

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова  
Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Дамуллаева Амина Сардаровна

Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces  
serevisiae* на жидких питательных средах.

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

Специальность 6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2023



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет имени  
К.И.Сатпаева

Институт геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова

Кафедра «Химическая и биохимическая инженерия»

Специальность 6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
«Химическая и  
биохимическая инженерия»  
доктор Ph.D.  
А.А.Амитова  
11 июня 2023г



## ЗАДАНИЕ

### на выполнение дипломной работы

Обучающейся Дамулласва Амина Сардаровна

Тема: Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на жидких питательных средах.

Утверждена приказом № 40 от 13.11.2022 г.

Срок сдачи законченной работы 16 мая 2023 г.

Исходные данные к дипломной работе были получены при прохождении производственной практики в ТОО «Алматинский дрожжевой завод» г. Алматы: при изучении методик по приготовлению культуральной среды из мелассы, культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae* на твердой и в жидкой питательной среде.

Краткое содержание дипломной работы:

- а) введение: обосновывается актуальность работы, научная и практическая ценность; изложена цель и задачи исследований;
- б) объект и методы исследования: дана характеристика объекту исследования; описаны приемы и методы исследования;
- в) результаты исследования, заключение и выводы: описаны результаты исследования, даны заключение и выводы.

Перечень графического материала: график динамики роста *Saccharomyces Cerevisiae* при разных температурных режимах представлены 10 слайдов презентации работы.

Рекомендуемая основная литература: 121 наименований

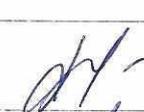
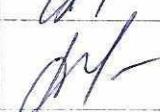
## ГРАФИК

подготовки дипломной работы (проекта)

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы	01 февраля 2023	выполнено
Материал и методика исследований	01 марта 2023	выполнено
Результаты исследования. Заключение и выводы	20 апреля 2023	выполнено

## 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
Основная часть	Джамалова Г. А., к.с.х.н., доцент, ассоц.проф.	20.04.23	
Нормоконтролер	Джамалова Г. А., к.с.х.н., доцент, ассоц.проф.	02.06.23	

Научный руководитель, к.с.х.н.,  
доцент

  
\_\_\_\_\_

Джамалова Г. А.

Задание принял к исполнению  
обучающийся

  
\_\_\_\_\_

Дамуллаева А.С

## АННОТАЦИЯ

Тема. Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на жидких питательных средах.

Дипломная работа изложена на 34 страницах компьютерного текста, включает три раздела, 5 рисунков, 1 график, 2 таблицы, 121 научных источников.

Полученные результаты:

1 Изучено фундаментальное и прикладное значение пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

2 Изучена технология приготовления солодового экстракта для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*.

3 Изучены культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae* на твердой и жидкой питательной среде.

Заключение. Анализ культуральных свойства *S. Cerevisiae* показал, что данный микроорганизм, полученный у ТОО «АДЗ», имеет наивысшие показатели динамики роста при температуре 30 °С. Вне зависимости от температуры экспоненциальная фаза роста приходится на промежуток 6-8 ч. культивирования.

## АНДАТПА

Тақырып. Сұйық қоректік ортадағы *Saccharomyces cerevisiae* өнеркәсіптік штамдарының мәдени қасиеттерін зерттеу.

Дипломдық жұмыс компьютерлік мәтіннің 34 бетінде көрсетілген, үш бөлім, 5 сурет, 1 график, 2 кесте, 121 ғылыми дереккөзден тұрады.

Алынған нәтижелер:

1 *Saccharomyces cerevisiae* наубайшы ашытқысының негізгі және қолданбалы маңыздылығын зерттеді.

2 *Saccharomyces cerevisiae* өсіру үшін уыт сығындысын дайындау технологиясы зерттелді.

3 *Saccharomyces cerevisiae*-дің қатты және сұйық қоректік ортадағы мәдени қасиеттері зерттелді.

Қорытынды. *S. cerevisiae* мәдени қасиеттерін талдау "АДЗ" ЖШС-ден алынған бұл микроорганизмнің 30 °С температурада өсу динамикасының ең жоғары көрсеткіштеріне ие екендігін көрсетті. Температураға қарамастан, экспоненциалды фаза өсу 6-8 сағаттық аралықта болады. өсіру.

## ANNOTATION

Topic. Study of the cultural properties of industrial strains of *Saccharomyces cerevisiae* on liquid nutrient media.

The thesis is presented on 34 pages of computer text, includes three sections, 5 figures, 1 graph, 2 tables, 121 scientific sources.

The results obtained:

1 The fundamental and applied significance of baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* has been studied.

2 The technology of preparation of malt extract for the cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* has been studied.

3 The cultural properties of *Saccharomyces cerevisiae* on solid and liquid nutrient media were studied.

Conclusion. Analysis of the cultural properties of *S. Cerevisiae* showed that this microorganism obtained from ADZ LLP has the highest growth dynamics at a temperature of 30 °C. Regardless of the temperature, the exponential growth phase occurs in the period of 6-8 hours of cultivation.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	1
1. Обзор литературы	2
1.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : фундаментальное и прикладное значение	2
1.2 Экология <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
1.3 Биология <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4
1.4 Культивирование <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8
2. Материал и методика исследований	11
2.1 Объект исследования	11
2.2 Нормативные документы и методика исследований	11
3. Результаты исследований	16
3.1 Состав питательных сред	16
3.2 Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных средах	17
ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ	22
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	23

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. *Saccharomyces cerevisiae* в качестве средства производства широко используются в пищевой биотехнологии для получения пекарских дрожжей.

Новизна исследований. Для повышения биоаугментационных способностей *Saccharomyces cerevisiae* в условиях Алматинского дрожжевого завода впервые изучались их культуральные свойства в жидкой питательной среде.

Научная и практическая значимость. Изучение культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae* в жидкой питательной среде, в частности, скорости роста, позволит в условиях промышленного производства принять оптимальные параметры для повышения её продуктивных качеств.

Цель. Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на жидких питательных средах

Задачи исследований:

1 Изучить фундаментальное и прикладное значение пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

2 Изучить технологию приготовления солодового экстракта для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*.

3 Изучить культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae* на твердой и жидкой питательной среде.

Структура и объем дипломной работы. Дипломная работа изложена на 34 страницах компьютерного текста, включает три раздела, 121 научных источников.

# 1 Обзор литературы

## 1.1 *Saccharomyces cerevisiae*: фундаментальное и прикладное значение

Название *Saccharomyces cerevisiae* складывается на латинизированном греческом языке из двух значений:

- «*Saccharo*» переводится как «сахарный грибок»,
- «*cerevisiae*» – «пивной» [1].

*Saccharomyces cerevisiae*:

- адаптированы к различным экологическим нишам и представляют богатый ресурс для изучения эволюционных траекторий развития адаптационных признаков, поскольку определенные молекулярные профили могли быть выбраны в определенных условиях [2];

- можно использовать в качестве модели для эволюционной биологии и биогеографии [3];

- тысячелетиями использовались людьми для производства ферментированных продуктов и напитков [4];

- модельный организм, ценный инструмент для всех аспектов фундаментальных исследований и для различных промышленных применений (начиная от традиционных пищевых продуктов и первичных метаболитов до продуктов, полученных из биомассы) [5, 6], в качестве экспериментальной системы из-за простоты манипуляций с ними как в гаплоидных, так и в диплоидных формах, а также из-за быстрого роста по сравнению с животными моделями [7], особенно привлекателен для биотехнологий, поскольку его можно выращивать на недорогих средах и ферментерах промышленного масштаба до высокой плотности [8].

В настоящее время:

- большинство разновидностей дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, используемых в промышленности, получают из штаммов дикого типа;

- промышленная ферментация выполняется путем добавления «стартовых культур» *Saccharomyces cerevisiae* для получения однородных конечных продуктов.

Таким образом, *Saccharomyces cerevisiae* – это закваска, которая широко применяется в производстве ферментированных пищевых продуктов, для приготовления хлеба и булочек [10], вина и пива, в основном, на основе его устойчивости к этанолу [9].

*Saccharomyces cerevisiae* являются хорошо известным пробиотиком, который может расти в простых условиях окружающей среды и минимальной среде [11]. Различные виды дрожжей используются для производства дрожжевого экстракта [12].

Экология диких *S. cerevisiae* относительно плохо изучена в основном из-за раннего одомашнивания и широкого использования товарных штаммов [13].

Помимо использования на рынках продуктов питания и напитков, *S. cerevisiae* также применяется для производства гетерологичных белков, фармацевтических препаратов, сыпучих и тонких химикатов [14].

## 1.2 Экология *Saccharomyces cerevisiae*

Штаммы *S. cerevisiae* в природе были выделены;

- из растений, коры и листьев дубов и связанной с дубом почвы [15];
- из образцов плодов, коры деревьев, почвы и гнилой древесины, собранных в садах и культурных, вторичных и первобытных лесах, расположенных в зонах тропического и умеренного климата [15];
- из кишечника ос *Polistes dominula* (социальные осы) и *Vespa crabro* (шершни), где дрожжи могут жить и выживать в сезонный период с меньшим доступом к источникам сахара [16].

Предоставление личинкам дроздылы живых клеток *S. Cerevisiae* улучшает скорость копуляции, увеличивает содержание кутикулярных углеводов, продлевает жизнь насекомых и заставляет взрослых особей предпочитать пищу, обогащенную дрожжами, по сравнению с диетой, основанной на дрожжевых экстрактах или лишенной дрожжей [17].

В отличие от естественных резервуаров, обычная лабораторная среда для выращивания представляет собой либо определенную среду, оптимизированную для короткого времени генерации, либо богатую среду, например, при ферментации пищевых продуктов и напитков *S. cerevisiae* [18]. Штаммы *S. cerevisiae* могут быть легко выделены из процессов спиртового брожения или других ферментирующих субстратов, богатых сахаром, с использованием стандартного метода посева с разведением, но с трудом могут быть выделены из природных субстратов с использованием обычного протокола из-за сложных микробных сообществ и низкой плотности популяции дрожжей в природе [19]. Обогащающая среда, содержащая этанол, использовалась для выделения *S. cerevisiae* из виноградников [20].

*Saccharomyces cerevisiae* это наиболее интенсивно изучаемый эукариотический организм. Его генетическая гибкость сделала его ценным модельным организмом для генетики, геномики, клеточной биологии и биохимии. Но его долгая история одомашнивания человеком делает его далеко не идеальным для исследований в области экологии и эволюции [21].

В широком смысле *S. cerevisiae* можно разделить на две основные категории: промышленные или лабораторные штаммы: первые – это полиплоидные штаммы, способные противостоять суровым условиям промышленной ферментации, в том числе лигноцеллюлозным гидролизатам, содержащим ингибиторы ферментации, вторые – это гаплоидные штаммы [22].

