

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

Зайыр Эльнара Мұратқызы

« Изучение морфо-культуральных свойств *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.

2025г.

ДИПЛОМНАЯ РАБОТА

На тему: «Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

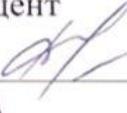
Выполнила

Зайыр Эльнара Мұратқызы

Рецензент
профессор, д.б.н., Кафедра биотехнологии
КазНУ имени Аль-Фараби, факультет
биологии и биотехнологии
Иващенко А.Т.



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


Г.А.
(подпись)

« 10 » 06 2025 г.

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

Кафедра химической и биохимической инженерии

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой
«Химическая и биохимическая
инженерия», доктор PhD
Манг Мангазбаева Р. А.
«11 » 06 2025 г.

**Задание
на выполнение дипломной работы**

Обучающаяся Зайыр Эльнара Мұратқызы

Тема: « Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*»

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

Срок сдачи дипломной работы «11 » июня 20_г.

Исходные данные к дипломной работе: меласса, культуры *Saccharomyces cerevisiae*; результаты, полученные при культивировании

Краткое содержание дипломной работы: Проведено комплексное изучение морфо-культуральных характеристик *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании на различных питательных средах, определены оптимальные условия для их роста и размножения. Оценено влияние качества мелассы, температуры и pH на рост и развитие *Saccharomyces cerevisiae*

Перечень графического материала: влияние качества мелассы, температуры и pH на рост и развитие *Saccharomyces cerevisiae*

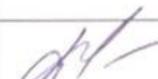
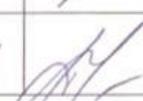
Рекомендуемая основная литература: 80 наименований научной и научно-нормативной литературы

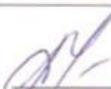
ГРАФИК
подготовки дипломной работы

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Обзор литературы	20.01.2025	Выполнено
Методика исследования	05.02.2025	Выполнено
Результаты исследования	15.03.2025	Выполнено
Заключение и выводы	30.03.2025	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
Дипломная работа	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	20.05.2025	
Норм контролер	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	27.05.2025	

Научный руководитель  Джамалова Г.А.
подпись

Задание приняла к исполнению обучающаяся  Зайыр Э.М.
подпись

Дата «30» август 2025 г.

АННОТАЦИЯ

Дипломная работа на тему « Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*» выполнена на бумажном носителе в объеме 30 стр. компьютерного текста и включает пять разделов (введение 1 стр., обзор литературы 7 стр., материал и методика исследования 9 стр., результаты исследования 7 стр., заключение 1 стр.), 13 рисунков, 5 таблиц и 80 литературных источников.

Ключевые слова: *Saccharomyces cerevisiae*, меласса, биомасса, морфо-культуральные свойства.

Объект исследования: *Saccharomyces cerevisiae*.

Цель исследования. Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*.

Проведено комплексное изучение морфо-культуральных характеристик *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании на различных питательных средах, определены оптимальные условия для их роста и размножения. Оценено влияние качества мелассы, температуры и pH на рост и развитие *Saccharomyces cerevisiae*

Научная ценность работы заключается в уточнении оптимальных условий роста *Saccharomyces cerevisiae* на различных питательных средах в зависимости от происхождения и состава, что дополняет данные о влиянии pH и питательности субстрата на метаболическую активность дрожжей. Практическая значимость определяется возможностью применения полученных результатов для оптимизации процессов производства дрожжевого продукта, повышения выхода биомассы и выбора наиболее эффективного сырья на промышленном уровне.

АНДАТПА

«*Saccharomyces cerevisiae* морфо-мәдени қасиеттерін зерттеу» тақырыбындағы дипломдық жұмыс 30 б. компьютерлік мәтін көлемінде қағаз тасығышта орындалды және бес бөлімнен тұрады (кіріспе 1 б., әдебиетке шолу 7 б., зерттеу материалы мен әдістемесі 9 б., зерттеу нәтижелері 7 б., қорытынды 1 б.), 13 суреттер, 5 кестелер және 80 әдеби дереккөз.

Түйінді сөздер: *saccharomyces cerevisiae*, меласса, биомасса, морфо-мәдени қасиеттері.

Зерттеу нысаны: *Saccharomyces cerevisiae*.

Зерттеудің мақсаты. *Saccharomyces cerevisiae* морфо-мәдени қасиеттерін зерттеу.

Әр түрлі қоректік ортада өсіру кезінде *Saccharomyces cerevisiae* морфо-мәдени сипаттамаларын кешенді зерттеу жүргізілді, олардың өсуі мен көбеюі үшін оңтайлы жағдайлар анықталды. Меласса сапасының, температураның және pH-ның *Saccharomyces cerevisiae* өсуі мен дамуына әсері бағаланды.

Жұмыстың ғылыми құндылығы *Saccharomyces cerevisiae*-дің шығу тегі мен құрамына байланысты әр түрлі қоректік орталарда оңтайлы өсу жағдайларын нақтылау болып табылады, бұл субстраттың PH мен қоректік заттарының ашытқылардың метаболикалық белсенделілігіне әсері туралы мәліметтерді толықтырады. Практикалық маңыздылығы ашытқы өнімін өндіру процестерін оңтайландыру, биомасса шығымдылығын арттыру және өнеркәсіптік деңгейде ең тиімді шикізатты таңдау үшін алынған нәтижелерді қолдану мүмкіндігімен анықталады.

ANNOTATION

The thesis on the topic "Studying the morphocultural properties of *Saccharomyces cerevisiae*" is made on paper in the volume of 30 pages of computer text and includes five sections (introduction 1 page, literature review 7 page, research material and methodology 9 page, research results 7 page, conclusion 1 page), 13 figures, 5 tables and 80 literary sources.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, molasses, biomass, morphocultural properties.

The object of the study: *Saccharomyces cerevisiae*.

The purpose of the study. The study of morphological and cultural properties of *Saccharomyces cerevisiae*.

A comprehensive study of the morphological and cultural characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* was carried out during cultivation on various nutrient media, and optimal conditions for their growth and reproduction were determined. The influence of molasses quality, temperature, and pH on the growth and development of *Saccharomyces cerevisiae* is estimated

The scientific value of the work lies in clarifying the optimal growth conditions of *Saccharomyces cerevisiae* on various nutrient media, depending on the origin and composition, which complements the data on the effect of pH and nutrient substrate on the metabolic activity of yeast. The practical significance is determined by the possibility of applying the results obtained to optimize the production of yeast products, increase the yield of biomass and select the most efficient raw materials at the industrial level.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	10
1 Обзор литературы.....	11
1.1 Общее представление о дрожжах <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
1.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> : их ключевая роль в ферментативной индустрии	11
1.2.1 История внедрения дрожжей в пищевое производство	11
1.2.2 Использование <i>S. cerevisiae</i> в винодельческой промышленности.....	11
1.2.3 Использование дрожжей в хлебопекарной промышленности.....	12
1.2.4 Использование дрожжей в шоколадной промышленности	13
1.3 Биологическая особенность дрожжей.....	13
1.3.1 Биологические признаки дрожжей	13
1.3.2 Метаболизм дрожжей и их особенность	14
1.3.3 Старение дрожжей	15
1.3.4 Экологическое распространение дрожжей.....	16
1.4 Культуральные и технологические свойства пекарских дрожжей	16
1.4.1 Культуральные свойства дрожжей	16
1.4.2 Технологические свойства дрожжей.....	17
2 Объект, материалы и методика исследования.....	18
2.1 Объект исследования	18
2.2 Материалы исследования	18
2.3 Исследования и их методика	18
2.3.1 Приготовление культуральных сред	19
2.3.2 Приготовление материнских косячков «Гларипан»	20
2.3.3 Приготовление разбавленной мелассы с дрожжами с различным уровнем кислотности.....	20
2.3.4 Определение накоплений из полученных растворов	21
2.3.5 Идентификация микроорганизмов из мазков готовой продукции по методу Грама	22
2.3.6 Оценка микробной контаминации мелассы	24

2.3.7 Анализ мелассы на нитриты	24
2.3.8 Биопробы. Определение оптимального РН для роста дрожжей. Анализ на засев дрожжей.	25
3 Результаты исследования	27
3.1 Оценка качества мелассы путём выявления наличия нитритов, способных ингибировать рост <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	27
3.2 Биопробы. Оценка влияния температурного режима и pH среды на рост дрожжевых клеток при культивировании	28
3.3 Оценка роста <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на различных питательных субстратах методом микроскопического подсчёта с использованием камеры Горяева.....	31
3.4 Определение накоплений из полученных растворов	32
3.5 Оценка биобезопасности дрожжей из готовой партии 12.01.25	32
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	34
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	35

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. В Казахстане хлебопекарные дрожжи в любом формате на макроуровне производит АО «Алматинский дрожжевой завод». Продукт реализуется внутри страны и в странах СНГ (Россия, Кыргыстан, Узбекистан). Для охвата рынка завод начал активно проводить научно-производственные исследования в целях повышения для производимой продукции качественных и количественных показателей, расширения рынка сбыта своей продукции. Учитывая макроуровень производства и важность стабильного выпуска качественных дрожжей, актуально проводить комплексные исследования, затрагивающие технологические параметры сырья, штаммов дрожжевых культур и процессов культивирования.

Цель. Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*.

Задачи исследования:

1 Оценка качества мелассы путём выявления наличия нитритов, способных ингибировать рост *Saccharomyces cerevisiae*.

2 Изучение влияния температурного режима и pH среды на рост дрожжевых клеток, культивированных на мелasse от трёх производителей.

3 Изучение особенностей роста *Saccharomyces cerevisiae* на различных питательных субстратах.

Научная новизна: В рамках данной работы впервые проведён комплексный анализ морфо-культуральных модификаций клеток дрожжей и характера их роста в зависимости от заданных в эксперименте параметров среды (состав питательных субстратов, температурный режим, уровень pH). Новизна исследования заключается в системном подходе к оценке биологических особенностей дрожжей на различных типах агаризованных и жидких сред, а также в использовании количественных и микроскопических методов анализа в условиях, приближенных к промышленным. Также Оценена эффективность мелассы Черемновского завода (РФ) при культивировании *S. cerevisiae* в условиях, приближённых к промышленным, с учётом отсутствия аналогичного сырья в Казахстане, различных параметров среды и биобезопасности полученного продукта.

Научно-практическое значение. Исследование морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae* при различных эко-технологических условиях культивирования имеет высокий научно-практический потенциал, т.к. полученные данные могут быть использованы в целях оптимизации технологического режима, повышения качества готовой дрожжевой продукции различного формата и повышения коммерческого потенциала.

Дополнительно, результаты могут быть применимы в академических и исследовательских учреждениях для подготовки специалистов в биологического и биотехнологического профилей.

Структура. Дипломная работа выполнена на бумажном носителе в объеме 30 стр. компьютерного текста, включает пять разделов, 13 рисунков, 5 таблиц и 80 литературных источников.

1 Обзор литературы

1.1 Общее представление о дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae (*S.cerevisiae*) – это эукариоты, дрожжи, размножающиеся почкованием и традиционно считающиеся безопасными. Их используют в производстве различных ферментированных продуктов, включая хлеб, алкогольные напитки (вино, пиво, дистилляты), а также в биотопливной промышленности [1].

