

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева

Институт Геологии и нефтегазового дела им К.Турысова

Кафедра Химической и биохимической инженерии

Ле Вероника Владиславовна

Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды для
Saccharomyces cerevisiae

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Алматы 2025

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

Некоммерческое акционерное общество «Казахский национальный
исследовательский технический университет имени К.И.Сатпаева»

Институт геологии и нефтегазового дела им. К.Турысова
Кафедра химической и биохимической инженерии

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой
«Химическая и
биохимическая инженерия»,
ассоц. профессор, к.х.н.
Мангазбаева Р.А.
«12» 06 2025г.



ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды
для *Saccharomyces cerevisiae*»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнила

Ле Вероника Владиславовна

Рецензент

Профессор, д.б.н., Кафедра
биотехнологии КазНУ имени Аль-
Фараби, факультет биологии и
биотехнологии

Ивашенко А.Т.

«12» 06 2025 г.



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

Джамалова Г.А.

«10» 06 2025 г.

(подпись)

(Ф.И.О.)

Алматы 2025

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

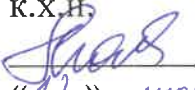
Некоммерческое акционерное общество «Казахский
национальный исследовательский технический университет
имени К.И.Сатпаева»

Институт Геологии и нефтегазового дела им К.Турысова
Кафедра "Химической и биохимической инженерии"

6B05101– Химическая и биохимическая инженерия

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой
«Химическая и биохимическая
инженерия», ассоц.профессор,
к.х.н.

 Мангазбаева Р. А.
«12» июня 2025.

ЗАДАНИЕ
на выполнение дипломной работы

Обучающаяся Ле Вероника Владиславовна

Тема: Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды для *Saccharomyces cerevisiae*

Утверждена приказом проректора по академической работе № 26-П/О от 29 января 2025 г.

Срок сдачи законченной работы «26» мая 2025 г.

Исходные данные к дипломной работе: Культивирование *Saccharomyces cerevisiae* линейки (Angel, Алматинский дрожжевой завод) на твердых (ЭНДО и лизин) и жидких питательных средах (концентрат солода ячменя).

Краткое содержание дипломной работы: Исследование посвящено оптимизации состава среды и физических параметров для повышения биомассы *Saccharomyces cerevisiae*.

а) Литературный обзор

Обзор включал анализ 162 научных источников.

б) Экспериментальная часть

Описаны методики и результаты исследования.

Перечень графического материала: в работе предоставлены 15 рисунков и 4 таблицы. Предоставлены 13 слайдов презентации работы.

Рекомендуемая основная литература состоит из 198 наименований.






ГРАФИК

подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Обзор литературы	25.01.2025	Выполнено
Методика исследования	08.02.2025	Выполнено
Результаты исследования	19.03.2025	Выполнено
Заключение и выводы	05.04.2025	Выполнено

Подписи


консультантов и норм контролера на законченную дипломную работу с указанием относящихся к ним разделов работы

Наименование разделов	Консультанты, Ф.И.О. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Обзор литературы	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	11.06.2025	
Методика исследования	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	11.06.2025	
Результаты исследования	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	11.06.2025	
Заключение и выводы	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	11.06.2025	
Нормоконтролер	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	11.06.2025	

Научный руководитель


подпись Джамалова Г.А.

Задание принял к исполнению обучающийся


подпись Ле В.В.

Дата

« 11 » 06 2025 г.

АННОТАЦИЯ

Тема дипломной работы: «Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды для *Saccharomyces cerevisiae*».

Исследование было направлено на определение оптимальных физико-химических показателей культуральной среды в целях повышения выхода биомассы *Saccharomyces cerevisiae*. Культивирование *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) в процессе исследовательских работ осуществляли на твердой и в жидкой питательных средах. При культивировании *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) на твердой питательной среде оценивалась биобезопасность произведенного продукта – пекарских дрожжей. При культивировании *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) в жидкой питательной среде работа была нацелена на модификацию состава питательной среды на основе мелассы и на определение оптимального режима культивирования. Тестирование температурного режима при культивировании *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) в жидкой питательной среде показало, что оптимальным режимом для *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) является 34°C, т.к. в этом случае выход биомассы составил $15,06 \pm 0,08$ г/л, а количество клеток на миллилитр после культивирования $5,19 \times 10^6$ КОЕ/мл. Оптимизация химического состава добавлением 2,506 г поваренной соли (NaCl), 0,005 г цинка (Zn^{2+}), 0,5 г сульфата магния ($MgSO_4$), 0,005 г янтарной кислоты на 500 мл среды привело к накоплению биомассы до $15,57 \pm 0,5$ г/л, что на 12,5% больше массы дрожжей, культивировавшихся на не модифицированной среде. Оценка биобезопасности полученной биомассы показала отсутствие чужеродных штаммов в произведенном дрожжевом продукте.

Дипломная работа отражает исследования теоретического (обзор литературы изложен на 11 стр. в результате анализа 198 источников научной литературы), методического (глава «Материал и методика исследования» изложена на 6 стр., методика работы построена на применении 6 нормативных документов) и исследовательского (глава «Результаты исследования» включает 5 разделов, которые-изложены на 12 стр. и включают 5 под глав) характера.

Ключевые слова: *Saccharomyces cerevisiae*, культивирование, биомасса, температура, химический состав.

АНДАТПА

Дипломдық жұмыстың тақырыбы – «*Saccharomyces cerevisiae* үшін культуралық ортаның физика-химиялық қасиеттерін оңтайландыру»

Бұл зерттеу *Saccharomyces cerevisiae* биомассасының шығымын арттыру мақсатында қоректік ортаның оңтайлы физика-химиялық көрсеткіштерін анықтауға бағытталды. *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) штаммын зерттеу барысында қатты және сұйық қоректік орталарда өсіру жүргізілді. Қатты ортада өсіру кезінде алынған наубайхана ашытқыларының биоқауіпсіздігі бағаланды. Сұйық қоректік ортада жүргізілген өсіру жұмыстары меласса негізіндегі ортаның құрамын түрлендіру және өсіру режимін оңтайландыруға бағытталды. Сұйық ортада *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) үшін температуралық режимді сынау барысында ең тиімді температура 34 °C екені анықталды, өйткені дәл осы жағдайда биомасса шығымы $15,06 \pm 0,08$ г/л, ал культивациядан кейінгі 1 мл ортадағы жасушалар саны $5,19 \times 10^6$ КОЕ/мл құрады. Құрамды 500 мл ортаға 2,506 г ас тұзы (NaCl), 0,005 г мырыш (Zn^{2+}), 0,5 г магний сульфаты ($MgSO_4$), 0,005 г янтар қышқылын қосу арқылы оңтайландыру нәтижесінде биомасса $15,57 \pm 0,5$ г/л-ге дейін артты, бұл модификацияланбаған ортада өсірілген ашытқыларға қарағанда 12,5 %-ға жоғары. Алынған биомассаның биоқауіпсіздігіне баға беру барысында дайын өнімде бөгде штаммдар анықталмады.

Дипломдық жұмыс зерттеудің теориялық (ғылыми әдебиеттердің 198 дереккөзіне негізделген 11 беттен тұратын әдеби шолу), әдістемелік (6 нормативтік құжатқа сүйеніп жазылған «Материалдар мен зерттеу әдістемесі» атты 6 беттен тұратын бөлім) және тәжірибелік (5 тараудан және 12 беттен тұратын «Зерттеу нәтижелері» бөлімі) бағыттарын қамтиды.

Түйінді сөздер: *Saccharomyces cerevisiae*, культивация, биомасса, температура, химиялық құрамы.

ABSTRACT

Topic of the thesis: " Optimization of the Physicochemical Properties of the Culture Medium for *Saccharomyces cerevisiae*". The study was aimed at determining the optimal physicochemical parameters of the culture medium in order to increase the yield of *Saccharomyces cerevisiae* biomass. Cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) during the research was carried out on solid and liquid nutrient media. While cultivating *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) on a solid nutrient medium, the biosafety of the manufactured product - baker's yeast - was assessed. While cultivating *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) in a liquid nutrient medium, the work was aimed at modifying the composition of the nutrient medium based on molasses and determining the optimal cultivation mode. Testing the temperature regime during the cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) in a liquid nutrient medium showed that the optimal regime for *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) is 34°C, since in this case the biomass yield was 15.06 ± 0.08 g/l, and the number of cells per millilitre after cultivation was 5.19×10^6 CFU/ml. Optimization of the chemical composition by adding 2.506 g of salt (NaCl), 0.005 g of zinc (Zn^{2+}), 0.5 g of magnesium sulphate ($MgSO_4$), 0.005 g of succinic acid per 500 ml of medium resulted in the accumulation of biomass up to 15.57 ± 0.5 g/l, which is 12.5% more than the mass of yeast cultivated on an unmodified medium. Evaluation of the biosafety of the obtained biomass showed the absence of foreign strains in the produced yeast product.

The thesis reflects theoretical (literature review is presented on 11 pages as a result of analysis of 198 sources of scientific literature), methodological (chapter "Material and research methodology" is presented on 6 pages, the methodology of work is based on the application of 6 regulatory documents) and research (chapter "Research results" includes 5 sections, which are presented on 12 pages and include 5 subchapters) works.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, cultivation, biomass, temperature, chemical composition.

СОДЕРЖАНИЕ

1 Обзор литературы.....	11
1.1 Значение дрожжей в биотехнологии и различных отраслях экономики ...	11
1.1.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> как модельный эукариотический организм	11
1.1.2 История применения <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
1.1.3 Основные области применения <i>Saccharomyces cerevisiae</i> в промышленности.....	11
1.2 Биология дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12
1.2.1 Экологические особенности <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12
1.2.2 Цитологические особенности <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13
1.2.3 Метаболизм и биохимические особенности <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ..	14
1.3 Применение биологических качеств и признаков <i>Saccharomyces cerevisiae</i> в научных исследованиях.....	16
1.3.2 Физиолого-биохимическая устойчивость <i>Saccharomyces cerevisiae</i> к экстремальным условиям среды	16
1.4 Питательные среды для культивирования <i>Saccharomyces cerevisiae</i> и их физико-химическая характеристика.....	17
1.4.1 Питательные среды для культивирования <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
1.4.2 Основные компоненты питательной среды и выполняемые функции ...	19
1.4.3 Температура культивирования и pH среды.....	21
2 Объект, материал и методика исследования	23
2.1 Объект исследования	23
2.2 Материалы исследования	23
2.3 Методы и методика исследования	24
2.3.1 Определения наличия чужеродных микроорганизмов в материнских косячках Angel на питательной среде ЭНДО	24
2.3.3 Культивирование <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Angel).....	27
2.3.4 Оценка накопления биомассы.....	28
2.3.5 Оценка биобезопасности готовой продукции	28
Анализ степени чистоты готовой продукции необходим для оценки соблюдения санитарных норм в процессе производства. Включение данного анализа расширяет его практическую значимость для завода. Методика работы складывалась из следующих работ:	29
2.3.6 Грам окрашивание <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	29
2.3.7 Определение подъемной силы готовой продукции	30
3 Результаты исследования.....	31
3.1. Оценка биобезопасности дрожжей Angel.....	31
3.2 Накопление биомассы <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32
3.3 Оптимальный температурный режим для роста дрожжей и накопления сухой биомассы.....	35
3.4 Оценка биобезопасности дрожжей из готовой партии 24.01.2025.....	39
3.5 Определение подъемной силы дрожжей.....	40
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	42
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	43

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Работа по оптимизации физико-химических свойств культуральной среды для дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* имеет значимую актуальность, поскольку они имеют широкий спектр использования в промышленности (биотехнологической и пищевой). Модификации внешних параметров роста дрожжей потенциально улучшает выход ее биомассы и соответственно качество конечного продукта (хлебопекарные изделия, алкоголь, биотопливо, фармацевтическая продукция), для синтеза которого используются *Saccharomyces cerevisiae*. Следовательно, интенсивный рост дрожжевых клеток и интенсификация их ферментативной активности имеет высокие экономические перспективы. Таким образом, данное исследование внесет свой вклад для совершенствования работы по культивированию *Saccharomyces cerevisiae*.

Цель исследования. Оптимизировать физико-химические свойства культуральной среды для *Saccharomyces cerevisiae*

Задачи исследования:

1 Определение оптимального температурного режима для роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

2 Оценка биотехнологического качества готового дрожжевого продукта.

3 Оптимизация состава культуральной среды.

Научная новизна. Впервые в научно-производственной лаборатории дрожжевого завода проведены исследования по оптимизации физико-химических свойств питательной среды на основе солода ячменя для штамма *Saccharomyces cerevisiae* (Angel).

В результате исследований определено, что:

- добавления в среду на основе солода ячменя 2,506 г поваренной соли (NaCl), 0,005 г цинка (Zn^{2+}), 0,5 г сульфата магния ($MgSO_4$), 0,005 г янтарной кислоты на 500 мл способствует увеличенному накоплению биомассы.

- температурный режим 34°C способствует максимальному накоплению количества дрожжевых клеток.

Научно-практическое значение. Данное исследование направлено на оптимизацию физико-химических параметров для активного роста хлебопекарных дрожжей линейки Angel и химического состава солодовой среды в условиях Алматинского дрожжевого завода. Были выявлены температурные параметры и добавки минеральных солей, предпочтительные для максимального роста дрожжевых культур (Angel), введение которых способствует сокращению времени брожения и повышению ее массобразования в промышленных условиях. Также по результатам данной работы была дана оценка микробиологической безопасности и биотехнологическому качественному показателю подъемной силы готового дрожжевого продукта.

Полученные в результате исследования данные:

1) могут быть использованы Алматинским дрожжевым заводом для улучшения санитарного контроля продукции;

2) несут справочную информацию для мониторинговой оценки качества партии дрожжей.

Тем самым, исследование имеет практическую ценность для дальнейшего улучшения качества производимой заводом продукции.

Структура и объем работы. Диплом составляет 49 страниц компьютерного текста. Обзор литературы составляет 12 стр, объект и методы исследования 8 стр, результаты исследования 12 стр, заключение 1 стр, список литературы 10 стр.

1 Обзор литературы

1.1 Значение дрожжей в биотехнологии и различных отраслях экономики

1.1.1 *Saccharomyces cerevisiae* как модельный эукариотический организм
Saccharomyces cerevisiae (*S. cerevisiae*) является одноклеточным грибковым микроорганизмом, относящийся к отделу аскомицетов [1, 2]. Данный гриб проявляет основные функции эукариотов, при этом являясь обширно изученным организмом. Поэтому *S. cerevisiae* является ценным инструментом для фундаментальных исследований эукариотических организмов, что связано с его одноклеточной природой, которая часто упрощает процессы исследования эукариотов, поскольку многие молекулярно-клеточные признаки и особенности, обнаруженные в клетках эукариот, также присутствуют и хорошо сохраняются в клетках *S. cerevisiae* [2].

1.1.2 История применения *Saccharomyces cerevisiae*

Дрожжи *S. cerevisiae* использовались в различных отраслях экономики тысячелетиями назад. Наиболее ранние записи об использовании дрожжей для хлебопекарни датируются вплоть к 1300-1500 г. до н.э. (Древний Египет) [3]. Технология запекания включала получение смеси из муки с водой и дрожжей в чашке, за которой следовала выпечка на раскаленном пепле. Данный способ, предположительно, использовался населением в более поздние периоды [4]. Формы для запекания теста использовали во всех культурах для заливки жидкой массы и формирования теста [4]. Возможно, ферментативные способности сахаромикетов использовались и раньше, как предполагают Dunn, R. R. и Amato, K. R. с соавторами (2020), благодаря наличию свидетельства об использовании дрожжей для брожения фруктов примерно миллион лет назад [5,6].

Как коммерческий продукт, дрожжи в сушенном виде начали реализовывать в Вене в 1822 г. Однако помимо самих дрожжей, в состав данного продукта входили бактерии и их метаболиты [7]. Чистые же культуры появились позже, когда Хансену Э. удалось получить чистую культуру дрожжей, но после публикации исследований в 1883 г, работа не была признана, т.к. многие полагали что вкус продукта в их присутствии ухудшается. Только позже, спустя 20 лет очищенные штаммы дрожжей стали стандартом для использования в пищевой индустрии [7, 6].

1.1.3 Основные области применения *Saccharomyces cerevisiae* в промышленности

Дрожжи имеют обширное применение в различных отраслях экономики:

1 Виноделие

Основной культурой для винодельческой промышленности являются дрожжи *S. cerevisiae* [8]. Этот вид доминирует над остальными штаммами в

процессе ферментации, т.к. они обладают наибольшей устойчивостью к окислительному стрессу в период культивирования [9,8], образуя ряд химических соединений (высшие спирты, альдегиды, эфиры), необходимые для получения продукта, в данном случае – вина [10, 11].

2 Хлебопекарная промышленность

S. cerevisiae используется в качестве разрыхлителя теста благодаря ферментации сахаров, способствуя увеличению объёма теста и образованию летучих соединений, влияющих на вкус и аромат хлеба [12, 13]. В условиях анаэробного брожения дрожжи используют углеводы для дыхания, приводя к выделению углекислого газа, который поднимает тесто [2].