### 1.3 Биология *Saccharomyces cerevisiae*

Дрожжи – это одноклеточные эукариоты, у которых зеркально повторяются многие метаболические процессы высших эукариот. Кроме того, их легко выращивать на различных источниках углерода, и многие дрожжи могут адаптировать свой метаболизм к ферментативному или респираторному росту [23]. Дрожжи *S. cerevisiae* принадлежат к группе дрожжей Ascomycete (тип: Ascomycota; подтип: Saccharomycotina; класс: Saccharomycetes; отряд: Saccharomycetales) [24].

Клетки дрожжей можно рассматривать как эллипсоиды с отношением полуосей  $a = b < c$ , следовательно, геометрически они представляют собой вытянутые сфероиды [25]. Клетки *S. cerevisiae* имеют округлую, яйцевидную или эллипсоидную форму; размер их колеблется от 2,5 до 10 мкм в поперечнике и от 4,5 до 21 мкм в длину [26.]. *S. cerevisiae* обычно имеют эллипсоидную форму с большим диаметром 5–10 мкм и меньшим диаметром около 5 мкм. Все дрожжи - одноклеточные грибы, имеющие черты ультраструктуры, сходные с таковыми у высших эукариотических клеток. То есть они включают клеточную стенку, ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум (ЭР), аппарат Гольджи, вакуоли, микротельца и секреторные везикулы вместе со сложной внеклеточной и внутриклеточной мембранной сетью [27]. Содержимое вакуолей разжижено, видны тонкие тяжи, в цитоплазме. Хорошо просматриваются эндоплазматические нити, аппарат Гольджи представлен рядом мембран [28]. *S. cerevisiae* является одноклеточным эукариотом и содержит связанные с мембраной органеллы, такие как ядро, эндомембранная система и митохондрии [29].

Вакуоль дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* считается динамичной органеллой и регулирует множество клеточных процессов [30]. Аппарат Гольджи служит второй остановкой транспорта большинства белков *на пути* к эндосомам, вакуолям и плазматической мембране. В дрожжевых клетках цистерны Гольджи разбросаны по цитоплазме без типичной стопочной структуры, наблюдаемой у многих других видов [31].

Клеточная стенка *Saccharomyces cerevisiae*:

- представляет собой эластичную слоистую структуру толщиной 100–200 нм [32];

- расположена снаружи плазматической мембраны и состоит из внутреннего скелетного электронно-светлого слоя глюкана, состоящего из  $\beta$ -глюкана и хитина, и фибриллярного или щетковидного более плотного наружного слоя, состоящего преимущественно из маннопротеинов [33];

- составляет 10-25% сухой массы клетки и состоит в основном из  $\beta$ -глюканов и маннана. Бета-глюканы, которые подразделяются на бета-1,3-глюканы и бета-1,6-глюканы, составляют 50-60% сухой массы клеточной стенки [34].

Известно, что толщина клеточной стенки “материнских” клеток толще, чем у более мелких “дочерних” клеток; из-за этого она может по-разному реагировать на осмотическое давление [35].

Изменения в питательной среде, внешнем рН, температуре роста и уровне кислорода значительно влияют на состав, структуру и толщину клеточной стенки [36]. Штаммы *S. cerevisiae* с грубыми колониями и псевдогифальной морфологией часто связаны с нарушениями процесса ферментации в зависимости от системы ферментации и других условий эксплуатации [37].

Внешний маннопротеиновый слой ограничивает проницаемость стенки для макромолекул и придает поверхности клетки отрицательный заряд [38].

При переходе к стационарной фазе роста клеточная стенка становится более толстой и менее пористой [39].

Гомеостаз размера у почкующихся дрожжей требует, чтобы клетки вырастали до критического размера, прежде чем приступить к делению на поздней пререпликативной фазе роста клеточного цикла, событие, называемое Start [40].

Низкая доступность кислорода в масштабе 10 000 л изменяет физиологическое состояние, влияющее на рост дрожжей, в то время как увеличение объема клеток свидетельствует о нарушении целостности клеточной стенки [41]. Эти нарушения вызывают изменения в морфологии клеток, которая у дрожжей определяется клеточной стенкой, жесткой структурой, которая обеспечивает механическую защиту, определяет форму клетки и модулирует избирательное поглощение макромолекул на разных стадиях жизненного цикла дрожжей [42].

*S. Cerevisiae* способен принимать многоклеточные формы роста, такие как хлопья, флоры, биопленки и филаменты, в ответ на условия окружающей среды путем изменения способа прикрепления клеток друг к другу и к биотическим или абиотическим субстратам с помощью белков, называемых адгезинами или флоккулинами [43]. У *S. cerevisiae* формируются псевдогифы: цепочки удлиненных клеток, полностью разделенных цитокинезом, но прикрепленных через адгезионные белки [44].

Ядерный геном длиной 12 069 т.п.н. компактен и состоит из 6000 генов, в основном кодирующих белки, распределенных по 16 хромосомам [45]. Дрожжи также содержат внехромосомные материалы, а именно митохондриальную ДНК (мтДНК) размером 85,78 т.п.н. и так называемую кольцевую плазмиду размером 2 мкм с размером 6,318 т.п.о., расположенную в ядре, состоящую из множества копий и относящуюся к категории факультативных, поскольку ее отсутствие вызывает минимальное снижение скорости роста, и не влияет на промышленное применение [46].

В генной инженерии *Saccharomyces cerevisiae* применяют в сравнительно простых генетических манипуляциях – это экспрессии на основе плазмид, либо модификаций генома [47].

Жизненный цикл почкующихся дрожжей проходит через циклы бесполого и полового размножения [48]. Половое размножение включает инбридинг и

аутбридинг [49]. И гаплоидная, и диплоидная фазы морфологически сходны, но с более крупными клетками для диплоидной. При бесполом размножении почка вырастает до размера материнской клетки, в то время как происходит деление ядра [50].

Гаплоидные клетки указывают на простой жизненный цикл митоза, который в стрессовых условиях погибает. Диплоидные клетки, как и гаплоидные, демонстрируют жизненный цикл митоза, но в условиях сильного стресса вступают в жизненный цикл мейоза и производят четыре гаплоидные споры. Время их удвоения составляет примерно 90 мин [51].

Вкратце, диплоидные клетки размножаются митотически в среде, богатой питательными веществами, но при голодании диплоидные клетки подвергаются мейозу с образованием от одной до четырех гаплоидных спор (аскоспор), заключенных в мешок (аски, множественное число асков; большинство асков содержат мейотическую тетраду из четырех аскоспор, по два каждого типа спаривания) [52].

*Saccharomyces cerevisiae* — микроорганизм, ответственный за наиболее распространенный тип ферментации, который воспроизводится путем процесса деления, известного как почкование [53].

Когда клетки *S. cerevisiae* помещают в свежую ферментационную среду и инкубируют в оптимальных физических условиях роста, получается типичная кривая периодического роста, которая включает лаг-фазу (период отсутствия роста, но физиологической адаптации клеток к новой среде), экспоненциальную фазу (ограниченный период логарифмических удвоений клеток) и стационарная фаза (период покоя с нулевой скоростью роста) [54].

Популяции дрожжей, развивающиеся внутри колоний, способны менять свое поведение несколько раз в течение 20–30 дней (или даже дольше) [55]. Только короткий интервал около 40–45 часов после начала развития колонии связан с экспоненциальным ростом всей популяции колонии [56]. Голодание является хорошо известным состоянием, которое запускает фенотипическую гетерогенность в клональных популяциях дрожжей. В ответ на углеродное голодание клетки *S. cerevisiae* изменяют уровни экспрессии метаболических генов и активно дифференцируются в неделящиеся формы [57].

Клетки дрожжей реагируют на голодание по питательным веществам остановкой роста и переходом в стационарную фазу, что связано со многими морфологическими и физиологическими изменениями. Одним из них является снижение рН цитоплазмы до 5,7–5,8 [58].

В диплоидных клетках азотное голодание вызывает глубокое изменение клеточной морфологии, от нормальной формы почкующихся дрожжей до удлиненных псевдогифальных клеток, которые разделяются цитокinesisом, но присоединяются через адгезивные белки. В гаплоидных клетках похожее, но отличное явление, называемое инвазивным ростом, возникает в ответ на голодание по глюкозе. [59].

Дрожжи приспособлены к использованию глюкозы в качестве основного источника энергии. Показано эволюционное преимущество многоклеточных

популяций в дефиците этого основного элемента питания. Полисахариды, такие как сахароза, не являются легкодоступным источником углерода для дрожжевых клеток. Однако *S. Cerevisiae* клетки секретируют фермент инвертазу, расщепляющую сахарозу на фруктозу и глюкозу извне [60].

Выделение чистых культур дрожжей в 1888 г. Эмилем Хансеном, усовершенствовавшим метод Луи Пастера, проложило путь к широкому использованию *S. cerevisiae* в биологических исследованиях [61].

*Saccharomyces cerevisiae*, являясь факультативным аэробом, способны адаптировать свой метаболизм, т.е. ферментацию по сравнению с дыханием, в соответствии с природой доступных углеродных субстратов [62]. Дрожжи представляют собой хемоорганотрофные микроорганизмы, которые получают углерод и энергию путем метаболизма органических субстратов [63].

*S. Cerevisiae* могут расти аэробно и анаэробно [64], анаэробно только в присутствии добавленных стеролов и ненасыщенных жирных кислот. У дрожжей эти соединения не могут быть синтезированы в отсутствие кислорода [65,66].

*S. cerevisiae* проявляет так называемый эффект Крэбтри: спиртовое брожение в присутствии кислорода, когда концентрация глюкозы превышает определенное пороговое значение [67].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* преимущественно метаболизируют сахар путем анаэробной ферментации с образованием этанола и  $\text{CO}_2$ , даже когда кислород доступен для аэробного дыхания. Этот аэробный ферментативный признак, известный как эффект Крэбтри [68].

Катаболизм глюкозы дрожжами *S. cerevisiae* может происходить двумя различными путями: аэробным дыханием до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  или ферментацией до этанола. Кроме того, *S. cerevisiae* являются дрожжами, чувствительными к глюкозе, что означает, что в аэробных условиях они также производят этанол при высокой концентрации сахара [69].

По мере снижения уровня декстрозы *S. cerevisiae* вырабатывает и накапливает большое количество гликогена и трегалозы, которые обеспечивают накопление энергии во время голодания [70].

Хотя декстроза является предпочтительным метаболическим субстратом *S. cerevisiae*, она также может расти на других сахарах, таких как галактоза, сахароза [71] и различных неферментируемых субстратах, таких как этанол, глицерин и ацетат [72].

В высоких концентрациях декстрозы *S. cerevisiae* активно подавляет синтез дыхательных ферментов [73].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* естественным образом метаболизируют сахарозу либо путем ее гидролиза в периплазматическом пространстве, либо посредством прямого поглощения через активный транспорт дисахарид и его гидролиз в цитозоле [74].

