

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический
университет имени К.И.Сатпаева

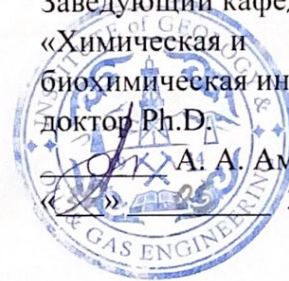
Институт геологии и нефтегазового дела им. Турысова

Кафедра химической и биохимической инженерии

ДОПУЩЕНА К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой
«Химическая и
биохимическая инженерия»
доктор Ph.D.

О.К. А. А. Амитова
2022 г.



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: "Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов
Saccharomyces cerevisiae"

по специальности «5В070100– биотехнология»

Выполнила

Бисеналиева Анара Кайратовна

Рецензент:

ст. преподаватель КазНУ

им. аль-Фараби к.х.н.,

М.Ж. Керимкулова

подпись

«1» 06 2022 г.

Научный руководитель

доктор Ph.D.,

Х.С. Рафикова

подпись

«30» 05 2022 г.

Алматы-2022

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический
университет имени К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. Турысова
(наименование института)
Кафедра химической и биохимической инженерии
(наименование кафедры)

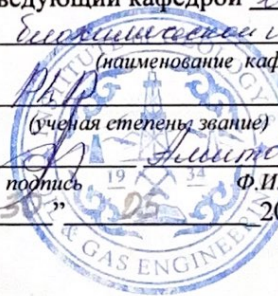
5B070100–биотехнология
Шифр и наименование специальности

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой Химической
и Биохимической инженерии
(наименование кафедры)

(ученая степень, звание)

подпись Алимова А.А. Ф.И.О.
" " 20__ г.



ЗАДАНИЕ

на выполнение дипломной работы

Обучающемуся Бисеналиевой Анаре Кайратовне
(Ф.И.О. обучающегося)

Тема: "Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов
Saccharomyces cerevisiae"

(тема дипломной работы)

Утверждена приказом Ректора Университета №4 8 9 - П – н от "24" декабря 2022г.

Срок сдачи законченной работы "9" 05 20__ г.

Исходные данные к дипломной работе:

Краткое содержание дипломной работы:

- математическое планирование по оптимизации физико-химических условий для улучшения культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*;
- культуральные свойства производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*;
- изучены вопросы, связанные с оптимизацией биотехнологических свойств пекарских дрожжей.


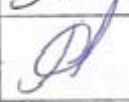
Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):
представлены 7 слайдов презентации работы

Рекомендуемая основная литература: из 41 наименований представленные в списке использованной литературы.

ГРАФИК
подготовки дипломной работы (проекта)

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы.	10.03.2022	
Объект, материал и методика научных исследований.	25.11.2021	
Результаты исследования, заключение	15.05.2022	

Подписи
консультантов и нормоконтролера на законченную дипломную работу (проект) с указанием относящихся к ним разделов работы (проекта)

Наименования разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Дипломная работа	Рафикова Х.С., ассоц.проф. PhD каф. ХиБИ	30.05.2022	
Нормоконтролер	Рафикова Х.С., ассоц.проф. PhD каф. ХиБИ	30.05.2022	

Научный руководитель



(подпись)

(Ф.И.О)

Задание принял к исполнению обучающийся

(подпись)

(Ф.И.О)

Дата

___ " ___ 2022г

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа выполнена на бумажном носителе в объеме 31 страниц (3,0 Мб на электронном носителе). Диплом включает введение (1 стр.), 3 раздела (26стр.), заключение и выводы (1стр.), библиографический список литературы из наименований, 7 таблицы, 12 рисунков.

Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* способствует интенсификации процессов брожения и улучшению качества готовой продукции. На сегодняшний день отечественные хлебопекарные дрожжи не всегда обладают необходимым качеством, что, в итоге, оказывает влияние на качество готовых хлебобулочных изделий и увеличивает технологические затраты. Поэтому исследования, направленные на оптимизацию биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* являются актуальными.

Целью исследования была оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*. Также в изучении культуральных свойств производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, выращенных в оптимальных физико-химических условиях.

Научная и практическая значимость. Результаты исследований могут быть использованы для разработки лекций по дисциплинам «Промышленная биотехнология» и «Биотехнология микроорганизмов». Ценность работы заключалась в разработке определения оптимальной концентрации стимулятора роста для производства дрожжей.

Для выполнения поставленных задач была выполнена научно-исследовательская работа.

На основе результатов будет выявлена оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*.

АНДАТПА

Дипломдық жұмыс 30 бет көлемінде қағаз тасығышта орындалды (электрондық тасығышта 3,0 Mb). Диплом Кіріспе (1 бет), 3 бөлім (26 бет), қорытынды және қорытынды (1 бет), атаулардағы әдебиеттердің библиографиялық тізімін, 7 кестені, 12 суретті қамтиды.

Saccharomyces cerevisiae культуралды белсенді штамдарының биотехнологиялық қасиеттерін оңтайландыру ашыту процестерінің күшеюіне және дайын өнімнің сапасын жақсартуға ықпал етеді. Бүгінгі таңда отандық наубайхананың ашытқысы әрдайым қажетті сапаға ие бола бермейді, нәтижесінде дайын нан өнімдерінің сапасына әсер етеді және технологиялық шығындарды арттырады. Сондықтан мәдени белсенді *Saccharomyces cerevisiae* штамдарының биотехнологиялық қасиеттерін оңтайландыруға бағытталған зерттеулер өзекті болып табылады.

Зерттеудің мақсаты мәдени белсенді *Saccharomyces cerevisiae* штамдарының биотехнологиялық қасиеттерін оңтайландыру болды. Сондай-ақ, оңтайлы физика-химиялық жағдайда өсірілген *Saccharomyces cerevisiae* өндірістік штамдарының мәдени қасиеттерін зерттеуде.

Ғылыми және практикалық маңыздылығы. Зерттеу нәтижелері "Өнеркәсіптік биотехнология" және "микроорганизмдер биотехнологиясы" пәндері бойынша дәрістер әзірлеу үшін пайдаланылуы мүмкін. Жұмыстың мәні ашытқы өндірісі үшін өсу стимуляторының оңтайлы концентрациясын анықтауды дамыту болды.

Қойылған міндеттерді орындау үшін ғылыми-зерттеу жұмысы орындалды.

Нәтижелер негізінде *Saccharomyces cerevisiae* культуралдық белсенді штамдарының биотехнологиялық қасиеттерін оңтайландыру анықталады.

ANNOTATON

The thesis was completed on paper in the volume of 30 pages (3.0 Mb on electronic media). The diploma includes an introduction (1 page), 3 sections (27 pages), conclusion and conclusions (1 page), bibliographic list of references from titles, 7 tables, 12 figures.

Optimization of biotechnological properties of culturally active strains of *Saccharomyces cerevisiae* contributes to the intensification of fermentation processes and improvement of the quality of finished products. To date, domestic baking yeast does not always have the necessary quality, which, as a result, affects the quality of finished bakery products and increases technological costs. Therefore, studies aimed at optimizing the biotechnological properties of culturally active strains of *Saccharomyces cerevisiae* are relevant.

The aim of the study was to optimize the biotechnological properties of culturally active strains of *Saccharomyces cerevisiae*. Also in the study of the cultural properties of *Saccharomyces cerevisiae* production strains grown under optimal physico-chemical conditions.

