs' or HSPs.

References

1. Hejazi MA., Barzegari A., Hosseinzadeh Gharajeh N., Hejazi MS. Introduction of a novel 18S rDNA gene arrangement along with distinct ITS region in the saline water microalga *Dunaliella* // *Saline Systems*. – 2010. – N6. – P. 1-10.
2. Premkumar L., Greenblatt HM, Bageshwar UK, Savchenko T., Gokhman I., Joel L. Sussman JL, Zamir A. : Three-dimensional structure of a halotolerant algal carbonic anhydrase predicts halotolerance of a mammalian homolog // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2005. – 102. – P. 2493-2498.
3. Jimenez C., Cossi'o BR, Rivard CJ, Berl T., Juan M, Capasso JM. : Cell division in the unicellular microalga *Dunaliella viridis* depends on phosphorylation of extracellular signal-regulated kinases (ERKs) // *J. Exp. Botan.* – 2007. – 58. – P. 1001-1011.
4. Galli S., Jahn O., Hitt R., Hesse D., Opitz L., Plessmann U., Urlaub H., Poderoso JJ, Jares-Erijman EA, Jovin T.M. : A New Paradigm for MAPK: Structural Interactions of hERK1 with Mitochondria in HeLa Cells // *Plos one*. – 2009. – 4. – P. 1-18.
5. Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. : Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs // *Nucleic Acids Res.* – 1997. – 25. – P. 3389-3402.

СВЕРХКРИТИЧЕСКИЕ ФЛЮИДНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Рудась А.Н.¹, Комаристая В.П.²

¹ООО «Экобиотон», г. Харьков

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, г. Харьков

Переход к технологиям, построенным по принципам природных циклов, является одним из подходов к улучшению состояния окружающей среды. Для технологий, использующих в качестве экстрагентов или реакционных сред органические растворители, такой альтернативой являются сверхкритические флюидные технологии с использованием диоксида углерода, в последние десятилетия широко внедряемые в мире. Особенно актуальным является внедрение сверхкритических флюидных технологий на основе CO₂ в производство веществ растительного происхождения для пищевой, фармацевтической и парфюмерно-косметической промышленности, так как использование традиционных технологий сводит на нет заявляемую производителями «натуральность» таких продуктов вследствие неизбежного присутствия в них следов органических растворителей.

Задача цикла работ, проводимых на базе ООО «Экобиотон» - разработка технологий производства различных продуктов из растительного сырья с использованием сверхкритического CO₂.

Сверхкритическим флюидом называют состояние вещества при давлении и температуре выше критических. При сверхкритических давлениях и температурах отсутствует граница между жидкой и газообразной фазой, и вещество приобретает свойства, промежуточные между свойствами газа и жидкости. Для диоксида углерода критическими являются давление 73,8 бар и температура 304,1 К. Вязкость и диффузионная способность флюидов приближаются к таковым газов, а плотность и растворяющая способность – к таковым жидкостей. Это делает сверхкритические флюиды практически идеальными экстрагентами.

Сверхкритический CO₂ является неполярным растворителем. Спектр неполярных соединений, растворимых в сверхкритическом CO₂, шире, чем для любого из известных органических растворителей. Он

может быть расширен в полярную область добавлением небольших количеств полярных соразтворителей (модификаторов; энтройнеров), из которых предпочтительным является этанол, в силу его натурального происхождения. Тотальные экстракты растительного сырья, полученные с помощью сверхкритического CO₂, по качественному и количественному составу природных соединений богаче экстрактов, полученных с помощью традиционных технологий, и не содержат посторонних примесей.

Нерастворимыми для сверхкритических флюидов являются только высокомолекулярные соединения: белки, олиго- и полисахариды, нуклеиновые кислоты, другие природные полимеры. Тем не менее, и они могут быть получены путем отмывки от низкомолекулярных веществ сверхкритическими растворителями. В сверхкритических средах сохраняется активность многих ферментов [1]. Комбинируя сверхкритическую экстракцию с технологией иммобилизованных ферментов, либо с предобработкой сырья гидролитическими ферментами можно выделить природные полимеры в индивидуальном виде.