Когда доступны глюкоза и фруктоза, ферменты, утилизирующие мальтозу, подавляются, вызывая лаг-фазу в продукции  $\text{CO}_2$  до тех пор, пока не индуцируются гены, кодирующие путь утилизации мальтозы, например, у *S.*

*cerevisiae*. селекция штамма, способность сбраживать мальтозу с высокой скоростью является желательной характеристикой [75].

*Saccharomyces cerevisiae*, как и другие штаммы того же рода, способны потреблять несколько различных субстратов в качестве источников углерода (например, сахарозу, мальтозу, глицерин, этанол и т. д.) [76].

По сравнению со значениями скорости роста, наблюдаемыми при выращивании *S. cerevisiae* на глюкозе, сахарозе или мальтозе в качестве единственного источника углерода и энергии, рост на галактозе происходит намного медленнее [77].

Было обнаружено, что дрожжи *Saccharomyces* стимулируют рост других микроорганизмов, в том числе молочнокислых бактерий, путем предоставления необходимых метаболитов, таких как пируват, аминокислоты и витамины [78].

Увеличение количества азота, доступного для дрожжей, увеличивает использование сахаров для превращения в этанол [79]. *S. cerevisiae* в сусле с недостатком азота может образовывать половину количества белков по сравнению с сусликом с достаточным содержанием азота [80]. Это может привести к снижению способности поглощать сахар, что, вероятно, имело место в контрольном сусле, вызывая дефицит в производстве клеточных соединений, делая клетку более восприимчивой к стрессовым условиям, таким как среда с высокой осмолярностью.

Итак, *Saccharomyces cerevisiae* – это факультативный анаэроб. Оптимум роста при 30°C. Желатину не разжижает, крахмал не сбраживает. Без источников азота в среде не размножаются, усваивают неорганический азот. Клетки штамма чувствительны к нистатину и циклогексимиду, практически не чувствительны к бактериальным антибиотикам [81].

#### **1.4 Культивирование *Saccharomyces cerevisiae***

*Saccharomyces cerevisiae* представляют собой промышленно важные дрожжи, которые также широко используются в качестве модельных эукариот [23]. Выращивание дрожжей относительно просто. Их можно выращивать в любой жидкой среде или твердой чашке с агаром. Среда должна содержать источник углерода (глюкозу или декстрозу) и соли, поставляющие азот, фосфор и микроэлементы [82]. В наиболее распространенные определенные среды добавляется набор аминокислот, состав и концентрация которых различаются в зависимости от рецептуры и лаборатории [83].

Стандартные питательные среды для выращивания дрожжей и микроорганизмов содержат источники углеводного и азотного питания, а также минеральные соли.[84].

В состав питательной среды для культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в качестве источника азота предлагается вводить жидкий гидролизат

кормовых дрожжей - один из наиболее доступных органических источников аминного азота [85].

Дрожжи способны расти на обычных бактериологических средах, таких как кровяной агар и чашки с шоколадным агаром [86]. Для культивирования дрожжей из клинических образцов следует использовать селективную среду, такую как агар Сабуро [87].

На сегодняшний день несколько культур среды доступны для размножения дрожжей, т.е. Декстрозный агар Сабуро (Sabouraud Dextrose Agar-SDA) (обычный дрожжевой средний), минимальный средний (Minimal Medium) (обычно используется при тестировании тип спаривания дрожжевых клеток), пептон дрожжевого экстракта Декстроза (Yeast Extract Peptone Dextrose) (неселективная среда для пробиотиков) и роза Бенгальская среда (Rose Bengal Medium) (селективная среда, которая используется для культуры пробиотиков) [88].

Меласса, побочный продукт, образующийся в процессе очистки сахарного тростника, может использоваться в производстве этанола, поскольку она все еще содержит 50-60% сахара. Помимо сахара, патока сахарного тростника также содержит аминокислоты и минералы, такие как калий 0,04–0,90 % (вес/объем), кальций 0,02–0,75 % (вес/объем) и магний 0,01–0,61 % (вес/объем) [89]. Исходя из диапазона наблюдаемых и зарегистрированных ионов металлов, 0,20–0,60 % (масса/объем) является подходящей концентрацией для изучения влияния ионов металлов на ферментацию этанола дрожжами [90].

Рост *S. cerevisiae* зависит от состава среды, начальных уровней pH, температуры и скорости воздушного потока при встряхивании или растворенном кислороде [91].

Оптимальное осмотическое давление, при котором широко культивируется *S. cerevisiae*, близко к 1,38 МПа [92]. Как правило, оптимальная температура роста дрожжей *Saccharomyces* находится в диапазоне от 28°C до 33°C [93]. Отклонение температуры является общим стрессом для дрожжевых клеток [94].

В соответствии с результатами оценки роста было обнаружено, что все дрожжевые клетки полностью теряют способность к культивированию при 46 °C [95].

Дрожжи сохраняют жизнеспособность в широких пределах колебания pH от кислого до щелочного (от 2,5 до 6,5). При выращивании дрожжей на мелассовых средах оптимальным является pH 4,5 – 5,8. при этом дрожжевые клетки хорошо растут и быстро размножаются [96]. В целом, *Saccharomyces cerevisiae* является ацидофильным организмом и поэтому лучше растет в кислых условиях. Оптимальный диапазон pH для роста дрожжей может варьироваться от pH 4 до 6, в зависимости от температуры, присутствия кислорода и штамма дрожжей [97].

Давно известно, что большинство штаммов *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании в биореакторе ведут себя не так, как при культивировании во встряхиваемой колбе [98].

При добавлении буферного компонента (100 мМ гидрофталата калия) в среду SMG (забуференная синтетическая глицериновая) и доведении начального рН до 5 клетки *saccharomyces cerevisiae* при культивировании во встряхиваемых колбах достигают значительно более высокой плотности [99].

Модельные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* — одни из немногих дрожжей, способных к быстрому анаэробному росту на синтетических минеральных средах, дополненных ферментируемым сахаром, определенным набором витаминов группы В, источником стеролов и ненасыщенных жирных кислот [100].

С термодинамической точки зрения ферментация при повышенной температуре обеспечивает более высокую скорость роста и продуктивность дрожжей, а также экономически выгодна из-за снижения затрат на охлаждение биореакторов [101].

Аэрация обычно считается наиболее важным фактором для увеличения выхода дрожжей, и были проведены многочисленные исследования для изучения оптимизации конкретных технологических решений [102].

## **2 Материал и методика исследований**

### **2.1 Объект исследования**

Дрожжи – это одноклеточные эукариоты, у которых зеркально повторяются многие метаболические процессы высших эукариот. Кроме того, их легко выращивать на различных источниках углерода, и многие дрожжи могут адаптировать свой метаболизм к ферментативному или респираторному росту.

В геномной инженерии *Saccharomyces cerevisiae* применяют в сравнительно простых генетических манипуляциях – это экспрессии на основе плазмид, либо модификаций генома.

Жизненный цикл почкующихся дрожжей проходит через циклы бесполого и полового размножения. *Saccharomyces cerevisiae* — микроорганизм, ответственный за наиболее распространенный тип ферментации, который воспроизводится путем процесса деления, известного как почкование.

Дрожжи представляют собой хемоорганотрофные микрогрибы, которые получают углерод и энергию путем метаболизма органических субстратов.

### **2.2 Нормативные документы и методика исследований**

#### **2.2.1 Нормативные документы**

- 1)ГОСТ Р 54902-2012 Меласса тростникового сахара-сырца. Технические условия.
- 2)ГОСТ 30561-2013 Меласса свекловичная. Технические условия
- 3)ГОСТ 171-81 хлебопекарные дрожжи
- 4)ГОСТ 29294-92 Солод пивоваренный ячменный. Технические условия
- 5)ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
- 6)ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия
- 7)ГОСТ ISO 7218-2015 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

#### **2.2.2 Методика исследований**

Опыт 1. Технология приготовления солодового экстракта для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*



1) Солодовый экстракт



2) Готовая среда с разбавленным раствором солодового экстракта



3) Бутыли со средой



4) Посев ЧК в среды с экстрактом в боксе



5) Косички с чистой культурой *saccharomyces cerevisiae*



6) Самодельный аппарат для насыщения среды

Рисунок 1- Технология приготовления среды с добавлением солодового экстракта

Технология выращивания дрожжей в АДЗ состоит из первичного посева ЧК *saccharomyces cerevisiae* на специальных средах в лабораторных условиях, затем вторичного посева культуры уже в производственных условиях, в ферментерах с подачей необходимых минеральных солей в питательные среды для наращивания биомассы.

В данном опыте мы рассмотрим методику приготовления солодового экстракта для посева косичков в лабораторных условиях. Используется на данном этапе не меласса, а солодовый экстракт, так как он, по сравнению с мелассой более вязкий, содержит в себе больше питательных веществ необходимых для питания дрожжей, то есть дрожжи легко и быстро усваивают вещества из данной среды.

Как видно из рисунка 1, технология приготовления солодового экстракта в научно-производственной лаборатории ТОО «Алматинский дрожжевой завод» включал следующие процедуры:

- 1) Подготавливаем 3 бутылки по 6 л.
- 2) Готовим среду с солодовым экстрактом. Для начала готовим сухую закладку состоящую из Zn 0.5г, MgSO<sub>4</sub> 0.5г, янтарная кислота 0.005г и 12 г NaCl. Затем разбавляем солодовый экстракт водой, вносим сухую массу и доводим плотность до 17 баллинга, выравниваем pH аммиачной водой (12 мл) и ортофосфорной кислотой (15 мл) до pH=4.97-5.07.
- 3) Затем автоклавировать среду при p=1.1 атм, каждый бутылку по 1,5 часа. Полностью охлаждаем.
- 4) В боксе бутылки засеваем косичками (культура дрожжей *saccharomyces cerevisiae*) по 3 на каждый бутылку. Интенсивно перемешиваем и ставим на самодельный аппарат для насыщения раствора на сутки.
- 5) Затем готовую среду отправляем в цех ЧК для повторного засева дрожжей, где добавляем мелассу, аммиачную воду, ортофосфорную, серную кислоты, из металлов - K, Zn, Cu. Там же проводим анализ мелассы

Опыт 2. Технология приготовления мелассы для производственного культивирования *saccharomyces cerevisiae*

Технология приготовления мелассы состоит из следующих этапов:

- 1) 1 л мелассы разбавляем водой, чтобы плотность была равной 1,062, Воду вносим в количестве, необходимом для разбавления меласного раствора до нужной плотности.
- 2) Затем измеряем pH, pH должен быть равен 4,97-5,07. pH мелассы измеряли лабораторным pH-метром.
- 3) в 2 колбы наливаем по 0,5 л мелассы и добавляем по 11 г NaCl, плотно закрываем колбы пробкой и автоклавируем

2.1 Анализ мелассы. Определение содержания сахара в мелассе

*Осветление мелассы.* Массовую долю сахарозы определяем, поместив в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> 26,0 г раствора мелассы после разбавления 1:1. Для осветления в 3-4 приема прибавляем реактивы Герлес I и Герлес II порциями по 5-10 см<sup>3</sup>. Содержимое колбы доливаем дистиллированной водой почти до метки 100 см<sup>3</sup>, термостатируем при температуре 20°C 20 мин, доливают до метки, перемешиваем, фильтруем. Фильтрат поляриметрируем в трубке длиной 200 мм, определяем прямую поляризацию-45,4.