3 Кормовая промышленность

Дрожжи *S. cerevisiae*, благодаря богатому составу белков и витаминов группы В, широко используются в животноводстве в качестве кормовой (питательной) добавки. Состав аминокислот в их белках приближен к животному, составляя примерно 35 г лизина на кг массы [14]. При этом рентабельность их использования в качестве кормовых дрожжей заключается в их способности расти на отходах различных видов промышленности, включая спиртовую и бумажную [15]. При производстве кормового продукта из дрожжей следует помнить, что в составе готового продукта будет отсутствовать витамин В12 [16].

4 Промышленное производство биоэтанола

Saccharomyces cerevisiae является доминирующим штаммом дрожжей в производстве биоэтанола, являясь ведущим микроорганизмом, который способен в масштабном количестве синтезировать спирт [2]. Субстратами для производства биоэтанола могут служить сельскохозяйственные отходы, включая отходы от сбора пшеницы, таких как ость и стебли [17], что делает производство более рентабельным по сравнению с растительными культурами, богатыми сахарозой, поскольку последние необходимы, как это было описано выше, для пищевого сектора [18, 19, 20]. Катаболизм сахаров дрожжами происходит по гликемическому пути, когда сахара превращаются в пируват. Далее пируват декарбоксилаза расщепляет пируват в углекислый газ и ацетальдегид, который по итогу восстанавливается до этанола [21].

Таким образом, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* имеют обширное применение – от производства пищевых и кормовых продуктов до алкоголя и биотоплива. Это является значительным его преимуществом как объекта биотехнологии.

1.2 Биология дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

1.2.1 Экологические особенности *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae относительно широко распространены в естественных источниках – от опавших листьев до живых насекомых [22]. Дикий штамм *Saccharomyces cerevisiae* был выведен из дубовой коры, листьев, и почвы [23; 24; 25]. Кора широколиственных деревьев является

предпочтительной нишей для обитания дрожжей, как выявило исследование Wang Q.M. с соавторами. Исследования показали наиболее высокую скорость изоляции сахаромикетов по сравнению с хвойными деревьями, где была зарегистрирована отрицательная связь [26]. Большая распространенность также была выявлена в почве с опавшими листьями дуба в работе Kowallik V и Greig D [27, 22]. Возможно, это связано с тем, что *Saccharomyces cerevisiae* могут спорулироваться и выживать в почве до проявления более благоприятных условий [28]. Естественным резервуаром для *Saccharomyces cerevisiae* также могут участвовать насекомые, такие как мухи [29], осы [30] и пчелы [31], распространяя виды дрожжей на различных средах обитания.

Еще одной экологической особенностью дрожжей является их влияние на состав сообщества. Конкурируя с другими видами микроорганизмов, *Saccharomyces cerevisiae* способны выделять антимикробные белки, которые имеют либо фунгистатический (например, против *T. delbrueckii*), либо фунгицидный (например, против *Kluyveromyces marxianus*) характер, оказывающий разрушительное действие по отношению к иным грибам [32]. Интересно, что дрожжи также способны оказывать помощь другим видам, вступая в благоприятные отношения, как например, с бактериями *Proteus vulgaris* [33]. Было обнаружено, что вещество, схожее с ниацином, выделяемый *S. cerevisiae*, является необходимым компонентом для выживания и роста *P. Vulgaris* [34].

1.2.2 Цитологические особенности *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae – это одноклеточный эукариот с клеточной стенкой толщиной около 100–120 нм [35]. Стенка клетки составляет около 15-30% сухого веса [36] и состоит из двух слоев, включающий полисахариды, липиды и белки [37]. Стенка клетки выполняет функцию защиты, благодаря своей эластичной структуре, обеспечивающей физическую защиту [38]. Размер самих клеток от 5 до 10 мкм [39]. К внутриклеточным органеллам дрожжей входят: ядро, рибосомы, вакуоль, эндоплазматический ретикулум, эндомембранная система и митохондрии [40]. Однако их содержание может варьироваться в зависимости от факторов среды. Например, в неблагоприятных условиях при замедленной скорости роста количество рибосом может увеличиваться [41,42] из-за необходимости поддерживать минимальный уровень трансляции для выживания [43]

Жизненный цикл *S. cerevisiae*, в зависимости от условий среды, включает половое и бесполое (вегетативное) размножение [22]. При благоприятных условиях среды, диплоидные вегетативные клетки размножаются посредством почкования. При недостатке же азота и других питательных веществ, клетки размножаются мейозом, образуя четыре гаплоида, которые либо проходят через спаривание с образованием диплоидной клетки, либо прорастают с образованием гаплоидных клеток. Гаплоидные клетки могут также размножаться митотически, образуя клоны, либо спариваться с гаплоидом противоположного типа спаривания,

образуя диплоидную клетку. Кроме того, возможна автодиплоидизация посредством переключения типа спаривания, что позволяет одной гаплоидной клетке восстановить диплоидную фазу [44]. Процесс переключения типа размножения приводит к возникновению клеток с противоположными типами спаривания вблизи друг друга, облегчая их последующее слияние. Такая генетическая пластичность делает жизненный цикл *S. cerevisiae* адаптивным и устойчивым к изменениям условий окружающей среды [44].

1.2.3 Метаболизм и биохимические особенности *Saccharomyces cerevisiae*

Метаболические пути у *S. cerevisiae* включает гликолиз, пентозофосфатный путь, синтез глицерина и трегалозы в зависимости от условий среды.[45]. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* уникальны своей гибкостью к факторам окружающей среды, обеспечивая максимальную выживаемость клеток.

Центральный метаболизм начинается с катаболизма глюкозы через путь гликолиза, который приводит к образованию пирувата. Пируват может далее подвергаться брожению или дыханию, что зависит от наличия кислорода в среде [46].

В присутствии кислорода, пируват под действием фермента пируватдегидрогеназы расщепляется до ацетил-КоА, который направляется в цикл лимонной кислоты. Во время окислительного роста, в основном, NAD-специфические изоформы ацетальдегиддегидрогеназы и изоцитратдегидрогеназы катализируют соответствующие реакции в *S. cerevisiae*, тогда как поставка NADPH в условиях ферментации включает значительный вклад источников, таких как, NADPH-специфическая ацетальдегиддегидрогеназы или изоцитратдегидрогеназы [47].

В анаэробных условиях пируват направляется на брожение. Сначала пируват с помощью пируват декарбоксилазы (PDC) преобразуется в ацетальдегид с выделением CO₂. Ацетальдегид ферментом алкогольдегидрогеназой (АДГ) расщепляется далее до этанола. Этот тип оксидоредуктазы может катализировать обратимое взаимопревращение спиртов и соответствующих альдегидов или кетонов [48]. Уровни ацетальдегида и CO₂ напрямую регулируются ферментами пируват декарбоксилазы Pdc1 и Pdc5. Pdc5 отличается своей конкурентоспособностью по отношению к дыхательной пируватдегидрогеназе и благодаря высокой удельной активности направляет впоследствии большую часть пирувата на синтез этанола. Полученный в результате ацетальдегид может подвергаться воздействию нескольких видов альдегид дегидрогеназ. Если ацетальдегид вырабатывается:

- в цитозоле, то на него воздействует Ald6 и/или Ald2;
- в митохондрии, то он преобразуется Ald4 или Ald5.

Кроме того, молекула ацетальдегида, все еще ковалентно связанная с комплексом PDC (через связанный тиамин пиррофосфат), может

взаимодействовать с дополнительным ацетальдегидом для образования ацетона [48].

В гиперосмотической среде дрожжи быстро адаптируются, синтезируя глицеро-3-фосфатдегидрогеназу, что приводит к увеличению глицерина [49]. Для предотвращения избыточного количества глицерина, дрожжи стимулируют иные пути метаболизма. Глицерин может быть потреблён дрожжами в качестве источника углерода с образованием промежуточных продуктов гликолиза, например, дигидроксиацетонфосфат (ДГАФ) и этанол (аэробный путь) [50]. Глицерин разрушается ферментом глицерин-3-фосфатдегидрогеназа (кодируемой геном *GUT2*). ДГАФ далее расщепляется по гликолитическому пути [51, 52].

Пути метаболизма у дрожжей также зависят от количества глюкозы в среде роста. При избытке глюкозы, оксидативный метаболизм подавляется, даже когда доступен кислород, и это сопровождается синтезом этанола и углекислого газа. Это явление является эффектом Крэбтри [53, 54]. Другими словами, преимущественно используется путь ферментативного метаболизма, чем дыхательный. Выход АТФ значительно меньше, но при брожении требуется меньше затрат на производство белков, что позволяет клетке сосредоточить ресурсы в сторону быстрой утилизации глюкозы [55]. При этом один путь метаболизма не исключает полностью другой.

Существует феномен диауксического сдвига, при котором дрожжи с высокой скоростью преобразовывают глюкозу в этанол и далее переходят к дыхательному пути. Так сахаромицеты следуют стратегии «создавать-накапливать-потреблять» [56].

После истощения глюкозы дрожжи активируют окислительный метаболизм: этанол окисляется до ацетата, затем вступает в цикл Кребса и цепь переноса электронов [57]. При обратной же ситуации, дрожжи адаптируются благодаря метаболизму трегалозы. Трегалоза – это невосстанавливающийся дисахарид, присутствующий во многих организмах, включая бактерии, грибы, насекомых и растения [58]. Дрожжи могут накапливать этот дисахарид до 15% от сухой массы клетки в зависимости от условий роста и экологического стресса [59]. Трегалоза известна тем, что является резервным источником питания [60]. Фермент трегалозо-6-фосфатсинтаза катализирует синтез трегалозо-6-фосфата, который, в свою очередь, гидролизует трегалозу до глюкозы [61, 62].

В заключение следует отметить, что регуляция комплексных метаболических путей обеспечивает дрожжам устойчивость к стрессовым факторам среды и делает данный организм пластичным и удобным для промышленных и исследовательских целей.

1.3 Применение биологических качеств и признаков *Saccharomyces cerevisiae* в научных исследованиях

1.3.1 Генетический аппарат *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae имеет более комплексный генетический механизм по сравнению с большинством бактерий. Клетки дрожжей имеют в 3,5 раз больше нуклеотидных пар [63]. Сложная генетическая составляющая играет ключевую роль в использовании дрожжей в качестве модельного организма. Это подтверждается тем, что многие данные о биохимии, цитологии были взяты на основе исследований сахаромикетов [64, 65]. Дрожжи использовались для изучения различных процессов, таких как старение [66], генетических механизмов и их регуляции [67], сигнальные характеристики клеток [68], клеточного цикла [69], пути метаболизма эукариотов [70], апоптоза [71] и другие биологические процессы организмов-эукариотов [72]. К примеру, можно привести прионы дрожжей, которые близки к млекопитающим по строению, что и привело к исследованию их в качестве модельного организма для изучения передачи наследственных нейродегенеративных заболеваний, без использования животных материалов [73]. Наиболее ярким же открытием является идентификация более ста генов, участвующих в контроле клеточного цикла и деления, за что Culotti и Hartwell получили нобелевскую премию в 2001 г. Они использовали клетки *S. cerevisiae* в качестве экспериментального организма для определения генов, участвующих в биологических процессах [74, 75, 76]. Стоит добавить, что дрожжи, во-первых, обладают способностью быстро размножаться и при этом легко подвергаются генетическим модификациям, сохраняя свою жизнеспособность и, во-вторых, устойчивы к воздействиям множественных селективных сред и неблагоприятных условий, что и обеспечивает значительный молекулярный прогресс в области генетики сахаромикетов [77]. Адаптация к различным экстремальным условиям является одним из значительных преимуществ дрожжей *S. cerevisiae* в биотехнологии.

1.3.2 Физиолого-биохимическая устойчивость *Saccharomyces cerevisiae* к экстремальным условиям среды

Известно, что сахаромикеты сохраняют свою жизнеспособность при значении pH 8 [78, 79, 80]. Однако, исследование Antonio Peña и соавторов подтверждает, что выживаемость дрожжей возможна и при более высоком значении pH, т.к. существенных изменений в преобразовании энергии и транспортных механизмов при длительном культивировании не были зафиксированы при изменениях кислотности от 6 до 9. Транспорт лейцина, наоборот, был стимулирован в высоко-щелочной среде, что подтверждало активную деятельность дрожжей и, соответственно, их выживаемость при данных условиях [81]. При культивировании в кислой среде некоторые штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* демонстрируют высокую устойчивость. Исследование Fernández-Niño M и соавторов (2015)

подтвердило способность дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* штамма из *MUCL 11987-9* пролиферировать в присутствии 96 мМ уксусной кислоты (рН 4,5), что позволяет использовать их в биопроизводстве, где присутствуют слабые кислоты, подавляющие рост других микроорганизмов [82].

Дрожжи имеют ряд преимуществ для масштабного производства. *S. cerevisiae* внутри биореактора и способны выдерживать колебания температуры 20–35 °С, но при этом выдерживают и более экстремальные температурные режимы до 40°С, что обусловлено механизмами защиты к стрессовым условиям [83]. В этом случае дрожжи синтезируют белки теплового шока и трегалозу, которые активируют ряд других генов (участвующих в синтезе эргостерола, который поддерживает целостность клеточной мембраны). Это позволяет дрожжам длительное время выдерживать высокие температуры [83].

Помимо температурной адаптации, дрожжи демонстрируют устойчивость к осмотическому стрессу, вызванному переизбытком глицерина во время производства этанола. Это требует от клетки дрожжей внедрения стратегий одновременного осахаривания и брожения, что снижает в среде уровень уксусной кислоты, которая подавляет рост *S. cerevisiae* [84, 85]. Это обусловлено эффектом Крэбтри, который является ключевым для промышленных процессов. Например, *S. cerevisiae* образует при участии ферментов алкогольацетилтрансфераз ароматические соединения и летучие эфиры, которые необходимы для придания запаха вину и пиву [86].

S. cerevisiae способна направлять углерод в митохондрии, обходя ограничения пируватдегидрогеназы. Это включает образование ацетил-КоА или оксалоацетат, которые затем транспортируются в митохондрии [86]. Таким образом, достигается максимальная утилизация глюкозы. При окислительном росте в аэробных условиях активны NAD^+ -специфические изоформы ацетальдегиддегидрогеназы и изоцитратдегидрогеназы, способствующие производству энергии через цикл Кребса. В условиях ферментации, напротив, поставка NADPH осуществляется через альтернативные источники, включая NADPH -зависимые ацетальдегиддегидрогеназы и изоцитратдегидрогеназы, не относящиеся к пентозофосфатному пути [87].

1.4 Питательные среды для культивирования *Saccharomyces cerevisiae* и их физико-химическая характеристика

1.4.1 Питательные среды для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*

Питательные среды играют ключевую роль для роста и активности *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи хоть и способны к росту на минимальной среде с декстрозой, но модификация среды с добавлением белковых гидролизатов, витаминов и других компонентов значительно ускоряет рост.

Существует ряд наиболее используемых сред для культивирования дрожжей:

1 YPD (Yeast Extract-Peptone-Dextrose). Среда состоит из дрожжевого экстракта, пептона и декстрозы. Среда содержит экстракт дрожжей 10 г/л, пептон 20 г/л, декстроза (глюкоза) 20 г/л и агар (для твердой среды) 15 г/л. Дрожжевой экстракт является побочным продуктом пивного производства. В его состав входят полипептиды, сахара и различные микроэлементы [88]. Даже в малых концентрациях они значительно влияют на рост дрожжей [89]. Пептиды дрожжевого экстракта способствуют росту бактерий и увеличению биомассы до 60% [90, 91]. Пептон в составе среды является гидролизатом, насыщенным белком. Считается побочным продуктом пищевой и кормовой промышленности. Содержит в себе биосинтетические блоки, необходимые для большого количества биомассы [92]

2 Среда с солодовым экстрактом

Среды на основе солодового экстракта являются универсальными для роста микроорганизмов благодаря содержанию в них питательных веществ. Агар с солодом и дрожжевым экстрактом (Malt Yeast Agar) был разработан в 1939 г для культивирования ацидофильных микроорганизмов. Солодовый экстракт содержит полисахариды, которые служат источником энергии и дополнительно окисляют среду [93]. Среда состоит из мальтозы, что составляет 50-55% от содержания углеводов. В стандартной среде экстракт солода вводится в концентрации 12 г/л [94]. Также солод обеспечивает среду аминокислотами, неорганическими ионами, витаминами и липидами [94, 95, 96].

3 Химически определенные среды (синтетические).

В отличие от комплексных сред с экстрактом и пептоном, химически определенные среды высоко специфичны [97]. Синтетические среды позволяют изменять концентрацию определенных компонентов в среде отдельно, что делает возможным разработку сбалансированных сред для увеличения выхода биомассы и роста клеток. Помимо этого, они используются для изучения потребностей дрожжей в тех или иных компонентах. На сегодня химически определенные среды основаны на исследованиях в потребностях сахаромикетов в витаминах группы В [97, 98]. Например, YNB — это определенная среда, используемая для инженерии метаболических путей. В этой среде используется определенный источник азота без аминокислот [99]. Также существует минимальная синтетическая среда для серийного производства [100], которая содержит следующие компоненты (на 1 л раствора): 2,2 г сульфата аммония, 1,5 г дигидрофосфата калия, 1,8 г гидрофосфата натрия, 0,2 г сульфата магния (в виде гептагидрата), 1,0 мл раствора микроэлементов. Предназначена данная среда для промышленного культивирования клеток с высокой плотностью. Среда за счет низкой стоимости и высокого потенциала для биосинтеза химикатов широко применяется в фармацевтическом секторе [100].

