

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

Канафиева Диана Аскарровна

«Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей»

**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 кормовых дрожжей»

6B05101 – Химическая и биохимическая инженерия

Выполнила

Канафиева Диана Аскарровна

Рецензент  
профессор д.б.н., Кафедра биотехнологии  
КазНУ имени Аль-Фараби, факультет  
биологии и биотехнологии  
Факультет  
Иващенко А.Т.  
(подпись)  
« 11 » июня 2025 г.



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

Джамалова Г.А.  
(подпись)

« 10 » июня 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 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.*  
Мангазбаева Р.А.

«11» *июня* 2025г.

**ЗАДАНИЕ**

**на выполнение дипломной работы**

Обучающемуся Канафиевой Диане Аскаровне

Тема: «Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей»

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

Срок сдачи дипломной работы «11» *июня* 20\_\_г.

*Исходные данные к дипломной работе:* Исследование охватывает бактериальную обсемененность нестерильной мелассы, процессы биомассообразования кормовых дрожжевых клеток из свекловичной мелассы разных производителей, особенности роста *Saccharomyces cerevisiae* в этих средах с различным составом и кислотностью, а также биобезопасность полученного кормового дрожжевого продукта.

*Краткое содержание дипломной работы:* Изучение *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе: рост, морфология и биобезопасность сырья и конечного дрожжевого продукта.

Перечень графического материала. Рисунок 10. Процесс биомассообразования *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании в питательных средах на основе свекловичной мелассы с различным составом и уровнем кислотности

Рекомендуемая основная литература включает 83 наименований научной и научно-нормативной литературы.

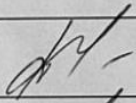
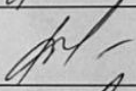
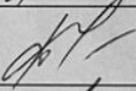
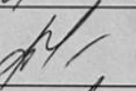
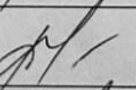
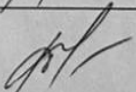
## ГРАФИК


подготовки дипломной работы

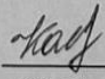
Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Обзор литературы	20.01.2025	Выполнено
Методика исследования	05.02.2025	Выполнено
Результаты исследования	15.03.2025	Выполнено
Заключение и выводы	30.03.2025	Выполнено

## 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
Определение цели и задач исследования	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	06.01.2025	
Литературный обзор	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	27.01.2025	
Объект и методика исследования	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	10.02.2025	
Результаты исследования	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	31.03.2025	
Подготовка презентации к защите	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	15.04.2025	
Соответствие оформления работы государственным стандартам	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	14.05.2025	

Научный руководитель  Джамалова Г.А.  
подпись

Задание приняла к исполнению обучающаяся  Канафиева Д.А.  
подпись

Дата «30» января 2025 г.

## АННОТАЦИЯ

Дипломная работа на тему «Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей» состоит из разделов введение (2 стр.), обзор литературы (9 стр.), материал и методика исследования (8 стр.), результаты исследования (12 стр.), заключение (1 стр.). Дипломная работа оформлена на 32 страницах машинописного текста и включает 9 рисунков, 7 таблиц и 95 литературных источников.

Объектом исследования является дрожжевая культура *Saccharomyces cerevisiae*, используемая для получения кормового продукта.

Цель исследования. Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей

Результаты исследования. Рассмотрен процесс биомассообразования кормовых дрожжевых клеток на свекловичной мелассе различного производства. Изучена морфология и особенность роста *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе с различным составом и уровнем кислотности. Оценена бактериальная безопасность мелассы на начальном этапе исследований, а также полученного в процессе исследования кормового дрожжевого продукта.

Полученные экспериментальные данные могут использоваться для повышения целесообразности биотехнологического производства дрожжевого продукта, его качества и сохранения ценных питательных свойств.

## АНДАТПА

"Жемшөп ашытқысының морфо-дақылдық қасиеттері зерттеу" тақырыбындағы тезис Кіріспе (2 бет), әдебиетке шолу (9 бет), зерттеу материалы мен әдістемесі (8 бет), зерттеу нәтижелері (12 бет), қорытынды (1 бет) бөлімдерінен тұрады. Диссертация 35 беттен тұратын баспа мәтінімен безендірілген және 9 сурет, 7 кесте және 95 әдеби дереккөзден тұрады.

Зерттеу нысаны-жемшөп өнімін алу үшін қолданылатын *Saccharomyces cerevisiae* ашытқы дақылдары.