1.2 *Saccharomyces cerevisiae*: их ключевая роль в ферментативной индустрии

1.2.1 История внедрения дрожжей в пищевое производство

Согласно историческим данным, египтяне начали варить пиво примерно за 6000 лет до н. э., а к 1200 году до н. э. их уже использовали для приготовления хлеба вместе с традиционной выпечкой без закваски. Со временем дрожжи стали неотъемлемой частью виноделия, изготовления кваса, а позже – и перегонки крепких алкогольных напитков [2]. В начале XIX века было выдвинуто предположение, что спиртовое брожение вызывается дрожжами, впервые наблюденными Антони ван Левенгуком в 1680 г. и позже названными *Saccharomyces* Мейеном в 1837 г. В 1881 г. Эмиль Хансен выделил чистую культуру дрожжей и уже в 1883 г. применил её в пивоварении, что положило начало их научной классификации и изучению физиологических различий между штаммами [3]. Развитие научного подхода к культивированию дрожжей послужило основой для масштабного промышленного производства, которое активно развивается по сей день. В Европе ежегодно производят 1 млн т дрожжей, из которых около 30% отправляется на экспорт. Между 2013 и 2018 годами мировой рынок дрожжей увеличивался в среднем на 8,8% каждый год [4].

1.2.2 Использование *S. cerevisiae* в винодельческой промышленности

S.cerevisiae играет важную роль в производстве различных ферментированных напитков, таких как пиво, вино и сидр, а также дистиллированных спиртных напитков, включая ром, водку, виски, бренди и сакэ. Эти дрожжи также участвуют в создании других алкогольных напитков, производимых из фруктов, мёда и чая по всему миру [5]. Процесс ферментации может происходить как из-за естественного развития микрофлоры сырья, так и при добавлении чистой культуры дрожжей [5, 6].

Среди всех напитков, производимых с участием дрожжей, вино занимает особое место как один из древнейших ферментированных продуктов. Отношения между человеком и вином имеют древние корни: следы винной кислоты и смолы терпентинного дерева, найденные в глиняном сосуде в Иране, свидетельствуют о производстве вина около 5400–5000 гг. до н. э. [7]. Древнее

происхождение связи вина с *S. cerevisiae* подтверждается обнаружением рибосомной ДНК этих дрожжей в египетской винной бутылке, датируемой 3150 годом до н. э. [8]. В 1890 году Мюллер-Тургау предложил применять закваски для контролируемого процесса брожения вина [9]. Эта новаторская технология, получившая широкое распространение лишь в 1970-х годах, значительно повлияла на винодельческую отрасль, повысив качество вина благодаря улучшенному контролю, а также обеспечив большую стабильность и предсказуемость процесса ферментации [9]. Виноградное сусло характеризуется низким pH, высоким содержанием сахара и часто содержит диоксид серы, что создаёт стрессовые условия для ферментации. По мере брожения стресс усиливается из-за нехватки питательных веществ, этанола, кислотности и температурных колебаний. Хотя *S. cerevisiae* изначально присутствует в малом количестве, он вытесняет другие дрожжи, справляясь с этими условиями, за что и получил название «винные дрожжи» [10],[11]. При выборе штамма для промышленного применения также учитывается его способность синтезировать метаболиты, формирующие так называемый «ферментационный букет», определяющий вкус и аромат вина [12]. Наиболее значимыми соединениями, влияющими на этот букет, считаются высшие спирты, эфиры, альдегиды и терпены [13]; при этом *S. cerevisiae* в основном отвечает за образование первых трёх, но не является существенным источником терпенов [14].

1.2.3 Использование дрожжей в хлебопекарной промышленности

Не менее значима роль этих дрожжей и в хлебопечении – одном из самых древних направлений их использования. Помимо сферы виноделия *S. cerevisiae* широко применяется в хлебопекарной промышленности и носит второе название – хлебопекарные дрожжи. Хлебопечение – один из древнейших биотехнологических процессов, с использованием дрожжей, вероятно, уже в 10 000 году до н. э. Использование дрожжей в этом направлении датируется II тысячелетием до н. э. в Египте и I тысячелетием до н. э. в Северо-Западном Китае [15, 16]. Основным видом дрожжей, используемых в хлебопечении, является *Saccharomyces cerevisiae*, известный также как хлебопекарные дрожжи. С XIX века они начали использоваться как закваска для теста, получаемая из остатков пивного производства. Прессованные дрожжи были впервые изготовлены в Англии в 1792 году, и к 1868 году усовершенствованные штаммы появились в США, что способствовало развитию массового производства хлеба [15, 17]. Брожение в тесте происходит при оптимальных условиях, таких как температура 34–38 °C и pH 4,0–5,2, что приводит к образованию углекислого газа, увеличению объёма теста и образованию клейковинного каркаса, обеспечивающего структуру хлеба [18].

Saccharomyces cerevisiae преобразуют сахара, содержащиеся в муке и образующиеся при расщеплении крахмала, в углекислый газ и этанол с помощью ферментов, таких как зимазы [5, 15, 16, 18]. Это приводит к увеличению объёма теста и образованию пористой структуры мякиша. Используемые в хлебопечении сухие дрожжи могут содержать нежизнеспособные клетки,

которые выделяют глутатион, влияя на структуру клейковины, в то время как активные дрожжи ускоряют процесс замешивания и формирование клейковинной сети [15]. Кроме того, дрожжи способны синтезировать глицерин, который положительно влияет на текстуру хлеба, особенно при замораживании, а также пировиноградную кислоту, которая влияет на вкус и аромат хлеба [15].

1.2.4 Использование дрожжей в шоколадной промышленности

Третьим направлением, где используются *Saccharomyces cerevisiae* является шоколадная промышленность. Зёрна *Theobroma cacao* из которых делается шоколад в первоначально-сыром виде горькие и сильно отличаются от того вкуса, который мы получаем при потреблении всеми любимого лакомства и не имеет характерного аромата [19, 20]. Для формирования вкуса и снижения содержания горьких веществ их также, как и вино подвергают ферментации, что определяет органолептические качества какао и шоколада [19, 20]. Эксперименты показали, что дрожжи играют ключевую роль в ферментации какао-бобов и производстве качественного шоколада. В частности, при отсутствии дрожжей снижалась выработка этанола, высших спиртов и эфиров, а готовый продукт имел худшие органолептические свойства [21]. Среди множества выделенных видов дрожжей при ферментации какао наиболее часто встречается *S. cerevisiae* [22-26], что связано с его устойчивостью к стрессовым условиям, активностью при высоких температурах, а также способностью расщеплять пектины [19, 27]. Поскольку ферментация какао обычно происходит спонтанно и сложно поддаётся контролю, использование отобранных стартовых культур, включая *S. cerevisiae*, позволяет добиться стабильности и высокой воспроизводимости процесса [19, 28, 29]. Таким образом, роль *S. cerevisiae* выходит далеко за рамки одного направления пищевой отрасли — их универсальность делает их основой многих ключевых процессов в производстве продуктов питания. Можно отметить немаловажную и даже ключевую роль дрожжевых культур *Saccharomyces cerevisiae* в пищевой промышленности за счет своей способности к брожению, устойчивости к стрессовым условиям и выработке ароматических соединений. Применение отобранных штаммов *S. cerevisiae* как стартовых культур улучшает качество и воспроизводимость процессов, делая эти дрожжи важным элементом пищевой индустрии.

1.3 Биологическая особенность дрожжей

1.3.1 Биологические признаки дрожжей

Saccharomyces cerevisiae — одноклеточный гриб, ставший модельным объектом в молекулярной и клеточной биологии, а также важным элементом в развитии современной биотехнологии. [30]. Эти дрожжи содержат типичные для эукариот органеллы, включая ядро, митохондрии, эндоплазматическую сеть, аппарат Гольджи, рибосомы и вакуоли. Протеомный анализ позволил идентифицировать у них 12 субклеточных компартментов, в том числе ядро, митохондрии и вакуоли [30].

Одной из прикладных особенностей *S. cerevisiae* является структура их клеточной стенки, которая обладает высокой способностью адсорбировать микотоксины, включая Т-2 токсин, афлатоксины (B1, B2, G1, G2), охратоксин А, зеараленон и дезоксиваленол. Благодаря таким сорбционным свойствам клеточные стенки дрожжей рассматриваются как перспективное средство для использования в животноводстве и птицеводстве в качестве энтеросорбента, направленного на предупреждение развития микотоксикозов [31].

Кроме того, пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* стали первыми эукариотами, у которых была полностью расшифрована геномная ДНК. В 1996 году Гоффо и его соавторы завершили полное секвенирование их генома [32], установив, что он состоит из 16 хромосом и содержит около 6000 генов, из которых предположительно 5570 кодируют белки [33,34]. Размер ядерного генома составляет 12068 килобаз (кб) [1].

S. cerevisiae размножаются как бесполым, так и половым путём. Основной способ бесполого размножения – почкование, при котором на материнской клетке образуется вырост, развивающийся в дочернюю клетку. При неблагоприятных условиях происходит половое размножение – мейоз диплоидных клеток с образованием четырёх гаплоидных аскоспор [35].

S. cerevisiae являются факультативными анаэробами и хемоорганотрофами, способными использовать различные источники углерода, такие как глюкоза, фруктоза, мальтоза и галактоза. В присутствии кислорода дрожжи осуществляют аэробное дыхание, а в анаэробных условиях переходят к спиртовому брожению, образуя этанол и CO₂ [36]. Они способны развиваться при температуре от 0 до 37 °C и при pH от 3 до 8. Как и другие грибы, дрожжи питаются путём абсорбции, а размеры их клеток обычно варьируются от 3 до 7 мкм, хотя у некоторых видов могут достигать 40 мкм [37].

1.3.2 Метаболизм дрожжей и их особенность

Метаболизм дрожжей, особенно вида *Saccharomyces cerevisiae*, включает ряд ключевых биохимических путей, обеспечивающих как получение энергии, так и синтез необходимых для жизнедеятельности молекул.

Основные метаболические пути дрожжей включают гликолиз, цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) и пентозофосфатный путь. Гликолиз – основной путь получения энергии, а ЦТК и пентозофосфатный путь обеспечивают синтез предшественников для нуклеотидов, аминокислот и других биомолекул [38].

Если сравнивать дрожжи с бактериями, дрожжи не погибают при наличии кислорода и при его доступе переходят на дыхание, что ускоряет их рост (эффект Пастера). Однако при высоких концентрациях глюкозы они могут осуществлять брожение даже в аэробных условиях – явление, известное как эффект Кребтри [39], что является одной из ключевых особенностей метаболизма *S. cerevisiae* и позволяет дрожжам быстро производить энергию и накапливать этанол, подавляя рост конкурирующих микроорганизмов [40], [41].

Также особенностью *S. cerevisiae* является тот факт, что данный штамм дрожжей может переключаться между респирацией и ферментацией в

зависимости от условий. При высоких концентрациях глюкозы активируется ферментация, а при её дефиците и наличии кислорода – респирация, что повышает энергетическую эффективность [42].

Стоит отметить, что дрожжи требуют специфических условий питания: в анаэробной среде они используют в основном гексозы и их производные, а в аэробных – могут усваивать более широкий спектр субстратов, включая жиры, спирты и органические кислоты. Также важны соединения вторичного метаболизма дрожжей, такие как сивушные масла, ацетон и изоамиловый спирт, которые определяют вкус и аромат ферментированных продуктов – то есть их органолептические свойства. [39],[43].