*Определение содержания сахара в мелассе по методу Офнера.* Инвертный сахар определяем в растворе, оставшемся после прямой поляризации, по методу Офнера. При определении по этому методу содержание инвертного сахара не должно превышать 15 мг в 50 мл раствора, или 7,5 мг в 25 мл раствора. Поэтому

раствор, оставшийся после прямой поляризации, разбавляем в 5 раз. Для этого 20 мл раствора переносим пипеткой в мерную колбу на 100 мл, доливаем водой до метки и перемешиваем. Так как содержание инвертного сахара в мелассе неизвестно, то вначале проводим ориентировочное определение его. В два химических стакана по 50-100 мл отмеряем пипеткой: в один 5 мл разбавленного раствора и 5 мл реактива Офнера, в другой - 2 мл того же раствора, 3 мл дистиллированной воды и 5 мл реактива Офнера. После перемешивания оба стакана ставим на сетку, нагреваем до кипения и осторожно кипятим 2-3 мин.

Если избыток меди (голубоватый цвет раствора) ясно виден в первом стакане, то для определения содержания инвертного сахара берем 25 мл раствора. Если же избыток меди замечен только во втором стакане, то для определения берем 10 мл раствора и 15 мл воды. Если избыток меди не обнаружен в обоих стаканах, то 50 мл приготовленного раствора разбавляем до 250 мл водой и в этом растворе определяют содержание инвертного сахара. В нашем случае он обнаружен сразу в двух стаканах.

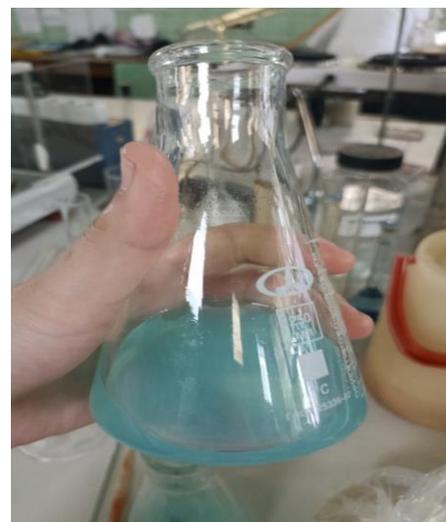


Рисунок 2- Растворы мелассы с избытком меди по методу Офнера

### Опыт 3. Технология приготовления жидкой среды Sabouraud Dextrose Broth

Для приготовления жидкой среды Сабуро взвешиваем 30 г готовой среды Sabouraud Dextrose Broth, вносим навеску в 1 л дистиллированной воды и растворяем при нагревании. Затем разливаем в пробирки с пробками по 5 мл и автоклавируем 15 мин при температуре 121 °С. Остужаем пробирки со средой до комнатной температуры и используем для посева *saccharomyces cerevisiae*.



а) Среда Sabouraud Dextrose Broth, растворенная в 1 л дистиллированной ВОДЫ



б) Розливаем среду по пробиркам в ламинарном боксе и делаем посев



с) ставим в термостат для роста культуры при  $t=20-40\text{ }^{\circ}\text{C}$



д) смотрим рост культуры под микроскопом и делаем подсчет

Рисунок 3 - Посев *saccharomyces cerevisiae* на жидкую питательную среду Sabouraud Dextrose Broth

### 3 Результаты исследований

#### 3.1 Состав питательных сред

Использование надежной буферной системы, обеспечиваемой в достаточной концентрации, важно, поскольку производство биомассы приводит к сильному подкислению наиболее часто используемых синтетических выпадающих сред, в которых в качестве источника азота используется сульфат аммония [103].

Широко используемые синтетические среды полного отсева (SD), которые используют 2% глюкозы в качестве источника углерода и сульфат аммония ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) в качестве единственного источника азота, подкисляют в процессе производства биомассы [104].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* могут легко развиваться в среде, где железа слишком мало или слишком много, поэтому предполагается, что они реагируют на истощение запасов железа, изменяя его использование, сохраняя это питательное вещество в основных метаболических путях [105].

Добавление сульфата цинка, меди и марганца в среду на основе патоки увеличивает выход биомассы *Saccharomyces cerevisiae* до 30% в полуаэробных условиях [106].

При добавлении буферного компонента (100 мМ гидрофталата калия) в среду SMG (забуференная синтетическая глицериновая) и доведении начального pH до 5 клетки *saccharomyces cerevisiae* при культивировании во встряхиваемых колбах достигают значительно более высокой плотности [99].

Опыт 4. Культивирование *saccharomyces cerevisiae* в твердой питательной среде

Шаг 1. Приготовление лизина

- 1) Лизин готовится на основе простой воды и 20 минут стоит в автоклаве.
  - 500 мл воды
  - глюкоза-25 гр, сразу 50 мл разбавляем водой
  - лизин-1,5 гр
  - $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -0,5 гр
  - $\text{MgSO}_4$ -0,5 гр
  - $\text{FeSO}_4$ -крупинку 1-2 шт
  - агар бактериологическая-7,5 гр

2) Остальные питательные среды «Эндо», «Сабура» готовятся на основе дистиллированной водой и 15 минут стоят в автоклаве

3) Далее Питательные среды «Сабура», «Лизин», «Эндо». Бактериологической петлей макаем в мелассу и распределяем в петри. Далее ставим в термостат.



Рисунок 4- С помощью бактериологической петли делаем посев штрихообразными линиями на чашки петри с питательной средой Сабуро, Лизин и Эндо

На средах с лизином *saccharomyces cerevisiae* имел круглую форму и средний размер

На твердой среде Сабуро круглую и на среде Эндо слегка овальную форму и также характерный, как указано в ISO 7218, для *Saccharomyces cerevisiae* средний размер штаммов.

### **3.2 Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на жидких питательных средах**

#### **3.2.1 Производство *Saccharomyces cerevisiae***

Для экономичного производства дрожжей многие дешевые сельскохозяйственные и промышленные отходы, в основном меласса, используется для последовательных глубинных ферментаций [107]. Биомасса дрожжей была упрощена, а ее стоимость снижена по сравнению с использованием другого сырья и зерна [108].

Первая стадия производства пекарских дрожжей (F1) начинается с колбовой культуры, содержащей патоку, которая инокулируется выбранным штаммом дрожжей [109].

В начальной стадии партии (F2) клетки подвергаются воздействию высоких концентраций сахаров, присутствующих в патоке. Все остальные питательные вещества также присутствуют в ферментере, и после стерилизации рН должен быть доведен до 4,5-5,0, чтобы затем контролировать его во время периодической ферментации. После начала периодической фазы

единственными контролируемыми параметрами являются температура и аэрация [110].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* подвергаются последующим этапам обработки, таким как промывка, разрушение клеток, экстракция белка и очистка. Биомасса пищевых дрожжей также может быть получена в качестве побочного продукта промышленного производства этанола на патоке [111].

Быстрая скорость роста и высокий выход биомассы в сочетании с хорошей разрыхляемостью теста являются наиболее важными требованиями для эффективного коммерческого производства пекарских дрожжей [112]

Сухие дрожжи подвергаются стрессу воздушной сушки в процессе приготовления. Эффекты воздушной сушки включают такие недостатки, как накопление неправильно свернутых белков, нарушение работы митохондрий и вакуолярное закисление, все из которых снижают способность к ферментации [113].

Таким образом, стрессоустойчивость при воздушной сушке является необходимой характеристикой пекарских дрожжей при приготовлении сухих дрожжей [114].

В промышленных масштабах пекарские дрожжи подвергаются нескольким множественным и непостоянным стрессам окружающей среды, которые в конечном итоге снижают выход продукта, а также негативно влияют на качество хлебобулочных изделий [115].

### **3.2.2 Культуральные свойства на жидких питательных средах**

В данном эксперименте анализировались культуральные свойства *Saccharomyces Cerevisiae* при различных температурных режимах культивирования. Сопутствующие условия соответствовали следующим: рН=5; перемешивание при 200 об. /мин.; без аэрации; на жидкой питательной среде Sabouraud Dextrose Broth (SDB).

Анализ проводился путем подсчета количества жизнеспособных клеток во времени для определения динамики скорости роста, а также конечного выхода биомассы. Период в 24 часа был выбран в виду стандартного технологического времени работы полученных дрожжевых клеток.

Подсчет проводился в соответствии с ISO 7218 методом подсчета на плотных питательных средах, применяя две повторности на каждое из двух последовательных разведений.

Ввиду большого количества проводимых подсчетов, для более быстрого определения концентрации клеток, также применили метод подсчета по оптической плотности. Был соотнесен ряд показателей оптической плотности с количеством клеток (подсчитанные на основе метода подсчета на плотных питательных средах согласно ISO 7218), представленных в таблице 1.

**Таблица 1 - Отношение оптической плотности к количеству клеток**

Оптическая плотность	Количество клеток, КОЕ/мл
0,050	$0,3 \times 10^6$
0,100	$1,7 \times 10^6$
0,150	$2,2 \times 10^6$
0,200	$4 \times 10^6$
0,250	$4,9 \times 10^6$

На основе этих данных было рассчитано уравнение тренда методом наименьших квадратов:

$$y = 23x - 0,83y \quad (1)$$

С помощью уравнения (1), были получены данные о количестве клеток *Saccharomyces cerevisiae* в самом эксперименте (с уровнем значимости 0,05), результаты которых представлена в таблице 2 и графике 1.

На данных графиках видно, что конечный выход биомассы значительно разнится при разных температурных режимах. При температуре 30 °С, которая является оптимальной для данных дрожжей, выход биомассы составил порядка  $2,8 \times 10^7$  КОЕ/мл, с учетом начального посева в  $3,5 \times 10^5$ . Исходя из оптимума, можно судить, что более низкая температура отрицательно воздействует на динамику роста, т.к. конечная концентрация клеток, при том же затраченном времени составляет  $9,1 \times 10^6$  КОЕ/мл. В случае более высокой температуры, исходя из литературных источников ожидалось более лучшие показатели, т.к. температура в диапазоне 37,5-40 °С ускоряет размножение дрожжей и является сверхоптимальной. Однако исходя из [116], данное ухудшение культуральных свойств вызвано потерей терморезистентности, ввиду постоянного использование дрожжей при оптимальной температуре 30 °С.