Scientific and practical significance. The research results can be used to develop lectures on the disciplines "Industrial Biotechnology" and "Biotechnology of microorganisms". The value of the work consisted in the development of determining the optimal concentration of a growth stimulant for yeast production.

Research work was carried out to fulfill the tasks set.

Based on the results, the optimization of biotechnological properties of culturally active strains of *Saccharomyces cerevisiae* will be revealed.

СОДЕРЖАНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	8
1	Обзор научной и научно-методической литературы	9
1.1	Экология и биология (генетика, морфология, физиология) <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
1.2.	Применение и технологические свойства <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
2	Объект, материал и методика научных исследований	14
2.1	Объект исследования	14
2.2	Материал исследования	14
3	Проведение лабораторных исследований	16
3.1	Математическое планирование по оптимизации физико-химических условий для улучшения культуральных свойств <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
3.2	Культуральные свойства производственных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , выращенные в оптимальных физико-химических условиях	23
	Заключение	27
	Список литературы	28

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* способствует интенсификации процессов брожения и улучшению качества готовой продукции. На сегодняшний день отечественные хлебопекарные дрожжи не всегда обладают необходимым качеством, что, в итоге, оказывает влияние на качество готовых хлебобулочных изделий и увеличивает технологические затраты. Поэтому исследования, направленные на оптимизацию биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* являются актуальными.

Объект исследования. Одноклеточные микроскопические дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*.

Цель исследования. Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*.

Задачи исследования:

1. Методом математического моделирования определить оптимальные биотехнологические свойства *Saccharomyces cerevisiae*.
2. Изучить культуральные свойства производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, выращенные в оптимальных физико-химических условиях.

Научная значимость. Результаты исследований могут быть использованы для разработки лекций по дисциплинам «Промышленная биотехнология» и «Биотехнология микроорганизмов».

Практическая значимость. На основании результатов работы было определено оптимальное соотношение биотина для культивирования. 25% биотина наиболее высокий выход, значит, что 25% биотина самый оптимальный. Определение оптимальной концентрации стимулятора роста для производства дрожжей.

Структура и объем дипломной работы. Дипломная работа по теме «Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*» подготовлена на 3 страницах машинописного текста, включает 12 рисунков, 7 таблиц, 41 научных литературных источников.

1 Обзор научной и научно-методической литературы

1.1 Экология и биология *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae (также известный как «пекарские дрожжи») - одноклеточный гриб, ответственный за производство спирта и формирование хлеба. [1]

Saccharomyces cerevisiae, почкующиеся дрожжи, являются наиболее тщательно изученными эукариотами на клеточном, молекулярном и генетическом уровнях. [2]

Условия, в которых обитают сахаромицеты бывают очень различными. В природе дрожжевые клетки обнаруживаются в основном на спелых фруктах, таких как виноград (до созревания виноград почти не содержит дрожжей). *Saccharomyces cerevisiae* не находится в воздухе, для его перемещения требуется вектор. [3] Оптимальная температура для роста *S. cerevisiae* составляет 30–35 °C (86–95 °F). [4]. Некоторые ученые предполагают, что этот организм развился в среде, связанной с человеком, где селективное давление (например, высокие концентрации этанола при брожении суслу) способствовало видообразованию дрожжей. [5]. *Saccharomyces cerevisiae* был первым эукариотическим геномом, который был полностью секвенирован. [6]. Последовательность генома была опубликована в открытом доступе 24 апреля 1996 года. С тех пор база данных генома *Saccharomyces* регулярно обновляется. Эта база данных представляет собой хорошо аннотированную базу данных с перекрестными ссылками для исследователей дрожжей. Другая важная база данных *S. cerevisiae* поддерживается Мюнхенским информационным центром белковых последовательностей (MPS). Геном *S. cerevisiae* состоит примерно из 12 156 677 пар оснований и 6 275 генов, компактно расположенных на 16 хромосомах. [7].

Экологическая функция и биоразнообразие дрожжей по сравнению с другими микроорганизмами относительно неизвестны. Было обнаружено, что дрожжи, включая *Candida albicans*, *Rhodotorula rubra*, *Torulopsis* и *Trichosporon cutaneum*, живут между пальцами людей как часть флоры их кожи. Дрожжи также присутствуют в кишечной флоре млекопитающих, а некоторые насекомые и даже глубоководные среды вмещают множество дрожжей. [8]. Некоторые штаммы некоторых видов дрожжей продуцируют белки, называемые токсинами-киллерами дрожжей, которые позволяют устранять конкурирующие штаммы. [9]. Только около 5800 из этих генов считаются функциональными. По оценкам, не менее 31% генов дрожжей имеют гомологи в геноме человека. [10].

Две формы дрожжевых клеток могут выживать и расти: гаплоидные и диплоидные. Гаплоидные клетки проходят простой жизненный цикл митоза и роста и в условиях сильного стресса, как правило, погибают. Это бесполое форма

гриба. Диплоидные клетки (предпочтительная «форма» дрожжей) также проходят простой жизненный цикл митоза и роста. Скорость, с которой протекает митотический клеточный цикл, часто существенно различается между гаплоидными и диплоидными клетками. [11].

S. Cerevisiae обитают в нектаре цветов на поверхности поврежденных плодов, в местах истечения растительных соков. [12]. Пищевые потребности: все штаммы *S. cerevisiae* могут произрастать аэробно на глюкозе, мальтозе и трегалозе и не имеют возможности произрастать для лактозы и целлобиозе. Впрочем, прогресс на других сахарах представляется переменным. Показано, что галактоза и левулеза представляются двумя лучшими ферментируемыми сахарами. Дееспособность дрожжей утилизировать всевозможные пустыня возможно различаться в подневольности через того, отрициваются ли они аэробно сиречь анаэробно. Кое-какие штаммы не имеют возможности произрастать анаэробно на сахарозе и трегалозе. [13].

По части базисных потребностей, большинство штаммов *S. cerevisiae* требуют биотина. Действительно, разбор роста на основе *S. cerevisiae* заложил базу ради выделения, кристаллизации и последующего скелетного нахождения биотина. Большинству штаммов также требудется пантотенат ради совершенного роста. Не касаясь частностей, *S. cerevisiae* представляется прототрофным ради витаминов. *S. cerevisiae* имеет отношение к изучению клеточного цикла, потому что он делится асимметрично, используя поляризованную клетку, чтобы получить двух дочерних клеток с разными судьбами и размерами. Точно так же стволовые клетки используют асимметричное деление для самообновления и дифференцировки. [14].

Экология, по-видимому, играет главную роль в расхождении одомашненных линий *S. cerevisiae*. Осмолярность, по-видимому, является основным давлением отбора, поскольку штаммы, связанные с ферментацией в жидкой и твердой фазах, четко разделены. [15]. Основное различие между двумя типами ферментации заключается в содержании воды в субстратах. Содержание воды обычно составляет 80–90 % и 40–60 % при ферментации в жидкой и твердой фазах соответственно. [16].

Цитокинез (митоз) у *S. cerevisiae* берет начало в конце G1 (с процесса почкования) и продолжается на следующем цикле (до середины), сборка веретена осуществляется перед S-фазой. [17]. Кроме того, отсутствует четко определенный G2 между M и S. Таким образом, у высших эукариот отсутствует экстенсивная регуляция. [18]. Когда появляется дочерняя клетка, она составляет две трети размера материнской. [19]. На протяжении всего процесса размер материнской клетки практически не меняется. [20].