1.4.2 Основные компоненты питательной среды и выполняемые ими функции

1. Источники углерода и азота

Энергетической основой для дрожжевых клеток в питательной среде является источник углерода. *S. cerevisiae* потребляют глюкозу, синтезируя в зависимости от пути метаболизма АТФ, этанол и углекислый газ. Дополнительное же введение глюкозы может благоприятно повлиять на интенсивность культивирования. В исследованиях Dickinson J.R. (1998) и Bayon M.M. (2002) было установлено, что среда с добавлением глюкозы повышает выход биомассы на 18–145% по сравнению с другими средами без дополнительно введенной глюкозы [101, 102]. Глицерин и крахмал также могут служить источниками питания для *S. cerevisiae*, но они не обеспечивают высокого роста дрожжей и биомассообразования [101, 102]. Поэтому глюкоза является оптимальным углеродным источником [103].

Источники азота необходимы для культивирования дрожжей. Бродильная активность дрожжей взаимосвязана со скоростью их размножения, которая важна для быстрого сбраживания сусла. Для биосинтеза клетки потребляют аминокислоты, ассимилируют неорганический азот, который далее используется для производства клетками полипептидов. Скорость роста клеток дрожжей прямо зависит от доступа к источнику азота, а именно α-аминного азота. Недостаток аминного азота способствует ранней флокуляции дрожжей. Это неблагоприятное явление, поскольку чем выше степень флокуляции, тем позже достигается конечная степень сбраживания [104]. В качестве источника дополнительно вводятся неорганические аммонийные соединения, такие как сульфат аммония, мочевины, хлорид аммония [105].

В промышленном производстве используются обычно дешевые источники углерода и азота, как экстракты кукурузы, патоки, сырные сыворотки, сульфитные растворы из отходов различных производств [106, 107], но это зависит от характера производства. Например, для синтеза антигенов на стадии глюконеогенеза требуется для увеличения их выхода введение трегалозы и лактата [108, 109].

2. Витамины

Витамины могут участвовать кофакторами ферментов. К примеру: можно взять пиридоксин (В6), который является коферментом в более 50-ти ферментативных реакциях метаболизма аминокислот и липидов. Активная форма - пиридоксаль-5'-фосфат [110]. Биотин В7 также кофермент для нескольких ключевых карбоксилаз, ковалентно связываясь через лигазу (ацетил-КоА-карбоксилаза, пируваткарбоксилаза, мочевинокарбоксилаза), они важны для метаболизма жирных кислот и азота [97]. Витамины могут служить предшественниками кофакторов ферментов метаболизма углеводов и липидов. Витамин В5 или пантотенат — предшественник кофермента А (CoA) и белка-переносчика ацила, критически важного для метаболизма липидов и углеводов [111]. Удаление витамина может привести к ухудшению роста *S. cerevisiae* на глюкозе, но не на глицерине или крахмале [112]. Существует исключение в

виде инозитола, который хоть и являясь витамином, не является ни кофактором, ни его предшественником. Однако он критически необходим как предшественник осинового мембранного фосфолипида фосфатидилинозитола и сигнальной молекулы на мембране [113].

В исследовании Perli (2020) продемонстрировали рост биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в концентрации витаминов 10 г/л, что является рекомендуемой концентрацией для популярной синтетической среды Вердьюна [97]. Таким образом, для обеспечения оптимального роста при культивировании *S. cerevisiae* рекомендуется введение витаминов в концентрации 10 г/л.

2 Макроэлементы

Фосфор входит в состав генетической информации клеток, содержится в нуклеотидах, а также является частью состава фосфолипидов мембраны. Источником фосфора служит K_2HPO_4 и его минимальное количество составляет 250 мг/л (~0.8 мМ) в среде для обеспечения роста дрожжей [114]. Снижение уровня фосфора может привести к снижению интенсивности синтеза нуклеотидов и фосфолипидов и другие ключевых процессов в клетке [115]. Как например было отражено в работе Hartel H. (2002), где у клеток наблюдалось снижение синтеза фосфолипидов из-за активации специфичной фосфолипазы в ответ на дефицит, которая разлагала фосфатидилхолин [116, 117].

Калий – катион, имеющий значительную роль в стабилизации мембранного потенциала, внутриклеточного уровня кислотности и осмотического давления ферментов [118, 119, 120]. Вводится в среду в виде солей KCl . Рекомендуемое введение калия около 15–100 мМ, поскольку данная концентрация соли калия продемонстрировала наибольший результат в массовом образовании в работе Masaryk J и соавторов (2022). [121].

Магний – необходимый элемент, ионы которого являются кофактором более 300 ферментов, и стабилизируют мембранные и нуклеиновые кислоты и участвуют в осмотической регуляции [122, 123, 124]. Оптимальной концентрацией солей магния $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ MgSO_4 в стандартных средах составляет около 0.1 г/л, что приводит почти к 40% накоплению магния в клетках дрожжей, как указано в работе [125].

Кальций – необходимый элемент, выступающим вторичным мессенджером, реагирующий на этаноловый стресс, гипертонию, окислительный стресс, активируя сигналы через кальценеврин и транскрипционный фактор Crz1. [126]. Гены-мишени, регулируемые через Crz1, связаны с ионным гомеостазом и метаболизмом глюкозы. [127, 128]. В условиях стресса, ионы кальция освобождаются и стимулируют активность антиоксидантных ферментов [129, 130]. В стандартной среде YPD содержится 0,14 мМ кальция (Ca^{2+}), что соответствует базовым требованиям *Saccharomyces cerevisiae* для роста без дополнительных добавок [131].

Железо – незаменимый кофактор, способный связываться с несколькими лигандами. Участвует в биогенезе рибосом, дыхании и репликации ДНК [132].

В среду добавляется в виде сульфата железа в концентрации от 15 до 25 мг/л эффективно усваивается *S. cerevisiae* и не влияет негативно на рост биомассы [133].

3 Микроэлементы

Цинк участвует в механизме гомеостаза у дрожжей [134, 135]. Факторы влияния включают ферменты, поддерживающие синтез фосфолипидов [136, 137], антиоксидантные белки [138] и расщепление перекисей [139, 140]. Известно, что цинк участвует кофактором около 3000 ферментов, влияя на энергетический обмен, репарацию и иммунные процессы [141], что и делает его влияние обширным. Для эффективного роста дрожжей в стандартной среде необходимо 1,00–1,03 г/100 мл. Высокие концентрации цинка приводят к снижению выхода биомассы [142].

Медь необходима для работы ферментов супероксиддисмутазы (Sod1), металлошаперона Atx1 и металлотионеинов, которые обеспечивают защиту от окислительного стресса [143, 144, 145]. Помимо этого, медь участвует в цикле Кребса, окислительном фосфорилировании и центральных метаболических путях [146, 147]. Гомеостаз ионов меди регулируется на транскрипционном уровне для обеспечения доступности металла и во избежания токсичного переизбытка [148]. Концентрация меди в среде, согласно работе Sun X. Y. (2019), оказывает на рост *S. cerevisiae*. Авторы отмечают, что при 32 мг/л было зарегистрировано активное размножение клеток дрожжей, а при 64–96 мг/л был отмечен замедленный рост [149].

Марганец (двухвалентный металлический кофактор), как ключевой антиоксидант, влияет на работу супероксиддисмутазы, защищая организм от окислительного стресса [150]. Различные металлопротеины, включая оксидоредуктазы, ДНК- и РНК-полимеразы, пептидазы, киназы, декарбоксилазы и сахарные трансферазы нуждаются в концентрациях марганца для успешного функционирования [151]. Исследование Do T. A. (2016) показало, что марганец в концентрации 1-5 мМ поддерживает интенсивный рост дрожжей, а при 10 мМ и выше имеет обратное действие [152]. *Saccharomyces cerevisiae* способны накапливать 2–100 нмоль Mn^{2+} на 10^9 клеток (0,04–2,0 мМ), поддерживая аэробную способность клеток [150].

Кобальт (Co^{2+}) – кофактор витамин-зависимых ферментов, включая витамин B₁₂-зависимые [153]. При избытке может вызвать оксидативный стресс, стимулируя образование активных форм кислорода [154]. Является необходимым элементом, т.к. функционально может заменять ионы магния и кальция, которые необходимы для жизнеспособности клеток [155]. Введение раствора $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (25 мг/л) стимулируют рост и дыхательную активность дрожжей, а при более высоких показателях концентрации наблюдается негативное действие раствора на их рост и дыхание [156].

1.4.3 Температура культивирования и pH среды

Рост и метаболическая активность *Saccharomyces cerevisiae* значительно зависят от температурного режима культивирования.

Оптимальным температурным режимом для роста дрожжей считается диапазон 28°C – 37°C [157]. Рост при температуре выше 40°C для дрожжей затруднен из-за длительной лаг-фазы и нарушенных закономерностей бутонизации (была отложена до 270 мин.), а 45 °C является для дрожжей критической температурой [158], т.к. клетки еще сохраняют способность к размножению, а вот при более высоких температурах наступает повреждение мембраны и содержимого клетки [159].

Жизнеспособность дрожжей также критически зависит от уровня pH. *Saccharomyces cerevisiae* имеет ацидофильную природу, соответственно растет в более кислых условиях, оптимальный диапазон pH 4-6, но может различаться от штамма, температуры и аэрации [160]. Экстремально низкие показатели pH приводят к ингибированию роста дрожжевых клеток, к поврежденной липоидной клеточной мембраны, ее текучесть снижается и как следствие – обмен веществ замедляется [161]. Высокие значения pH также негативно сказываются на интенсивности роста клеток. Клеточный цикл останавливается при pH 9,0 на стадии G1, что обусловлено активацией специфических сигнальных путей, связанных со стрессовой адаптацией, регуляцией фосфатного и ионного обменов, а также экспрессией генов, контролирующих деление клетки [162].

Таким образом, отклонения оптимального диапазона температуры и кислотности может привести к замедленному росту клеток и их гибели в связи с морфологическими изменениями в виде повреждения клеточной структуры.

2 Объект, материал и методика исследования

2.1 Объект исследования

Эукариотические дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* из царства грибов широко используются благодаря генетической изученности и относительной простоте культивирования во многих научных исследованиях и различных отраслях биотехнологической промышленности, в частности, в пищевой [1] для производства хлебобулочных изделий, спиртных продуктов и биотоплива в результате обработки сельскохозяйственных отходов, т.к. конечными продуктами ферментации являются углекислый газ и этанол [2, 12, 13].

2.2 Материалы исследования

Материалы, использованные в исследованиях, можно условно разделить на семь групп:

1) культура и продукция:

- предоставленные заводом дрожжевые косячки (Angel),
- дрожжевой продукт готовой заводской партии,
- культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*;



Рисунок 1 – Солодовый концентрат
ячменя

2) субстрат и добавки:

- солодовый концентрат ячменя (рисунок 1),
- агар-агар,
- сульфат магния,
- цинк,
- поваренная соль,
- янтарная кислота,
- раствор концентрированной ортофосфорной кислоты H_3PO_4 ,
- раствор аммиака NH_3 ;

3) красители:

- генцианвиолет,
- раствор люголя,
- фуксин Циля.

4 Питательные среды, используемые для обнаружения общей (МПА), кишечной (ЭНДО), дрожжевой (лизиновая среда) обсеменённости.

5 Лабораторная посуда: чашки Петри, бактериологическая петля, шпатель, стеклянная посуда лабораторная (мерные стаканы, пипетки, колбы; пробирки; покрывные стекла), фарфоровая чашка.

6 Приборы и оборудование: автоклав, термостат, аналитические весы, рН-метр, спиртовая горелка, микроскоп, камера Горяева, вакуумный насос с воронками Бюхнера.

- 4 Нормативные документы:
- ГОСТ 31747-2012 [163],
 - ГОСТ 10444.12-2013 [164],
 - ГОСТ 26669-85 [165],
 - ГОСТ 31747 - 2012 [166],
 - ГОСТ 30425-97 [167],
 - ГОСТ 171-2015 [168].

2.3 Методы и методика исследования

Исследования в Алматинском дрожжевом заводе были сфокусированы на определение оптимального температурного режима для культивирования дрожжей линейки Angel и модификации культуральной среды добавлением соли магния, цинка, янтарной кислоты и поваренной соли. Культивировали штаммы в термостатах в различных температурных режимах, был проведен сравнительный анализ по росту дрожжевых клеток и полученной сухой массы и определен оптимальный показатель температуры. Сравнительный анализ по сухой биомассе был изучен между двумя средами солода – модифицированной и контролем, т.е. немодифицированной.

Косячки дрожжей Angel и полученная готовая продукция были проверены на степень чистоты методом посева на питательные среды. Выделенные культуры изучались методом Грама. Полученная продукция дрожжей также оценивалась по подъемной силе.



Рисунок 2 – Разлив среды ЭНДО после охлаждения на чашку Петри одноразовую вблизи спиртовой горелки

2.3.1 Определения наличия чужеродных микроорганизмов в материнских косячках Angel на питательной среде ЭНДО

Исследования проводились по методике, изложенной в ГОСТ 31747-2012 [163].

Для оценки степени чистоты предоставленных дрожжевых косячков «Angel» и продукта партии 24.01.2025 были подготовлены две среды – ЭНДО, Лизин.

Методика приготовления:

1 Среда готовили по инструкции производителя: 20,75 г (ЭНДО) и 32,5 г (Лизин) разбавляли 0,5 л дистиллированной воды.

- 2 Стерилизация среды при 1,1 атм. 20 минут при температуре 121°C.
- 3 Охлаждение среды и разлив по чашкам Петри (рисунок 2).



а) отбор 10 мл из раствора дрожжей «Angel» для введения в последующую вторую колбу с 90 мл воды



б) распределение суспензии дрожжей «Angel» на среде Сабуро

Рисунок 3 – Оценка биобезопасности дрожжей «Angel»

Методика инокуляции дрожжей Angel проводилась по методике, изложенной в ГОСТ 31747-2012 [163]:

1 Подготовили 9 колб, пронумеровали их от 10^{-1} до 10^{-9} (указывает на степень разведения), разлили в каждую из них по 90 мл стерильной воды.

2 Методом предельного разведения из колбы с наименованием 10^{-1} с культурой Angel 10 мл перенесли в колбу с наименованием 10^{-2} с 90 мл воды (рисунок 3, а), из колбы с наименованием 10^{-2} вносили 10 мл в колбу с наименованием 10^{-3} и, таким образом, процедуры повторялись до колбы с наименованием с 10^{-9} , что и стала для исследований окончательной степенью разведения.

3 Из колбы с наименованием 10^{-9} стерильной пипеткой по 0,1 мл вводили суспензию дрожжей на поверхность твердых сред в чашках Петри, стерильным штапелем для равномерного распределения суспензии проводили по поверхности среды (рисунок 3, б).

4 Подготовленные среды с посевом поместили на 48 ч в термостат для культивирования при температуре 37 °С.

5 По истечении 48 ч культивирования провели визуальный осмотр роста чужеродных колоний бактерий на поверхности сред [163].

2.3.2 Культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на двух средах

Исследования проводились по методике, изложенной в ГОСТ 10444.12-2013 [164].

Среды для культивирования дрожжей готовили на основе солодового концентрата ячменя по ниже представленной методике:

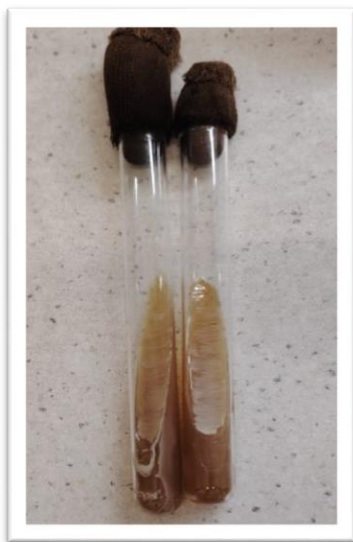
1 Две колбы объёмом 500 мл наполнили питьевой водой из-под крана, затем добавили солодовый концентрат, доводя плотность в двух колбах до 15 Ба.

Одну колбу оставили и в другую добавили соли: 2,506 г поваренной соли, 0,05 г цинка, 0,05 г сульфата магния и 0,006 г янтарной кислоты.

Доводим pH раствора до 5,08, добавляя 7 мл аммиака и 9 мл ортофосфорной кислоты, тщательно перемешав две колбы. По pH-метру оценивали уровень кислотности.

Проводим стерилизацию в автоклаве при давлении 0,8 атм. в течение 35 мин. После стерилизации горячую колбу охлаждали, после перенесли её в ламинарный бокс для инокуляции дрожжей «Angel».