**Таблица 2 – Показатели оптической плотности и количества клеток *Saccharomyces cerevisiae* во времени при разных температурах**

Время	Температурный режим					
	20 °С		30 °С		40 °С	
	ОП	Кол-во клеток, КОЕ/мл	ОП	Кол-во клеток, КОЕ/мл	ОП	Кол-во клеток, КОЕ/мл
0 ч	0,051	$3,4 \times 10^5$	0,052	$3,6 \times 10^5$	0,051	$3,4 \times 10^5$
2 ч	0,053	$3,9 \times 10^5$	0,060	$5,5 \times 10^5$	0,054	$4,1 \times 10^5$
4 ч	0,053	$3,9 \times 10^5$	0,065	$6,6 \times 10^5$	0,060	$5,5 \times 10^5$
6 ч	0,054	$4,1 \times 10^5$	0,126	$2 \times 10^6$	0,078	$9,6 \times 10^5$
8 ч	0,121	$1,9 \times 10^6$	0,244	$4,8 \times 10^6$	0,134	$2,2 \times 10^6$
10 ч	0,234	$4,5 \times 10^6$	0,387	$8,1 \times 10^6$	0,278	$5,6 \times 10^6$
12 ч	0,312	$6,3 \times 10^6$	0,532	$1,1 \times 10^7$	0,409	$8,6 \times 10^6$
14 ч	0,412	$8,6 \times 10^6$	0,835	$1,8 \times 10^7$	0,512	$1,1 \times 10^7$

16 ч	0,42	$8,8 \times 10^6$	1,050	$2,3 \times 10^7$	0,680	$1,5 \times 10^7$
18 ч	0,421	$8,9 \times 10^6$	1,145	$2,6 \times 10^7$	0,760	$1,7 \times 10^7$
20 ч	0,428	$9,0 \times 10^6$	1,240	$2,8 \times 10^7$	0,789	$1,7 \times 10^7$
22 ч	0,428	$9,0 \times 10^6$	1,250	$2,8 \times 10^7$	0,800	$1,8 \times 10^7$
24 ч	0,430	$9,1 \times 10^6$	1,255	$2,8 \times 10^7$	0,822	$1,8 \times 10^7$

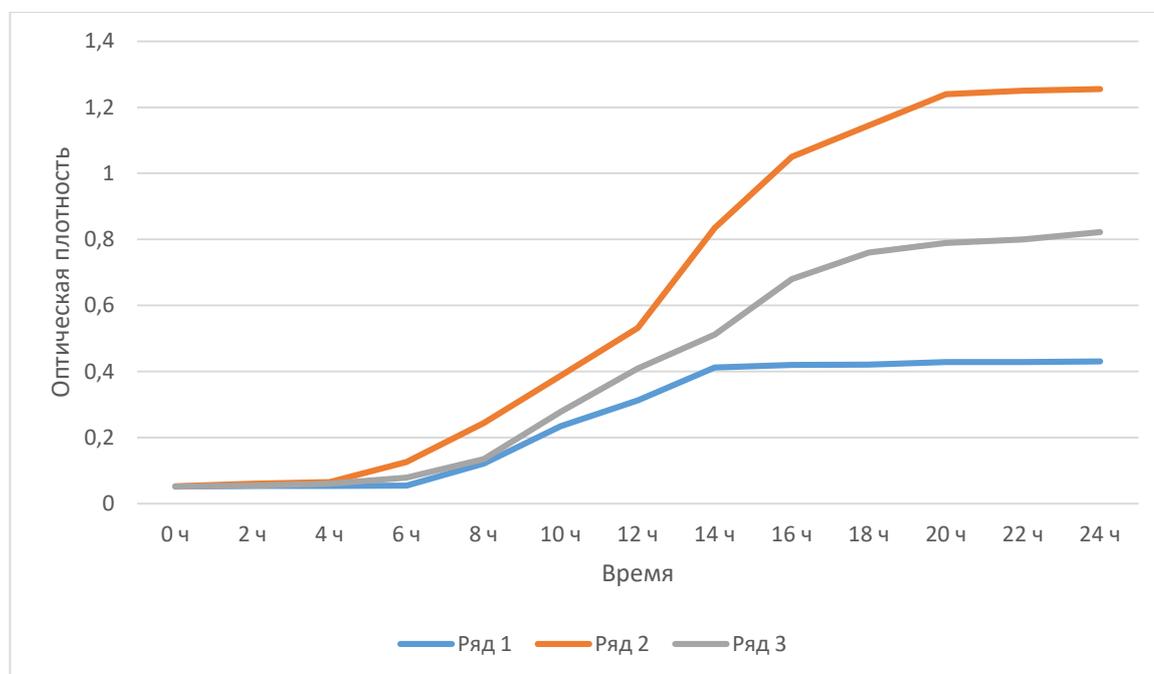


Рисунок 5 - График динамики роста *Saccharomyces Cerevisiae* при разных температурных режима

(ряд 1 — при 20 °C, ряд 2 — при 30 и ряд 3 — при 40 °C)

Таким образом, анализ культуральных свойства *S. Cerevisiae* показал, что данный микроорганизм, полученный у ТОО «АДЗ», имеет наивысшие показатели динамики роста при температуре 30 °C. Вне зависимости от температуры экспоненциальная фаза роста приходится на промежуток 6-8 ч. культивирования.

В дополнение следует отметить, что в жидких средах дрожжевые клетки могут быть сидячими или планктонными и могут образовывать хлопья и соцветия, а в твердых и полутвердых субстратах наблюдаются колонии, биопленки, нити и маты [ 117]. В условиях, богатых питательными веществами, *S. cerevisiae* растет в «дрожжевой форме», митотическом росте, быстро делаясь и образуя гладкие круглые колонии на твердой среде [118]. На комплексной респираторной агаровой среде гладкие колонии *S. Cerevisiae* проходят стадии развития, характеризующиеся фазами закисления и ощелачивания. После короткого начального подщелачивания (примерно 24 ч) гигантские колонии вступают в фазу подкисления, длящуюся примерно 8–9

дней, в течение которой колонии растут линейно [119]. При тестировании различных условий, в которых дрожжевые клетки переносят повышенные концентрации меди, мы заметили, что выращивание дрожжевых клеток на твердых средах, содержащих субтоксичные концентрации меди, приводило к окраске клеток, обычно от кремово-белого до коричневого, и это было замечено как на богатой среде (YPD), так и на богатой среде (YPD) и синтетические среды (SC или MM) [120]. Когда *S. cerevisiae* растет в анаэробных условиях, клетки обычно меньше, чем клетки, выращенные в аэробных условиях [121].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заключение. Анализ культуральных свойства *S. Cerevisiae* показал, что данный микроорганизм, полученный у ТОО «АДЗ», имеет наивысшие показатели динамики роста при температуре 30 °С. Вне зависимости от температуры экспоненциальная фаза роста приходится на промежуток 6-8 ч. культивирования.

## ВЫВОДЫ

1 Изучено фундаментальное и прикладное значение пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

2 Изучена технология приготовления солодового экстракта для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*.

3 Изучены культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae* на твердой и жидкой питательной среде.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Walker LJ, Aldhous MC, Drummond HE, Smith BR, Nimmo ER, Arnott ID, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in Crohn's disease are associated with disease severity but not NOD2/CARD15 mutations // *Clin Exp Immunol.* 2004 vol 135(3) —PP.490–6, doi: 10.1111/j.1365-2249.2003.02392
- 2 Carreto, L., Eiriz, M. F., Gomes, A. C., Pereira, P. M., Schuller, D., and Santos M. A. S. (2008). Comparative genomics of wild type yeast strains unveils important genome diversity // *BMC Genomics* 9:524, doi: 10.1186/1471-2164-9-524
- 3 Replansky, T., Koufopanou, V., Greig, D., and Bell, G. (2008). *Saccharomyces sensu stricto* as a model for evolution and ecology // *Trends Ecol. Evol.* 23, PP. —494–501,doi: 10.1016/j.tree.2008.05.005
- 4 Walls, L., Malci, K., Nowrouzi, B., Li, R., d'Espaux, L., Wong, J., et al. (2020). Optimising the biosynthesis of oxygenated and acetylated Taxol precursors in *Saccharomyces cerevisiae* using advanced bioprocessing strategies // *Biotechnol. Bioeng.* PP. —117,doi: 10.22541/AU.159171835.57883067
- 5 Thomson JM, Gaucher EA, Burgan MF, et al. Resurrecting ancestral alcohol dehydrogenases from yeast // *Nat Genet.* 2005; 37: 630–635—PP
- 6 Walker GM (1998) Yeast Technology // *Yeast Physiology and Biotechnology*, pp. —265–320. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK
- 7 Botstein D, Fink GR. Yeast: an experimental organism for 21st Century biology. *Genetics.* 2011; 189(3):695–704—PP,doi:10.1534/genetics.111.130765.
- 8 Hong, K.-K., and Nielsen, J. (2012). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*: a key cell factory platform for future biorefineries // *Cell. Mol. Life Sci.* vol .-69, PP. —2671–2690,doi: 10.1007/s00018-012-0945-1
- 9 Blasco, L; Veiga-Crespo, P; Villa, TG. A new disruption vector (pDHO) to obtain heterothallic strains from both *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces pastorianus* // Dec 2011 international microbiology vol. —14 (4), pp. —201-206
- 10 De Vuyst L, Harth H, Van Kerrebroeck S, Leroy F. (2016) Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities // *International Journal of Food Microbiology* vol. —239:PP. — 26–34
- 11 Moslehi-Jenabian S, Pedersen LL, Jespersen L. Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health // *Nutrients.* 2010; vol. —2:PP. — 449–73
- 12 Kado H, Shibata T, Kobayashi F, Kubota M. Process for producing yeast extract // WO Patent. 1998 1,998,046,089
- 13 Boynton PJ, Greig D. The ecology and evolution of non-domesticated *Saccharomyces* species // *Yeast.* 2014;vol. —31,PP. —449–62
- 14 Hensing MC Rouwenhorst RJ Heijnen JJet al. Physiological and technological aspects of large-scale heterologous-protein production with yeasts *Anton Leeuw* 1995 67 26179
- 15 Sniegowski PD, Dombrowski PG, Fingerman E. *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces paradoxus* coexist in a natural woodland site in North America and

display different levels of reproductive isolation from European conspecifics // FEMS Yeast Res. 2002;vol. —1,PP. — 299–306

16 Stefanini, I., Dapporto, L., Legras, J. L., Calabretta, A., Di Paola, M., De Filippo, C., et al. (2012). Role of social wasps in *Saccharomyces cerevisiae* ecology and evolution // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. pp. —109, 13398–13403, doi: 10.1073/pnas.1208362109

17 Grangeteau, C., Yahou, F., Everaerts, C., Dupont, S., Farine, J. P., BENEY, L., et al. (2018). Yeast quality in juvenile diet affects *Drosophila melanogaster* adult life traits. Sci. Rep. 8:13070,doi: 10.1038/s41598-018-31561-9

18 Spor A, Nidelet T, Simon J, et al. Niche-driven evolution of metabolic and life-history strategies in natural and domesticated populations of *Saccharomyces cerevisiae* // BMC Evol Biol. 2009;vol. —9,PP. —296

19 Torok, T.; Mortimer, R.K.; Romano, P.; Suzzi, G.; Polsinelli, M. Quest for wine yeasts-an old story revisited // J. Ind. Microbiol. 1996,vol. —17, PP. —303–313

20 Mortimer, R.; Polsinelli, M. On the origins of wine yeast // Res. Microbiol. 1999, vol. —150, pp. —199–204

21 Primrose J. Boynton , Duncan Greig The ecology and evolution of non-domesticated *Saccharomyces* species // Yeast, 2014. vol. — 31(12), <https://doi.org/10.1002/yea.3040>

22 Hansen J, Kielland-Brandt MC. Modification of biochemical pathways in industrial yeasts // J Biotechnol 1996;vol. —49:PP. —1–12

23 Ford, G and Ellis, EM 10th Conference on Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism Jan 30 2001 // chemico-biological interactions 130 (1-3) , pp. —685-698, [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(00\)00259-3](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(00)00259-3)

24 S.-O. Suh, M. Blackwell, C. P. Kurtzman, and M.-A. Lachance, “Phylogenetics of Saccharomycetales, the ascomycete yeasts,” // *Mycologia*, vol. — 98, no. 6, pp. —1006–1017, 2006.