Жизненный цикл *S. cerevisiae* похож на жизненный цикл большинства соматических клеток. Могут быть гаплоидные и диплоидные клетки. Размер клеток гаплоидных и диплоидных клеток варьируется в зависимости от фазы роста и напряжения в штамме. [21]. Скорость, с которой протекает митотический клеточный цикл, часто существенно различается между гаплоидными и диплоидными клетками. [22]. В условиях стресса диплоидные клетки могут подвергаться споруляции, вступая в мейоз и продуцируя четыре гаплоидных споры, которые впоследствии могут спариваться. Это половая форма гриба. В оптимальных условиях дрожжевые клетки могут удваивать свою популяцию каждые 100 минут. [23]. Гаплоиды дрожжей воспроизводятся в простом цикле роста, за которым следует митоз, в результате которого образуются дочерние клетки того же генотипа. Каждая из таких клеточных групп образует выпуклость для межклеточного контакта и диплоидности. [24]. Ruderfer et al. (2006) проанализировали происхождение природных штаммов *S. cerevisiae* и пришли к выводу, что ауткроссинг происходит примерно один раз на каждые 50000 делений клеток. Таким образом, похоже, что в природе спаривание чаще всего происходит между близкородственными клетками дрожжей. [25].

1.2. Применение и технологические свойства *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae - вид одноклеточных микроскопических (5-10 мкм в диаметре) грибов (дрожжей) из класса сахаромицетов, широко используемый в производстве алкогольной и хлебопекарной продукции, а также в научных исследованиях. [26].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* применяют в производственных и научных целях из-за их универсальности и уникальности, поэтому в биотехнологии они являются модельным объектом. [27].

Кондитерские изделия и хлеб: *S. cerevisiae* - дрожжи, наиболее часто используемые людьми. Одним из основных применений является выпечка и выпечка хлеба, поскольку во время процесса брожения пшеничное тесто размягчается и расширяется. [28].

Это важный источник некоторых В-комплекс витаминов и содержит следовые количества некоторых других витаминов и минералов. Пищевые дрожжи обладают таким вкусом, как ореховый (сырный), поэтому их используют в качестве ингредиента. [29].

Благодаря ферментации сахаров, из которых состоят зерна ячменя, можно производить пиво, популярный напиток во всем мире. Таким же образом *S. cerevisiae* может сбраживать сахара, присутствующие в винограде, производя до

18% этанола на объем вина. [30]. В пивоварении *Saccharomyces cerevisiae* используются для темных и специальных сортов пива, т.к. в процессе ферментации хлопья из CO₂ поднимаются на поверхность. [31]. Дрожжи в виноделии преобразует сахара винного винограда в алкоголь и углекислый газ через ферментацию. Но рост некоторых дрожжей (*Zygosaccharomyces* и *Brettanomyces*) в вине может привести к дефектам и порче. [32].

Saccharomyces cerevisiae используется в качестве пробиотика у людей и животных и для лечения некоторых желудочно-кишечных заболеваний, [33] т.к. он обладает широким спектром антиканцерогенной, антибактериальной, противовирусной и антиоксидантной активности, а также снижает уровень холестерина в сыворотке. [34].

Из-за высокой стоимости коммерческих систем с баллонами с CO₂ введение CO₂ с помощью дрожжей является одним из самых популярных подходов, которым пользуются аквакультурники для обеспечения CO₂ подводных водных растений. Культура дрожжей, как правило, хранится в пластиковых бутылках, и типичные системы производят один пузырек каждые 3–7 секунд. Были разработаны различные подходы, позволяющие обеспечить надлежащее поглощение газа водой. Среди других микроорганизмов образец живых *S. cerevisiae* был включен в эксперимент «Живой межпланетный полет», который должен был завершить трехлетний межпланетный полет туда и обратно в небольшой капсуле на борту российского космического корабля «Фобос-Грунт», запущенного в конце 2011 года. [35]. Цель состояла в том, чтобы проверить, смогут ли отдельные организмы выжить в течение нескольких лет в глубоком космосе, пролетев через межпланетное пространство. [36].

С другой стороны, с точки зрения биотехнологии *S. cerevisiae* была моделью для изучения и использования, потому что это организм легкого культивирования, быстрого роста и чей геном был секвенирован. Использование этих дрожжей в биотехнологической промышленности идет от производства инсулина к производству антител и других белков, используемых в медицине. [37].

Т.о. вид *Saccharomyces cerevisiae* значимы для генетических исследований, продолжительность их жизни мала (2-4 дня) и поэтому имеют короткий жизненный цикл. [38].

Дрожжи являются полезной «моделью» для эукариотической биологии. Существует достаточно оснований для интенсификации усилий по определению функциональной роли оставшихся 60% генов дрожжей, функция которых до сих пор не известна. Большое внимание дрожжи привлекли к себе как объекты генно-

инженерных экспериментов, направленных на создание высокоэффективных технологий биосинтеза различных белков высших эукариот. [39].

2. Объект, материал и методика исследований

2.1. Объект исследования

Объект исследования – являются промышленно изготовленные дрожжи *saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи хлебопекарские сухие. Состав: дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*). Без ГМО. Сорт высший. Питательная (пищевая) ценность 100 г продукта: белков-47 г, жиров-5 г, углеводов-38 г. Энергетическая ценность 100 г продукта: 430 ккал.

2.2. Материалы исследования

Необходимое оборудование, питательные среды и лабораторная посуда для проведения исследования:

1. Термостат – техника, регулирующая температуру нагревания или охлаждения.
2. Паровой стерилизатор – это устройство, предназначенное для самого распространенного типа стерилизации.
3. Чашки Петри (чаша для культивирования клеток) – это неглубокая прозрачная чаша с крышкой, которую биологи используют для хранения питательной среды.
4. Шпатель Дригальского (L-форма) – стерильный предназначен для посева культур микроорганизмов на чашках Петри.
5. Питательная среда Rose Bengal Chloramphenicol Agar, на которой и будет происходить культивирование микроорганизмов.
6. Колбы объемом 500 мл.
7. Пробирки.
8. Дозатор – устройство, необходимое для автоматического отмеривания количества массы или объема вещества.
9. Электронные весы – высокоточный измерительный прибор.

Также, для проведения данного исследования, мной были использованы следующие материалы:

1. Питательная среда Rose Bengal Chloramphenicol Agar – среда для культивирования и селективного выделения дрожжей и плесневых грибов в объектах внешней среды и пищевых материалах.

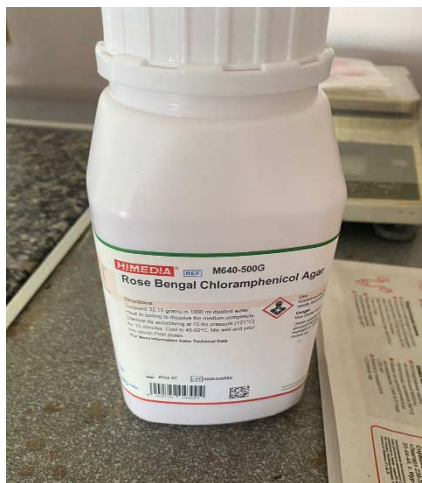


Рисунок 1 – питательная среда Agar

2. Дрожжи хлебопекарные пресованные йодированные «экстра» – биологический разрыхлитель теста, дрожжи представляют собой микроорганизмы из семейства сахаромецетов, основной используемый вид — *Saccharomyces cerevisiae*.