Одновременно в клетках дрожжей протекают как катаболические процессы, связанные с расщеплением азотсодержащих соединений, так и анаболические, обеспечивающие синтез аминокислот и нуклеотидов. Эти направления метаболизма конкурируют за ресурсы, поэтому их регуляция должна быть строго скоординирована. Для этого клетки должны уметь определять концентрации питательных веществ как во внешней среде, так и внутри себя [44].

Ключевым регулятором в этих процессах выступает белковый комплекс TORC1. При дефиците азота или при воздействии ингибитора TORC1 – рапамицина – активность этого комплекса снижается, что приводит к торможению белкового синтеза, активации аутофагии и включению стресс-ответных транскрипционных факторов [45].

Таким образом, *Saccharomyces cerevisiae* демонстрирует гибкий и адаптивный метаболический процесс, который позволяет эффективно использовать доступные ресурсы, регулировать рост, выживать в стрессовых условиях и подавлять конкуренцию за счёт метаболических особенностей.

1.3.3 Старение дрожжей

У дрожжей есть два типа старения, и оба ограничивают их жизненный цикл. Первый тип связан с тем, сколько раз материнская клетка способна делиться – это называется репликативной продолжительностью жизни (РПЖ) [46]. Второй тип – это срок, в течение которого клетка может существовать без деления, и он называется хронологической продолжительностью жизни (ХПЖ) [47].

При каждом делении клетка дрожжей становится старее: её объём увеличивается, а активность генов и метаболические процессы изменяются [48]. С возрастом увеличивается выработка белков, участвующих в трансляции, но уровень соответствующих мРНК падает. Параллельно снижается количество пирувата, аминокислот и соединений цикла Кребса [49].

В старости клетки начинают проявлять признаки нехватки питания и окислительного стресса [50], из-за чего становятся более чувствительными к неблагоприятным условиям. Хронологическое старение тоже влияет на способность клеток делиться: чем дольше они остаются без пищи, тем хуже

восстанавливается популяция, даже если сами клетки ещё способны к делению [51].

1.3.4 Экологическое распространение дрожжей

Изначально *Saccharomyces cerevisiae* считался исключительно одомашненным организмом из-за редкой встречаемости в природных условиях [52, 53]. Одомашнивание дрожжей началось примерно 9000 лет назад [54], что сопоставимо по срокам с одомашниванием основных растений и животных, изучаемым со времён Дарвина [55, 56]. Однако исследовать происхождение и одомашнивание дрожжей начали лишь недавно. Даже в момент обнаружения в дикой среде его штаммы нередко воспринимались как результат интродукции домашних форм [57, 58]. Но первые полевые исследования, проводившиеся в Японии, удостоверили, что этот вид широко распространён в лесной среде – в почве, на листве и древесной коре [59]. Сегодня всё больше исследований подтверждают присутствие *S. cerevisiae* как в лесных экосистемах, так и на виноградниках [60-63].

Ареал дрожжей – субстраты, богатых сахарами – поверхность плодов, листьев, в нектаре цветов, растительных соках и разлагающейся фитомассе, питание выделениями растений. Однако они также встречаются в почве, особенно в органических слоях, и в природных водоёмах [64, 65].

Полевое исследование по выявлению *S. cerevisiae* в природной среде, проводимое в Китае [57] показало, что дрожжи успешно выделяли из фруктов, почвы, древесины и коры в садах и лесах, включая удалённые от человеческой деятельности территории [60].

Таким образом можно сделать вывод, что *S. cerevisiae* широко распространён в природе, а не ограничен антропогенными экосистемами [66, 67].

1.4 Культуральные и технологические свойства пекарских дрожжей

1.4.1 Культуральные свойства дрожжей

Культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae* свидетельствуют об их высокой адаптационной способности к различным условиям среды. Они отличаются интенсивным ростом при оптимальных температурных параметрах, кислотно-щелочных параметрах (РН), активным сбраживанием углеводов и образованием этанола [68-70].

В таблице 1 кратко изложена информация по культуральным свойствам *Saccharomyces cerevisiae*.

Таблица 1 - Культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae* [68-70]

Показатель	Характеристика
Диапазон температуры роста	15-37 °C
Температура оптимального роста	28-30 °C
Оптимальный РН	4.5-5.5

Колония на агаре	Круглая, выпуклая, гладкая, кремового цвета, блестящая
Запах	Характерный дрожжевой, спиртовой
Рост в жидкой среде	Образует равномерное помутнение, затем осадок на дне
Образование газа	Выделяет CO ₂ при брожении, используется в хлебопечении
Скорость роста	Высокая в благоприятных условиях (удвоение популяции за 1,5–2 часа)
Образование спирта	Этанол в анаэробных условиях (при достаточном количестве сахара)
Среда культивирования	Сусло-агар, Сабуро, среда с глюкозой, мелассой или другими сахарами, МПА, лизин

1.4.2 Технологические свойства дрожжей

Технологические характеристики *Saccharomyces cerevisiae*, благодаря высокой скорости брожения и значительной способности к газообразованию [71, 72], устойчивостью к повышенным концентрациям сахаров и этинала позволяет применять их в интенсивных технологических режимах без снижения эффективности [70, 71]. Важным преимуществом является высокая сохранность дрожжевых клеток в прессованной и сухой формах, что обеспечивает длительное хранение и удобство транспортировки [70]. Кроме того, способность к флоккуляции способствует упрощению процессов сепарации биомассы от конечного продукта [73].

В таблице 2 кратко изложена информация по технологическим свойствам *Saccharomyces cerevisiae*.

Таблица 2 - Технологические свойства *Saccharomyces cerevisiae* [70, 72, 73]

Показатель	Характеристика
Скорость сбраживания сахаров	Высокая, обеспечивает быстрое выделение CO ₂ и этинала
Образование спирта	До 12–15% этинала в анаэробных условиях
Газообразование	Интенсивное; CO ₂ используется для разрыхления теста
Осахаривание	Не осуществляет (требуется предварительный гидролиз крахмала)
Устойчивость к этиналу	До 12–15%, в зависимости от штамма и условий
Флоккуляция (оседание клеток)	Средняя или высокая (зависит от штамма); облегчает отделение биомассы
Жизнестойкость при хранении	Высокая в прессованном и сухом виде (до 1 года при соблюдении условий хранения)

2 Объект, материалы и методика исследования

2.1 Объект исследования

Штаммы пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) использующиеся в производстве различных ферментированных продуктов [1], благодаря выраженному газообразованию *S. cerevisiae* широко применяются в хлебопекарной промышленности [71], играют ключевую роль в процессе приготовления теста и алкогольных напитков [72, 73].

2.2 Материалы исследования

Материалами для исследований послужили четыре вида питательных сред (МПА, Sabouraud agar, Лизин, Endo agar), чистые культуры дрожжей «*Saccharomyces cerevisiae*», три вида мелассы (рисунок 1), материнские косячки (гларипан), Н₃РО₄, NH₃, фенолфталеин (C₂₀H₁₄O₄), NaOH, формалин (СНОН).



Рисунок 1 – Три вида свекловичной мелассы (слева направо): меласса свекловичная Коксусского сахарного завода (г. Талдыкорган), меласса свекловичная завода Аксу-кант (г. Талдыкорган), меласса свекловичная Черемновского завода (Алтайский край, Россия)

Приборы и оборудование: pH-мометр, воронка Бюхнера, ариометр, термостат, прибор для титрования, спиртовая горелка, аппарат для фильтрования.

Лабораторная посуда: бактериологическая петля, мерные колбы и пипетки, пластмассовые мерные стаканы, стеклянная колба с пробкой, стеклянные пробирки), чашки Петри.

Стандарты, использованные в работе: ГОСТ 10444.15-94 [74]; ГОСТ 31747-2012 [75]; ГОСТ 10444.12-2013 [76].

2.3 Исследования и их методика

Методика исследования была направлена на изучение культуральных и морфологических свойств дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, что позволило провести их предварительную идентификацию, а также оценить

технологические характеристики штамма. Проведенная работа, такая как выращивание на агаризованных твердых и жидких питательных средах, наблюдение за морфологией колоний и клеток, а также анализ роста в различных технологических условиях, позволит изучить процессы оптимизации производственных процессов и повысить экономическую эффективность предприятия.

Проведённые исследования имеют огромное значение для Алматинского дрожжевого завода (АДЗ), так как позволяют выявить штаммы с высокой ферментативной активностью, стабильностью к технологическим факторам (температуре, pH), а также с хорошими культуральными свойствами. Это обеспечивает подбор наиболее продуктивных дрожжей для хлебопекарного производства, способствует повышению выхода продукции, улучшению её качества, и снижению технологических и материальных потерь.

2.3.1 Приготовление культуральных сред

Методика приготовления готовых порошкообразных сред состояла из следующих пунктов:

1 Взвешиваем нужное количество порошкообразной питательной среды (таблица 3, рисунок 2, а), далее отправляем все в колбу в нужном указанном количестве в указанном соотношении (питательная среда - вода) и перемешиваем.

2 Отправляем содержимое колбы после перемешивания в автоклав и стерилизуем 20 минут при 1.1 атм (рисунок 2, б).

3 Остужаем среду в боксе и разливаем по чашкам Петри (рисунок 2, в).

Таблица 3 – Готовые порошкообразные среды и условия их приготовления

МПА	САБУРО	МАККОНКИ	ЭНДО
На 500 мг воды – 14 гр готовой среды	На 500 мг воды – 32.5 гр готовой среды	На 500 мг воды – 17.5 гр готовой среды	На 500 мг воды – 20.7 гр готовой среды
МПА (мясопептонный агар) — это готовая питательная среда, предназначенная для изоляции и роста широкого спектра бактерий, включая патогенные.	Сабуро — это готовая питательная среда, используемая для изоляции и выращивания грибков, особенно для дрожжей и плесени.	Макконки — это селективная питательная среда, предназначенная для изоляции грамотрицательных бактерий, в частности кишечной палочки, и для дифференциации по способности ферментировать лактозу.	Эндо — это селективная питательная среда, используемая для изоляции грамотрицательных бактерий, преимущественно кишечной палочки, с возможностью дифференциации по ферментации лактозы.



а

б

в

а) взвешивание сухих питательных сред на электронных весах; б) стерилизация питательной среды; в) розлив подготовленной питательной среды в чашки Петри

Рисунок 2 – Подготовка культуральной питательной среды

2.3.2 Приготовление материнских косячков «Гларипан»

Методика приготовления материнских косячков «Гларипан», используемых в дальнейших исследованиях дает нам возможность наблюдать за накоплением биомассы для вычисления наилучших технологических характеристик.

Осуществляли следующие последовательные этапы:

1 Для приготовления раствора смешивают 100 мл дистиллированной воды, 2,6–2,7 мл агар-агара и 0,9 мл раствора хлорида натрия. Вначале в воде растворяют солодовый экстракт, добиваясь плотности раствора 8–10° БА (примерно 1,037 кг/м³), что контролируется с помощью ареометра. Полученный раствор фильтруют через колбу для удаления осадка. Далее смесь нагревают на водяной бане в течение 2–3 ч до полного растворения всех компонентов.

2 Готовую среду разливают в стерильные пробирки по 7–8 мл в каждую.

3 Пробирки стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С и давлении 0,8 атмосферы на протяжении 30 минут.

4 После автоклавирования пробирки перемещают в стерильный бокс и оставляют до полного остывания при комнатной температуре в течение 4 часов.