Уникальным свойством сверхкритических флюидов является также то, что изменяя давление и температуру в пределах сверхкритической области, можно изменять растворимость в них отдельных соединений. Это позволяет избирательно извлекать из сырья, а также избирательно осаждать из экстрактов отдельные компоненты. В сверхкритических средах реализованы такие способы тонкой очистки веществ, как сверхкритическая дистилляция в колоннах и сверхкритическая препаративная хроматография [2]. Таким образом, с помощью сверхкритических флюидных технологий можно извлекать из растительного сырья и выделить в чистом виде практически любое соединение.

Диоксид углерода дешев, инертен, взрывобезопасен, не горюч. Сверхкритические процессы экстракции и разделения веществ осуществляются при температурных режимах, не вызывающих термического разложения природных соединений, в отсутствие света и окисляющего действия кислорода. Сверхкритические среды обладают стерилизующим эффектом и препятствуют микробной контаминации продуктов. Сверхкритические технологии характеризуются низкими эксплуатационными затратами. Растворители циркулируют в замкнутом цикле и используются вторично. Сточные воды и токсичные выбросы в атмосферу отсутствуют. Оборудование для сверхкритических технологий герметично, автоматизировано и соответствует стандартам GMP. На рынке имеются поставщики, предлагающие данное оборудование по приемлемым ценам [3].

В 2010 году нами отработаны сверхкритические технологии получения комплекса эфирных масел (из плодов моркови, присемянника мускатного ореха), жирных масел (из семян арахиса, сои, рапса, льна). Ведется работа над другими видами исходного растительного сырья и получаемых продуктов.

SUPERCRITICAL FLUID TECHNOLOGIES IN MANUFACTURING PLANT RAW MATERIAL DERIVED PRODUCTS

Rudas A.N.¹, Komaristaya V.P.²

¹"Ecobioton" LLC, Kharkov

²V.N. Karazin Kharkov national university, Kharkov

Transition to the technologies built upon principles of natural cycles is one of the approaches of improving the state of the environment. For the technologies, which use organic solvents as extraction or reaction media, the alternative of choice is supercritical fluid technologies using carbon dioxide that are widely implemented over the world in the last decades. The implementation of supercritical fluid technologies on the ground of CO₂ is especially relevant for manufacturing ingredients of plant origin for food, pharmaceutical, perfumery and cosmetics industry as exploitation of traditional technologies brings to nothing the "naturalness" of such products declared by their manufacturers owing to unavoidable presence of organic solvent traces in them.

The task of a series of research conducted on the base of "Ecobioton" LLC – the development of the technologies of manufacturing various products from plant raw materials using supercritical CO₂.

Supercritical fluid is the state of substance under pressure and temperature above critical. At supercritical pressures and temperatures the margin between liquid and gaseous phases is absent, and the substance acquires properties intermediate between the properties of gas and liquid. For carbon dioxide the critical are the pressure of 73,8 bar and the temperature of 304,1 K. Viscosity and diffusibility of fluids is close to such in gases, and density and dissolving power – to such in liquids. That makes supercritical fluids practically ideal for extraction.

Supercritical CO₂ is a non-polar solvent. The spectrum of non-polar substances soluble in supercritical CO₂ is wider than for any known organic solvent. It can be widened into polar region by adding small quantities of polar co-solvents (modifiers, entrainers), the preferable of which being ethanol on account of its natural origin. Total extracts of plant materials obtained using supercritical CO₂ by their qualitative and quantitative composition

of natural substances are more rich than extracts obtained by traditional technologies and do not contain foreign admixtures.