2 Инокулировали дрожжи линейки Angel на среды. Для этого подготовили по 3 пробы на каждую среду. В 3 пробирки разлили модифицированную среду солода, в другие 3 ввели некодифицированные среды для дальнейшего изучения. Из предоставленных косячков дрожжей (рисунок 4, а) подготовили суспензии, размешав их с 10 мл стерильной воды. Суспензии по 1 мл внесли в пробирки (6 шт.) со средами (рисунок 4, б), потом пробирки закрыли пробкой.



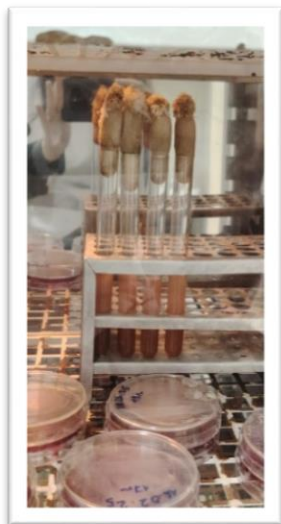
а) предоставленные косячки дрожжей линейки «Angel»



б) измерение 1 мл суспензии дрожжей для инокуляции на среды

Рисунок 4 – Приготовление проб для культивирования дрожжей на 2-х питательных средах

3 Пробирки с дрожжами помещали для культивирования в термостат на 24 ч при 34°C. По истечении 24 ч оценивали накопленную при культивировании биомассу дрожжей с использованием вакуумного насоса. Для этого на воронку насоса разливали пробы и после фильтрации взвешивали на аналитических весах полученный осадок.



а) культивирование при 37.2°C



б) культивирование при 34 °C



в) культивирование при 25°C

Рисунок 5 – Культивирование пробирок в термостатах с различными температурными режимами

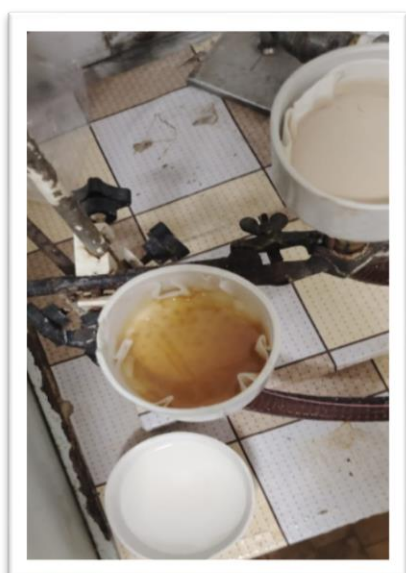


Рисунок 6 – Воронка Бюхнера, на которой из фильтрата мы получали сухую массу

2.3.3 Культивирование *Saccharomyces cerevisiae* (Angel)

Исследования проводились по методике, изложенной в ГОСТ 10444.12-2013 [164].

1 Для культивирования использовалась среда на основе солодового концентрата ячменя, приготовленные ранее по методике, описанной в п. 2.3.2. Для инокуляции были подготовлены два косячка дрожжей и 12 стерильных пробирок. В каждую пробирку при спиртовой горелке разливали по 8 мл стерильной среды. В два косячка дрожжей добавляли по 10 мл стерильной среды и перенесли полученный раствор в стерильную

колбу. С использованием стерильной пипетки осуществили розлив по 1 мл суспензии с дрожжами в каждую из 12 пробирок, после чего пробирки закрывали пробками. В каждой пробирке присутствует раствор объемом 9 мл.

2 Для культивирования в термостатах использовали три температурных режима 37.2 °С (рисунок 5, а), 34 °С (рисунок 5, б) и 25 °С (рисунок 4, в). Время культивирования составило 24 ч.

2.3.4 Оценка накопления биомассы

Исследования проводились по методике, изложенной в ГОСТ 10444.12–2013 [164].

После культивирования проводили подсчёт клеток с использованием камеры Горяева:

1 Образцы из каждой пробирки наносили на камеру, равномерно распределяли и накрывали покровным стеклом.

2 Подсчёт осуществляли под микроскопом с увеличением 40× и числовой апертурой 0,65.

Для оценки биомассы был использован метод вакуумной фильтрации:

1 Образцы из пробирок, культивированные при 37 °С, фильтровали через воронку Бюхнера на двойном слое фильтровальной бумаги при давлении 80 кПа. (рисунок 6)

2. Затем осадок взвешивали на аналитических весах.

Вышеприведенные процедуры повторили для образцов, культивированные при температурах 34 °С и 25 °С.



Рисунок 7 – Взвешивание 10 грамм дрожжей партии 24.01.2025 на аналитических весах

2.3.5 Оценка биобезопасности готовой продукции

Исследования проводились по методике, изложенной в ГОСТ 31747 - 2012 [163].

Анализ степени чистоты готовой продукции необходим для оценки соблюдения санитарных норм в процессе производства. Включение данного анализа расширяет его практическую значимость для завода. Методика работы складывалась из следующих работ:

1 Из готового дрожжевого продукта отобрали 10 грамм по методике, изложенный в ГОСТ 26669-85 [165] (рисунок 7). В стерильную мерную колбу добавили 90 мл дистиллированной воды и 10 г отобранных дрожжей, после тщательно перемешали для образования однородной суспензии.

2 Подготовленные с питательными средами ЭНДО, лизиновая среда, Сабуро и МПА чашки Петри подверглись посеву согласно ГОСТ 31747 - 2012 [166].

3 Культивировали в термостате при температуре 37,9°C 48 ч. Данная процедура была необходима для оценки степени чистоты предоставленных дрожжей.



Рисунок 8 – Распределение материала по предметному стеклу бактериологической петлей для последующего микропирования на наличие бактериологической обсемененности

2.3.6 Грам окрашивание *Saccharomyces cerevisiae*

Исследования проводились по методике, изложенной в ГОСТ 30425-97 [167]. Методика складывалась из следующих процедур:

1 Стерилизовали бактериологическую петлю, нагревая ее на спиртовой горелке. Охладив петлю, аккуратно прикасались к краю агаровой среды.

2 Осторожно из чашки Петри отбирали петлей небольшую часть колонии, стараясь не запачкать ее агаром. Взятый материал распределяли по предметному стеклу (рисунок 8). Мазок фиксируем трижды быстро, проведя стекло через пламя горелки.

3 Последовательно окрашиваем генцианвиолетом (2 мин выдержки), раствором Люголя (2 мин выдержки), обесцвечиваем 96%-ым этанолом и контрастировали фуксином (2 мин выдержки).

4 Под микроскопом при увеличении $\times 100$ исследуется препарат.

2.3.7 Определение подъемной силы готовой продукции

Исследование было проведено по ГОСТ 171-2015 [168]. По методике взвешивали ингредиенты для создания экспериментального шарика из теста. Подготовленные шарики из теста выкладывали в термостат при 37°C .

Подъемная сила является параметром качества дрожжевой продукции, поскольку характеризует ее бродильную активность.

Подъемная сила дрожжей оценивается по скорости всплытия из воды: чем быстрее шарик поднимается, тем выше активность дрожжей, что является важным показателем их качества в хлебопекарном производстве.

1 Для определения подъемной силы дрожжей методом всплытия готовили тестовую смесь в виде шариков, включающую 7,00 г муки (рисунок 9, а), 0,31 г исследуемых дрожжей и 4,75 мл солевого раствора.

2 Ингредиенты тщательно смешивали в банке, сформировав шарик из теста (рисунок 9, б) и подготовив воду для испытания, нагретую до 37°C .



а) взвешивание 7 г цельнозерновой муки



б) получение тестового шарика после смешивания муки, солевого раствора и дрожжей готовой партии



в) всплывший шарик после выдержки в термостате

Рисунок 9 – Исследование подъемной силы дрожжей

3 Тестовый шарик помещали в банку с водой и оставляли в термостате при 37°C , наблюдая за временем его всплытия. Всплывший шарик (рисунок 9, в) убирали, опыт повторяли 2 раза.

3.1. Оценка биобезопасности дрожжей Angel

```
graph LR; A[Контроль контаминации дрожжей «Angel»] --- B[Опытная группа]; B --- C[Среда ЭНДО, энтеробактерии]; B --- D[Лизин. Оксидазно-активные энтеробактерии]; C --- E[Возможен зелёный металлический блеск]; D --- F[Возможны сине-зелёные следы на среде];
```

Контроль контаминации дрожжей «Angel»

Опытная группа

Питательная среда и исследуемые штаммы

- Среда ЭНДО, энтеробактерии
- Лизин. Оксидазно-активные энтеробактерии

Признак, активность

- Возможен зелёный металлический блеск
- Возможны сине-зелёные следы на среде


A petri dish containing a light-colored agar medium. The lid of the dish is visible, showing the handwritten label "Angel 10-9" in blue ink. The medium appears slightly cloudy or has some small dark spots.

Рисунок 11 – Питательные среды с посевами дрожжей после культивирования 48 часов

31

Исходя из фотоизображений рисунка 11, видимые изменения, как описаны в диаграмме рисунка 10 отсутствуют:

1 На среде ЭНДО, чужеродной контаминации грамотрицательными микроорганизмами не было установлено в связи с отсутствием колоний с металлическим зеленым блеском. (рисунок 11, а).

2 Лизиновая среда не продемонстрировала изменений с мутного прозрачного цвета на сине-зеленый, что исключает наличие бактерий с лизиндекарбоксилазной активностью (рисунок 11, б).

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии чужеродной микрофлоры в дрожжах «Angel».

3.2 Накопление биомассы *Saccharomyces cerevisiae*

Для культивирования использовали среду на основе концентрата ячменя. Добавки использовались для совершенствования состава питательной среды.

Выбор питательной среды обосновывается питательностью солода ячменя для культивирования *S. cerevisiae*. Сам концентрат, из которого готовили среду, представляет собой 100% солод из светлого ячменя, без добавок. Солод произведен в России фабрикой Доктор Губер. В 1 кг концентрата содержится 0,758 кг экстракта, доля сбраживаемых сахаров от массы сухих веществ составляет 65-70%. Не содержит добавленных сахаров. Приготовленная питательная включает 500 мл дистиллированной воды, плотность среды 1,062 кг/л, pH 5,08.

Солод обеспечивает среду мальтозой, глюкозой, как показано в пробах солода ячменя в работе Yu W. и соавторов (2016) [169]. Помимо углеводных источников, солод богат аминокислотами (19,2%), включая незаменимые (7,5%) [170]. Ячменный солод также богат комплексами витаминов В, и минералами (Mg, Ca, Fe, Zn) [171]. Такой состав делает солод удовлетворительной основой для культуральной среды для *Saccharomyces cerevisiae*.

Для оптимизации среды ввели 2,506 г поваренной соли (NaCl), 0.005 г цинка (Zn^{2+}), 0,5 г сульфата магния ($MgSO_4$), 0,005 г янтарной кислоты на 500 мл среды. Дозировки обоснованы научной литературой. Наибольшая биомасса в работе по влиянию магния достигалась при введении солей магния в концентрации 1,25 г/л [172]. В другом исследовании, введение цинка при 0,01 г/л способствовало росту клеток до максимального значения после 24 ч культивирования [173]. Янтарная кислота участвует как стимулятор и для оптимального роста для *S. cerevisiae* достаточно введения до 0,01 г/л [174]. Концентрация поваренной соли должна быть минимальной, чтобы избежать осмотического стресса. Безопасной концентрацией считается около 5 г/л, поскольку осморегуляторный путь в *Saccharomyces cerevisiae*, как ответ на осмотический стресс, активируется обычно при 6,4 г/л [175].

Успешность работы по оптимизации состава среды определяли измерением накопленной биомассы в пробах, полученных из

модифицированной среды солода ячменя при сравнении с контрольной группой, где среда была не модифицирована.



а) Проба, полученная из модифицированной среды



б) Контроль. Проба, полученная из немодифицированной среды

Рисунок 12 – Накопление биомассы дрожжей на среде из солода ячменя

Накопление биомассы визуально преобладает в пробе, полученной на модифицированной среде, т.к. показывает более густой оттенок, чем у пробы, полученной на немодифицированной среде.

Сравнительная оценка биомассообразования в двух средах представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительная оценка биомассообразования в двух средах

Тип среды	Средняя масса пробы варианта опыта №				C _v , %
	1	2	3	Среднее значение биомассы, г	
	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \text{ г}$	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \text{ г}$	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \text{ г}$		
Модифицированная	0,136 ± 0,0007	0,144 ± 0,0021	0,139 ± 0,0021	0,145 ± 0,0143	3,22
Не модифицированная	0,118 ± 0,0014	0,123 ± 0,0021	0,129 ± 0,0028	0,124 ± 0,0055	4,82

По данным таблицы 1 видно, что модифицированная среда продемонстрировала больший рост биомассы в среднем значении.

Находим концентрацию сухой биомассы на один литр суспензии. По формуле

$$C = \frac{m}{V}, \quad (1)$$

где C – концентрация биомассы на один литр (г/л);

m – Среднее значение биомассы (г);

V – общий объем суспензии(л), равный 0.009 литров во всех пробах

Как видим, накоплено биомассы в среде:

- модифицированной $15,57 \pm 0.5$ г/л;
- немодифицированной $13,83 \pm 0.67$ г/л.

В нашем исследовании модифицированная среда показала наибольший результат по выходу сухой массы ($15,57 \pm 0,50$ г/л), что примерно на 12,5% больше массы дрожжей, полученных при культивировании на не модифицированной среде из солодового концентрата ячменя. Это объясняется добавками NaCl, MgSO₄, Zn²⁺, янтарной кислоты. Наличие катионов натрия поддерживает осмотический градиент, что благоприятно влияет на метаболические пути дрожжевых клеток [176]. Магний является кофактором многих ферментов и также влияет на осмотическую регуляцию [122, 123, 124]. Он является активным участником углеводного и энергетического обмена [177]. Его недостаток может негативно влиять на метаболизм клеток, соответственно снижая их жизнеспособность [178]. Цинк также является значимым элементом в росте клеток, поскольку тот участвует в развитии иммунной системы и функционировании нуклеиновых кислот [173]. Исследования показывают, что цинк оказывает благоприятный эффект на выживаемости дрожжевых клеток, защищая от окислительного повреждения и модулируя клеточный метаболизм аминокислот [179]. В работе из журнала Journal of Elementology добавление цинка в количестве 0,05 г/л привело к увеличению биомассы дрожжей до максимального значения [173]. Янтарная кислота также оказывает стимулирующий эффект на рост дрожжей *S. cerevisiae*. Это было выявлено за счет увеличения выхода биомассообразования на 7% в присутствии янтарной кислоты 0,001 г/л в исследовании Старовойтова О. В. [174]. В работе Крикунова Л. Н. и соавторов (2015) рассматривали влияние янтарной кислоты, где исследование выявило, что присутствие его увеличивает долю почкующихся клеток и клеток с запасами гликогена в биомассе [180].

Поэтому использованные в эксперименте добавки к среде благоприятно повлияли на накопление сухой биомассы и, следовательно, на жизнеспособность дрожжей. Оптимизация состава среды через добавление минеральных компонентов и стимулятора в виде янтарной кислоты значительно улучшили показатели роста по сравнению с контрольной средой без добавок. Это свидетельствует об успешности процесса оптимизации.

Подобные работы по модификации состава питательной среды в контексте исследованных элементов были проведены учеными Liu J., Li G., Sui Y. (2017). В минимальной минеральной среде ими были введены концентрации магния, цинка и железа 1,5 г/л, 0,002 г/л и 0,02 г/л соответственно, что привело к наибольшему выходу биомассы $5,21 \pm 0,30$ г/л. Авторы утверждают, что в модифицированной среде дрожжи демонстрировали меньшие уровни окисления липидов и уменьшение окислительного стресса. Это повлияло на жизнеспособность клеток, повысив их выживаемость при культивировании их в течение 96 ч [181].

Значительное отличие, характерное для нашей работы заключается в том, что была использована культуральная среда из концентрата ячменя. Поэтому различия в приросте массы существенны. Наши данные демонстрируют прирост примерно на 12,5% с накоплениями сухой массы в среднем $15,57 \pm 0,5$, тогда как Liu J. и соавторы. продемонстрировали выход $5,21 \pm 0,30$ г/л, что примерно превышало на 47%. Это может быть связано с тем, что концентрат ячменя отличается богатой по питательности средой. Например, в минимальной среде в данной работе не содержались аминокислоты и витамины, а главным источником азота был $(\text{NH}_4) \text{SO}_4$.

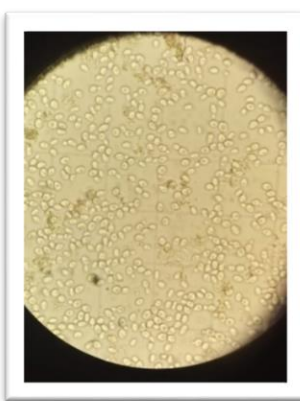
3.3 Оптимальный температурный режим для роста дрожжей и накопления сухой биомассы

Методика исследования проводилась согласно работе [182].