2.3.3 Приготовление разбавленной мелассы с дрожжами с различным уровнем кислотности

1 Готовую мелассу (100 мл) разбавляем с дистиллированной водой до достижения плотности 17 БА, используя при этом 3 вида мелассы:

Меласса свекловичная (Коксукский сахарный завод, город Талдыкорган), №57015265, №57015307, №57253502, №50505262;

Меласса свекловичная («Ақсу-Қант», город Талдыкорган), З мелассы;

Меласса свекловичная (ОАО «Черемновский сахарный завод», Алтайский край, Россия), №57321101, №51915130, №51915114.

2 Добавляем ортофосфорную кислоту для получения РН 4,97-5,05.

3 Разливаем разбавленную готовую мелассу по колбам (1000 мл) – 2 колбы по 500 мл.

4 Погружаем полученную разлитую смесь в автоклав при 1.1 атм на 45 минут для полной стерилизации.

5 По истечению времени остужаем колбы с мелласным раствором в боксе и переходим к подготовке засевного материала, а именно: 2 мл готовых дрожжей (материнские косячки «Гларипан») разбавляем с 10 мл стерилизованной воды в пробирке и тщательно перемешиваем до однородности, после чего вмешиваем полученную суспензию в колбы со стерилизованной мелассой по 5 мл в каждую, получая раствор мелассы с дрожжами (рисунок 3, а).

6 Помещаем колбы на шейкер, на сутки (рисунок 3, б).

7 Спустя сутки наблюдаем рост дрожжей через камеру Горяева под микроскопом.



а



б

а) колбы с мелассо-дрожжевым раствором, адаптированным под различные значения кислотности для исследований; б) инкубация мелассы на шейкере в течении 24-х часов

Рисунок 3 – Процесс приготовления разбавленной мелассы, включающей дрожжевой компонент

2.3.4 Определение накоплений из полученных растворов

По окончанию приготовления материнских косячков «Гларипан», разведенных со свекловичной мелассой трех заводов, выждав сутки культивирования полученных растворов мы приступили к количественной оценке накоплений биомассы.

Этапы проведенной работы:

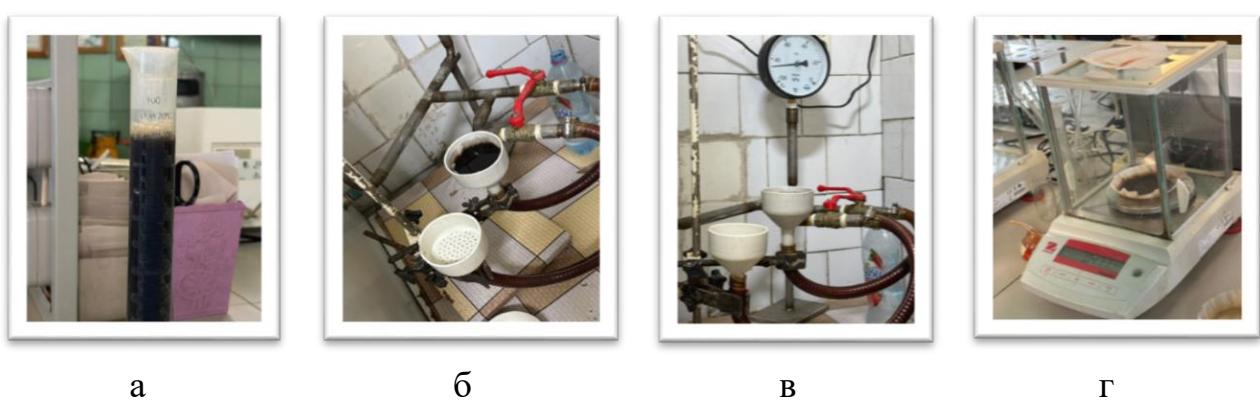
1 Отбирали 100 мл суспензии, содержащей выращенные дрожжи на мелассной питательной среде.

2 Подготавливали фильтрационную установку: воронку Бюхнера устанавливали на колбу с водоструйным насосом или вакуумным фильтром, помещали в неё два слоя фильтровальной бумаги, предварительно смоченных дистиллированной водой для лучшего прилегания.

3 Аккуратно выливали взвесь дрожжей в воронку и включали вакуумный насос, обеспечивая полное отделение жидкой фракции. Фильтрацию продолжали до полного прохождения жидкости.

4 После фильтрации фильтровальную бумагу с осадком извлекали пинцетом и помещали в предварительно взвешенную посуду.

5 Далее образец взвешивали, получив в итоге некоторое количество чистых дрожжей на 100 мл мелассы.



а) 100 мл отобранный мелассы с дрожжами; б) процесс отделения жидкой фракции с помощью воронки Бюхнера и вакуумного насоса; в) фильтровальная установка, воронка Бюхнера; г) взвешивание отфильтрованной биомассы

Рисунок 4 - Процесс выделения и концентрирования биомассы дрожжевых клеток из раствора с мелассой

2.3.5 Идентификация микроорганизмов из мазков готовой продукции по методу Грама

Метод окрашивания по Граму является одним из ключевых инструментов в микробиологической диагностике. Он был впервые предложен датским исследователем Хансом Кристианом Грамом в 1882 году и применяется для дифференциации бактерий на основе особенностей их клеточной стенки [77]. Стерильность биологических жидкостей подтверждается отсутствием микроорганизмов при микроскопии окрашенного мазка. При этом выявление бактерий осуществляется с учётом их формы и окраски: грамположительные штаммы окрашиваются в фиолетовый или синий цвет, в то время как грамотрицательные приобретают розовый или красный оттенок. По морфологии микроорганизмы делятся на кокки (шарообразные) и бациллы (палочковидные) [78].

Как правило, окрашивание по Граму проводится в числе первых этапов анализа. В его основе лежит использование основного красителя –

кристаллического фиолетового или метиленового синего [79]. Бактерии, способные удерживать основной краситель и остающиеся фиолетовыми под микроскопом, относятся к грамположительным. Те, кто теряют первичную окраску и после дополнительной обработки приобретают красный цвет, классифицируются как грамотрицательные [80, 78].

Методика исследования включает в себя шесть быстрых шагов:

1 Многоразовой петлёй (предварительно стерилизованной с помощью горелки) наносим небольшой объем образца дрожжевой продукции на стеклянное предметное стекло и равномерно распределяем.

2 Окрашиваем мазок тремя красителями (рисунок 5, б), используя 2 капли каждого материала и выдерживая по 2 минуты. Для окраски используем следующие продукты: генцианвиолет (кристаллический фиолетовый краситель), раствор луголя (йод) и фуксин циля (карболовый фуксин).

3 Окраска генцианвиолетом: Мазок обрабатываем генцианвиолетом, наносим на поверхность мазка и оставляем на 1-2 минуты (рисунок 5, в), далее мазок промываем водой, чтобы удалить излишки красителя.

4 Добавление раствора луголя: Мазок затем обрабатываем раствором луголя на 1-2 минуты, что способствует образованию комплексного соединения между генцианвиолетом и клеточной стенкой микроорганизмов, далее также промываем водой.

5 Окраска фуксином циля: Мазок затем обрабатываем раствором фуксина циля, который придает розовую окраску клеткам, в которых комплекс генцианвиолет-луголь не стабилен. Окраску фуксином проводим около 1-2 минут, после чего мазок опять промываем водой.

6 После всех окрасок проверяем мазок под микроскопом (рисунок 5, а). Грамположительные клетки сохраняют фиолетовую окраску, а грамотрицательные теряют фиолетовый цвет и окрашиваются в розовый (фуксин).



а) исследование мазка под микроскопом (увеличение x100); б) используемые красители по методу Грама; в) окрашивание мазка генцианвиолетом с выдержкой 2 минуты

Рисунок 5 - Идентификация микроорганизмов по методу Грама

2.3.6 Оценка микробной контаминации мелассы

Проведение оценки микробной контаминации мелассы позволяет определить уровень её загрязнённости посторонней микрофлорой и, при необходимости, принять меры по её предварительной стерилизации или пастеризации. Наличие посторонних микроорганизмов может привести к снижению выхода биомассы, изменению физиолого-биохимических характеристик дрожжей и снижению качества конечного продукта. Кроме того, наличие условно-патогенной или патогенной микрофлоры в питательной среде - это потенциальный риск для санитарной безопасности при производстве дрожжей. Методика данного опыта была направлена на получение сбалансированной питательной среды, которая обеспечивает оптимальные условия для дальнейшего роста дрожжей. Методика складывалась из 3 этапов:

1 В мерный сосуд добавили 5 мл мелассы и довели объем до 50 мл с использованием дистиллированной воды, смесь тщательно перемешали до получения однородной массы;

2 Отобрали 5 мл полученного раствора и добавили в стерильную колбу с дистиллированной водой для последующего разведения;

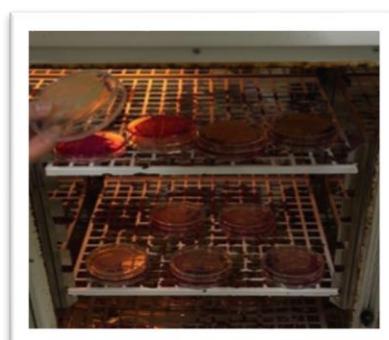
3 Провели посев полученного раствора на питательные среды: Сабуро, Эндо, лизиновую среду и мясо-пептонный агар (МПА) (рисунок 6, а);

4 Для инкубации, чашки Петри поместили в термостат, поддерживающий температуру 34 °C на 24 часа (рисунок 6, б);

5 По завершении инкубационного периода осуществлялся визуальный контроль чашек Петри с раствором мелассы для обнаружения признаков бактериального роста.



а



б

а) посев полученного раствора на питательные среды: Сабуро, Эндо, лизиновую среду и мясо-пептонный агар (МПА); б) инкубация мелассы в термостате при 34 °C

Рисунок 6 – Контроль микробиологической чистоты мелассы

2.3.7 Анализ мелассы на нитриты

В проведении данного опыта мы также использовали пробы мелассы 3 заводов: «Аксу-Кант», Коксукский и Черемновский.

Меласса является важным субстратом для производства дрожжей, однако ее состав может варьироваться, влияя на эффективность ферментации. Содержание нитритов в мелассе представляет особую проблему, так как они могут замедлять рост дрожжевых клеток и снижать выход биомассы. Актуальность работы заключается в разработке методики анализа мелассы на нитриты, что позволит контролировать качество сырья и повышать стабильность производства.

1 Взвесить 10 г мелассы, развести взвешенную мелассу в 90 мл стерильной воды (соотношение 10 г мелассы + 90 мл воды).

2 Поместить раствор в термостат и выдержать в течение суток при температуре 34°C.

3 По истечению суток в отдельной чистой пробирке поместить заранее взвешенные 0.2 грамма реактива Гриса, после добавить 10 мл стерильной воды и над пламенем горелки довести до полного растворения.

4 Добавить в эту смесь, разведенную сутки назад мелассу и посмотреть на полученный окрас.

Если раствор окрасился в коричневый – нитритов нет, а если в красный – нитриты есть.

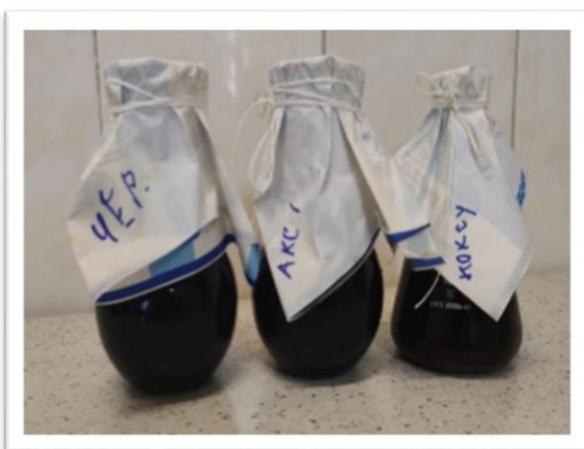


Рисунок 7 - Разведенная меласса,
соотношение: 10 гр. мелассы на 90 мл
дистиллированной воды

автоклав на 30 минут, при 0.8 атм.