25 Theobald U. *Untersuchungen zur Dynamik des Crabtree-Effektes. Ph.D. Thesis* // Institut für Bioverfahrenstechnik der Universität Stuttgart 1995

26 Меледина Т.В., Давыденко С.Г. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм // Учеб. пособие. – СПб.: Университет ИТМО, 2015. – 88 с

27 Walker, G.M. *Yeast Physiology & Biotechnology*; John Wiley & Sons: Chichester, UK; New York, NY, USA, 1998

28 Котенко С. Ц., Исламмагомедова Э.А., Халилова Э.А./ Ферментативная активность и морфологические особенности дрожжей *saccharomyces cerevisiae* у-503 при культивировании в аэробных и анаэробных условиях//Юг России :экология , развитии-2010.-№1—Стр 12-16

29 Mortimer R. K., 2000. Evolution and variation of the yeast (*Saccharomyces*) genome // *Genome Res.* Vol. —10,PP. —403–409

30 Li S.C., Kane P.M., The Yeast Lysosome-like Vacuole: Endpoint and Crossroads // *Biochim Biophys Acta.* 2009 Apr; vol.-1793(4), PP.-650-663, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2906225/>

- 31 Losev E, Reinke CA, Jellen J, Strongin DE, Bevis BJ, Glick BS. 2006. Golgi maturation visualized in living yeast // *Nature* vol . — 441,PP. —1002–1006
- 32 Klis, F. M., Boorsma, A., and De Groot, P. W. (2006). Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast* vol. —23, PP. —185–202
- 33 Lesage, G.; Bussey, H. Cell wall assembly in *Saccharomyces cerevisiae* // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2006, vol. —70, PP. —317–343
- 34 Aguilar-Uscanga B Francois JM (2003) A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation // *Lett Appl Microbiol* vol. —37:PP. — 268–274
- 35 Stenson J D 2008 A thesis The University of Birmingham. pp 192-199
- 36 Uscanga A and Francois B J M 2003 // Letter in Applied Microb. Vol. — 37,pp. — 268-274
- 37 Casalone E, Barberio C, Cappellini L, Polsinelli M (2005) Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* natural populations for pseudohyphal growth and colony morphology // *Res Microbiol* vol. —156,PP. —191-200
- 38 Valentin, E., Herrero, E., Rico, H., Miragall, F., and Sentandreu, R. (1987). Cell wall mannoproteins during the population growth phases in *Saccharomyces cerevisiae* // *Arch. Microbiol.* Vol. —148,PP. —88–94, doi: 10.1007/BF00425354
- 39 de Nobel, J. G., Klis, F. M., Priem, J., Munnik, T., and van den Ende, H. (1990). The glucanase-soluble mannoproteins limit cell wall porosity in *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast* vol. — 6, PP. —491–499, doi: 10.1002/yea.320060606
- 40 Jorgensen P., Nishikawa,J.L., Breikreutz,B.J. and Tyers,M. (2002) Systematic identification of pathways that couple cell growth and division in yeast // *Science*, vol. —297,PP. —395–400
- 41 Aon JC, Sun J, Leighton J, Appelbaum E. Hypoxia-elicited impairment of cell wall integrity, glycosylation precursors synthesis, and growth in scaled-up high-cell density fed-batch cultures of *Saccharomyces cerevisiae* // *Microb Cell Fact.* 2016;vol. —15,PP. —142
- 42 Cid VJ, Duran A, Del Rey F, Snyder MP, Nombela C, Sanchez M. Molecular basis of cell integrity and morphogenesis in *Saccharomyces cerevisiae* // *Microbiol Rev.* 1995;vol. —59,PP. —345–86
- 43 Dranginis, A. M., Rauceo, J. M., Coronado, J. E. & Lipke, P. N. A biochemical guide to yeast adhesins: glycoproteins for social and antisocial occasions // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* vol.-71, PP. —282–294 (2007)
- 44 Cullen, P. J. & Sprague, G. F. Jr. The regulation of filamentous growth in yeast // *Genetics* vol. —190, PP. —23–49 (2012)
- 45 Goffeau, A., Barrell, B. G., Bussey, H., Davis, R. W., Dujon, B., Feldmann, H., Galibert, F., Hoheisel, J. D., Jacq, C., Johnston, M., Louis, E. J., Mewes, H. W., Murakami, Y., Philippsen, P., Tettelin, H., Oliver, S. G. (1996). Life with 6000 Genes // *Science*, vol. —274(5287), 546567, <https://doi.org/10.1126/science.274.5287.546>
- 46 Rizvi, S. M. A., Prajapati, H. K., Ghosh, S. K. (2018). The 2 micron plasmid: A selfish genetic element with an optimized survival strategy within

- Saccharomyces cerevisiae* // *Current Genetics*, vol. — 64(1), PP. —25–42, <https://doi.org/10.1007/s00294-017-0719-2>
- 47 R. D. Gietz and R. A. Woods // *Yeast Protocols* 2nd Ed, volume 313. Springer, 2016 doi: <https://doi.org/10.1385/1-59259-958-3:107>
- 48 A. M. Neiman, “Ascospore formation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*,” // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. —69, no. 4, pp. — 565–584, 2005
- 49 Primrose J. Boynton , Duncan Greig The ecology and evolution of non-domesticated *Saccharomyces* species // *Yeast*, 2014. —vol. 31(12)
- 50 Y. Lin et al., “Cucurbitacin B Exerts Antiaging Effects in Yeast by Regulating Autophagy and Oxidative Stress,” // *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2019, 2019
- 51 Friedman N. The Friedman Lab Chronicles. Growing yeasts (Robotically) // *Nir Friedman Lab*. 2011
- 52 Coluccio AE, Rodriguez RK, Kernan MJ, Neiman AM. 2008. The yeast spore wall enables spores to survive passage through the digestive tract of *Drosophila* // *PLoS One* **3**: e2873
- 53 R. Li, A.W. Murray Feedback control of mitosis in budding yeast *Cell*, vol. — 66 (1991) , pp. —519-531
- 54 Ingledew, W.M. Alcohol production by *Saccharomyces cerevisiae*: A yeast primer. In *The Alcohol Textbook*, 3rd ed.; Lyons, T.P., Kelsall, D.R., Eds // Nottingham University Press: Nottingham, UK, 1999; pp. — 49–87
- 55 Palkova Z Devaux F Rivicova M Minarikova L Le Crom S Jacq C(2002) Ammonia pulses and metabolic oscillations guide yeast colony development // *Mol Biol Cell* vol. —13: PP. —3901–3914
- 56 Meunier JR Choder M (1999) *Saccharomyces cerevisiae* colony growth and ageing: biphasic growth accompanied by changes in gene expression // *Yeast* vol. — 15: PP. —1159–1169
- 57 Klosinska, M.M.; Crutchfield, C.A.; Bradley, P.H.; Rabinowitz, J.D.; Broach, J.R. Yeast cells can access distinct quiescent states // *Genes Dev*. 2011, vol. —25, PP. —336–349
- 58 Orij, R., Postmus, J., Ter Beek, A., Brul, S., and Smits, G. J. (2009). In vivo measurement of cytosolic and mitochondrial pH using a pH-sensitive GFP derivative in *Saccharomyces cerevisiae* reveals a relation between intracellular pH and growth // *Microbiology* vol. —155, PP. —268–278, doi: 10.1099/mic.0.022038-0
- 59 Pothoulakis, G.; Ellis, T. Synthetic gene regulation for independent external induction of the *Saccharomyces cerevisiae* pseudohyphal growth phenotype // *Commun. Biol*. 2018, vol. — 1, PP. — 7
- 60 Koschwanez, J.H.; Foster, K.R.; Murray, A.W. Sucrose utilization in budding yeast as a model for the origin of undifferentiated multicellularity // *PLoS Biol*. 2011, PP. — 9, e1001122
- 61 Chambers, P.J.; Pretorius, I.S. Fermenting knowledge: The history of winemaking, science and yeast research // *EMBO Rep*. 2010, vol. — 11, PP. — 914–920