Поскольку были 4 пробы на каждый температурный режим, из каждой колбы разливали по 1 мл на поверхность камеры Горяева и рассматривали под микроскопом с увеличением 40х. Результат под микроскопом представлен на рисунке 13.



а) после культивирования
при 37.2 °C



б) после культивирования
при 34 °C



в) после культивирования
при 25 °C

Рисунок 13 – Микрофотографии дрожжевых клеток на камере Горяева после культивирования при различных температурных режимах

Каждую пробу выставляли под микроскопом на камере Горяева для подсчета количества клеток на миллилитр, выращенных при различных температурных режимах. Мы учитывали сумму клеток, посчитанных в пяти квадратах. На каждый температурный режим было отведено по 4 пробы.

По итогу, был проведен сравнительный анализ роста клеток дрожжей по подсчетам на камере Горяева по формуле 2.

$$X = \frac{a}{n} \times N \times k \times b, \quad (2)$$

где X – концентрация клеток в 1 мл раствора, КОЕ/мл;
 a – сумма клеток, посчитанных в 5 квадратах камеры Горяева;
 N – число больших квадратов в камере Горяева;
 K – коэффициент, равный величине, обратной объему камеры Горяева;
 b – степень разбавления раствора, равная единице;
 n – количество квадратов, мы учитывали 5 квадратов;
 Упрощаем формулу до:

$$x = \frac{a}{5} \times 225 \times 1111 \times 1, \quad (2.1)$$

$$x = a \times 49995, \quad (2.2)$$

Таблица 2 – Влияние температуры культивирования на количество дрожжевых клеток (КОЕ) *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) на мл

Температура (°C)	Количество клеток (а)	Расчет ($X=a \times 49995$)	Концентрация клеток ($X, \times 10^6$ КОЕ/мл)	Среднее значение ($\times 10^6$ /мл)
37.2	95	$95 \times 49995 = 4,749,525$	4.75×10^6	4,6
	89	$89 \times 49995 = 4,449,555$	4.45×10^6	
	93	$93 \times 49995 = 4,649,535$	4.65×10^6	
	97	$97 \times 49995 = 4,849,515$	4.85×10^6	
34	101	$101 \times 49995 = 5,049,495$	5.05×10^6	5,19
	110	$110 \times 49995 = 5,499,450$	5.50×10^6	
	99	$99 \times 49995 = 4,949,505$	4.95×10^6	
	105	$105 \times 49995 = 5,249,475$	5.25×10^6	
25	80	$80 \times 49995 = 3,999,600$	4.00×10^6	4,05
	85	$85 \times 49995 = 4,249,575$	4.25×10^6	
	78	$78 \times 49995 = 3,899,610$	3.90×10^6	
	91	$81 \times 49995 = 4,049,595$	4.05×10^6	

Как видно из таблицы 2, наибольшими показателями обладали пробы, культивированные при температуре 34 °C, их среднее значение показало $5,19 \times 10^6$ (КОЕ/мл). При 37,2°C, концентрация на мл значительно ниже, в среднем, $4,6 \times 10^6$ (КОЕ/мл). Понижение роста клеток с повышением температуры может быть связано с тем, что большинство микроорганизмов чувствительны к высоким температурам, поскольку оно приводит к гибели клеток и тепловому шоку согласно работе Zhang M. 2023 года [183]. Повышение температуры, в целом, может привести к повреждению белков, хромосом, клеточных мембран и органелл в клетках *Saccharomyces cerevisiae*, а также к увеличению количества активных форм кислорода, что вызывает окислительный стресс и влияет на активность *Saccharomyces cerevisiae* [184]. При пониженной же температуре 25 °C, рост клеток наименьший, $4,05 \times 10^6$ (КОЕ/мл). При температурах ниже оптимального диапазона активность ферментов, участвующих в метаболических путях, таких как гликолиз и

дыхание, значительно снижается [185]. Это снижение кинетики ферментов замедляет клеточные процессы, что соответственно не благоприятно для культивирования дрожжей.

Следовательно, оптимальной температурой культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) является 34°C. В целом, температура роста дрожжей *Saccharomyces* лежит в диапазоне от 28 °С до 33 °С [186].

Расчет биомассобразования дрожжевых клеток:

После расчета на камере Горяева проанализировали накопление биомассы, разлив по 4 пробы за раз с каждого температурного режима на воронку Бюхнера (рисунок 6) для получения сухой массы. Далее фильтраты взвешивали на аналитических весах. Установили массы накопления дрожжей, как показано на рисунке 14:

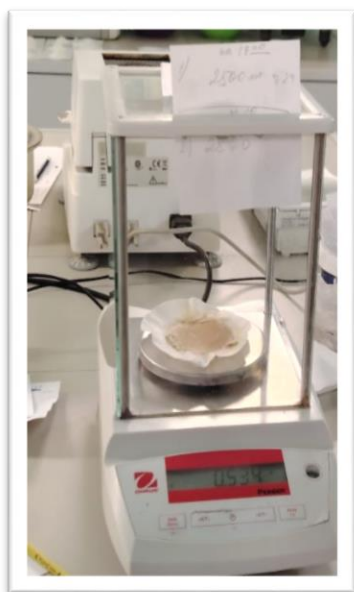
1 0,534 грамм при 37.2°C (рисунок 14, а).

2 0,544 грамм при 34 °С (рисунок 14, б).

3 0,509 грамм при 25°C (рисунок 14, в).

Исходя из полученных результатов следует вывод, что наибольшая степень биомассобразования у проб дрожжей наблюдается при культивировании при 34 °С (рисунок 14, б). Далее высчитывали концентрацию сухой массы на 1 л. суспензии по формуле (2).

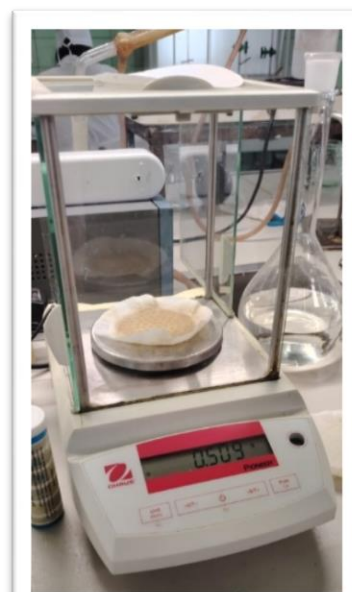
Результаты расчета предоставлены в таблице 3.



а) при 37,2°C
составляющая 0,534 грамм



б) при 34 °С, составляющая
0,544 грамм



в) при 25°C, составляющая
0,509 грамм

Рисунок 14 – Накопления сухой биомассы дрожжей, культивированных при различных температурных режимах

Таблица 3 – Концентрация сухой биомассы *S. cerevisiae*

Температурный режим (°C)	m, сухая биомасса (г)	Cv, коэффициент вариативности (%)	C, концентрация биомассы (г/л)
37,2	$0,535 \pm 0,001$	0,26	$14,86 \pm 0,04$
34	$0,542 \pm 0,003$	0,52	$15,06 \pm 0,08$
25	$0,510 \pm 0,001$	0,28	$14,17 \pm 0,04$

Как видно из таблицы 3, температурный режим значительно влияет на процесс биомассообразования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Отмечается накопление биомассы ($15,06 \pm 0,08$ г/л) при температурном режиме 34 °C. При 37,2 °C показатели накопления биомассы были незначительно ниже ($14,86 \pm 0,04$ г/л), что связано с замедленной метаболической активностью дрожжей при более высоком температурном режиме. Это говорит о превышении критической температурной точки, при котором учащается гибель клеток. Минимальный же рост дрожжевых клеток и накопление массы наблюдались у проб, выращенных при 25 °C ($14,17 \pm 0,04$ г/л). Это обосновано замедленным метаболизмом и ферментативной деятельностью, поскольку работа ферментов напрямую зависит от температуры среды. Биохимические реакции в целом проходят медленнее.

Согласно работе Pizarro F.J. (2008), понижение активности массобразования дрожжей при субоптимальной и супраоптимальной температуре объясняется тем, что при более низких температурах более слабые реакции на стресс, но также и более медленные скорости метаболизма, что приводит к низкому накоплению биомассы по сравнению с оптимальными условиями (34°C). И наоборот, при более высоких температурах реакции на тепловой шок потребляют клеточные ресурсы, ограничивая выход биомассы, несмотря на более высокие темпы роста [187]

Таким образом, оптимальная температура для культивирования дрожжей *S. cerevisiae* (Angel) считается 34 °C, так как она обеспечивает наибольшие показатели накопления сухой биомассы и количества КОЕ на миллилитр. Аналогичная работа Исламмагомедовой и соавторов (2020) [188], где изучали влияние температурных режимов на морфологические свойства дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, имеет похожие показания насчет оптимальной температуры роста дрожжей. В данном исследовании выявили изменения морфологических характеристик сахаромикетов при 37°C, что является свидетельством температурного стресса у микроорганизмов, приводящее к замедленному росту дрожжей. Клетки были несколько увеличены примерно $7 \times 7 \pm 0,3$ мкм, тогда как при 30°C они имели размер $6 \times 6 \pm 0,3$ мкм. При 30°C также наблюдался наибольший рост колоний дрожжевых клеток размером около 7 квадратных сантиметров, тогда как при 37°C рост колоний составил около 2 квадратных сантиметров. В другом исследовании, опубликованном в журнале "The Expedition" учеными Университета Британской Колумбии [189], авторы проанализировали зависимость скорости роста дрожжей *S. cerevisiae*

от температуры. Оптимальная температура для роста *S. cerevisiae* составила 35°C, при которой скорость роста достигла максимального значения - $4,98 \times 10^6$ клеток/ч. При 30°C этот показатель был меньше – всего $4,45 \times 10^6$ клеток/ч.

Следовательно, формируется вывод о том, что температуры от 30 до 34°C являются наиболее благоприятными для роста дрожжевых клеток.

3.4 Оценка биобезопасности дрожжей из готовой партии 24.01.2025

Во время визуального осмотра сред с посевами мы рассмотрели мазок из посева готовой продукции со среды МПА по Грам окрашиванию. Результат показан на рисунке 15.

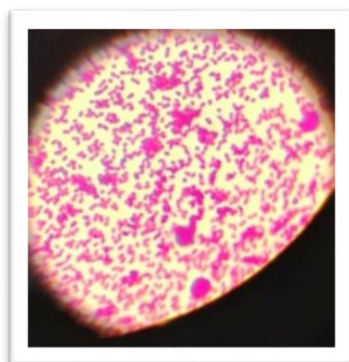


Рисунок 15 – Микрофотография окрашенных по Граму дрожжевых клеток

Грамположительными контаминантами в дрожжевой продукции обычно являются молочнокислые бактерии. Согласно исследованию, Viljoen и Lues (1993) [190] из прессованных дрожжевых блоков зачастую выделяются только три различных рода грамположительных бактерий (*Lactobacillus*, *Pediococcus* и *Lactococcus*). Как правило, загрязнение молочнокислыми бактериями может подавлять рост клеток *S. cerevisiae* за счет секреции молочной кислоты и конкуренции с дрожжевыми клетками за микроэлементы и жизненное пространство [191]. Не исключено также загрязнение грамположительными бактериями бациллами. В исследовании загрязнения дрожжевых экстрактов Barrette J. и соавторов (1999). [192] 41% изолированных бактерий были аэробными спорулирующими палочками, характерными для рода *Bacillus*. 11 изолятов оказались *Bacillus* sp., из которых 6 были идентифицированы как *B. megaterium* и *B. circulans*. Причиной загрязнения обычно является нестерильное оборудование и воздух в цехах, через которые споры и клетки попадают в продукцию. Их отсутствие в наших данных может быть обосновано тем, что грамположительные бактерии, несмотря на толстый пептидогликановый слой, не имеют внешней мембраны, характерной для грамотрицательных микроорганизмов, что делает их более уязвимыми.

Грамотрицательные же бактерии, с другой стороны, были выделены, о чем свидетельствует розовый окрас. Грамотрицательные бактерии, возможно,

содержатся в воздухе и на поверхностях линий производства. Они не патогенны, но нежелательны в самом продукте [193]. К грамотрицательным бактериями, встречаемых в продукте, могут относить непатогенные виды *Enterobacteriaceae*, как например *Rahnella* [194]. Однако, наличие грамотрицательных бактерий с мазка сред не всегда свидетельствует о несоблюдении санитарии во время производства. Упаковка с дрожжами, которые мы анализировали, возможно была раскрыта с погрешностями. Взятие дрожжей происходило с середины открытой наполовину упаковки лабораторной лопаткой. Во время данного процесса дрожжи с краев упаковки (по которым резали ножницами) могли попасть на поверхность лопатки, что далее привело к наличию некоторых чужеродных бактерий на среде МПА.

3.5 Определение подъемной силы дрожжей

Эксперимент был проведен трижды при 37°C внутри термостата, откуда мы далее вычисли среднее значение по времени всплытия. Согласно методике [198], подъемная сила дрожжей характеризуется временем, прошедшим с момента внесения теста в форму до момента его подъема на 70 мм.

Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Расчет подъемной силы дрожжей

Номер опыта	Время всплытия (мин)	Среднее значение времени всплытия (мин)	Подъемная сила (3.5 × среднее значение)
1	6	7	24,5
2	7		
3	8		

Согласно ГОСТ 171-2015 [168], подъемная сила должна быть меньше 50 (для высшего сорта). В нашем случае она составляет 24,5, что значительно меньше критического значения. Следовательно, готовая продукция дрожжей Алматинского дрожжевого завода соответствует норме подъемной силы, что свидетельствует о высокой бродильной активности, необходимой для дрожжевого продукта. Присутствующие отклонения незначительны и предположительно связаны с ошибками репрезентативности при приготовлении теста.

Работа Благовещенской Е.Ю. (2016) [195], показала, что подъемная сила готовых дрожжей «Люкс» являлась наиболее качественной из-за высоких показателей подъемной силы. Был проведен сравнительный анализ пяти образцов дрожжей разных производств, чьей подъем занимал от 10 до 17 минут. Образцы дрожжей «Люкс» имели наименьшие показатели времени всплытия шарика (9 минут), что лишь на 2 мин выше наших результатов. Аналогичные результаты говорят о высококачественной продукции и ее

активной бродильной активности в готовой партии Алматинского дрожжевого завода.

Анализируемая партия являлась на момент эксперимента свежей, что положительно повлияло на качественный результат подъемной силы. Это соответствует данным исследования Шарипов К. О. и соавторов (2017) [196], где исходная проба дрожжей показала наименьшее время всплытия шарика (10 минут в среднем), но при дальнейшем хранении дрожжей 35 суток, время всплытия увеличивается вплоть до 60 минут. Это связано с понижением содержания глутатиона при долгом хранении, что негативно влияет на скорость брожения и подъемную силу дрожжей. Мы использовали дрожжи, что хранились 6 суток на момент исследования, что объясняет относительную быстроту всплытия - 7 мин. Дальнейшее же хранение привело бы к более длительному процессу всплытия, как подтверждает исследование Suomalainen Н. (1974) [197]. Результаты их исследования показали, что при хранении прессованных пекарских дрожжей запасы углеводов расходуются, а способность дрожжей к брожению исчезает. При длительном хранении расходуются источники углерода, включая трегалозы, что является резервом при адаптации к низким температурам [198] и, соответственно, бродильная активность падает. Поэтому рекомендуется хранение сушеных дрожжей при температуре не выше 15 °С, 12 месяцев.

Таким образом, на основании проведенных экспериментов и анализа литературных источников можно сделать вывод, что дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* партии от 24.01.25 обладают высокой ферментативной активностью и соответствуют требованиям ГОСТ 171-2015.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования были получены важные для производства данные по оптимизации физико-химически свойств культуральной среды *Saccharomyces cerevisiae*, а также микробиологической чистоты и качества готовых дрожжевых продуктов.