Рисунок 2 – хлебопекарные дрожжи «экстра»

3 Результаты исследования

Культуральные свойства микроорганизмов определяются характером роста их в плотных, жидких и полужидких питательных средах. Культуральные свойства характерны для каждого вида микроорганизмов и являются важным признаком. [40]

На поверхности плотных питательных сред микроорганизмы могут расти в виде колонии, штриха или сплошного газона. Колонии – видимые скопления клеток (бактерии, дрожжевые грибы) или мицелия одного вида микроорганизмов, образующиеся при размножении или росте организмов на твердом субстрате. Колонии представляют собой плоские или выпуклые образования на поверхности твердой питательной среды. [41].

3.1 Математическое планирование по оптимизации физико-химических условий для улучшения культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*

Математическое планирование по оптимизации физико-химических условий для улучшения культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae* проводили путем применения метода планирования эксперимента, основой которого была нелинейная множественная корреляция:

$$R = \sqrt{1 - \frac{(N-1) \times \sum (Y_{\text{э}} - Y_m)^2}{(N-K-1) \times \sum (Y_{\text{э}} - Y_{\text{ср}})^2}} \quad (1)$$

где:

$Y_{\text{ср}}$ – среднее экспериментальное значение,

$Y_{\text{э}}$ – экспериментальный результат,

Y_m – теоретический (расчетный) результат,

K – число действующих факторов,

N – число описываемых точек.

Величина значима, если выполняется условие:

$$t_R = \frac{R \times \sqrt{N-K-1}}{1-R^2} > 2 \quad (2)$$

В таблице 1 дана область четырехфакторного пространства для эксперимента.

Таблица 1 – область факторного пространства

	Факторы	Уровни факторов				
		1	2	3	4	5
X ₁	рН	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0
X ₂	Температура, °С	31,0	31,5	32,0	32,5	33,0
X ₃	Количество инокулята от объема питательной среды, %	1	2	3	4	5
X ₄	Добавление стимулятора роста (биотин), %	0,1	0,3	0,4	0,6	0,8

Таблица 2 – Четырехфакторная матрица планирования эксперимента по оптимизации биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*.

№ опыта	Четырехфакторная матрица планирования эксперимента								СН ₄ , %
	X ₁		X ₂		X ₃		X ₄		
	Ур о в е н ь	Знач е н и е	Ур о в е н ь	Знач е н и е	Ур о в е н ь	Знач е н и е	Ур о в е н ь	Знач е н и е	
1	1	100	1	100	5	100	1	100	100
2	1	67	2	67	4	67	3	67	67
3	1	63	3	63	3	63	2	63	63
4	1	66	4	66	2	66	4	66	66
5	1	74	5	74	1	74	5	74	74
6	2	92	1	92	5	92	1	92	92
7	2	71	2	71	4	71	3	71	71
8	2	79	3	79	3	79	2	79	79
9	2	85	4	85	2	85	4	85	85
10	2	68	5	68	1	68	5	68	68
11	3	88	1	88	5	88	1	88	88
12	3	94	2	94	4	94	3	94	94
13	3	98	3	98	3	98	2	98	98
14	3	60	4	60	2	60	4	60	60
15	3	81	5	81	1	81	5	81	81
16	4	76	1	76	5	76	1	76	76
17	4	90	2	90	4	90	3	90	90
18	4	87	3	87	3	87	2	87	87
19	4	91	4	91	2	91	4	91	91
20	4	75	5	75	1	75	5	75	75
21	5	62	1	62	5	62	1	62	62
22	5	83	2	83	4	83	3	83	83
23	5	64	3	64	3	64	2	64	64
24	5	72	4	72	2	72	4	72	72
25	5	80	5	80	1	80	5	80	80

Таблица 3 – Расчет экспериментальных значений частных функций

№ фактора	Уровень					Среднее значение
	1	2	3	4	5	
X ₁	74	79	84,2	83,8	72,2	78,64
X ₂	83,6	81	78,2	74,8	75,6	78,64
X ₃	75,6	74,8	78,2	81	83,6	78,64
X ₄	83,6	78,2	81	74,8	75,6	78,64

По экспериментальным значениям, представленным в таблице 3, строятся зависимости влияния исследуемых трёх факторов на прирост биотина *Saccharomyces cerevisiae* (рисунки 1 – 4, а).

Таблица 4 – Расчетные значения исследуемых функций.

№ опыта	X ₁				X ₂			
	X	Y	X ²	XY	X	Y	X ²	XY
	4,2	74	17,64	310,8	31,0	83,6	961	2591,6
	4,4	79	19,36	347,6	31,5	81	992,25	2551,5
	4,6	84,2	21,16	387,32	32,0	78,2	1024	2502,4
	4,8	83,8	23,04	402,24	32,5	74,8	1056,25	2431
	5,0	72,2	25,0	361	33,0	75,6	1089	2494,8
Σ	23	393,2	106,2	1808,96	160	393,2	5122,5	12571,3

продолжение таблицы 4

№ опыта	X ₃				X ₄			
	X	Y	X ²	XY	X	Y	X ²	XY
	1	75,6	1	75,6	0,1	83,6	0,01	8,36
	2	74,8	4	149,6	0,3	78,2	0,09	23,46
	3	78,2	9	234,6	0,4	81	0,16	32,4
	4	81	16	324	0,6	74,8	0,36	44,88
	5	83,6	25	418	0,8	75,6	0,64	60,48
Σ	15	393,2	55	1201,8	2,2	393,2	1,26	169,58

На следующем этапе проводили аппроксимацию функции (таблица 5), в основе лежит метод наименьших квадратов.

Уравнение прямой линии:

$$Y = a + b \times X. \quad (3)$$

$$b = \frac{n \sum XY - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}, \quad a = \frac{\sum Y - b \sum X}{n} \quad (4)$$

После определения значимости частных функций выводится обобщенное уравнение У_{об} на основании полученных результатов:

$$Y_{об} = \frac{Y_1 \times Y_2 \times \dots \times Y_n}{Y_{cp}^{n-1}} \quad (5)$$

где:

$Y_1, Y_2, Y_3, \dots, Y_n$ – частные функции,

Y_{cp} – общее среднее всех трех учитываемых значений обобщенной функции, как это видно из формулы 5, в степени, на единицу меньшей числа частной функции.