- 62 Gancedo JM. Yeast carbon catabolite repression // *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; vol. —62:PP. —334–61
- 63 Walker, G.M. Fermentation (Industrial). Media for Industrial Fermentations. In *Encyclopedia of Food Microbiology*; Batt, C., Tortorello, M.L., Eds. // Elsevier Science Publishers: Boston, MA, USA, 2014
- 64 Kraft P, Pharoah P, Chanock SJ, Albanes D, Kolonel LN, Hayes RB, et al. Genetic variation in the HSD17B1 gene and risk of prostate cancer // *PLoS Genet.* 2005;vol. —1(5):PP. —68
- 67 Barford J. P., Jeffery P. M., Hall R. J. 1981; The Crabtree effect in *Saccharomyces cerevisiae* -primary control mechanism or transient? // *In Advances in Biotechnology* 1 pp 255–260 Moo-Young M., Robinson C. W., Vezina C. Edited by Toronto
- 68 Dedeken, R.H. The crabtree effect: A regulatory system in yeast. *J Gen. Microbiol.* 1966, vol. —44, PP. —149–156
- 69 Fiechter A, Seghezzi W (1992) Regulation of glucose metabolism in growing yeast cells // *J Biotechnol* vol. —27:PP. —27–45
- 70 Lillie SH, Pringle JR (1980) Reserve carbohydrate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*: responses to nutrient limitation // *J Bacteriol* vol. —143: PP. —1384–1394
- 71 Bennett MR, Pang WL, Ostroff NA, Baumgartner BL, Nayak S, et al. (2008) Metabolic gene regulation in a dynamically changing environment // *Nature* vol. —454:PP. — 1119–1122
- 72 Gancedo C, Serrano R (1989) Energy-Yielding Metabolism // *The Yeasts* vol.- 3, 2nd edition. pp. — 205–259
- 73 Brauer MJ, Saldanha AJ, Dolinski K, Botstein D (2005) Homeostatic adjustment and metabolic remodeling in glucose-limited yeast cultures // *Mol Biol Cell* vol. —16: PP. —2503–2517
- 74 Badotti F Dário MG Alves Junior SI et al. Switching the mode of sucrose utilization by *Saccharomyces cerevisiae* *Microb Cell Fact* 2008
- 75 Carbonetto B, Ramsayer J, Nidelet T, et al. Bakery yeasts, a new model for studies in ecology and evolution // *Yeast.* 2018;vol. —35:PP. —591–603
- 76 Samani P Low-decarie E Mckelvey K et al. Metabolic variation in natural populations of wild yeast // *Ecol Evol* 2015 5 72232
- 77 van Dijken JP Bauerb J Brambillac L et al. An interlaboratory comparison of physiological and genetic properties of four *Saccharomyces cerevisiae* strains // *Enzyme Microb* 2000 26 706 14
- 78 Gadaga T.H. Mutukumira A.N.Narvhus J.A.(2001) The growth and interaction of yeasts and lactic acid bacteria isolated from Zimbabwean naturally fermented milk in UHT mil // *Int. J. Food Microbiol.vol.* —68,PP. — 21–32
- 79 Li, Z., Wang, D., & Shi, Y. C. (2017). Effects of nitrogen source on ethanol production in very high gravity fermentation of corn starch // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineer*

80 fermentation rate in nitrogen-deficient wine musts // Biomass Content Governs Fermentation Rate in Nitrogen-Deficient Wine Musts, vol. —70(6), 3392-3400. [http://dx.doi.org/10.1128/AEM.70.6.3392-](http://dx.doi.org/10.1128/AEM.70.6.3392-3400)

81 Куренная О.Н ,Ильина Л.Д, Ткаченко А.Ф, Коваль Е.А,Середа Л.А , Рудниченко Л.В , Мосендз В.Г , Янчевский В.К/ Штамм дрожжей *saccharomyces cerevisiae* для получения хлебопекарных дрожжей и этанола на мелассе – 1995.- № 4907195/13-Стр 1-9. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=38011034>

82 Dickinson, Q.; Bottoms, S.; Hinchman, L.; McIlwain, S.; Li, S.; Myers, C.L.; Boone, C.; Coon, J.J.; Hebert, A.; Sato, T.K. Mechanism of imidazolium ionic liquids toxicity in *Saccharomyces cerevisiae* and rational engineering of a tolerant, xylose-fermenting strain // *Microb. Cell Factories* 2016, vol. —15,PP. —17.

83 Michael Hanscho, David E. Ruckerbauer, Neha Chauhan, Harald F. Hofbauer, Stefan Krahulec, Bernd Nidetzky, Sepp D. Kohlwein, Juergen Zanghelli ni, and Klaus Natter. Nutritional requirements of the BY series of *Saccharomyces cerevisiae* strains for optimum growth // *FEMS Yeast Research*, vol. —12(7):PP. — 796–808, 2012

84 Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов // Справочник. М., 1990

85 Авторское свидетельство СССР 1310425, кл. С 12 N 1/16, 1983

86 Sandven P, Lassen J. The Norwegian external quality assessment program for bacteriology, mycology and parasitology // *Med Microbiol Lett.* 1994;vol. —3:PP. —138–141

87 Merz W G, Roberts G D. Detection and recovery of fungi from clinical specimens . In: Murray P R, Baron E J, Pfaller M A, Tenover F C, Tenover R H, editors. *Manual of clinical microbiology* // Washington, D.C: American Society for Microbiology; 1995. pp. — 709–722

88 Lee UK, Salminen S. *Handbook of probiotics and prebiotics* // 2 nd ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc; 2009

89 Valli, V., Gómez-Caravaca, A. M., Di Nunzio, M., Danesi, F., Caboni, M. F., & Bordoni, A. (2012). Sugar Cane and Sugar Beet Molasses, Antioxidant-rich Alternatives to Refined Sugar // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. — 60(51), 12508–12515,doi:10.1021/jf304416d

90 Saothong, Prayootha, b;Ninchan, Boontiwaa;Sriroth, Klanaronga, b;Rattanaporn, Kittiponga;Vanichsiratana, Wirata, (2020) Kinetics of *saccharomyces cerevisiae* fermentation under metal ions stress during ethanol production

91 L. Camacho-Ruiz, N. Perez-Guerra, R.P. Roses Factors affecting the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in batch culture and in solid sate fermentation *Electron J. Environ. Agric // Food Chem.*, vol. —2 (2003), pp. — 531-542

92 Marechal, P.A., de Maranon, I.M., Molin, P., and Gervais, P. (1995) Yeast cell responses to water potential variations // *Int J Food Microbiol* vol. —28: PP. — 277–287

93 Salvadó, Z., Arroyo-López, F.N., Guillamón, J.M., Salazar, G., Querol, A., and Barrio, E. (2011). Temperature Adaptation Markedly Determines Evolution within the Genus *Saccharomyces* // *Appl. Environ. Microbiol* VOL. —77, 2292–2302

- 94 Kanshin E, Kubiniok P, Thattikota Y, D'Amours D, Thibault P. Phosphoproteome dynamics of *Saccharomyces cerevisiae* under heat shock and cold stress // *Mol Syst Biol*. 2015;VOL. —11(6):pp.-813
- 95 Nur IT, Munna MS, Noor R. Study of exogenous oxidative stress response in *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. and *Salmonella* spp // *Turk J Biol*. 2014;vol. —38:PP. —502–9
- 96 Жуковская С.В. Евразийский союз ученых. 2015. № 4-5 (13). С. 85-88
- 97 Kashket, E. R. 1987. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance // *FEMS Microbiol. Rev.* vol. —46:PP. —233-244
- 98 Humphrey A. Shake flask to fermentor: what have we learned // *Biotechnol Prog*. 1998;vol. —14:PP. —3–7. doi:10.1021/bp970130k
- 99 Islam Z, Klein M, Aßkamp MR, Ødum ASR, Nevoigt E. A modular metabolic engineering approach for the production of 1,2-propanediol from glycerol by *Saccharomyces cerevisiae* // *Metab Eng*. 2017;vol. —44:PP. —223–35
- 100 Bulder CJEA, Reinink M. Unsaturated fatty acid composition of wild type and respiratory deficient yeasts after aerobic and anaerobic growth // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1974;vol. — 40: PP. —445–55
- 101 Taylor, M.P., Eley, K.L., Martin, S., Tuffin, M.I., Burton, S.G. and Cowan, D.A. (2009) Thermophilic ethanologensis: future prospects for second-generation bioethanol production // *Trends Biotechnol* vol. — 27,PP. — 398–405
- 102 Gelinas P. Aeration and foam control in Baker's yeast production // *Mapping patents. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2015;vol. —15:PP. —371-391, DOI: 10.1111/1541-4337.12188
- 103 Hensing MCM, et al. Effects of cultivation conditions on the production of heterologous  $\alpha$ -galactosidase by *Kluyveromyces lactis* // *Appl Microbiol Biotechnol*. 1995; vol. —43:PP. —58–64
- 104 González-Ramos D, et al. A new laboratory evolution approach to select for constitutive acetic acid tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* and identification of causal mutations. *Biotechnol Biofuels*. 2016;9:173; Burtner CR, Murakami CJ, Kennedy BK, Kaerberlein M // A molecular mechanism of chronological aging in yeast. *Cell Cycle*. 2009;vol. —8:1256–70
- 105 Philpott CC, Protchenko O (2008) Response to iron deprivation in *Saccharomyces cerevisiae* // *Eukaryot. Cell* 7:20-27
- 106 Stehlik-Tomas, V., Zetić, V. G., Stanzer, D., Grba, S., and Vahčić, N. (2004). Zinc, cooper and manganese enrichment in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Food Technol. Biotechnol.* Vol. —42,PP. — 115–120
- 107 Jiru TM. Evaluation of yeast biomass production using molasses and supplements [dissertation] // Addis Ababa: Taylor & Francis; 2009
- 108 Roman W, editor. *BiologiaetIndustria, Yeasts*. Vol. —1. The Hague: Taylor & Francis; 1957
- 109 Chen S. L. Chiger M. Production of baker's yeast. (1985 In *Comprehensive Biotechnology* ed. Moo-Young, M., Blarch, H.W., Drew, S. and Wang, D.I.C. 429462 New York: Pergamon Press

- 110 Maemura H, Morimura S, Kida K. 1998 Effects of aeration during the cultivation of pitching yeast on its characteristics during the subsequent fermentation of wort // *J Inst Brew.* 104207211
- 111 Bekatorou AP, Psarianos C, Koutinas AA. Production of food grade yeasts. // *Food Technol Biotechnol.* 2006;vol. —44:PP. —407–415
- 112 Beudeker RF, Dam HWV, Plaat JBVD, Vellenga K. Developments in baker's yeast production. In: Verachtert H, Mot RD, editors // *Yeast biotechnology and biocatalysis.* New York: Taylor & Francis; 1990; p. —103–146
- 113 Shima J, Ando A, Takagi H. Possible roles of vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase and mitochondrial function in tolerance to air-drying stress revealed by genome-wide screening of *Saccharomyces cerevisiae* deletion strains // *Yeast.* 2008;vol. —25:PP.-179–190
- 114 Franca MB, Panek AD, Eleutherio EC. Oxidative stress and its effects during dehydration // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2007;vol. —146:pp.-621–631
- 115 Gibson BR, Lawrence SJ, Leclaire JP, Powell CD, Smart KA. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling // *FEMS Microbiol Rev.* 2007;vol. —31:PP. —535–569 ,doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00076.x
- 116 Калюжин В. А. Терморезистентность у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *ЭЛЕМЕНТЫ*, 2011. — Том 72, № 2. — С. 140–149
- 117 Brückner, S. & Mösch, H.-U. Choosing the right lifestyle: Adhesion and development in *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Microbiol. Rev.* vol. —36,PP. —25–58. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00275.x> (2012)
- 118 Gagiano M, Bauer FF, Pretorius IS (2002) The sensing of nutritional status and the relationship to filamentous growth in *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Yeast Res* 2:PP. — 433–470
- 119 Vachova L., Palkova Z. How structured yeast multicellular communities live, age and die? // *FEMS Yeast Res.* 2018;18:foy033
- 120 Sherman F. Getting started with yeast // *Methods Enzymol.* 2002;3vol. —50:PP. —3–41, doi: 10.1016/s0076-6879(02)50954-x
- 121 Liesche, J., Marek, M., and Günther-Pomorski, T. (2015). Cell wall staining with Trypan blue enables quantitative analysis of morphological changes in yeast cells // *Front. Microbiol.* Vol. —6:PP. —107, doi: 10.3389/fmicb.2015.00107.