Выводы:

- 1 Оптимизирован состав питательной среды на основе солода для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*.
- 2 Определен оптимальный температурный режим культивирования *Saccharomyces cerevisiae*, 34 °С.
- 3 Оценены показатели подъёмной силы и биобезопасности готовой продукции дрожжей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., et al. Life with 6000 genes // *Science*. – 1996. – Vol. 274. – P. 563–547. – DOI: 10.1126/science.274.5287.546.
- 2 Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.S., Hatziloukas E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications // *AIMS Microbiology*. – 2020. – Vol. 6, No. 1. – P. 1–31. – DOI: 10.3934/microbiol.2020001.
- 3 Samuel D., Kumar T.K., Ganesh G., Jayaraman G., Yang P.W., Chang M.M., et al. Proline inhibits aggregation during protein refolding // *Protein Science*. – 2000. – Vol. 9. – P. 344–352. – DOI: 10.1110/ps.9.2.344.
- 4 Samuel D. Their staff of life: initial investigations on ancient Egyptian bread baking // In: Kemp B.J. (ed.). *Amarna Reports V*. – London: Egypt Exploration Society, 1989. – Occasional Publications 6. – P. 253–293.
- 5 Dunn R.R., Amato K.R., Archie E.A., Arandjelovic M., Crittenden A.N., Nichols L.M. The internal, external and extended microbiomes of hominins // *Frontiers in Ecology and Evolution*. – 2020. – Vol. 8. – Art. 25. – DOI: 10.3389/fevo.2020.00025.
- 6 Lahue C., Madden A.A., Dunn R.R., Smukowski Heil C. History and domestication of *Saccharomyces cerevisiae* in bread baking // *Frontiers in Genetics*. – 2020. – Vol. 11. – Art. 584718.
- 7 Frey C. History and development of the modern yeast industry // *Industrial & Engineering Chemistry*. – 1930. – Vol. 22. – P. 1154–1162. – DOI: 10.1021/ie50251a012.
- 8 Matallana E., Aranda A. Biotechnological impact of stress response on wine yeast // *Letters in Applied Microbiology*. – 2017. – Vol. 64. – P. 103–110. – DOI: 10.1111/lam.12677.
- 9 Bauer F., Pretorius I.S. Yeast stress response and fermentation efficiency: how to survive the making of wine – a review // *South African Journal of Enology and Viticulture*. – 2000. – Vol. 21. – P. 27–51.
- 10 Mina M., Tsaltas D. Contribution of yeast in wine aroma and flavour // *Yeast-Industrial Applications*. – 2017. – P. 117–134.
- 11 Cordente A.G., Curtin C.D., Varela C., et al. Flavour-active wine yeasts // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2012. – Vol. 96. – P. 601–618. – DOI: 10.1007/s00253-012-4370-z.
- 12 Heitmann M., Zannini E., Arendt E. Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites produced during fermentation on bread quality parameters: a review // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2018. – Vol. 58. – P. 1152–1164. – DOI: 10.1080/10408398.2016.1244153.
- 13 Hidalgo A., Brandolini A. Bread from wheat flour // In: Batt C.A., Tortorello M.L. (eds). *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd ed. – Oxford: Academic Press, 2014. – P. 303–308.
- 14 Coton E., Coton M., Levert D., Casaregola S., Sohier D. Yeast ecology in French cider and black olive natural fermentations // *International Journal of Food Microbiology*. – 2006. – Vol. 108. – P. 130–135.

- 15 Lila Z.A., Mohammed N., Takahashi T., et al. Increase of ruminal fiber digestion by cellobiose and a twin strain of *Saccharomyces cerevisiae* live cells in vitro // *Animal Science Journal*. – 2006. – Vol. 77, No. 4. – P. 407–413.
- 16 Хохрин С.Н. Корма и кормление животных. – СПб.: Лань, 2002.
- 17 Тулубаев Н., Перегудова Д. Производство биоэтанола с использованием отходов пшеницы в качестве сырья // *Scientific Collection «InterConf»*. – 2024. – № 210. – С. 192–203. – URL: <https://archive.interconf.center/index.php/conference-proceeding/article/view/6761>.
- 18 Guo M., Song W., Buhain J. Bioenergy and biofuels: history, status, and perspective // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2015. – Vol. 42. – P. 712–725.
- 19 Nigam P.S., Singh A. Production of liquid biofuels from renewable resources // *Progress in Energy and Combustion Science*. – 2011. – Vol. 37. – P. 52–68.
- 20 Mohd Azhar S.H., Abdulla R., Jambo S.A., et al. Yeasts in sustainable bioethanol production: a review // *Biochemistry and Biophysics Reports*. – 2017. – Vol. 10. – P. 52–61. – DOI: 10.1016/j.bbrep.2017.03.003.
- 21 Walker G.M. Metals in yeast fermentation processes // *Advances in Applied Microbiology*. – 2004. – Vol. 54. – P. 197–229. – DOI: 10.1016/S0065-2164(04)54008-X.
- 22 Bai F.Y., Han D.Y., Duan S.F., Wang Q.M. The ecology and evolution of the baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Genes (Basel)*. – 2022. – Vol. 13, No. 2. – Art. 230. – DOI: 10.3390/genes13020230.
- 23 Sniegowski P.D., Dombrowski P.G., 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 Research*. – 2002. – Vol. 1. – P. 299–306. – DOI: 10.1111/j.1567-1364.2002.tb00048.x.
- 24 Sampaio J.P., Goncalves P. Natural populations of *Saccharomyces kudriavzevii* in Portugal are associated with oak bark and are sympatric with *S. cerevisiae* and *S. paradoxus* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2008. – Vol. 74. – P. 2144–2152. – DOI: 10.1128/AEM.02396-07.
- 25 Zhang H.Y., Skelton A., Gardner R.C., et al. *Saccharomyces paradoxus* and *Saccharomyces cerevisiae* reside on oak trees in New Zealand: evidence for migration from Europe and interspecies hybrids // *FEMS Yeast Research*. – 2010. – Vol. 10. – P. 941–947. – DOI: 10.1111/j.1567-1364.2010.00681.x.
- 26 Wang Q.M., Liu W.Q., Liti G., Wang S.A., Bai F.Y. Surprisingly diverged populations of *Saccharomyces cerevisiae* in natural environments remote from human activity // *Molecular Ecology*. – 2012. – Vol. 21. – P. 5404–5417. – DOI: 10.1111/j.1365-294X.2012.05732.x.
- 27 Kowalik V., Greig D. A systematic forest survey showing an association of *Saccharomyces* with oak leaf litter // *Environmental Microbiology Reports*. – 2016. – DOI: 10.1111/1758-2229.12446.

28 Knight S.J., Goddard M.R. Sporulation in soil as an overwinter survival strategy in *Saccharomyces cerevisiae* // FEMS Yeast Research. – 2016. – Vol. 16. – Art. fov102. – DOI: 10.1093/femsyr/fov102.

29 Chandler J.A., Eisen J.A., Kopp A. Yeast communities of diverse *Drosophila* species: comparison of two symbiont groups in the same hosts // Applied and Environmental Microbiology. – 2012. – Vol. 78. – P. 7327–7336. – DOI: 10.1128/AEM.01741-12.

30 Stefanini I., Dapporto L., Legras J.L., et al. Role of social wasps in *Saccharomyces cerevisiae* ecology and evolution // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2012. – Vol. 109. – P. 13398–13403. – DOI: 10.1073/pnas.1208362109.

31 Goddard M.R., Anfang N., Tang R., et al. A distinct population of *Saccharomyces cerevisiae* in New Zealand: evidence for local dispersal by insects and human-aided global dispersal in oak barrels // Environmental Microbiology. – 2010. – Vol. 12. – P. 63–73. – DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02035.x.

32 Albergaria H., Francisco D., Gori K., et al. *Saccharomyces cerevisiae* CCMI 885 secretes peptides that inhibit the growth of some non-*Saccharomyces* wine-related strains // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2010. – Vol. 86. – P. 965–972. – DOI: 10.1007/s00253-009-2409-6.

33 Jouhten P., Ponomarova O., Gonzalez R., Patil K.R. *Saccharomyces cerevisiae* metabolism in ecological context // FEMS Yeast Research. – 2016. – Vol. 16, No. 7. – Art. fow080. – DOI: 10.1093/femsyr/fow080.

34 Shindala A., Bungay H.R., Krieg N.R., et al. Mixed-culture interactions. I. Commensalism of *Proteus vulgaris* with *Saccharomyces cerevisiae* in continuous culture // Journal of Bacteriology. – 1965. – Vol. 89. – P. 693–696. – DOI: 10.1128/jb.89.3.693-696.1965.

35 Dupres V., Dufrêne Y.F., Heinisch J.J. Measuring cell wall thickness in living yeast cells using single molecular rulers // ACS Nano. – 2010. – Vol. 4. – P. 5498–5504. – DOI: 10.1021/nn101598v.

36 Peter Orlean. Architecture and Biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall // Genetics. – 2012. – Vol. 192, No. 3. – P. 775–818. – DOI: 10.1534/genetics.112.144485.

37 Linnane R.J., Anthony. Studies on the oxidative metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* // Journal of Biophysical and Biochemical Cytology. – 1961. – Vol. 9, No. 3. – P. 689–699. – DOI: 10.1083/jcb.9.3.689.

38 Klis F.M., Mol P., Hellingwerf K., Brul S. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* // FEMS Microbiology Reviews. – 2002. – Vol. 26, No. 3. – P. 239–256. – DOI: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00613.x.

39 Overbeck A., Kampen I., Kwade A. Mechanical characterization of yeast cells: effects of growth conditions // Letters in Applied Microbiology. – 2015. – Vol. 61. – P. 333–338. – DOI: 10.1111/lam.12468.

40 Klis F.M., Mol P., Hellingwerf K., Brul S. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* // FEMS Microbiology Reviews. – 2002. – Vol. 26, No. 3. – P. 239–256. – DOI: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00613.x.

- 41 Zakhartsev M., Reuss M. Cell size and morphological properties of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to growth temperature // FEMS Yeast Research. – 2018. – Vol. 18, No. 6. – DOI: 10.1093/femsyr/foy052.
- 42 Serikov T.A., Jamalova G.A., Rafikova K.S., Yelikbayev B.K., Yernazarova A.K., Kurbanova L.S., Zazybin A.G., Sakhanin V.S., Egutkin V.Yu. Ecological, biological and biotechnological aspects of *Saccharomyces cerevisiae* biomass production // Caspian Journal of Environmental Sciences. – 2024. – Vol. 22, No. 2. – P. 499–512. – DOI: 10.22124/CJES.2023.7327.
- 43 Chikashige Y., Arakawa S., Leibnitz K., Tsutsumi C., Mori C., Osakada H., Murata M., Haraguchi T., Hiraoka Y. Cellular economy in fission yeast cells continuously cultured with limited nitrogen resources // Scientific Reports. – 2015. – Vol. 5. – Art. 15617. – DOI: 10.1038/srep15617.
- 44 Lee C.S., Haber J.E. Cellular reprogramming in yeast // Microbiology Spectrum. – 2015. – Vol. 3. – P. 491–514. – DOI: 10.1128/microbiolspec.MDNA3-0013-2014.
- 45 Xie D., Yingqi S., Yanan L. Effect of glucose levels on carbon flow rate, antioxidant status, and enzyme activity of yeast during fermentation // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2022. – Vol. 102. – P. 5333–5347.
- 46 Cherry J.M., Hong E.L., Amundsen C., et al. *Saccharomyces* Genome Database: the genomics resource of budding yeast // Nucleic Acids Research. – 2012. – Vol. 40. – P. D700–D705.
- 47 Frick O., Wittmann C. Characterization of the metabolic shift between oxidative and fermentative growth in *Saccharomyces cerevisiae* by comparative ¹³C flux analysis // Microbial Cell Factories. – 2005. – Vol. 4. – Art. 30. – DOI: 10.1186/1475-2859-4-30.
- 48 Dzialo M.C., Park R., Steensels J., Lievens B., Verstrepen K.J. Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast // FEMS Microbiology Reviews. – 2017. – Vol. 41, Suppl. 1. – P. S95–S128. – DOI: 10.1093/femsre/fux031.
- 49 Navarrete C., Nielsen J., Siewers V. Enhanced ethanol production and reduced glycerol formation in *fps1Δ* mutants of *Saccharomyces cerevisiae* engineered for improved redox balancing // AMB Express. – 2014. – Vol. 4. – Art. 86.
- 50 Yu K.O., Kim S.W., Han S.O. Engineering of glycerol utilization pathway for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* // Bioresource Technology. – 2010. – Vol. 101. – P. 4157–4161.
- 51 Yu Z., Chang Z., Lu Y. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for glycerol utilization // FEMS Yeast Research. – 2023. – Vol. 23. – Art. foal014.
- 52 Xie D., Zheng J., Sun Y., Li X., Ren S. Effect of Ca²⁺ signal on the activity of key enzymes of carbon metabolism and related gene expression in yeast under high sugar fermentation // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2024. – Vol. 105, No. 1. – P. 276–284. – DOI: 10.1002/jsfa.13826.

53 Pronk J.T., Steensma H.Y., van Dijken J.P. Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast*. – 1996. – Vol. 12. – P. 1607–1633. – DOI: 10.1002/(sici)1097-0061(199612)12:16<1607::aid-yea70>3.0.co;2-4.

54 Hagman A., Sall T., Compagno C., et al. Yeast 'make-accumulate-consume' life strategy evolved as a multi-step process that predates the whole genome duplication // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – Art. e68734. – DOI: 10.1371/journal.pone.0068734.

55 Malina C., Yu R., Björkeroth J., Kerkhoven E.J., Nielsen J. Adaptations in metabolism and protein translation give rise to the Crabtree effect in yeast // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2021. – Vol. 118, No. 51. – Art. e2112836118. – DOI: 10.1073/pnas.2112836118.

56 Piskur J., Rozpedowska E., Polakova S., et al. How did *Saccharomyces* evolve to become a good brewer? // *Trends in Genetics*. – 2006. – Vol. 22. – P. 183–186. – DOI: 10.1016/j.tig.2006.02.002.

57 Эльдаров М.А. и др. Геномика и биохимия винных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Успехи биологической химии*. – 2016. – Т. 56. – С. 155–196.

58 Elbein A.D., Pan Y.T., Pastuszak I., Carroll D. New insights on trehalose: a multifunctional molecule // *Glycobiology*. – 2003. – Vol. 13, No. 4. – P. 17R–27R. – DOI: 10.1093/glycob/cwg047.

59 François J., Parrou J.L. Reserve carbohydrates metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2001. – Vol. 25, No. 1. – P. 125–145.

60 Kim B., Lee Y., Choi H. The trehalose-6-phosphate phosphatase Tps2 regulates ATG8 transcription and autophagy in *Saccharomyces cerevisiae* // *Autophagy*. – 2021. – Vol. 17. – P. 1013–1027.

61 Guo Z., Li M., Guo Z. Trehalose metabolism targeting as a novel strategy to modulate acid tolerance of yeasts and its application in food industry // *Food Microbiology*. – 2023. – Vol. 114. – Art. 104300.

62 François J., Parrou J.L. Reserve carbohydrates metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2001. – Vol. 25. – P. 125–145.

63 Буряченко С.В. Молекулярная генетика дрожжей сахаромикетов. – Германия: LAP Lambert Academic Publishing, 2016. – 16 с.

64 Коломникова Я.П., Дерканосова А.А., Мануковская М.В., Литвинова Е.В. Влияние нетрадиционного растительного сырья на биотехнологические свойства и структуру сдобного теста // *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. – 2015. – № 3 (65). – С. 157–160.

65 Старовойтова О.В., Борисова С.В. Изучение влияния консервантов на сроки хранения полуфабриката из животного сырья // *Вестник Казанского технологического университета*. – 2011. – № 16. – С. 167–172.

66 Murakami C., Kaeberlein M. Quantifying yeast chronological life span by outgrowth of aged cells // *Journal of Visualized Experiments*. – 2009.

- 67 Biddick R., Young E.T. The disorderly study of ordered recruitment // *Yeast*. – 2009. – Vol. 26. – P. 205–220. – DOI: 10.1002/yea.1660.
- 68 Hohmann S., Krantz M., Nordlander B. Yeast osmoregulation // *Methods in Enzymology*. – 2007. – Vol. 428. – P. 29–45. – DOI: 10.1016/S0076-6879(07)28002-4.
- 69 Nasheuer H.P., Smith R., Bauerschmidt C., Grosse F., Weisshart K. Initiation of eukaryotic DNA replication: regulation and mechanisms // *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*. – 2002. – Vol. 72. – P. 41–94. – DOI: 10.1016/s0079-6603(02)72067-9.
- 70 Lopez-Mirabal H.R., Winther J.R. Redox characteristics of the eukaryotic cytosol // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2008. – Vol. 1783. – P. 629–640. – DOI: 10.1016/j.bbamcr.2007.10.013.
- 71 Owsianowski E., Walter D., Fahrenkrog B. Negative regulation of apoptosis in yeast // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2008. – Vol. 1783. – P. 1303–1310. – DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.03.006.
- 72 Karathia H., Vilaprinyo E., Sorribas A., Alves R. *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism: a comparative study // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6, No. 2. – Art. e16015. – DOI: 10.1371/journal.pone.0016015.
- 73 Инге-Вечтомов С.Г. Прионы дрожжей и центральная догма молекулярной биологии // *Вестник РАН*. – 2000. – Т. 70, № 4. – С. 299–306.
- 74 Culotti J., Hartwell L.H. Genetic control of the cell division cycle in yeast. III. Seven genes controlling nuclear division // *Experimental Cell Research*. – 1971. – Vol. 67. – P. 389–401.
- 75 Hartwell L.H. Genetic control of the cell division cycle in yeast. II. Genes controlling DNA replication and its initiation // *Journal of Molecular Biology*. – 1971. – Vol. 59. – P. 183–194.
- 76 Hartwell L.H. Genetic control of the cell division cycle in yeast: IV. Genes controlling bud emergence and cytokinesis // *Experimental Cell Research*. – 1971. – Vol. 69. – P. 265–276.
- 77 Dmytruk K.V., Kurylenko O.O., Ruchala J., Abbas C.A., Sibirny A.A. Genetic improvement of conventional and nonconventional yeasts for the production of first- and second-generation ethanol // In: *Biotechnology of Yeasts and Filamentous Fungi*. – 2017. – P. 1–38.
- 78 Norkrans B. Studies on marine occurring yeasts: growth related to pH, NaCl concentration and temperature // *Archives of Microbiology*. – 1966. – Vol. 54. – P. 374–392.
- 79 Peñalva M.A., Arst H.N. Jr. Regulation of gene expression by ambient pH in filamentous fungi and yeasts // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2002. – Vol. 66, No. 3. – P. 426–446.
- 80 Peñalva M.A., et al. Ambient pH gene regulation in fungi: making connections // *Trends in Microbiology*. – 2008. – Vol. 16, No. 6. – P. 291–300.
- 81 Peña A., Sánchez N.S., Álvarez H., Calahorra M., Ramírez J. Effects of high medium pH on growth, metabolism and transport in *Saccharomyces cerevisiae*

// FEMS Yeast Research. – 2015. – Vol. 15, No. 2. – Art. fou005. – DOI: 10.1093/femsyr/fou005.