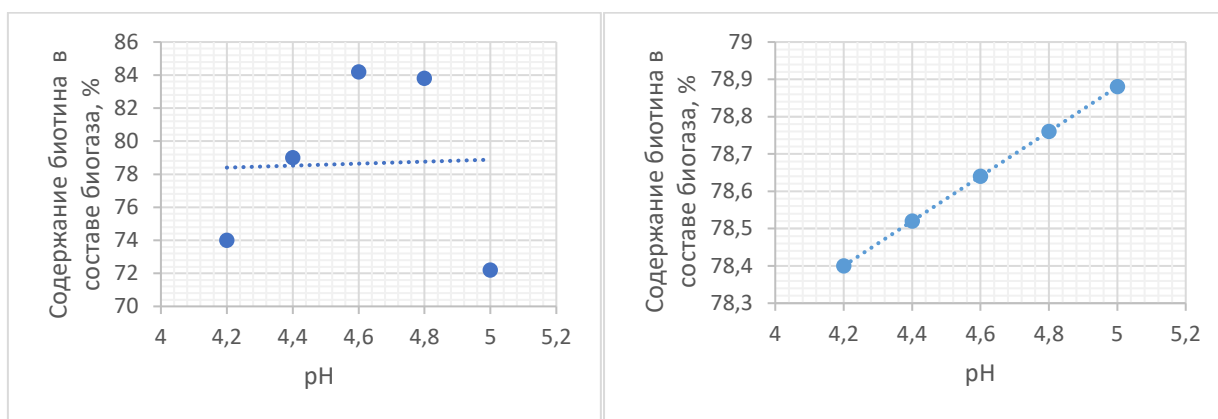
Таблица 5 –Аппроксимация исследуемых функций

продолжение таблицы 4.1

Формулы	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄
$b = \frac{n\sum XY - \sum X \sum Y}{n\sum X^2 - (\sum X)^2}$	0,6	-4,44	0,2	-11,7
$a = \frac{\sum Y - b\sum X}{n}$	75,88	220,72	78,04	83,8
$Y = a + b \times X$	$Y=75,88+0,6 \times X$	$Y=220,72 - 4,44 \times X$	$Y=78,04+0,2 \times X$	$Y=83,8-11,7 \times X$
Теоретические значения частных функций:				
$Y_{n1}=a+b \cdot X_{n1}$	78,4	83,08	78,24	82,63
$Y_{n2}=a+b \cdot X_{n2}$	78,52	80,86	78,44	80,29
$Y_{n3}=a+b \cdot X_{n3}$	78,64	78,64	78,64	79,12
$Y_{n4}=a+b \cdot X_{n4}$	78,76	76,42	78,84	76,78
$Y_{n5}=a+b \cdot X_{n5}$	78,88	74,2	79,04	74,44

График функции Y (формула 3) представляет собой линейную функцию – уравнение прямой $Y = a + bX$.

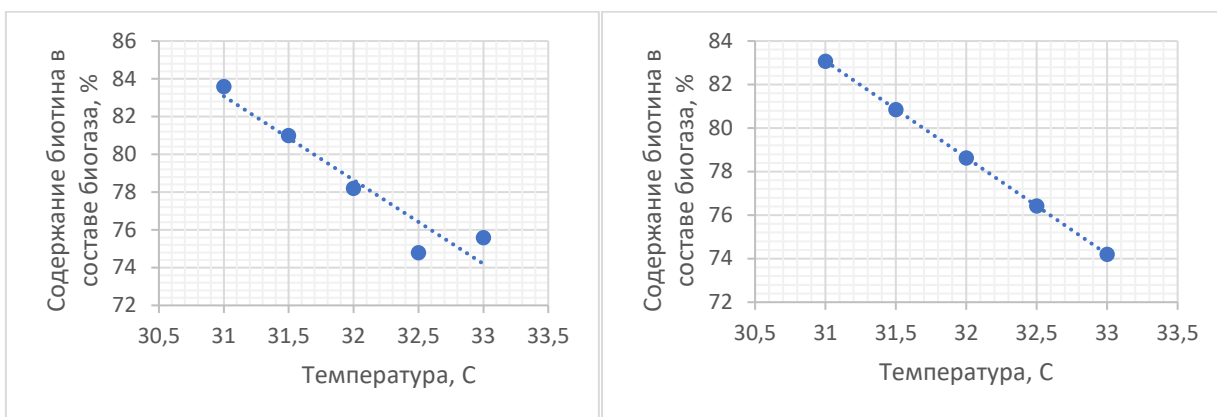
Экспериментальные (рисунки 1–4, а) и расчетные (рисунки 1–4, б) значения исследуемых трёх частных функций наносим на график.



а) экспериментальные значения частных функций б) теоретические значения частных функций

Рисунок 3 – Зависимость содержания биотина в биогазе от содержания Ph

Как видно из рисунка 1, оптимальным решением будет состав органических отходов, где содержание Ph будет находиться на уровне 5. В этом случае содержание биотина в составе биогаза будет максимальным (78,9 %).



а) экспериментальные значения частных функций б) теоретические значения частных функций

Рисунок 4 – Зависимость содержания биотина в биогазе от содержания температуры

Как видно из рисунка 2, оптимальным решением будет состав органических отходов, где температуры будет находиться на уровне 33 С. В этом случае содержание биотина в составе биогаза будет максимальным (83,5 %).

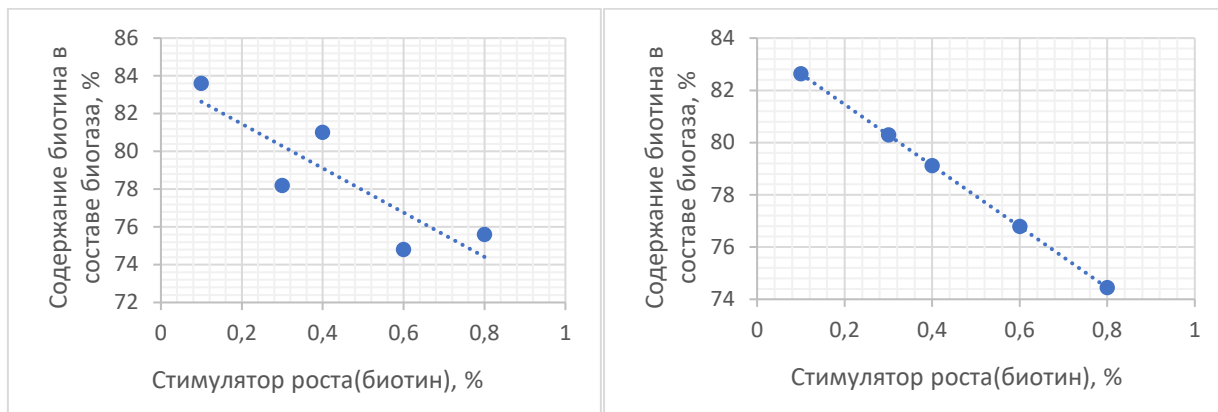


а) экспериментальные значения частных функций б) теоретические значения частных функций

Рисунок 5 – Зависимость содержания биотина в биогазе от содержания количества инокулята от объема питательной среды

Как видно из рисунка 3, оптимальным решением будет состав органических отходов, где содержание количества инокулята от объема питательной среды

будет находиться на уровне 5%. В этом случае содержание биотина в составе биогаза будет максимальным (79,1 %).



а) экспериментальные значения частных функций б) теоретические значения частных функций

Рисунок 6 – Зависимость содержания биотина в биогазе от содержания стимулятора роста (биотин)

Как видно из рисунка 4, оптимальным решением будет состав органических отходов, где содержание стимулятора роста (биотина) будет находиться на уровне 0,8% С. В этом случае содержание биотина в составе биогаза будет максимальным (83 %).

3.2 Культуральные свойства производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, выращенные в оптимальных физико-химических условиях

Далее были определены культуральные свойства производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*.

Шаг первый – для создания питательной среды было использовано Rose Bengal Chloramphenicol Agar в объеме 8 г.