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

**ОТЗЫВ  
НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ**

на дипломную работу  
Дамуллаева Амина Сардаровна  
6В05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Тема: «Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на жидких питательных средах»

Дипломная работа Дамуллаевой Амины Сардаровны выполнена в соответствии с заданием научного руководителя, в рамках требований университета. Тема дипломной работы выполнена на тему «Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на жидких питательных средах» с использованием подсчета количества жизнеспособных клеток во времени на спектрометре для определения динамики скорости роста, а также конечного выхода биомассы. В дипломе предлагается метод приготовления среды с добавлением солодового экстракта для наилучшего культивирования дрожжей. В дипломной работе анализ культуральных свойства *S. Cerevisiae* показал, что микроорганизм, полученный у ТОО «АДЗ», имеет наивысшие показатели динамики роста при температуре 30 °С. Вне зависимости от температуры экспоненциальная фаза роста приходится на промежуток 6-8 ч. культивирования.

Предложенные результаты позволяют подобрать наиболее эффективные оптимальные условия для выращивания *Saccharomyces cerevisiae* при производстве хлебопекарных дрожжей.

Тема дипломной работы раскрыта полностью, изложение материала четкое и последовательное.

Существенных недостатков в работе не выявлено.

Дипломная работа заслуживает оценки «отлично».

**Научный руководитель**  
к.с.х.н., доцент, ассоц. профессор



Джамалова Г.А

«2» июня 2023



## Metadane

Tytuł

**Изучение культуральных свойств промышленных штаммов Saccharomyces cerevisiae на жидких питательных среда.pdf**

Autor/zy

Дамуллаева А.С,

Promotor

Гуля Джамалова

Jednostka organizacyjna

ИГИНГД

## Alerty

W tej sekcji znajdują się statystyki występowania w tekście zabiegów edytorskich, które mogą mieć na celu zaburzenie wyników analizy. Niewidoczne dla osoby zapoznającej się z treścią pracy na wydruku lub w pliku, wpływają na frazy porównywane podczas analizy tekstu (poprzez celowe błędy pisowni) w celu ukrycia zapożyczeń lub obniżenia wyników w Raporcie podobieństwa. Należy ocenić, czy zaznaczone wystąpienia wynikają z uzasadnionego formatowania tekstu (nadwrażliwość systemu), czy są celową manipulacją.

Znaki z innego alfabetu		3
Rozstrzelenia		0
Mikrospacje		0
Ukryte znaki		0
Parafrazy		26

## Metryka podobieństw

Należy pamiętać, że wysokie wartości Współczynników nie oznaczają automatycznie plagiatu. Raport powinien zostać przeanalizowany przez kompetentną / upoważnioną osobę. Wyniki są uważane za wymagające szczegółowej analizy, jeśli WP 1 wynosi ponad 50%, a WP 2 ponad 5%.



25

Długość frazy dla WP 2



5887

Liczba słów



44877

Liczba znaków

## Aktywne listy podobieństw

Uwagi wymagają szczególnie fragmenty, które zostały włączone do WP 2 (zaznaczone pogrubieniem). Użyj linku "Pokaż w tekście" i zobacz, czy są to krótkie frazy rozproszone w dokumencie (przypadkowe podobieństwa), skupione wokół siebie (parafraza) lub obszerne fragmenty bez wskazania źródła (tzw. "kryptocytaty").

### 10 najdłuższych fragmentów

Kolor w tekście

LP	TYTUŁ LUB ADRES URL ŹRÓDŁA (NAZWA BAZY)	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	<a href="https://www.spec-kniga.ru/tehnohimicheski-kontrol/tehnohimicheskij-kontrol-brodilnyh-proizvodstv/syre-brodilnyh-proizvodstv-melassa.html">https://www.spec-kniga.ru/tehnohimicheski-kontrol/tehnohimicheskij-kontrol-brodilnyh-proizvodstv/syre-brodilnyh-proizvodstv-melassa.html</a>	186	3.16 %
2	<a href="https://euroasia-science.ru/tehnicheskije-nauki/%D0%B8%D0%B7%D1%83%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%B2%D0%BB%D0%B8%D1%8F%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D1%84%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BA%D0%BE-%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D1%85%D1%84%D0%B0/">https://euroasia-science.ru/tehnicheskije-nauki/%D0%B8%D0%B7%D1%83%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%B2%D0%BB%D0%B8%D1%8F%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D1%84%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BA%D0%BE-%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D1%85%D1%84%D0%B0/</a>	36	0.61 %
3	<a href="https://patents.google.com/patent/RU2215781C2/ru">https://patents.google.com/patent/RU2215781C2/ru</a>	27	0.46 %

4	<a href="https://findpatent.ru/patent/203/2039813.html">https://findpatent.ru/patent/203/2039813.html</a>	23	0.39 %
5	<a href="http://xn----8sbahh2artns1f8cxa.xn--p1ai/userfiles/education/gym/predprofessionalnaya_programma.docx">http://xn----8sbahh2artns1f8cxa.xn--p1ai/userfiles/education/gym/predprofessionalnaya_programma.docx</a>	19	0.32 %
6	<a href="https://patents.google.com/patent/RU2215781C2/ru">https://patents.google.com/patent/RU2215781C2/ru</a>	18	0.31 %
7	<a href="https://library.fsetan.ru/doc/gost-29184-91-produktyi-pischevyie-metodyi-vyiyavleniya-i-opredeleniya-kolichestva-bakterij-semejstva-enterobacteriaceae-ne-dejstvuet-na-territorii-rf/">https://library.fsetan.ru/doc/gost-29184-91-produktyi-pischevyie-metodyi-vyiyavleniya-i-opredeleniya-kolichestva-bakterij-semejstva-enterobacteriaceae-ne-dejstvuet-na-territorii-rf/</a>	15	0.25 %
8	<a href="https://normacs.net/Doclist/doc/RAD.html">https://normacs.net/Doclist/doc/RAD.html</a>	13	0.22 %
9	<a href="https://findpatent.ru/patent/203/2039813.html">https://findpatent.ru/patent/203/2039813.html</a>	12	0.20 %
10	<a href="https://earthpapers.net/issledovanie-rekombinantnyh-shtammov-saccharomyces-cerevisiae-i-razrabotka-tehnologicheskikh-priyomov-glubokoy-pererabotki">https://earthpapers.net/issledovanie-rekombinantnyh-shtammov-saccharomyces-cerevisiae-i-razrabotka-tehnologicheskikh-priyomov-glubokoy-pererabotki</a>	11	0.19 %

#### z bazy RefBooks (0.29 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
<b>Źródło: Paperity - abstrakty</b>			
1	Adsorption of ytterbium onto <i>Saccharomyces cerevisiae</i> fungal cells: A pH-dependent contribution of phosphoryl functional group Kazuya Tanaka, Shinya Yamasaki, MingYu Jiang, Satoshi Utsunomiya, Toshihiko Ohnuki;	17 (2)	0.29 %

#### z bazy macierzystej (0.00 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
----	-------	--------------------------------

#### z Programu Wymiany Baz (0.00 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
----	-------	--------------------------------

#### z Internetu (7.07 %)

LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)	
1	<a href="https://www.spec-kniga.ru/tehnimicheskij-kontrol/tehnimicheskij-kontrol-brodilnyh-proizvodstv/syre-brodilnyh-proizvodstv-melassa.html">https://www.spec-kniga.ru/tehnimicheskij-kontrol/tehnimicheskij-kontrol-brodilnyh-proizvodstv/syre-brodilnyh-proizvodstv-melassa.html</a>	186 (1)	3.16 %
2	<a href="https://normacs.net/Doclist/doc/RAD.html">https://normacs.net/Doclist/doc/RAD.html</a>	47 (5)	0.80 %
3	<a href="https://patents.google.com/patent/RU2215781C2/ru">https://patents.google.com/patent/RU2215781C2/ru</a>	45 (2)	0.76 %
4	<a href="https://euroasia-science.ru/tehnicheskije-nauki/%D0%B8%D0%B7%D1%83%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%B2%D0%BB%D0%B8%D1%8F%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D1%84%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BA%D0%BE-%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D1%85%D1%84%D0%B0/">https://euroasia-science.ru/tehnicheskije-nauki/%D0%B8%D0%B7%D1%83%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5-%D0%B2%D0%BB%D0%B8%D1%8F%D0%BD%D0%B8%D1%8F%D1%84%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BA%D0%BE-%D1%85%D0%B8%D0%BC%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D1%85%D1%84%D0%B0/</a>	36 (1)	0.61 %
5	<a href="https://findpatent.ru/patent/203/2039813.html">https://findpatent.ru/patent/203/2039813.html</a>	35 (2)	0.59 %
6	<a href="http://xn----8sbahh2artns1f8cxa.xn--p1ai/userfiles/education/gym/predprofessionalnaya_programma.docx">http://xn----8sbahh2artns1f8cxa.xn--p1ai/userfiles/education/gym/predprofessionalnaya_programma.docx</a>	19 (1)	0.32 %
7	<a href="http://rmebrk.kz/journals/2412/75824.pdf">http://rmebrk.kz/journals/2412/75824.pdf</a>	16 (2)	0.27 %

8	<a href="https://library.fsetan.ru/doc/gost-29184-91-produktyi-pischevyie-metodyi-vyiyavleniya-i-opredeleniya-kolichestva-bakterij-semejstva-enterobacteriaceae-ne-dejstvuet-na-territorii-rf/">https://library.fsetan.ru/doc/gost-29184-91-produktyi-pischevyie-metodyi-vyiyavleniya-i-opredeleniya-kolichestva-bakterij-semejstva-enterobacteriaceae-ne-dejstvuet-na-territorii-rf/</a>	15 (1)	0.25 %
9	<a href="https://earthpapers.net/issledovanie-rekombinantnyh-shtammov-saccharomyces-cerevisiae-i-razrabotka-tehnologicheskikh-priyomov-glubokoy-pererabotki">https://earthpapers.net/issledovanie-rekombinantnyh-shtammov-saccharomyces-cerevisiae-i-razrabotka-tehnologicheskikh-priyomov-glubokoy-pererabotki</a>	11 (1)	0.19 %
10	<a href="http://www.samsmu.ru/files/referats/2016/kazeeva/dissertation.pdf">http://www.samsmu.ru/files/referats/2016/kazeeva/dissertation.pdf</a>	6 (1)	0.10 %

### Lista zaakceptowanych fragmentów (brak zaakceptowanych fragmentów)

LP	TREŚĆ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
----	-------	--------------------------------