82 Fernández-Niño M., et al. The cytosolic pH of individual *Saccharomyces cerevisiae* cells is a key factor in acetic acid tolerance // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2015. – Vol. 81, No. 22. – P. 7813–7821.

83 Caspeta L., Chen Y., Ghiaci P., et al. Biofuels. Altered sterol composition renders yeast thermotolerant // *Science*. – 2014. – Vol. 346. – P. 75–78. – DOI: 10.1126/science.1258137.

84 Walker G.M., Walker R.S. Enhancing yeast alcoholic fermentations // *Advances in Applied Microbiology*. – 2018. – Vol. 68. – P. 87–129. – DOI: 10.1016/bs.aambs.2018.05.003.

85 Medina V.G., Almering M.J., van Maris A.J., et al. Elimination of glycerol production in anaerobic cultures of a *Saccharomyces cerevisiae* strain engineered to use acetic acid as an electron acceptor // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2010. – Vol. 76. – P. 190–195. – DOI: 10.1128/AEM.01772-09.

86 Lambrechts M.G., Pretorius I.S. Yeast and its importance to wine aroma – A review // *South African Journal of Enology and Viticulture*. – 2000. – Vol. 21. – P. 97–129.

87 Frick O., Wittmann C. Characterization of the metabolic shift between oxidative and fermentative growth in *Saccharomyces cerevisiae* by comparative ¹³C flux analysis // *Microbial Cell Factories*. – 2005. – Vol. 4. – Art. 30.

88 Proust L., Sourabié A., Pedersen M., Besançon I., Haudebourg E., Monnet V., Juillard V. Insights into the complexity of yeast extract peptides and their utilization by *Streptococcus thermophilus* // *Frontiers in Microbiology*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 906. – DOI: 10.3389/fmicb.2019.00906.

89 Proust L., Haudebourg E., Sourabié A., Pedersen M., Besançon I., Monnet V., Juillard V. Multi-omics approach reveals how yeast extract peptides shape *Streptococcus thermophilus* metabolism // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2020. – Vol. 86, No. 22. – Art. e01446-20. – DOI: 10.1128/AEM.01446-20.

90 Smith J.S., Hillier A.J., Lees G.J. The nature of the stimulation of the growth of *Streptococcus lactis* by yeast extract // *Journal of Dairy Research*. – 1975. – Vol. 42. – P. 123–138. – DOI: 10.1017/S0022029900015156.

91 Kevvai K., Kütt M.-L., Nisamedtinov I., Paalme T. Utilization of ¹⁵N-labelled yeast hydrolysate in *Lactococcus lactis* IL1403 culture indicates co-consumption of peptide-bound and free amino acids with simultaneous efflux of free amino acids // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 2014. – Vol. 105. – P. 511–522. – DOI: 10.1007/s10482-013-0103-2.

92 Hahn-Hägerdal B., Karhumaa K., Larsson C.U., Gorwa-Grauslund M., Görgens J., van Zyl W.H. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use // *Microbial Cell Factories*. – 2005. – Vol. 4. – Art. 31. – DOI: 10.1186/1475-2859-4-31.

93 HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. Malt Yeast Agar: Technical Data Sheet M1967 (Rev. 03/2024). – 2024. – Retrieved from: <https://www.himedialabs.com>.

- 94 Lodolo E.J., Kock J.L.F., Axcell B.C., Brooks M. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* – the main character in beer brewing // FEMS Yeast Research. – 2008. – Vol. 8, No. 7. – P. 1018–1036. – DOI: 10.1111/j.1567-1364.2008.00433.x.
- 95 Hammond J.R.M. Brewing yeast // In: Rose A.H., Harrison J.S. (Eds.) The Yeasts. – 2nd ed. – London: Academic Press, 1993. – P. 5–67.
- 96 Bamforth C.W. Wort composition and beer quality // In: Smart K. (Ed.) Brewing yeast fermentation performance. – Oxford: Blackwell Science, 2003. – P. 77–85.
- 97 Perli T., Wronska A.K., Ortiz-Merino R.A., Pronk J.T., Daran J. Vitamin requirements and biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* // Yeast. – 2020. – DOI: 10.1002/yea.3461.
- 98 Burkholder P.R., McVeigh I., Moyer D. Studies on some growth factors of yeasts // Journal of Bacteriology. – 1944. – Vol. 48. – P. 385–391.
- 99 Hahn-Hägerdal B., Karhumaa K., Larsson C.U., Gorwa-Grauslund M., Görgens J., van Zyl W.H. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use // Microbial Cell Factories. – 2005. – Vol. 4. – Art. 31. – DOI: 10.1186/1475-2859-4-31.
- 100 Malairuang K. High-cell-density cultivation of three model microorganisms with intensively multiple sequential batch technique. Ph.D. Thesis. – Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri, Thailand, 2019
- 101 Dickinson J. R. Metabolism and molecular physiology of *Saccharomyces cerevisiae*. – Taylor & Francis, 1998.
- 102 Ponce de Leon C.A., Bayon M.M., Paquin C., Carusa J.A. Se incorporation into *Saccharomyces cerevisiae* cells: a study of different incorporation methods // Journal of Applied Microbiology. – 2002. – Vol. 92. – P. 602–610.
- 103 Rajashree K., Muthukumar T. Selection of culture medium and conditions for the production of selenium enriched *Saccharomyces cerevisiae* // African Journal of Biotechnology. – 2013. – Vol. 12, No. 20. – P. 2972–2977. – DOI: 10.5897/AJB2012.11207.
- 104 Меледина Т.В., Давыденко С.Г., Васильева Л.М. Физиологическое состояние дрожжей: учебное пособие. – СПб: Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Институт холода и биотехнологий, 2013. – 48 с.
- 105 Гамаюрова В.С., Зиновьева М.Е., Чан Тхи Тху Хыонг, Васильева А.В. Влияние состава питательной среды на липолитическую активность дрожжей *Yarrowia lipolytica* // Бутлеровские сообщения. – 2013. – Т. 35, № 9. – С. 71–77.
- 106 Miller T., Churchill B.W. Substrates for large-scale fermentations // In: Demian A.L., Solomon N.A. (Eds.) Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. – Washington DC: ASM Press, 1986. – P. 122–136.
- 107 Dahod S.K. Raw material selection and medium development for industrial fermentation processes // In: Demain A.L., Davies J.E. (Eds.) Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. – 2nd ed. – Washington DC: ASM Press, 1999. – P. 213–220.

- 108 Zhang J., Reddy J., Buckland B., Greasham R. Toward consistent and productive complex media for industrial fermentations: Studies on yeast extract for a recombinant yeast fermentation process // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2003. – Vol. 82. – P. 640–652. – DOI: 10.1002/bit.10608.
- 109 Hahn-Hägerdal B., Karhumaa K., Larsson C.U., Gorwa-Grauslund M., Görgens J., van Zyl W.H. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use // *Microbial Cell Factories*. – 2005. – Vol. 4. – Art. 31. – DOI: 10.1186/1475-2859-4-31.
- 110 Schultz A.S., Atkin L., Frey C.N. Fermentation of maltose in the dough // *Cereal Chemistry*. – 1939. – Vol. 16. – P. 648–651.
- 111 Stolz J., Vielreicher M. Tpn1p, the plasma membrane vitamin B6 transporter of *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278. – P. 18990–18996.
- 112 White W.H., Gunyuzlu P.L., Toyn J.H. *Saccharomyces cerevisiae* is capable of de novo pantothenic acid biosynthesis involving a novel pathway of β -alanine production from spermine // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – Vol. 276. – P. 10794–10800.
- 113 White M.J., Lopes J.M., Henry S.A. Inositol metabolism in yeasts // *Advances in Microbial Physiology*. – 1991. – Vol. 32. – P. 1–51.
- 114 Ribeiro-Filho N., Linforth R., Bora N., Powell C.D., Fisk I.D. The role of inorganic phosphate, potassium and magnesium in yeast-flavour formation // *Food Research International*. – 2022. – Vol. 162 (Pt A). – Art. 112044. – DOI: 10.1016/j.foodres.2022.112044.
- 115 Kornberg A., Rao N.N., Ault-Riché D. Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions // *Annual Review of Biochemistry*. – 1999. – Vol. 68. – P. 89–125. – DOI: 10.1146/annurev.biochem.68.1.89.
- 116 Hartel H., Dormann P., Benning C. DGD1-independent biosynthesis of extraplastidic galactolipids after phosphate deprivation in *Arabidopsis* // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. – 2000. – Vol. 97. – P. 10649–10654.
- 117 Nakamura Y., Awai K., Masuda T., Yoshioka Y., Takamiya K., Ohta H. A novel phosphatidylcholine-hydrolyzing phospholipase C induced by phosphate starvation in *Arabidopsis* // *Journal of Biological Chemistry*. – 2005. – Vol. 280. – P. 7469–7476.
- 118 Cyert M.S., Philpott C.C. Regulation of cation balance in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*. – 2013. – Vol. 193. – P. 677–713. – DOI: 10.1534/genetics.112.147207.
- 119 Ariño J., Ramos J., Sychrová H. Alkali metal cation transport and homeostasis in yeasts // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2010. – Vol. 74. – P. 95–120. – DOI: 10.1128/MMBR.00042-09.
- 120 Yenush L., Merchan S., Holmes J., Serrano R. pH-Responsive, posttranslational regulation of the Trk1 potassium transporter by the type 1-related Ppz1 phosphatase // *Molecular and Cellular Biology*. – 2005. – Vol. 25. – P. 8683–8692.

- 121 Masaryk J., Sychrová H. Yeast Trk1 potassium transporter gradually changes its affinity in response to both external and internal signals // *Journal of Fungi (Basel)*. – 2022. – Vol. 8, No. 5. – Art. 432. – DOI: 10.3390/jof8050432.
- 122 D'Amore T., Panchal C.J., Russell I., Stewart G.G. Osmotic pressure effects and intracellular accumulation of ethanol in yeast during fermentation // *Journal of Industrial Microbiology*. – 1988. – Vol. 2. – P. 365–372.
- 123 Blackwell K.J., Tobin I.M., Avery S.V. Manganese uptake and toxicity in magnesium-supplemented and unsupplemented *Saccharomyces cerevisiae* // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 1997. – Vol. 47. – P. 180–184.
- 124 Walker G.M., Maynard A.I. Accumulation of magnesium ions during fermentative metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. – 1997. – Vol. 18. – P. 1–3.
- 125 Pankiewicz U., Jamroz J. Effect of pulsed electric fields upon accumulation of magnesium in *Saccharomyces cerevisiae* // *European Food Research and Technology*. – 2010. – Vol. 231. – P. 663–668. – DOI: 10.1007/s00217-010-1317-4.
- 126 Yang Y., Xie P., Li Y., Bi Y., Prusky D.B. Updating insights into the regulatory mechanisms of calcineurin-activated transcription factor Crz1 in pathogenic fungi // *Journal of Fungi (Basel)*. – 2022. – Vol. 8, No. 10. – Art. 1082. – DOI: 10.3390/jof8101082.
- 127 Bates S., MacCallum D.M., Bertram G., et al. *Candida albicans* Pmr1p, a secretory pathway P-type $\text{Ca}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$ -ATPase, is required for glycosylation and virulence // *Journal of Biological Chemistry*. – 2005. – Vol. 280, No. 24. – P. 23408–23415. – DOI: 10.1074/jbc.M502162200.
- 128 Luna-Tapia A., DeJarnette C., Sansevere E., et al. The vacuolar Ca^{2+} ATPase pump Pmc1p is required for *Candida albicans* pathogenesis // *mSphere*. – 2019. – Vol. 4, No. 1. – Art. e00715-18. – DOI: 10.1128/mSphere.00715-18.
- 129 Bartok A., Weaver D., Golenár T., et al. IP₃ receptor isoforms differently regulate ER-mitochondrial contacts and local calcium transfer // *Nature Communications*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 3726. – DOI: 10.1038/s41467-019-11646-3.
- 130 Xie D., Sun Y., Li X., Zheng J., Ren S. Study of the effect of calcium signal participating in the antioxidant mechanism of yeast under high-sugar environment // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2024. – Vol. 104, No. 10. – P. 5776–5788. – DOI: 10.1002/jsfa.13411.
- 131 Locke E.G., Bonilla M., Liang L., Takita Y., Cunningham K.W. A homolog of voltage-gated Ca^{2+} channels stimulated by depletion of secretory Ca^{2+} in yeast // *Molecular and Cellular Biology*. – 2000. – Vol. 20, No. 18. – P. 6686–6694. – DOI: 10.1128/MCB.20.18.6686-6694.2000.
- 132 Ramos-Alonso L., Romero A.M., Martínez-Pastor M.T., Puig S. Iron regulatory mechanisms in *Saccharomyces cerevisiae* // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – Vol. 11. – Art. 582830. – DOI: 10.3389/fmicb.2020.582830.
- 133 Gaensly F., Picheth G., Brand D., Bonfim T.M. The uptake of different iron salts by the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Brazilian Journal of*

Microbiology. – 2014. – Vol. 45, No. 2. – P. 491–494. – DOI: 10.1590/s1517-83822014000200016.

134 Eide D.J. Transcription factors and transporters in zinc homeostasis: lessons learned from fungi // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*. – 2020. – Vol. 55, No. 1. – P. 88–110.

135 Eide D.J. Homeostatic and adaptive responses to zinc deficiency in *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of Biological Chemistry*. – 2009. – Vol. 284, No. 28. – P. 18565–18569.

136 Soto-Cardalda A., Fakas S., Pascual F., Choi H.S., Carman G.M. Phosphatidate phosphatase plays role in zinc-mediated regulation of phospholipid synthesis in yeast // *Journal of Biological Chemistry*. – 2012. – Vol. 287, No. 2. – P. 968–977.

137 Iwanyshyn W.M., Han G.S., Carman G.M. Regulation of phospholipid synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* by zinc // *Journal of Biological Chemistry*. – 2004. – Vol. 279, No. 21. – P. 21976–21983.

138 Wu C.Y., Steffen J., Eide D.J. Cytosolic superoxide dismutase (SOD1) is critical for tolerating the oxidative stress of zinc deficiency in yeast // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4, No. 9. – Art. e7061. – DOI: 10.1371/journal.pone.0007061.

139 Lim J.C., Choi H.I., Park Y.S., et al. Irreversible oxidation of the active-site cysteine of peroxiredoxin to cysteine sulfonic acid for enhanced molecular chaperone activity // *Journal of Biological Chemistry*. – 2008. – Vol. 283, No. 43. – P. 28873–28880.

140 Teixeira F., Tse E., Castro H., et al. Chaperone activation and client binding of a 2-cysteine peroxiredoxin // *Nature Communications*. – 2019. – Vol. 10. – Art. 659.

141 Будко Е.В., Хабаров А.А., Конопля А.И., Горбачева Л.А., Ельцова Н.О. Обогащение дрожжей солями цинка // *Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина, Фармация*. – 2012. – № 10. – С. 90–94.

142 Naik R.P., Preetam V.C., Kumari N.N., et al. Effect of different zinc sources and concentrations on the biomass yield of *Saccharomyces cerevisiae* yeast // *Biological Trace Element Research*. – 2022. – Vol. 200, No. 9. – P. 4171–4174. – DOI: 10.1007/s12011-021-02998-3.

143 Culotta V.C., Yang M., O'Halloran T.V. Activation of superoxide dismutases: putting the metal to the pedal // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. – 2006. – Vol. 1763, No. 7. – P. 747–758. – DOI: 10.1016/j.bbamcr.2006.05.003.

144 Portnoy M.E., Rosenzweig A.C., Rae T., et al. Structure-function analyses of the ATX1 metallochaperone // *Journal of Biological Chemistry*. – 1999. – Vol. 274, No. 21. – P. 15041–15045. – DOI: 10.1074/jbc.274.21.15041.

145 Winge D.R., Nielson K.B., Gray W.R., Hamer D.H. Yeast metallothionein: sequence and metal-binding properties // *Journal of Biological Chemistry*. – 1985. – P. 14464–14470. – DOI: 10.1016/S0021-9258(17)38592-7.