4 По истечению стерилизации ждем остывания и разливаем в пробирки по 8 мл, по 2 образца каждого завода (с разными РН).

5 В это же время берем дрожжи гларипан, являющиеся засевным материалом, ранее высаженным на питательных средах, и разводим с водой 10 мл, отсюда по 2 мл вливаем в ранее подготовленные с мелассой колбы.

6 Убираем пробирки в термостат при 34°C и оставляем на сутки.

7 По истечению суток выливаем лишний агар, оставляя лишь осадок и засеваем его в следующие 8 пробирок, убираем в термостат при той же

температуре, результаты первого дня смотрим под микроскопом, повторяем засевы в течение 3 дней.

Таблица 4 – Технологические характеристики для разведения *S. cerevisiae*.
Оптимальный и фактический РН мелассы трех заводов

Название завода	Добавить: Ортофосфорную кислоту – 6.5 мл; Аммиак – 2 мл.	РН, фактический	РН, оптимальные
Аксу-Кант		7.0	5.02
Коксукский		7.0	5.05
Черемновский		7.0	4.97



а) стерилизация разведенной мелассы в автоклаве при давлении 0.8 атм; б) инкубация пробирок с разделенными дрожжами гларипан в термостате в течении 24 ч.; в) пробирки с новым засевом дрожжевой культуры, отправляемые на последующую инкубацию

Рисунок 8 – Процесс получения биопроб для дальнейшего культивирования дрожжевой культуры

3 Результаты исследования

3.1 Оценка качества мелассы путём выявления наличия нитритов, способных ингибиовать рост *Saccharomyces cerevisiae*.

Меласса является важным субстратом для производства дрожжей, однако ее состав может варьироваться, влияя на эффективность ферментации. Нитриты (солеобразные производные азотистой кислоты) обладают выраженным ингибирующим действием на микробные клетки, в том числе и на дрожжи. Они могут нарушать метаболические процессы, ингибиовать активность ферментов и оказывать цитотоксическое действие, особенно при повышенных концентрациях. Поэтому оценка наличия и уровня содержания нитритов в используемой мелассе является обязательным этапом её контроля качества перед подачей на ферментацию.



Рисунок 8 - результаты анализа:
меласса Черенновского завода -
нитритов нет; меласса
Коксукского завода – нитриты
есть; меласса Аксукского завода –
возможны следы нитритов

влиять на общее состояние культуры.

2 Меласса, полученная на заводе «Аксу-Қант», также дала слабо выраженную положительную реакцию при анализе на нитриты. Цвет раствора изменился незначительно, что может свидетельствовать о наличии остаточных количеств соединений азота в форме нитритов. Подобное присутствие требует дополнительного качественного анализа, а при необходимости – применения методов очистки или разбавления субстрата перед использованием в производстве дрожжей.

3 Меласса Черенновского сахарного завода при проведении данного исследования показала, что цвет раствора остался в пределах исходного коричневатого окрашивания, характерного для мелассы, что свидетельствует об

отсутствии реакции на нитрит-ион. Это указывает на отсутствие нитритов в составе данного образца, что делает его наиболее предпочтительным с точки зрения микробиологической чистоты и пригодности для использования в качестве субстрата в дрожжевой промышленности.

Т.о., из трёх исследованных образцов лишь меласса Черемновского завода соответствует требованиям по биобезопасности и может быть рекомендована в качестве оптимального углеродного субстрата для дрожжевого производства.

3.2 Биопробы. Оценка влияния температурного режима и pH среды на рост дрожжевых клеток при культивировании

С целью изучения влияния температурного режима и уровня pH на рост дрожжевых клеток были проведены биопробы с использованием мелассы трёх разных заводов (Коксукский, Аксу-Кант, Черемновский). Каждая проба инкубировалась в двух вариантах: с естественным (фактическим) pH и с корректированным до оптимального диапазона (4,92–5,05) с использованием ортофосфорной кислоты и аммиака. Температура культивирования составляла 34°C — близкая к промышленным условиям.

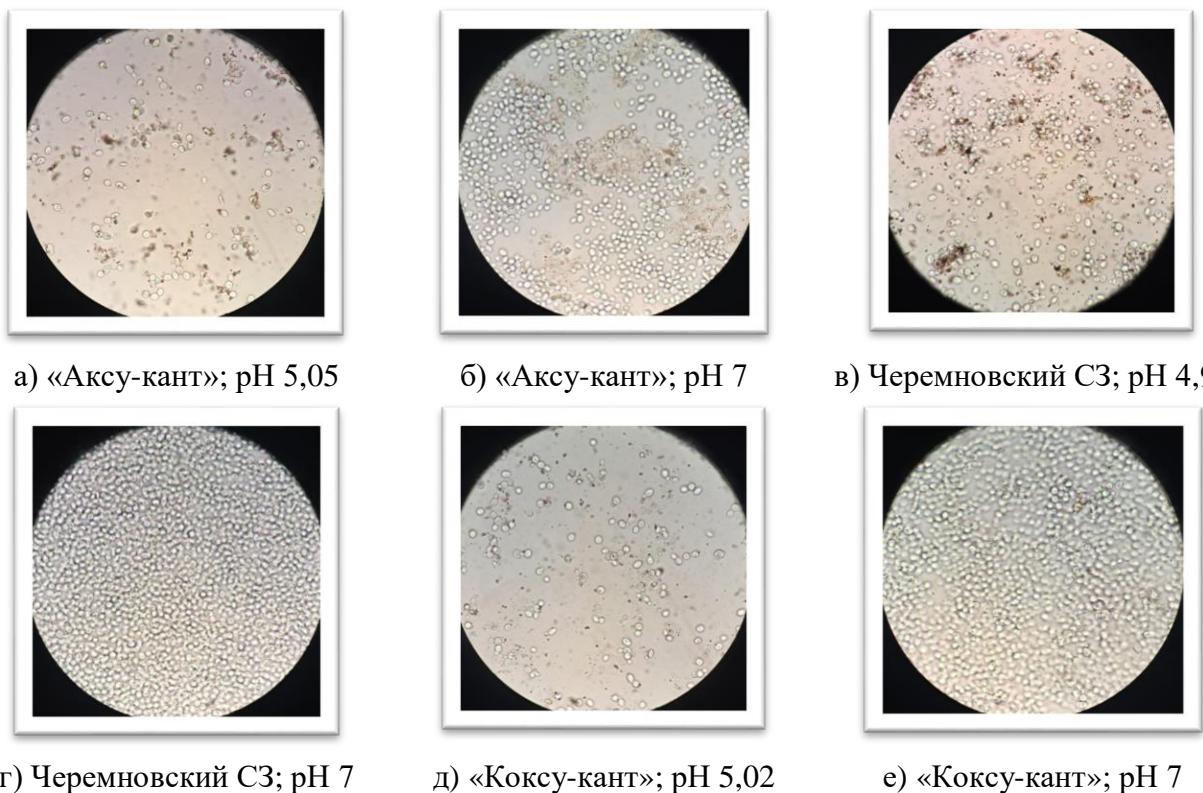


Рисунок 9 – Первый день пересева, результаты

В течение первого дня наблюдения было установлено, что во всех образцах мелассы более интенсивный рост дрожжевых клеток происходил в условиях фактического значения pH, в сравнении с коррекцией до оптимального диапазона.

1 Меласса Черемновского завода (рисунок 9, в и рисунок 9, г) продемонстрировала наивысшую активность дрожжевого роста. Особенno выраженный рост наблюдался при pH 7,0, где фиксировался равномерный, сплошной рост биомассы (рисунок 9, г).

2 В образце мелассы сахарного завода «Ақсу-Қант» (рис. 9, а и 9, б) при pH 5,05 клетки демонстрировали слабую жизнеспособность: большинство дрожжей были неподвижны или мертвые. В условиях фактического pH (около 7,0) наблюдался незначительный, но стабильный рост (рис. 9, б).

3 Меласса Коксукского сахарного завода показала умеренный рост дрожжевой биомассы при обоих значениях pH, с несколько лучшими результатами при фактическом pH (рис. 9, д и 9, е).

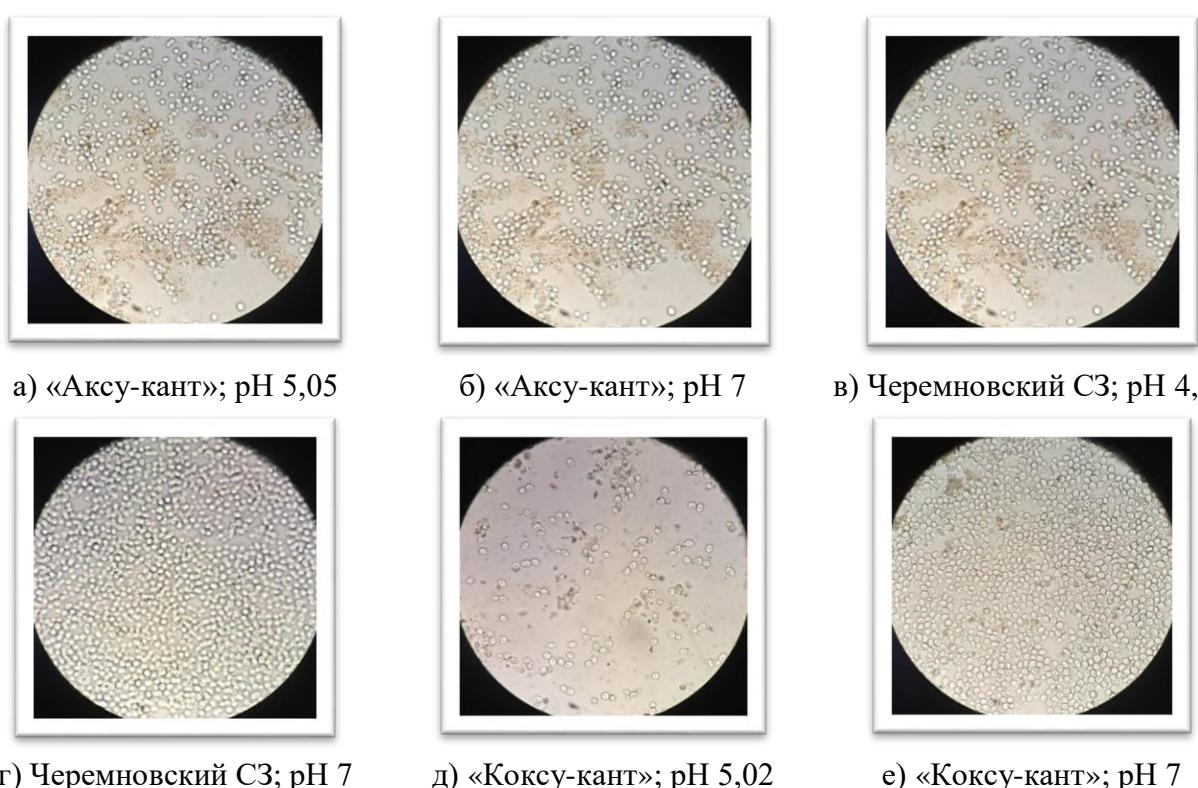


Рисунок 10 – Результаты второго дня пересева

На второй день пересева была аналогичная ситуация. Рост дрожжей был более выраженным при фактическом pH во всех трёх образцах мелассы.