Зерттеудің мақсаты. Жемшөп ашытқысының морфо-мәдени қасиеттерін зерттеу

Зерттеу нәтижелері. Әр түрлі өндірістегі қызылша мелассасында жемдік ашытқы жасушаларының биомасса түзілу процесі қарастырылады. Әр түрлі құрамы мен қышқылдық деңгейі бар мелассадағы *Saccharomyces cerevisiae* морфологиясы мен өсу ерекшелігі зерттелді. Зерттеудің бастапқы кезеңінде, сондай-ақ зерттеу барысында алынған жемшөп ашытқы өнімінде мелассаның бактериялық қауіпсіздігі бағаланады.

Алынған эксперименттік деректерді ашытқы өнімінің биотехнологиялық өндірісінің орындылығын, оның сапасын арттыру және құнды қоректік қасиеттерін сақтау үшін пайдалануға болады.

## ANNOTATION

The thesis on the topic "Studying the morphocultural properties of feed yeast" consists of the sections introduction (2 page), literature review (9 pages), research material and methodology (8 pages), research results (12 pages), conclusion (1 page). The thesis is designed on 35 pages of typewritten text, and it includes 9 figures, 7 tables and 95 literary sources.

The object of the study is a yeast culture of *Saccharomyces cerevisiae* used to produce a feed product.

The purpose of the study. Study of morphocultural properties of fodder yeast

The results of the study. The process of biomass formation of fodder yeast cells on beet molasses of various production is considered. The morphology and growth characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* on molasses with different composition and acidity levels have been studied. The bacterial safety of molasses at the initial stage of research, as well as the yeast feed product obtained during the research, was evaluated.

The experimental data obtained can be used to increase the feasibility of biotechnological production of a yeast product, its quality and preservation of valuable nutritional properties.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	10
1 Обзор литературы.....	12
1.1 Значение кормовых дрожжей в животноводстве .....	12
1.1.1 Применение дрожжей в качестве корма.....	12
1.1.2 Виды кормовых дрожжей и их питательная ценность .....	13
1.1.3 Полезные свойства кормового дрожжевого продукта .....	15
1.2 Биология дрожжей .....	16
1.3 Культуральные условия для производства кормовых дрожжей.....	17
1.3.1 Используемый субстрат .....	17
1.3.2 Питательные среды .....	18
1.3.3 Уровень кислотности (pH).....	18
1.3.4 Температура .....	19
1.3.5 Влияние анаэробных и аэробных условий культивирования на ферментативную активность дрожжевых клеток .....	19
1.3.6 Роль витаминов в процессе культивирования дрожжевых клеток...	19
1.3.7 Влияние минеральных солей на выход дрожжевой биомассы .....	20
2 Объект, материал, методы и методика исследования.....	21
2.1 Объект исследования .....	21
2.2 Материалы исследования .....	21
2.3 Методика исследования.....	23
2.3.1 Подготовка питательной среды.....	24
2.3.2 Приготовление материнских косячков .....	26
2.3.3 Разведение дрожжей «Гларипан, Angel».....	26
2.3.4 Оценка мелассы на бактериальную контаминацию .....	27
2.3.5 Приготовление раствора мелассы с различной кислотностью.....	27
2.3.6 Оценка накопления биомассы дрожжей .....	28
3 Результаты исследования .....	29
3.1 Оценка бактериальной безопасности мелассы .....	29



3.2 Биомассообразование кормовых дрожжевых клеток при культивировании в питательной среде на основе мелассы .....	31
3.3 Особенности роста кормовых дрожжевых клеток в питательных средах на основе мелассы с различным составом и уровнем кислотности .....	37
3.4 Оценка бактериальной безопасности готового кормового дрожжевого продукта .....	40
Заключение.....	41
Список использованной литературы .....	42

## ВВЕДЕНИЕ

*Актуальность работы.* Перспектива потребительского (население, промышленное производство – сельскохозяйственное, пищевое, фармацевтическое, химическое) интереса к натуральным продуктам глобально развивается в нашем современном мире. Законодательно-нормативная база усиливает давление на отказ потребителей от синтетических препаратов и открывает новые возможности для природных продуктов. В частности, в животноводстве, в целях улучшения состояния здоровья животных и увеличения их продуктивности, весомое внимание уделяется полноценному кормлению. Одним из источников для полноценного кормления животных являются кормовые дрожжи, богатые питательными веществами. Ценность кормовых дрожжей на рынке поддерживается недорогим используемым субстратом, получаемым из сельскохозяйственных и пищевых отходов, что позволяет внедрять экологичное и безотходное производство кормового продукта. Развитие данного направления в нашем государстве, позволит целесообразно использовать экономические и материальные ресурсы, а также откроет новые направления в совершенствовании производства кормов для животных.