- 146 De Freitas J., Wintz H., Kim J.H., et al. Yeast, a model organism for iron and copper metabolism studies // *Biometals*. – 2003. – Vol. 16, No. 1. – P. 185–197. – DOI: 10.1023/a:1020771000746.
- 147 Festa R.A., Thiele D.J. Copper: an essential metal in biology // *Current Biology*. – 2011. – Vol. 21, No. 21. – P. R877–R883.
- 148 Peña M.M.O., Lee J., Thiele D.J. A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution // *The Journal of Nutrition*. – 1999. – Vol. 129, No. 7. – P. 1251–1260.
- 149 Sun X.Y., Liu L.L., Zhao Y., et al. Effect of copper stress on growth characteristics and fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae* and the pathway of copper adsorption during wine fermentation // *Food Chemistry*. – 2019. – Vol. 192. – P. 43–52. – DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.06.107.
- 150 Reddi A.R., Jensen L.T., Culotta V.C. Manganese homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae* // *Chemical Reviews*. – 2009. – Vol. 109, No. 10. – P. 4722–4732. – DOI: 10.1021/cr900031u.
- 151 Sigel H., Sigel A. (Eds.) *Metal Ions in Biological Systems: Volume 26: Compendium on Magnesium and Its Role in Biology: Nutrition and Physiology*. – CRC Press, 1990. – Vol. 26.
- 152 Do T.A., Sakai T., Kishida M., Furuta M. Isolation and characterization of a variant manganese resistant strain of *Saccharomyces cerevisiae* // *Biocontrol Science*. – 2016. – Vol. 21, No. 4. – P. 253–260.
- 153 Liu X.F., Supek F., Nelson N., Culotta V.C. Negative control of heavy metal uptake by the *Saccharomyces cerevisiae* BSD2 gene // *Journal of Biological Chemistry*. – 1997. – Vol. 272, No. 18. – P. 11763–11769. – DOI: 10.1016/S0021-9258(18)40514-5.
- 154 Jensen L.T., Ajua-Alemanji M., Culotta V.C. The *Saccharomyces cerevisiae* high affinity phosphate transporter encoded by PHO84 also functions in manganese homeostasis // *Journal of Biological Chemistry*. – 2003. – Vol. 278, No. 43. – P. 42036–42040. – DOI: 10.1074/jbc.M307413200.
- 155 Dix D.R., Bridgham J.T., Broderius M.A., et al. The FET4 gene encodes the low affinity Fe(II) transport protein of *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of Biological Chemistry*. – 1994. – Vol. 269, No. 42. – P. 26092–26099. – DOI: 10.1016/S0021-9258(18)47163-3.
- 156 Filipović-Kovačević Ž., Mikšaj M., Berčuk N., Jukić M. Amperometric biosensor for monitoring respiration activity of *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of cobalt and zinc // *Food Technology and Biotechnology*. – 2002. – Vol. 40, No. 2. – P. 111–117.
- 157 Mensonides F.I.C., Schuurmans J.M., de Mattos M.J.T., et al. The metabolic response of *Saccharomyces cerevisiae* to continuous heat stress // *Molecular Biology Reports*. – 2002. – Vol. 29. – P. 103–106.
- 158 Munna M.S., Humayun S., Noor R. Influence of heat shock and osmotic stresses on the growth and viability of *Saccharomyces cerevisiae* SUBSC01 // *BMC Research Notes*. – 2015. – Vol. 8. – Art. 369. – DOI: 10.1186/s13104-015-1355-x.

159 Munna M.S., Humayun S., Noor R. Influence of heat shock and osmotic stresses on the growth and viability of *Saccharomyces cerevisiae* SUBSC01 // BMC Research Notes. – 2015. – Vol. 8. – Art. 369. – DOI: 10.1186/s13104-015-1355-x.

160 Johnston N.R., Nallur S., Gordon P.B., et al. Genome-wide identification of genes involved in general acid stress and fluoride toxicity in *Saccharomyces cerevisiae* // Frontiers in Microbiology. – 2020. – Vol. 11. – Art. 1410. – DOI: 10.3389/fmicb.2020.01410.

161 Guan N.Z., Liu L. Microbial response to acid stress: mechanisms and applications // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2020. – Vol. 104, No. 1. – P. 51–65. – DOI: 10.1007/s00253-019-10226-1.

162 Peña A., Sánchez N.S., Álvarez H., et al. Effects of high medium pH on growth, metabolism and transport in *Saccharomyces cerevisiae* // FEMS Yeast Research. – 2015. – Vol. 15, No. 2. – Art. fou005. – DOI: 10.1093/femsyr/fou005.

163 ГОСТ 31747–2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий).

164 ГОСТ 10444.12–2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов.

165 ГОСТ 26669–85. Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов.

166 ГОСТ 31747–2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий).

167 ГОСТ 30425–97. Консервы. Метод определения промышленной стерильности.

168 ГОСТ 171–2015. Дрожжи хлебопекарные прессованные. Технические условия.

169 Yu W., Quek W.P., Li C., Gilbert R.G., Fox G.P. Effects of the starch molecular structures in barley malts and rice adjuncts on brewing performance // Fermentation. – 2018. – Vol. 4, No. 4. – Art. 103.

170 Литвинчук К.Г., Таразевич Е.В. Перспективы использования солода ячменного в качестве кормовой добавки для карповых рыб. – 2021.

171 Hussain A., Ali S., Hussain A., et al. Compositional profile of barley landlines grown in different regions of Gilgit-Baltistan // Food Science & Nutrition. – 2021. – Vol. 9, No. 5. – P. 2605–2611. – DOI: 10.1002/fsn3.2215.

172 Duzkiewicz-Reinhard W., Gniewosz M., Błażej S., Bańkowski A. Studies into *Saccharomyces cerevisiae* baker's yeast capacity for binding magnesium under batch conditions // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. – 2005. – Vol. 55, No. 3. – P. 249–255.

173 Azad S.K., Shariatmadari F., Torshizi M.A.K. Production of zinc-enriched biomass of *Saccharomyces cerevisiae* // Journal of Elementology. – 2014. – Vol. 19, No. 2.

- 174 Старовойтова О.В., Борисова С.В. Влияние янтарной кислоты на рост и биотехнологические показатели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – № 16. – С. 167–172.
- 175 Jiménez-Martí E., Zuzuarregui A., Gomar-Alba M., et al. Molecular response of *Saccharomyces cerevisiae* wine and laboratory strains to high sugar stress conditions // International Journal of Food Microbiology. – 2011. – Vol. 145, No. 1. – P. 211–220.
- 176 Goston K., Jeong E.K., Lung C.C., Wang S.S. The effect of salinity stress on cell count of *Saccharomyces cerevisiae* // The Expedition. – 2016. – Vol. 6.
- 177 Pankiewicz U., Zielińska E., Sobota A., Wirkijowska A. The use of *Saccharomyces cerevisiae* supplemented with intracellular magnesium ions by means of pulsed electric field (PEF) in the process of bread production // Foods. – 2022. – Vol. 11, No. 21. – Art. 3496. – DOI: 10.3390/foods11213496.
- 178 Li R., Jin M., Du J., et al. The magnesium concentration in yeast extracts is a major determinant affecting ethanol fermentation performance of *Zymomonas mobilis* // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. – 2020. – Vol. 8. – Art. 957. – DOI: 10.3389/fbioe.2020.00957.
- 179 Terra-Matos J., Teixeira M.O., Santos-Pereira C., et al. *Saccharomyces cerevisiae* cells lacking the zinc vacuolar transporter Zrt3 display improved ethanol productivity in lignocellulosic hydrolysates // Journal of Fungi. – 2022. – Vol. 8, No. 1. – Art. 78.
- 180 Крикунова Л.Н., Рябова С.М., Песчанская В.А., Урусова Л.М. Влияние янтарной кислоты на метаболизм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Пиво и напитки. – 2015. – № 1. – С. 36–38.
- 181 Liu J., Li G., Sui Y. Optimization of culture medium enhances viable biomass production and biocontrol efficacy of the antagonistic yeast, *Candida diversa* // Frontiers in Microbiology. – 2017. – Vol. 8. – Art. 2021.
- 182 ОФС.1.7.2.0008.15. Определение концентрации микробных клеток. – М.: Министерство здравоохранения РФ, 2015. – 13 с.
- 183 Zhang M., Zhang H., He Y., Wu Z., Xu K. Improving thermo-tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* by precise regulation of the expression of small HSP // RSC Advances. – 2023. – Vol. 13. – P. 36254–36260.
- 184 Verghese J., Abrams J., Wang Y., et al. Biology of the heat shock response and protein chaperones: budding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a model system // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2012. – Vol. 76, No. 2. – P. 115–158.
- 185 Tai S.L., Daran-Lapujade P., Walsh M.C., et al. Acclimation of *Saccharomyces cerevisiae* to low temperature: a chemostat-based transcriptome analysis // Molecular Biology of the Cell. – 2007. – Vol. 18, No. 12. – P. 5100–5112. – DOI: 10.1091/mbc.e07-02-0131.
- 186 Salvadó Z., Arroyo-López F.N., Guillamón J.M., et al. Temperature adaptation markedly determines evolution within the genus *Saccharomyces* // Applied and Environmental Microbiology. – 2011. – Vol. 77. – P. 2292–230.

187 Pizarro F.J., Jewett M.C., Nielsen J., Agosin E. Growth temperature exerts differential physiological and transcriptional responses in laboratory and wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2008. – Vol. 74, No. 20. – P. 6358–6368. – DOI: 10.1128/AEM.00602-08.

188 Исламмагомедова Э.А. и др. Влияние различных значений температуры на морфологические свойства дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // *Хранение и переработка сельхозсырья*. – 2020. – № 2. – С. 59–72.

189 Cheung T., Ko J., Lee J., Manpreet T. The effect of temperature on the growth rate of *Saccharomyces cerevisiae* // *The Expedition*. – 2014. – Vol. 4.

190 Viljoen B.C., Lues J.F.R. The microbial populations associated with post-fermented dough and compressed baker's yeast // *Food Microbiology*. – 1993. – Vol. 10, No. 5. – P. 379–386.

191 Dong S.J., Lin X.H., Li H. Regulation of *Lactobacillus plantarum* contamination on the carbohydrate and energy related metabolisms of *Saccharomyces cerevisiae* during bioethanol fermentation // *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. – 2015. – Vol. 68. – P. 33–41. – DOI: 10.1016/j.biocel.2015.08.010.

192 Barrette J., Champagne C.P., Goulet J. Development of bacterial contamination during production of yeast extracts // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1999. – Vol. 65, No. 7. – P. 3261–3263.

193 Durmaz G., Us T., Aydinli A., et al. Optimum detection times for bacteria and yeast species with the BACTEC 9120 aerobic blood culture system: evaluation for a 5-year period in a Turkish university hospital // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2003. – Vol. 41, No. 2. – P. 819–821. – DOI: 10.1128/JCM.41.2.819-821.2003.

194 Vaughan A., O'Sullivan T., Van Sinderen D. Enhancing the microbiological stability of malt and beer—A review // *Journal of the Institute of Brewing*. – 2005. – Vol. 111. – P. 355–371.

195 Лабораторная работа: Определение подъемной силы дрожжей / Выполнена студентами 2-го курса под руководством Благовещенской Е.Ю. – 28 ноября 2016. – 12 с.

196 Шарипов К.О., Скворцова Н.Н., Арыкбаева А.Б. Изучение содержания глутатиона в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* при хранении // *Вестник КазНМУ*. – 2017. – № 3.

197 Suomalainen H. Some enzymological factors influencing the leavening capacity and keeping quality of baker's yeast // *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*. – 1975. – Vol. 1. – P. 1–12.

198 Mahmud S.A., Hirasawa T., Shimizu H. Differential importance of trehalose accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* in response to various environmental stresses // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2010. – Vol. 109. – P. 262–266. – DOI: 10.1016/j.jbiosc.2009.08.500.

НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «КАЗАХСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени К.И.САТПАЕВА»

РЕЦЕНЗИЯ

на дипломную работу

Ле Вероники Владиславовны

6B05101 Химическая и биохимическая инженерия

На тему: Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды для
Saccharomyces cerevisiae

Выполнено:

- а) графическая часть на 12 листах
- б) пояснительная записка на 48 страницах

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

В рецензируемой дипломной работе рассматривается актуальная задача биотехнологии — разработка и оптимизация условий для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*. В литературном обзоре соискателем проанализированы биолого-культуральные свойства дрожжей, рассмотрены метаболические особенности *Saccharomyces cerevisiae* и особенности их роста при различных концентрациях элементов среды.

Исследование было направлено на определение оптимальных физико-химических показателей культуральной среды в целях повышения выхода биомассы *Saccharomyces cerevisiae*. Проведенные исследования определили оптимальную температуру для культивирования дрожжей линейки Angel на солодовой среде. Полученные данные могут быть использованы в целях улучшения качества дрожжевых продуктов, оценки подъемной силы дрожжей.

Замечания. Общая характеристика роли микро- и макроэлементов в росте *Saccharomyces cerevisiae* раскрыта не в полном объеме, т.к. отсутствует анализ их количественного влияния на биомассообразование. Следует отметить, что общий охват темы, структура раздела и систематизация компонентов среды выполнены на хорошем методическом уровне.

Оценка работы

Дипломная работа выполнена методически грамотно и соответствует всем требованиям, предъявляемые к выпускным квалификационным работам, заслуживает оценки «отлично» (95 баллов), рекомендуется к защите, а её автор заслуживает присвоения квалификации «Биотехнолог».

Рецензент

Профессор, д.б.н., Кафедра
биотехнологии КазНУ имени
Аль-Фараби, факультет биологии
и биотехнологии

Ивашенко А.Т.
(подпись)
2025 г.



НЕКОММЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «КАЗАХСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени К.И.САТПАЕВА»

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на дипломную работу

Ле Вероники Владиславовны

6B05101 Химическая и биохимическая инженерия

На тему: Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды для
Saccharomyces cerevisiae

Выполнено:

- а) графическая часть на 12 листах
- б) пояснительная записка на 48 страницах

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Работа Ле Вероники Владиславовны на тему «Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды для *Saccharomyces cerevisiae*» демонстрирует качественно выполненное исследование по вопросам модификации химического состава солодовой жидкой среды, изучения влияния температурного режима для оптимального роста хлебопекарных дрожжей. Дополнительно соискателем были произведены исследования по оценке биобезопасности произведенных дрожжей, предоставляемых заводом и ее биотехнологической способности к подъему.

Анализ 195 литературных источников представил необходимую информацию по биолого-технологическим качествам *Saccharomyces cerevisiae*, подчёркивающих их метаболическую гибкость и актуальность для промышленности.

Экспериментальная часть раскрывает цель и задачи исследования. Соискателем выполнены исследования по модификации химического состава питательной среды, культивировании *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) на твердой и в жидкой питательных средах, изучению культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) в жидкой питательной среде, тестированию температурного режима при культивировании *Saccharomyces cerevisiae* (Angel) в жидкой питательной среде.

Замечания. В работе в качестве объекта исследования выбраны дрожжи Angel, однако не приведено его обоснование. Для повышения научной обоснованности следует кратко указать его производственную значимость, что отличает его от других штаммов.

Оценка работы

Дипломная работа выполнена методически грамотно и соответствует всем требованиям, предъявляемые к выпускным квалификационным работам, заслуживает оценки «отлично» (95 баллов), рекомендуется к защите, а её автор заслуживает присвоения квалификации «Биотехнолог».

Научный руководитель

К.С.Х.Н., доцент

 Джамалова Г.А.

(подпись)

«10» 06 2025 г.



Raport podobieństwa

Metadane

Nazwa instytucji

Satbayev University

Tytuł

Оптимизация физико-химических свойств культуральной среды для *Saccharomyces cerevisiae*

Autor/zy

Promotor

Ле ВероникаГуля Джамалова

Jednostka organizacyjna

ИГИНГД

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%.



WP1

25

Długość frazy dla WP 2



WP2

9828

Liczba słów



CYT

75182

Liczba znaków

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	Б	23
Rozstrzelenia	A→	0
Mikrospacje	.	15
Ukryte znaki	Б	0
Parafrazy	a	3

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	http://window.edu.ru/resource/505/18505/files/Mtdh1b8.pdf	13 0.13 %
2	https://mos.olimpiada.ru/upload/files/Archive_tasks_2013-.../2019-20/predprof/tasks-bio-8-11-final-19-0	11 0.11 %
3	https://mos.olimpiada.ru/upload/files/Archive_tasks_2013-.../2019-20/predprof/tasks-bio-8-11-final-19-0	7 0.07 %

z bazy RefBooks (0.00 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
z bazy macierzystej (0.00 %)		■
LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
z Programu Wymiany Baz (0.00 %)		■
LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
z Internetu (0.32 %)		■
LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
1	https://mos.olimpiada.ru/upload/files/Archive_tasks_2013-.../2019-20/predprof/tasks-bio-8-11-final-19-0	18 (2) 0.18 %
2	http://window.edu.ru/resource/505/18505/files/Mtdh1b8.pdf	13 (1) 0.13 %

Lista zaakceptowanych fragmentów (brak zaakceptowanych fragmentów)

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