В условиях нативного pH дрожжи демонстрировали более высокую подвижность и интенсивность размножения.

Черемновская меласса вновь показала наилучшие результаты: сплошной рост биомассы фиксировался как при pH 4,97 (рис. 10, в), так и при pH 7,0 (рис. 10, г).

В мелассе Ақсу-Қант при pH 5,05 по-прежнему наблюдался минимальный рост, тогда как при pH 7,0 активность клеток была выше.

Коксукская меласса характеризовалась стабильными, умеренными показателями роста при обоих значениях pH (рис. 10, д и 10, е).

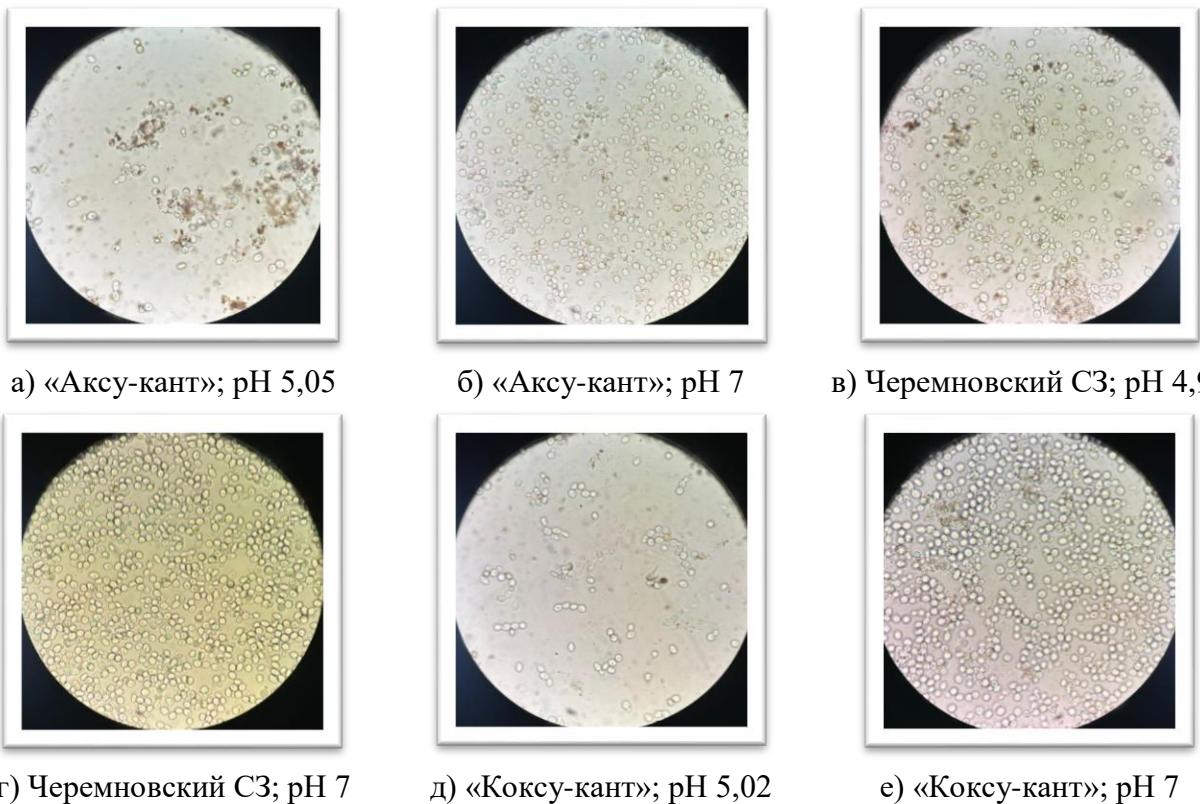


Рисунок 11 – Результаты третьего дня пересева

На третий день исследования наблюдался положительный рост дрожжей в большинстве образцов.

Особенно важно отметить, что в мелассе завода «Ақсу-Қант» с фактическим pH (рис. 11, б) наблюдалось улучшение показателей роста: дрожжи становились более активными, появлялись подвижные клетки и накапливалась биомасса. Это свидетельствует о возможной адаптации культуры к субстрату.

Черемновская меласса по-прежнему демонстрировала стабильно высокие результаты во всех условиях (рис. 11, в и 11, г).

В мелассе Коксукского завода показатели оставались на уровне предыдущих дней, что говорит о стабильной пригодности этого субстрата для дрожжевого роста (рис. 11, д и 11, е).

В ходе трёхдневного наблюдения установлено:

1 Наилучший рост дрожжей наблюдался в мелассе Черемновского завода при фактическом pH, где регистрировался сплошной рост во всех днях культивирования.

2 Ақсу-Қант на первом этапе показала слабый рост, однако к третьему дню при фактическом pH был зафиксирован заметный прирост, что свидетельствует о возможной адаптации клеток.

3 Коксукская меласса обеспечивала стабильный рост при обоих значениях pH, однако интенсивность была ниже по сравнению с Черемновской.

4 Во всех случаях фактический pH среды обеспечивал более активный рост, чем искусственно скорректированный, что может быть связано с взаимодействием pH с другими параметрами среды, включая содержание ингибирующих веществ (в частности, нитритов), минеральный состав и буферную ёмкость.

Таблица 3.2 – Количественный рост дрожжей в сравнительном аспекте

	Первый день пересева		Второй день пересева		Третий день пересева	
	pH опт	pH факт	pH опт	pH факт	pH опт	pH факт
Аксу-Кант	+144	+536	+84	+648	+80	+792
Черемновский	+272	сплошной	сплошной	сплошной	+248	сплошной
Коксукский	+156	сплошной	+136	сплошной	+184	сплошной

Вывод: оптимальный рост *S. cerevisiae* достигается при культивировании в условиях, максимально приближённых к природному pH среды, при температуре 34°C. Наиболее эффективной по совокупности параметров оказалась меласса Черемновского завода.

3.3 Оценка роста *Saccharomyces cerevisiae* на различных питательных субстратах методом микроскопического подсчёта с использованием камеры Горяева.

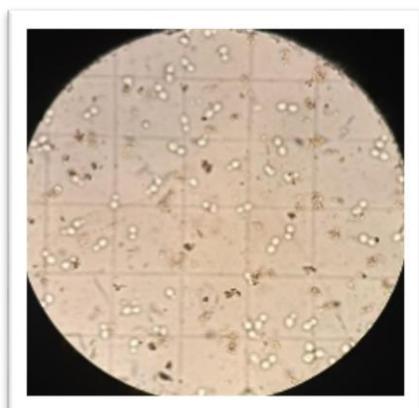


Рисунок 12 - Результаты роста дрожжей Черемновского завода через камеру Горяева

Подсчет роста дрожжей по камере Горяева

Формула подсчета дрожжевых клеток с использованием камеры Горяева:

$$C = \left(\frac{N * 10^4 * D}{n} \right), \text{ где:}$$

C – концентрация клеток в 1 мл раствора;

N – количество клеток, посчитанных в камере Горяева;

D – коэффициент разбавления раствора;
n – количество клеток дрожжей в 1 клетке;

тем самым получаем:

$$C = \left(\frac{125 * 10^4 * 1}{5} \right) = 250.000 \text{ клеток в 1 мл раствора.}$$

После 24 часов инкубации максимальное количество дрожжевых клеток (*S. cerevisiae*) было определено в пробе с мелассой Черемновского завода – 250 000 клеток/мл. Это свидетельствует о высокой питательной ценности субстрата.

В пробах мелассы Коксукского и Ақсу-Қант заводов рост был незначительным или отсутствовал.

3.4 Определение накоплений из полученных растворов

В ходе исследования накопления биомассы *Saccharomyces cerevisiae* было проведено культивирование дрожжей в разбавленной мелассной среде с плотностью 17 Ба. По завершении инкубационного периода культура была профильтрована с использованием фильтровальной бумаги и воронки Бюхнера. После удаления жидкой фазы и последующего взвешивания влажной клеточной массы было зафиксировано накопление биомассы в количестве 4,75 г на 100 мл мелассы (см. рисунок 4, г) Черемновского завода.

Данный результат свидетельствует о высокой эффективности роста дрожжевой культуры в подготовленной среде. Условия культивирования (рН 4,97–5,05, аэрация, температура, стерильность) были оптимальными для метаболической активности и размножения дрожжевых клеток. Отсутствие посторонних включений или признаков контаминации также подтверждает правильность проведённой методики. Накопление 4,75 г биомассы из 100 мл питательной среды демонстрирует высокую продуктивность выбранного штамма *S. cerevisiae* и пригодность мелассы в качестве источника углеводов для биотехнологических процессов.

Одновременно с этим, мелассы Аксукского (Аксу-кант) и Коксукского (Коксу) заводов не показали никаких результатов. Отсутствие роста в этих двух образцах мелассы может свидетельствовать о наличии ингибирующих веществ, таких как остатки антисептиков, тяжёлых металлов или высокое содержание неблагоприятных побочных компонентов, возникших в процессе производства сахара. Это подчёркивает необходимость предварительного контроля качества сырья перед его использованием в микробиологических и биотехнологических целях.

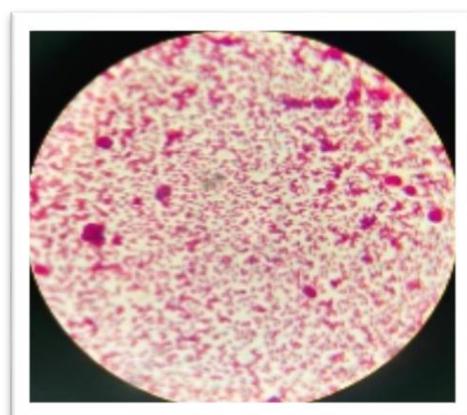


Рисунок 13 - Дрожжевые клетки готовой продукции, культивированные на питательных средах

Таким образом, только один из трёх образцов оказался пригодным для культивирования дрожжей, что позволяет сделать вывод о неравномерном качестве мелассы разных производителей и важности предварительной биопробы для оценки её пригодности.

3.5 Оценка биобезопасности дрожжей из готовой партии 12.01.25

Для оценки микробиологической чистоты дрожжевого продукта со складского

помещения (72 ч хранения) была проведена микроскопия окрашенных мазков по методу Грама.

В результате анализа большинство клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* окрасились в фиолетовый цвет, что подтверждает их грамположительную природу. Также были выявлены единичные кокковидные формы и палочковидные включения, что может свидетельствовать о наличии примесей молочнокислых бактерий, таких как *Lactobacillus* и *Pediococcus*. Наличие этих микроорганизмов потенциально влияет на снижение качества дрожжевой биомассы в случае хранения на складе более 6 мес., поскольку они способны вызывать порчу продукта, изменение кислотности, вязкости и запаха. Данный результат подчёркивает необходимость жёсткого санитарного контроля на всех этапах производства и хранения дрожжей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках данной работы впервые проведён комплексный анализ морфо-культуральных модификаций клеток дрожжей и характера их роста в зависимости от заданных в эксперименте параметров среды (состав питательных субстратов, температурный режим, уровень pH). Новизна исследования заключается в системном подходе к оценке биологических особенностей дрожжей на различных типах агаризованных и жидких сред, а также в использовании количественных и микроскопических методов анализа в условиях, приближенных к промышленным. Также Оценена эффективность мелассы Черемновского завода (РФ) при культивировании *S. cerevisiae* в условиях, приближённых к промышленным, с учётом отсутствия аналогичного сырья в Казахстане, различных параметров среды и биобезопасности полученного продукта.