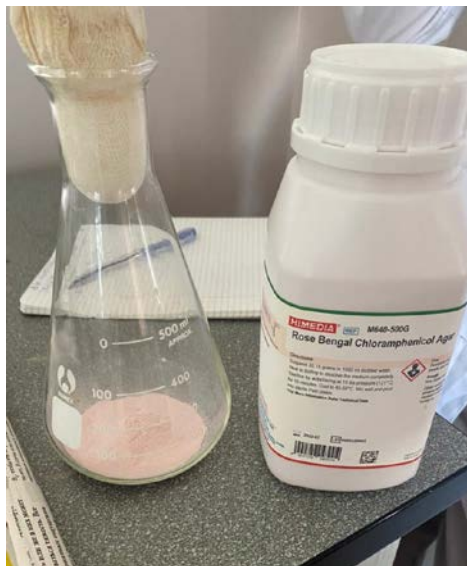


Рисунок 7 – Rose Bengal 8 г

Полученный порошок отправила в колбу и было добавлено 250 мл дистиллированной воды. Размешав полученную смесь, отправила в стабилизатор.



Рисунок 8 – колба с питательной средой на стабилизаторе

Второй шаг – в первой колбе было взято 1 г пекарских дрожжей и смешано с дистиллированной водой объемом 100 мл. Во второй колбе было взято 2 г

пекарский дрожжей, и также смешано с дистиллированной водой объемом 100 мл. Тщательно перемешиваем наши смеси. Затем делаем посев из питательной среды Rose Bengal на 2 чашки петри.



Рисунок 9 – 1 и 2 г пекарских дрожжей с дистиллированной водой

Следующий шаг, с помощью дозатора разливаем смесь в 4 пробирки: Берем дозатор и набираем 1 мл смеси из раствора воды и пекарских дрожжей, выпускаем в 1 пробирку, разбавляем 6 мл дистиллированной воды. Из данной смеси набираем еще 1 мл раствора и выпускаем во 2 пробирку, сюда также добавляем 6 мл дистиллированной воды. Далее другим наконечником с помощью дозатора набираем из 2 пробы полученный раствор, далее выпускаем по одной капле на питательную среду, и шпателем Дригальского распределяем микроорганизмы по питательной среде. Далее питательные среды с микроорганизмами отправляем в термостат на 24 часа. Спустя 24 часа видны колонии микроорганизмов, описание которых записано в таблице № 1 и №2.



Рисунок 10– распределение питательной среды в чашки Петри

Таблица 6 – культуральные свойства микроорганизмов (1 разведение)

Количество колоний	35	105
Форма	круглая	круглая
Размер	мелкий(1–2мм)	точечный(не превышает 1 мм)
Прозрачность	мутная	мутная
Контур края	гладкий	гладкий
Профиль	выпуклый	выпуклый
Поверхность колоний	гладкая	гладкая
Цвет	белый	белый
Структура	крупнозернистая	мелкозернистая

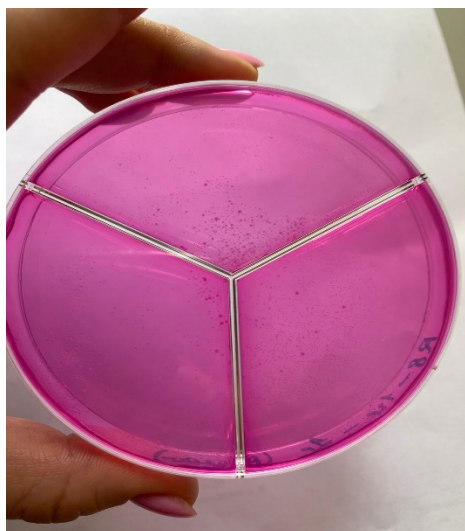


Рисунок 11 – проба № 1 спустя 24 часа

Таблица 7 – культуральные свойства микроорганизмов (2 разведение)

Количество колоний	43	120
Форма	круглая	круглая
Размер	мелкий(1–2мм)	точечный(не превышает 1 мм)
Прозрачность	мутная	мутная
Контур края	гладкий	гладкий
Профиль	выпуклый	выпуклый
Поверхность колоний	гладкая	гладкая
Цвет	белый	белый
Структура	крупнозернистая	мелкозернистая

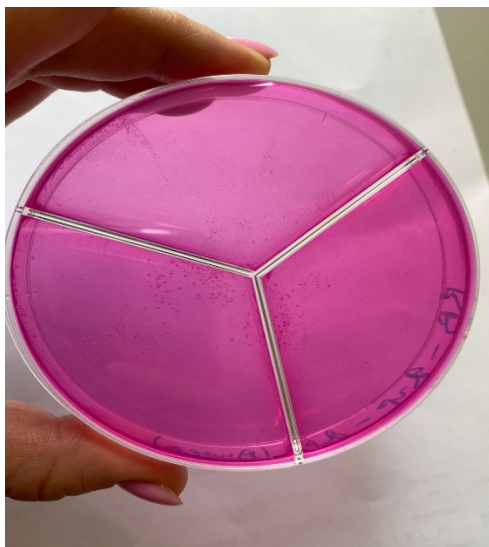


Рисунок 12 – проба № 2 спустя 24 часа

Как видно из таблиц, по культуральным свойствам изучаемые производственные штаммы имеют одинаковые по технологическим свойствам признаки, что указывает на однородность их ферментационных особенностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из результатов исследования, биотин является важным фактором роста для дрожжей и некоторых микроорганизмов. Рекомендуется от 0,1 до 1 мг биотина. В разные колбы добавляется разные дозы витамина. В работе было использовано 0,4% до 1 и выявлено, что 25% биотина показало наиболее высокий выход, значит что 25% биотина самым оптимальным. Была выявлена оптимальная концентрация стимулятора роста для производства дрожжей. Были оптимизированы свойства по накоплению за счет добавления стимулятора роста в виде биотина в оптимальной концентрации.

ВЫВОДЫ

1 Оптимизированы биотехнологические свойства культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*.

2 Методом математического моделирования определены оптимальные биотехнологические свойства *Saccharomyces cerevisiae*.