Non-soluble for supercritical fluids are only high molecular weight substances: proteins, oligo- and polysaccharides, nucleic acids, other natural polymers. Nevertheless, they can also be obtained via washing out low molecular weight substances with supercritical solvents. In supercritical media the activity of many enzymes is preserved [1]. Combining supercritical extraction with the technology of immobilized enzymes or with the pretreatment of raw material with hydrolytic enzymes natural polymers can be separated in the individual form.

The unique characteristic of supercritical fluids is also that changing pressure and temperature in the supercritical range one can change the solubility of individual substances in them. It makes possible to selectively extract individual substances from raw material as well as selectively precipitate individual compounds from extracts. In supercritical media there are realized such methods of fine purification of substances as supercritical columnar distillation and supercritical preparative chromatography [2]. Thus, using supercritical fluid technologies practically any compound can be extracted from plant material and isolated in the pure form.

Carbon dioxide is cheap, inert, explosion-proof, non-flammable. Supercritical extraction and separation processes are performed at temperature regimes not causing thermal degradation of natural substances, without light and oxidative effect of oxygen. Supercritical media possess sterilizing effect and prevent microbial contamination of products. Supercritical technologies are characterized by low operational costs. The solvents circulate in closed cycle and are re-used. Waste water and toxic emission to the atmosphere are absent. The equipment for supercritical technologies is hermetic, automated and meets GMP standards. In the market there are suppliers who propose this equipment for acceptable prices [3].

In 2010 we have developed the supercritical technologies of extracting the complex of essential oils (from carrot fruits, nutmeg aril), fatty oils (from seeds of peanut, soybean, rape, flax). The research is carried out on other species of starting plant raw material and products obtained.

1. Kamat S.V., Beckman E.J., Russell A.J. Enzyme activity in supercritical fluids // *Critical Reviews in Biotechnology*. – 1995. – V.15, N1. – P. 41-71.
2. Clifford T. *Fundamentals of supercritical fluids*. – New York: Oxford University Press, 1999. – 210 p.
3. ООО «Экобиотон». Сверхкритические флюидные технологии [Электрон. ресурс]. – 2010. – Mode of access: www.ecobioton.su74.ru

THE DETERMINATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF *PORPHYRIDIMUM CRUENTUM* EXTRACTS BY NON-SPECIFIC METHODS

Sadovnic Daniela

Institute of Microbiology and Biotechnology of Academy of Sciences of Moldova

Microalgae and cyanobacteria contain the antioxidant complexes with high activity, that made possible their survival and evolution. Currently, researches confirm the profitability of using algae to produce raw material for obtaining the natural antioxidants [2, 4, 5, 8, 11].

Red alga *Porphyridium cruentum* contain some components with pronounced antioxidant properties, such as: enzymes with antioxidant properties, glutathione complex, phycobiliproteins and carotenoids, sulphated polysaccharides, etc. Each of these components has different mechanisms of antioxidant action and different ways to eliminate free radicals [11,14].

Aim of investigations: determination of antioxidant and anti radical activity of the extracts of *Porphyridium cruentum* by the various mechanisms of reducing and inhibiting of free radicals production.

Object of study: red microalgae *Porphyridium cruentum* CNM-AR-01, deposited in National Collection of Non-Pathogenic Microorganisms of Institute of Microbiology and Biotechnology of Academy of Sciences of Moldova.

To obtain water-ethanol extracts from porfiridium biomass, ethanol in concentrations of 10%, 20%, 40%, 55%, 65%, 75% and 96% has been selected. Hydro-ethanolic extracts were obtained under conditions of constant temperature (18-20 °C) and continuous agitation. Ratio biomass: solvent was 1:10, and extraction time-24 hours.

To establish the anti radical antioxidant potential of obtained extracts the usual and non-specific methods of antioxidant activity were adapted and applied. Anti radical activity of the extracts was determined spectrophotometrically using DPPH radical (2,2-diphenil-1-picrilhidrazil) [1] and ABTS (2,2 azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) [10]. The antioxidant activity was determined colorimetrically, using the reaction of the phosphomolibden reagent reduction [9]. As an equivalent the ascorbic acid was used, Phenol