Выходы:

- 1 Изучены морфо-культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae*.
- 2 Произведена оценка качества мелассы путём выявления наличия нитритов, способных ингибировать рост *Saccharomyces cerevisiae*.
- 3 Изучено влияние температурного режима и pH среды на рост дрожжевых клеток, культивированных на мелasse от трёх производителей.
- 4 Изучены особенности роста *Saccharomyces cerevisiae* на различных питательных субстратах.

Исследование морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae* при различных эко-технологических условиях культивирования имеет высокий научно-практический потенциал, т.к. полученные данные могут быть использованы в целях оптимизации технологического режима, повышения качества готовой дрожжевой продукции различного формата и повышения коммерческого потенциала.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Belda I., Ruiz J., Alastruey-Izquierdo A., et al. *Saccharomyces cerevisiae* // *Trends in Genetics.* – 2019. – Т. 35. – № 12. – С. 956–957.
- 2 Бабьева И. П., Чернов И. Ю. *Биология дрожжей.* – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2004. – 221 с.
- 3 The Metabolism and Molecular Physiology of *Saccharomyces cerevisiae* / ed. by J. R. Dickinson, M. Schweizer. – 2nd ed. – London: CRC Press, 2004. – 459 p.
- 4 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.
- 5 Morrow C. A., Fraser J. A. Sexual reproduction and dimorphism in the pathogenic basidiomycetes // *FEMS Yeast Research.* – 2009. – Vol. 9, No. 2. – P. 161–177.
- 6 Stewart G. G. *Saccharomyces* | *Saccharomyces cerevisiae* // *Encyclopedia of Food Microbiology* / ed. by C. A. Batt, M. L. Tortorello. – 2nd ed. – Oxford: Academic Press, 2014. – P. 309–315.
- 7 Hittinger C. T., Steele J. L., Ryder D. S. Diverse yeasts for diverse fermented beverages and foods // *Current Opinion in Biotechnology.* – 2018. – Vol. 49. – P. 199–206. – DOI: 10.1016/j.copbio.2017.10.004.
- 8 McGovern P. E., Glusker D. L., Exner L. J., et al. Neolithic resinated wine // *Nature.* – 1996. – Vol. 381. – P. 480.
- 9 Cavalieri D., McGovern P. E., Hartl D. L., et al. Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine // *Journal of Molecular Evolution.* – 2003. – Vol. 57, Suppl. 1. – P. S226–S232. – DOI: 10.1007/s00239-003-0031-2.
- 10 Marsit S., Dequin S. Diversity and adaptive evolution of *Saccharomyces* wine yeast: a review // *FEMS Yeast Research.* – 2015. – Vol. 15. – Article fov067. – DOI: 10.1093/femsyr/fov067.
- 11 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.
- 12 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.
- 13 Eldarov M. A., Kishkovskaya S. A., Tanaschuk T. N., et al. Genomics and biochemistry of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strains // *Biochemistry (Moscow).* – 2016. – Vol. 81. – P. 1650–1668. – DOI: 10.1134/S0006297916130046.
- 14 Mina M., Tsaltas D. Contribution of yeast in wine aroma and flavour // *Yeast - Industrial Applications* / ed. by A. Morata, I. Loira. – 2017.
- 15 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.

- 16 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.
- 17 Carbonetto B., Ramsayer J., Nidelet T., et al. Bakery yeasts, a new model for studies in ecology and evolution // Yeast. – 2018. – Vol. 35. – P. 591–603. – DOI: 10.1002/yea.3350.
- 18 Menezes R., Tenreiro S., Macedo D., et al. From the baker to the bedside: yeast models of Parkinson’s disease // Microbial Cell. – 2015. – Vol. 2. – P. 262–279. – DOI: 10.15698/mic2015.08.219.
- 19 Hidalgo A., Brandolini A. Bread from wheat flour // Encyclopedia of Food Microbiology / ed. by C. A. Batt, M. L. Tortorello. – 2nd ed. – Oxford: Academic Press, 2014. – P. 303–308.
- 20 Schwan R. F., Wheals A. E. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2004. – Vol. 44. – P. 205–221. – DOI: 10.1080/10408690490464104.
- 21 Pacheco-Pereira C., Rodrigues R. C., Zanin G. M. Cocoa fermentation: Microbial diversity and the impact on chocolate quality // Current Opinion in Food Science. – 2017. – Vol. 13. – P. 25–31. – DOI: 10.1016/j.cofs.2017.01.002.
- 22 Tamang J. P., Watanabe K., Holzapfel W. H. Review: Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages // Frontiers in Microbiology. – 2016. – Vol. 7. – Article 377. – DOI: 10.3389/fmicb.2016.00377.
- 23 Ravyts F., Vuyst L. D., Leroy F. Bacterial diversity and functionalities in food fermentations // Engineering. – 2012. – Vol. 4, No. 4. – P. 342–350. – DOI: 10.4236/eng.2012.44044.
- 24 Pretorius I. S. Tailoring wine yeast for the new millennium: Novel approaches to the ancient art of winemaking // Yeast. – 2000. – Vol. 16, No. 8. – P. 675–729. – DOI: 10.1002/(SICI)1097-0061(20000615)16:8<675::AID-YEA585>3.0.CO;2-B.
- 25 Saerens S. M. G., Delvaux F. R., Verstrepen K. J., Thevelein J. M. Production and biological function of volatile esters in *Saccharomyces cerevisiae* // Microbial Biotechnology. – 2010. – Vol. 3, No. 2. – P. 165–177. – DOI: 10.1111/j.1751-7915.2009.00106.x.
- 26 Borneman A. R., Pretorius I. S. Genomic insights into the *Saccharomyces* sensu stricto complex // Genetics. – 2015. – Vol. 199, No. 2. – P. 281–291. – DOI: 10.1534/genetics.114.173633.
- 27 Legras J. L., Merdinoglu D., Cornuet J. M., Karst F. Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history // Molecular Ecology. – 2007. – Vol. 16, No. 10. – P. 2091–2102. – DOI: 10.1111/j.1365-294X.2007.03266.x.
- 28 Querol A., Fernández-Espinar M. T., Belloch C., et al. Molecular typing of wine and brewery yeasts // Antonie van Leeuwenhoek. – 2003. – Vol. 83, No. 3. – P. 155–164. – DOI: 10.1023/A:1023327612539.

- 29 Sicard D., Legras J. L. Bread, beer and wine: yeast domestication in the *Saccharomyces* sensu stricto complex // Comptes Rendus Biologies. – 2011. – Vol. 334, No. 3. – P. 229–236. – DOI: 10.1016/j.crvi.2010.12.016.
- 30 Sipiczki M. Interspecies hybridization and recombination in *Saccharomyces* wine yeasts // FEMS Yeast Research. – 2008. – Vol. 8, No. 7. – P. 996–1007. – DOI: 10.1111/j.1567-1364.2008.00387.x.
- 31 Steensels J., Verstrepen K. J. Taming wild yeast: potential of conventional and nonconventional yeasts in industrial fermentations // Annual Review of Microbiology. – 2014. – Vol. 68. – P. 61–80. – DOI: 10.1146/annurev-micro-091213-113025.
- 32 Warringer J., Blomberg A. Evolutionary constraints on yeast protein expression and sequence evolution // Genome Biology. – 2006. – Vol. 7, No. 3. – Article R24. – DOI: 10.1186/gb-2006-7-3-r24.
- 33 Libkind D., Hittinger C. T., Valério E., et al. Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2011. – Vol. 108, No. 35. – P. 14539–14544. – DOI: 10.1073/pnas.1105430108.
- 34 Gallone B., Steensels J., Prahl T., et al. Domestication and divergence of *Saccharomyces cerevisiae* beer yeasts // Cell. – 2016. – Vol. 166, No. 6. – P. 1397–1410.e16. – DOI: 10.1016/j.cell.2016.08.020.
- 35 Hyma K. E., Fay J. C. Mixing of vineyard and oak-tree ecotypes of *Saccharomyces cerevisiae* in North American vineyards // Molecular Ecology. – 2013. – Vol. 22, No. 11. – P. 2917–2930. – DOI: 10.1111/mec.12347.
- 36 McGovern P. E., Zhang J., Tang J., et al. Fermented beverages of pre- and proto-historic China // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2004. – Vol. 101, No. 51. – P. 17593–17598. – DOI: 10.1073/pnas.0407921102.
- 37 Fay J. C., Benavides J. A. Evidence for domesticated and wild populations of *Saccharomyces cerevisiae* // PLoS Genetics. – 2005. – Vol. 1, No. 1. – P. 66–71. – DOI: 10.1371/journal.pgen.0010005.
- 38 Wang Q. M., Liu W. Q., Liti G., et al. Surprisingly diverged populations of *Saccharomyces cerevisiae* in natural environments remote from human activity // Molecular Ecology. – 2012. – Vol. 21, No. 22. – P. 5404–5417. – DOI: 10.1111/j.1365-294X.2012.05732.x.
- 39 Almeida P., Gonçalves C., Teixeira S., et al. A Gondwanan imprint on global diversity and domestication of wine and cider yeast *Saccharomyces uvarum* // Nature Communications. – 2014. – Vol. 5. – Article 4044. – DOI: 10.1038/ncomms5044.
- 40 Gonçalves M., Pontes A., Almeida P., et al. Distinct domestication trajectories in top-fermenting beer yeasts and wine yeasts // Current Biology. – 2016. – Vol. 26, No. 20. – P. 2750–2761. – DOI: 10.1016/j.cub.2016.08.040.
- 41 Peter J., Chiara M. D., Friedrich A., et al. Genome evolution across 1,011 *Saccharomyces cerevisiae* isolates // Nature. – 2018. – Vol. 556. – P. 339–344. – DOI: 10.1038/s41586-018-0030-5.