3 Изучены культуральные свойства производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, выращенные в оптимальных физико-химических условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Alicia Cotoia, // BD Editors. – 2020. – P. 35
2. Christian R.Laundry, Jeffrey P.Townsend, Daniel L.Hartl, Duccio Cavalieri // Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. – 2006. P.11
3. Marshall, Charles, ed.–June. – 1912 // P. Blakiston's son and company // Microbiology. – 2014. P. 57
4. Stefanini I., Dapporto L., Legras J. L., Calabretta A., Di Paola M., De Filippo S., Viola R., Capretti P., Polsinelli M., Turillazzi S., Cavalieri D // The role of social wasps in ecology and evolution of *Saccharomyces cerevisiae*. – 2012. P. 117
5. Teresa Fernandez-Espinar M., Barrio E., Carroll A. Analysis of genetic variability of species of the *Saccharomyces sensu stricto* complex // *Yeast*. – 2003. P. 52
6. G. G. Stewart // *Encyclopedia of Food Microbiology* (second edition). – 2014. P. 77
7. Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, Davis RW, Dujon B, Feldmann H, Galibert F, Hoheisel JD, Jacq C, Johnston M, Louis EJ, Mewes HW, Murakami Y, Philippsen P, Tettelin H, Oliver SG // *Life with 6000 genes*– 1996. P. 43
8. Kutty SN, Philip R // *Marine yeasts—a review*. – 2008. P. 21
9. Magliani Zh, Conti S, Frazzi R., Ravanetti L., Maffei D.L., Polonelli L. // "Protective antifungal yeast-like antibodies that kill the toxin". *Modern molecular medicine*. – 2006. P. 178
10. Botstein D, Chervitz SA, Cherry JM // "Yeast as a model organism". –1997. P. 65
11. Zörgö E, Chwialkowska K, Gjuvsland AB, Garré E, Sunnerhagen P, Liti G, Blomberg A, Omholt SW, Warringer J. // «Ancient evolutionary trade-offs between yeast ploidy states».– 2013. P. 44
12. В. А. Калюжин // «Терморезистентность у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*». – 2011. P. 140-149
13. J.D. Atputharajah, S. Widanapathirana, U. Samarajeewa // «microbiology and biochemistry of natural fermentation of coconut palm sap. *Food Microbiology*». –1986. P. 273–280
14. Bi, Erfei // «Mechanics and regulation of cytokinesis in budding yeast». – 2017. P. 86-90
15. Duan, San Francisco; Han, P.J.; Wang, QM; Liu, WQ; Shi, JY; Li, K.; Zhang, XL; Bai, F.Yu. // *Origin and adaptive evolution of domesticated yeast populations from Far East Asia*. – 2018
16. Khan, D.Yu.; Khan, P.J.; Rumbold, K.; Koricha, AD; Duan, San Francisco; Song, L.; Shi, JY; Li, K.; Wang, QM; Bai, F.Yu. // *The content of adaptive genes and variations in the distribution of alleles in wild and domesticated*. – 2012

17. Морган, Дэвид // «Клеточный цикл: принципы контроля». – 2007. P. 10-31
18. Bi, Erfey // *Mechanics and regulation of cytokinesis in budding yeast* – 2017. P. 115
19. Vloka, Karsten // *Mechanisms of cytokinesis in budding yeast. Cytoskeleton.* – 2012. P. 112-120
20. Bi, Erfey // *Cytokinesis in budding yeast: the relationship between the function of the actomyosin ring and the formation of a septum.* – 2002. P. 180
21. Sorge E., Khvialkovska K., Gjuvslund A.B., Harry E., Sunnerhagen P., Lit and G., Bromberg A., Omholt S.V., Warringer J. // *Ancient evolutionary compromises between yeast ploidy states.* – 2013. P. 149-160
22. Zörgö E, Chwialkowska K, Gjuvslund AB, Garré E, Sunnerhagen P, Liti G, Blomberg A, Omholt SW, Warringer J // *Ancient evolutionary trade-offs between yeast ploidy states.* – 2013. P. 85
23. Gerskovits I // «Life cycle of budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*», -1988 // Friedman, Nir // *Chronicles of Friedman's laboratory. Yeast cultivation (robotic).* – 2011. P. 35-45
24. Ковачевич М. // «Морфофизиологические характеристики дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, различающихся по продолжительности жизни. Магистерская диссертация по биохимии» – 2015. стр. 240
25. Ruderfer D.M., Pratt S.K., Seidel H.S., Kruglyak L. // «Population-genomic analysis of outcrossing and recombination in yeast». – 2016. P. 166-170
26. A. Goffeau, B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, J. D. Hoheisel, C. Jacq, M. Johnston, E. J. Louis, H. W. Mewes, Y. Murakami, P. Philippsen, H. Tettelin & S. G. Oliver. *Life with 6000 genes* (англ.) // *Science.* — 1996. — Vol. 274, no. 5287. — P. 546, 563—567
27. Садыкова А. Ж. *Генетические основы селекции ферментационных дрожжей Saccharomyces и Kluyveromyces.* –2016. Стр. 6
28. Saito, T., Ohtani, M., Sawai, H., Sano, F., Saka, A., Watanabe, D., Yukawa, M., Oya, Y., Morishita, S. // «Morphological database of *Saccharomyces cerevisiae*». – 2004. P. 33
29. Степаняк, Джоанна // *Лучшая поваренная книга без сыра* (10-е изд.). – 2003
30. Saito, T., Ohtani, M., Sawai, H., Sano, F., Soka, A., Watanabe, D., Yukova, M., Oya, Y., Morishita, S. «Morphological database of *Saccharomyces cerevisiae*». – 2004. P. 12
31. «Контроль диастатика на вашей пивоварне»
32. Loureiro V., Malfeito-Ferreira M. // «Muttering yeast in the wine industry». *International Journal of Food Microbiology.* – 2003. P. 45
33. Dinleyici EC, Eren M, Ozen M, Yargic ZA, Vandenplas Y // "Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in acute infectious diarrhea". – 2012. P. 39

34. McFarland, Lynn V. // "Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients". – 2010. P. 110
35. Warm Flash, David; Ciftcioglu, Neva; Fox, George; Mackay, David S.; Friedman, Louis; Betts, Bruce; Kirschwink, Joseph // "Living interplanetary flight experiment (LIFE): an experiment on the survival of microorganisms during interplanetary travel". – 2007. P. 160-169
36. "Проекты: LIFE Experiment: Фобос". Планетарное общество. – 2010
37. Saito, T., Ohtani, M., Sawai, H., Sano, F., Saka, A., Watanabe, D., Yukawa, M., Oya, Yu, Morishita, S. // "Morphological database of *Saccharomyces cerevisiae*". – 2004. Shneiter R. // "Genetics, molecular and cellular biology of yeast". – 2004. P. 130. 132-134
38. Садыкова А. Ж. Генетические основы селекции ферментационных дрожжей *Saccharomyces* и *Kluuveromyces*. Стр. 9
39. Goffeau A, et al. Science // «*Saccharomyces* Genome Database». – 1996. P. 36
40. Г.С. Качмазов // «Дрожжи бродильных производств». –2021. Стр. 189
41. А. А. И Шенецкий // «Колонии микроорганизмов» большая советская энциклопедия, – 1979. Стр. 111

РЕЦЕНЗИЯ

НА ДИПЛОМНУЮ РАБОТУ

БИСЕНАЛИЕВА АНАРА

5B070100 – «Биотехнология»

На тему: «Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*»

Выполнено:

- а) графическая часть на 7 листах;
- б) пояснительная записка на 26 страницах.

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Дипломная работа выполнена на актуальную тему, выполнены теоретические и расчетные исследования. Методом математического планирования найдены оптимальные физико-химические условия для улучшения культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*. Также были изучены культуральные свойства производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, выращенных в оптимальных физико-химических условиях.

Работа состоит из введения, основной части, материалы и методы, заключения, вывода и списка использованной литературы.

В теоретической части были рассмотрены вопросы экологии, биологии *Saccharomyces cerevisiae*, а также применение и технологические свойства пекарских дрожжей.

В следующем разделе приведены данные и формулы для расчетных исследований.

В разделе результаты исследования были выполнены расчеты математического моделирования на основе рассмотрения 4 факторов. На основе этих факторов были предложены оптимальные решения для производства биогаза, обогащенного биотином и построены графические рисунки. Также, исходя из таблиц, по культуральным свойствам изучаемые производственные штаммы имеют одинаковые по технологическим свойствам признаки, что указывает на однородность их ферментационных особенностей.