- 42 Duan S. F., Han P. J., Wang Q. M., et al. The origin and adaptive evolution of domesticated populations of yeast from Far East Asia // *Nature Communications*. – 2018. – Vol. 9. – Article 2690. – DOI: 10.1038/s41467-018-05020-9.
- 43 Liti G., Carter D. M., Moses A. M., et al. Population genomics of domestic and wild yeasts // *Nature*. – 2009. – Vol. 458. – P. 337–341. – DOI: 10.1038/nature07743.
- 44 Bergström A., Simpson J. T., Salinas F., et al. A high-definition view of functional genetic variation from natural yeast genomes // *Molecular Biology and Evolution*. – 2014. – Vol. 31, No. 4. – P. 872–888. – DOI: 10.1093/molbev/msu037.
- 45 Barbosa R., Pontes A., Santos R. O., et al. Multiple rDNA units enable simultaneous detection of yeast species in complex communities // *FEMS Yeast Research*. – 2018. – Vol. 18, No. 2. – DOI: 10.1093/femsyr/foy002.
- 46 Borneman A. R., Forgan A. H., Pretorius I. S., Chambers P. J. Comparative genome analysis of a *Saccharomyces cerevisiae* wine strain // *FEMS Yeast Research*. – 2008. – Vol. 8, No. 7. – P. 1185–1195. – DOI: 10.1111/j.1567-1364.2008.00388.x.
- 47 Gallone B., Steensels J., Mertens S., et al. Interspecific hybridization facilitates niche adaptation in beer yeast // *Nature Ecology & Evolution*. – 2019. – Vol. 3, No. 11. – P. 1562–1575. – DOI: 10.1038/s41559-019-0997-9.
- 48 Pontes A., Hellborg L., Sampaio J. P. *Candida zemplinina* as a major secondary yeast species in botrytized wine fermentations // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2017. – Vol. 83, No. 16. – DOI: 10.1128/AEM.00302-17.
- 49 Liti G. The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae* // *eLife*. – 2015. – Vol. 4. – Article e05835. – DOI: 10.7554/eLife.05835.
- 50 Kuehne H. A., Murphy H. A., Francis C. A., Sniegowski P. D. Allopatric divergence, secondary contact, and genetic isolation in wild yeast populations // *Current Biology*. – 2007. – Vol. 17, No. 5. – P. 407–411. – DOI: 10.1016/j.cub.2006.12.047.
- 51 Wang S. A., Bai F. Y. *Saccharomyces arboriculus* sp. nov., a yeast species from tree bark // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2008. – Vol. 58, No. 2. – P. 510–514. – DOI: 10.1099/ijss.0.65369-0.
- 52 Naumov G. I., Naumova E. S., Sniegowski P. D. *Saccharomyces paradoxus* and *Saccharomyces cerevisiae* are associated with exudates of North American oaks // *Canadian Journal of Microbiology*. – 1998. – Vol. 44, No. 11. – P. 1045–1050. – DOI: 10.1139/w98-108.
- 53 Sampaio J. P., Gonçalves P. Natural populations of *Saccharomyces kudriavzevii* in oak bark and their association with *Drosophila* species // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2008. – Vol. 74, No. 7. – P. 2144–2151. – DOI: 10.1128/AEM.02396-07.
- 54 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*. – 2012. – Vol. 109, No. 33. – P. 13398–13403. – DOI: 10.1073/pnas.1208362109.

- 55 Suh S. O., McHugh J. V., Pollock D. D., Blackwell M. The beetle gut: A hyperdiverse source of novel yeasts // *Mycological Research*. – 2005. – Vol. 109, No. 3. – P. 261–265. – DOI: 10.1017/S0953756205002387.
- 56 Goddard M. R., Greig D. *Saccharomyces cerevisiae*: A nomadic yeast with no niche? // *FEMS Yeast Research*. – 2015. – Vol. 15, No. 3. – DOI: 10.1093/femsyr/fov009.
- 57 Mortimer R. K. Evolution and variation of the yeast (*Saccharomyces*) genome // *Genome Research*. – 2000. – Vol. 10, No. 4. – P. 403–409. – DOI: 10.1101/gr.10.4.403.
- 58 Naumov G. I., Naumova E. S., Louis E. J. Two new genetically isolated sympatric *Saccharomyces* species in Japan // *FEMS Yeast Research*. – 2000. – Vol. 1, No. 4. – P. 275–288. – DOI: 10.1016/S1567-1356(01)00041-3.
- 59 Liti G., Barton D. B. H., Louis E. J. Sequence diversity, reproductive isolation and species concepts in *Saccharomyces* // *Genetics*. – 2006. – Vol. 174, No. 2. – P. 839–850. – DOI: 10.1534/genetics.106.062166.
- 60 McCusker J. H., Clemons K. V., Stevens D. A., Davis R. W. Species identification of pathogenic and nonpathogenic yeasts by sequence analysis of the internal transcribed spacer 2 region of the ribosomal DNA // *Journal of Clinical Microbiology*. – 1994. – Vol. 32, No. 4. – P. 1004–1017. – DOI: 10.1128/jcm.32.4.1004-1017.1994.
- 61 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, No. 4. – P. 299–306.
- 62 Naumov G. I., Naumova E. S. Detection of a wild population of yeast of the biological species *Saccharomyces cerevisiae* in Siberia // *Mikrobiologiya*. – 1991. – Vol. 60, No. 3. – P. 537–540.
- 63 Darwin C. *The Variation of Animals and Plants under Domestication*. – 1st ed. – London: John Murray, 1868.
- 64 Goddard M. R., Greig D. *Saccharomyces cerevisiae*: A nomadic yeast with no niche? // *FEMS Yeast Research*. – 2015. – Vol. 15. – Article fov009. – DOI: 10.1093/femsyr/fov009.
- 65 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, No. 22. – P. 5404–5417. – DOI: 10.1111/j.1365-294X.2012.05732.x.
- 66 Банницаина Т. Е., Туан Л. А., Канарский А. В. Применение дрожжей и продуктов их переработки в пищевой промышленности // *Вестник Воронежского государственного аграрного университета*. – 2015. – № 4. – С. 176–183.
- 67 Lee H. Y., Cheng K. Y., Chao J. C., Leu J. Y. Differentiated cytoplasmic granule formation in quiescent and non-quiescent cells upon chronological aging // *Microbial Cell*. – 2016. – Vol. 3. – P. 109–119.

- 68 Allen C., Buttner S., Aragon A. D., et al. Isolation of quiescent and nonquiescent cells from yeast stationary-phase cultures // *Journal of Cell Biology*. – 2006. – Vol. 174, No. 1. – P. 89–100. (объединена с предыдущей ссылкой под одним номером)
- 69 Кораблина Е. А., Котова Н. В. Микробиология: учебник для вузов. – Москва: Академия, 2019. – 352 с.
- 70 Рахманин Ю. А., Кузнецова М. А., Кононова Н. И. Микробиология. – Москва: ГЭОТАР-Media, 2020. – 416 с.
- 71 ГОСТ 54765-2011. Дрожжи хлебопекарные. Общие технические условия. – М.: Введ. 2012-01-01.
- 72 Дьякова Т. И., Карпухина И. В. Технология дрожжей и дрожжепродуктов: учебник. – СПб.: ГИОРД, 2021. – 288 с.
- 73 Рогов И. А., Зайцева Л. И., Кузнецова М. А. Биотехнология пищевых производств. – Москва: КолосС, 2020. – 416 с.
- 74 ГОСТ Р 54764-2011. Дрожжи пищевые. Методы определения бродильной активности. – Введ. 2012-01-01.
- 75 ГОСТ 10444.15-94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.
- 76 ГОСТ 31747-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (coliформных бактерий). – Введ. 2012-01-01.
- 77 ГОСТ 10444.12-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов.
- 78 Bartholomew J. W., Mittwer T. The Gram stain // *Bacteriological Reviews*. – 1952. – Vol. 16, No. 1. – P. 1–28.
- 79 Tripathi N., Sapra A. Gram staining. – 2020.
- 80 Toole G. A. Classic Spotlight: How the Gram Stain Works // *Journal of Bacteriology*. – 2016. – Vol. 198, No. 23. – P. 3128.

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

РЕЦЕНЗИЯ

На дипломную работу
(наименование вида работы)

Зайыр Эльнары Муратқызы
(Ф.И.О. обучающегося)

6B05101 Химическая и биохимическая инженерия
(шифр и наименование ОП)

На тему: Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*

Выполнено:

- а) графическая часть на 3 листах
- б) пояснительная записка на 30 страницах

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Дипломная работа представляет собой комплексное исследование, выполненное на высоком методологическом уровне. Студент грамотно систематизировал актуальные теоретические сведения, касающиеся биохимии и клеточной морфологии, что позволило сформировать четкую научную задачу. Выбор объекта исследования обусловлен его значимостью для развития биотехнологий, а применение современных методов анализа демонстрирует практическую направленность работы. Работа структурирована последовательно: введение, обзор литературы, экспериментальная часть, результаты и обсуждение, а также заключение.

Несмотря на высокую общую оценку работы, можно отметить, что в некоторых разделах требуется более детальное обсуждение возможных методологических ограничений и перспектив в дальнейших исследованиях. Критическое изложение по анализам использованных методик позволило бы сделать выводы исследования еще более обоснованными.

Оценка работы

В целом, выполненная работа является весомым вкладом в область исследований жизнедеятельности микроорганизмов и может служить основой для дальнейших практических разработок в области биотехнологии дрожжей. Рецензент считает, что дипломная работа соответствует требованиям к самостоятельной исследовательской деятельности и рекомендует её к защите. Работа оценена на «отлично» (95 баллов).

Рецензент

Профессор, д.б.н., Кафедра биотехнологии
КазНУ имени Аль-Фараби, факультет биологий и биотехнологий
Иващенко А.Т.



ФКазНИТУ 706-17. Рецензия

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

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

На дипломную работу

Зайыр Эльнары Мұратқызы

(Ф.И.О. обучающегося)

6B05101 Химическая и биохимическая инженерия

(шифр и наименование ОП)

На тему: Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*

Выполнено:

- а) графическая часть на 3 листах
- б) пояснительная записка на 30 страницах

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Работа логично структурирована. Каждый раздел выполняет свою функцию и способствует раскрытию поставленных целей.

Экспериментальная часть подробно описана: приведены условия культивирования, методы идентификации и оценки роста дрожжей на разных субстратах (включая мелассу), а также использованные физико-химические методы. Указано оборудование и реактивы.

Полученные результаты представлены в табличной форме, имеются фото-подтверждения выполненных работ, приведены измерения роста культуры, pH среды, оценки консистенции колоний и пр.

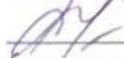
Однако, в тексте встречаются фразы в разговорном стиле (например, “дрожжи вели себя иначе”), что не соответствует академическому стилю. Рекомендуется заменить их на нейтральные научные формулировки. В некоторых местах выводы представлены без ссылки на конкретные таблицы, что снижает научную строгость изложения.

Оценка работы

В целом, дипломная работа отличается продуманной структурой, хорошей проработкой теоретической части и аккуратным проведением эксперимента. Автор продемонстрировал умение проводить научное исследование, оформлять результаты и делать обоснованные выводы. Работа может быть рекомендована к защите с оценкой “отлично” (95 баллов), при условии устранения указанных замечаний.

Научный руководитель

к.с.х.н., доцент

 Джамалова Г.А.
(подпись)

10 июня 2025 г.



Raport podobieństwa

Metadane

Nazwa instytucji

Satbayev University

Tytuł

Изучение морфо-культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae*

Autor/zy

Promotor

Зайыр Эльнара МуратқызыГуля 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%.



25

Długość frazy dla WP 2

6395

Liczba słów

49021

Liczba znaków

Alerty

W tej sekcji znajdują się statystyki występowania w tekście zabiegów edytorских, które mogą mieć na celu zaburzenie wyników analizy. Niewidoczne dla osoby zapoznajającej 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		1
Rozstrzelania		0
Mikrospacje		8
Ukryte znaki		0
Parafrazy		0

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	2022_БАК_Галиуллина Камилла.doc 6/6/2022 Satbayev University (ИГиНГД)	17 0.27 %
2	2022_БАК_Галиуллина Камилла.doc 6/6/2022 Satbayev University (ИГиНГД)	9 0.14 %

z bazy RefBooks (0.00 %)

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

z bazy macierzystej (0.41 %)

LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
1	2022_БАК_Галиуллина Камилла.doc 6/6/2022 Satbayev University (ИГиНГД)	26 (2) 0.41 %

z Programu Wymiany Baz (0.00 %)

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

z Internetu (0.00 %)

LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
----	------------------	--------------------------------

Lista zaakceptowanych fragmentów (brak zaakceptowanych fragmentów)

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