Цель и задачи выполнены в полном объеме. Имеются орфографические ошибки. Но, данное замечание не снижает ценность работы.

Оценка работы

Дипломная работа соответствует всем предъявляемым требованиям и заслуживает оценки «отлично», автор Бисеналиева Анара достойна получить степень бакалавра по специальности 5B070100 – «Биотехнология».

Рецензент

к.х.н., доцент, преподаватель
кафедры АКХИТ
КазНУ имени Аль-Фараби
(для подписи и печати)
Технология
Факультет
Керімқұлова М.Ж.

«
Ф КазНУ

2022 г.

ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ

7.06.22г.

ОТЗЫВ
НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ
НА ДИПЛОМНУЮ РАБОТУ
БИСЕНАЛИЕВА АНАРА

Специальность: 5В070100 - Биотехнология

Тема: «Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*».

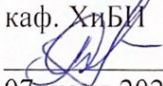
Оптимизация биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* способствует интенсификации процессов брожения и улучшению качества готовой продукции. На сегодняшний день отечественные хлебопекарные дрожжи не всегда обладают необходимым качеством, что, в итоге, оказывает влияние на качество готовых хлебобулочных изделий и увеличивает технологические затраты. Поэтому исследования, направленные на оптимизацию биотехнологических свойств культурально активных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* являются актуальными.

В первой главе данной дипломной работы освещается полный литературный обзор по экологии, биологии и культуральным свойствам дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae*. Во второй главе приведены данные и формулы для расчетных исследований. Также были приведены таблицы, где были изучены культуральные свойства производственных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*. В третьей главе приводятся результаты исследований. В работе автор показывает себя грамотным, компетентным специалистом.

Дипломная работа по содержанию и объему соответствует требованиям, предъявляемым к дипломным работам по уровню обучения «бакалавриат». В целом, дипломная работа, безусловно, имеет практический интерес и может быть представлена к защите с оценкой «хорошо».

Научный руководитель:

Ассоц.проф. PhD
каф. ХиБИ


Рафикова Х.С.

07 июня 2022 г.



Метаданные

Название

2022_БАК_Бисеналиева Анара2.docx

Автор

Бисеналиева Анара

Научный руководитель






Хадичахан Рафикова

Подразделение

ИГИНГД

Список возможных попыток манипуляций с текстом

В этом разделе вы найдете информацию, касающуюся текстовых искажений. Эти искажения в тексте могут говорить о ВОЗМОЖНЫХ манипуляциях в тексте. Искажения в тексте могут носить преднамеренный характер, но чаще, характер технических ошибок при конвертации документа и его сохранении, поэтому мы рекомендуем вам подходить к анализу этого модуля со всей долей ответственности. В случае возникновения вопросов, просим обращаться в нашу службу поддержки.

Замена букв		0
Интервалы		0
Микропробелы		0
Белые знаки		0
Парафразы (SmartMarks)		22

Объем найденных подобиий

Обратите внимание! Высокие значения коэффициентов не означают плагиат. Отчет должен быть проанализирован экспертом.



KPI1

25

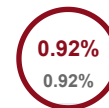
Длина фразы для коэффициента подобия 2



KPI2

6944

Количество слов



KC

33474

Количество символов

Подобия по списку источников

Просмотрите список и проанализируйте, в особенности, те фрагменты, которые превышают КП №2 (выделенные жирным шрифтом). Используйте ссылку «Обозначить фрагмент» и обратите внимание на то, являются ли выделенные фрагменты повторяющимися короткими фразами, разбросанными в документе (совпадающие сходства), многочисленными короткими фразами расположенные рядом друг с другом (парафразирование) или обширными фрагментами без указания источника ("криптоцитаты").

10 самых длинных фраз

Цвет текста

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ И АДРЕС ИСТОЧНИКА URL (НАЗВАНИЕ БАЗЫ)	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	ЦВЕТ ТЕКСТА
1	http://www.mitsubishi-electric.be/resources/documentation/files/2012FRCityMulti.pdf	13	0.19 %
2	https://pastebin.com/dAQwAXBR	12	0.17 %
3	Trends in Regional Disparity in Human and Social Development in India Dholakia, Ravindra H.;	12	0.17 %
4	Medicare and the Rise of American Medical Patenting: The Economics of User-Driven Innovation Morten Olsen, Jeffrey P. Clemens;	10	0.14 %

5	Lexical features of computer terminology in the English and Russian languages.doc 5/26/2022 Kostanai State University A.Baitursynov (Кафедра иностранной филологии)	10	0.14 %
6	https://fraser.stlouisfed.org/files/docs/releases/g12/1970s/g12_19790117.pdf	10	0.14 %
7	https://pastebin.com/89GNc7p5	9	0.13 %
8	Lexical features of computer terminology in the English and Russian languages.doc 5/26/2022 Kostanai State University A.Baitursynov (Кафедра иностранной филологии)	8	0.12 %
9	https://pastebin.com/89GNc7p5	8	0.12 %
10	https://pastebin.com/dAQwAXBR	8	0.12 %

из базы данных RefBooks (0.50 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
Источник: RePEC			
1	Trends in Regional Disparity in Human and Social Development in India Dholakia, Ravindra H.;	25 (3)	0.36 %
2	Medicare and the Rise of American Medical Patenting: The Economics of User-Driven Innovation Morten Olsen, Jeffrey P. Clemens;	10 (1)	0.14 %

из домашней базы данных (0.00 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
---------------------	----------	---	--

из программы обмена базами данных (0.56 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	НАЗВАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	The use of fairy tales in English teaching.docx 5/24/2022 Kostanai State University A.Baitursynov (Кафедра иностранной филологии)	21 (4)	0.30 %
2	Lexical features of computer terminology in the English and Russian languages.doc 5/26/2022 Kostanai State University A.Baitursynov (Кафедра иностранной филологии)	18 (2)	0.26 %

из интернета (2.52 %)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	ИСТОЧНИК URL	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)	
1	https://pastebin.com/89GNc7p5	34 (5)	0.49 %
2	https://fraser.stlouisfed.org/files/docs/releases/g12/1970s/g12_19760213.pdf	32 (6)	0.46 %
3	https://pastebin.com/dAQwAXBR	32 (4)	0.46 %
4	https://fraser.stlouisfed.org/files/docs/releases/g12/1970s/g12_19790117.pdf	23 (3)	0.33 %
5	http://www.mitsubishi-electric.be/resources/documentation/files/2012FRCityMulti.pdf	13 (1)	0.19 %

6	https://escholarship.org/content/qt4ks0b0sm/qt4ks0b0sm.pdf	13 (2)	0.19 %
7	http://ftp.iza.org/dp10470.pdf	11 (2)	0.16 %
8	http://forum.ykt.ru/viewtopic.jsp?id=2830482	7 (1)	0.10 %
9	https://pastebin.com/BYCUdc8C	5 (1)	0.07 %
10	https://studopedia.org/6-49366.html	5 (1)	0.07 %

Список принятых фрагментов (нет принятых фрагментов)

ПОРЯДКОВЫЙ НОМЕР	СОДЕРЖАНИЕ	КОЛИЧЕСТВО ИДЕНТИЧНЫХ СЛОВ (ФРАГМЕНТОВ)
------------------	------------	---