*Цель исследования.* Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей.

*Задачи исследования:*

1 Изучение процесса биомассообразования кормовых дрожжевых клеток на свекловичной мелассе различного производства.

2 Изучение морфологии и особенностей роста *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе с различным составом и уровнем кислотности

3 Оценка биобезопасности мелассы и готового кормового дрожжевого продукта на бактериальную обсемененность.

*Научная новизна.* Известно, что:

- химический состав кормовых дрожжей зависит от среды, на которой они культивировались;

- на качество мелассы влияют множество факторов: сорт сахарной свеклы, природно-климатические и агрохимические условия выращивания сахарной свеклы, технология переработки сахарной свеклы и сроки хранения мелассы на дрожжевом заводе и др.

Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей, культивированных на мелассе сахарного завода Алматинской области проведены впервые.

*Научно-практическое значение.* Алматинский дрожжевой завод является единственным заводом на территории нашего государства, который занимается производством дрожжевого продукта, используемого в пищевой отрасли для хлебобулочных, кондитерских изделий, а также в аграрном секторе – для производства кормовых добавок. Данный завод функционирует на экономическом рынке уже 55 лет и обладает четким разработанным планом

получения первоклассного товара в большом объеме (12000 т. в год). Главной научно-производственной задачей для завода является производство высокоценной по питательности продукции, в частности, высокоценных кормовых дрожжей. Поэтому изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей имеет для дрожжевого завода практическую ценность.

*Объем и структура дипломной работы.* Дипломная работа состоит из четырех разделов (введение, материал и методы, результаты и заключение) и изложена на 32 страницах компьютерного текста, содержит 9 рисунков и 7 таблиц. Библиографический указатель литературы включает 95 научных и нормативных источников.

*Апробация.* Основные положения исследования дипломной работы, включающие сравнительный анализ продуктивности дрожжей на мелассе «Коксу-кант» и «Аксу-кант», были представлены на международной конференции студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі» (2025 г.) в Казахском национальном университете имени аль-Фараби.

## 1 Обзор литературы

### 1.1 Значение кормовых дрожжей в животноводстве

#### 1.1.1 Применение дрожжей в качестве корма

С каждым годом, мировой дефицит продуктов питания и кормов усугубляется, а качество кормового продукта снижается. ООН предсказывает рост населения до 10 млрд к 2050 г., что, соответственно, требует повышения уровня производства продовольственных продуктов. Ограничения по расширению посевных площадей и наращиванию в некоторых странах поголовья животных в сельскохозяйственном животноводстве связано, в первую очередь, с пониженной эффективностью кормопреобразования и увеличению отходов производства [1]. Актуальным решением является производство кормовых дрожжей с помощью биотехнологических процессов. В решении проблемы улучшения питательной ценности кормов важная роль отводится производству кормовых дрожжей, получаемых из отходов сельского хозяйства, спиртовой и пищевой промышленности, лесоперерабатывающей промышленности, торфа и др. Растительные отходы рассматриваются как наиболее эффективное сырье для получения кормового продукта [2]. Благодаря технологическим усовершенствованиям и использованию качественного сырья в производстве дрожжей, содержание сырого протеина в коммерчески доступных дрожжевых продуктах составляет более 400 г/кг [3].

Имеются свидетельства о том, что дрожжи начали использовать в виде корма с 1920 г [4]. Основным способом получения кормовых дрожжей в период СССР было сбраживание растительных гидролизатов, богатых белками, витаминами и ферментами, превосходящих по питательной ценности растительные корма. Впервые, в 1872 г. профессор Н.П. Червинский применил слабокислотный гидролиз растительного сырья. Данный метод основан на использовании высоких температур и кислот для разложения полисахаридов на легко усваиваемые дрожжами моносахариды [5]. После распада СССР производство кормовых дрожжей с применением кислотного гидролиза растительного сырья практически остановилось. Главными причинами стали высокая энергозатратность, экологические риски, малый выход готового продукта, большие объемы отходов (лигнин, сточные воды) и изношенное оборудование [6]. Изначально для синтеза кормовых дрожжей применяли отходы целлюлозно-бумажной, спиртовой и сахарной промышленности [7]. В настоящее время преимущественно кормовые дрожжи производят на спиртовых заводах, еще в 70-е годы прошлого века действовало более 14 производств кормовых дрожжей, получаемых на основе зерновой барды на базе спиртовых заводов [8].

Начиная с 1980-х годов, ученые стали исследовать воздействие кормовых дрожжей на рубцовое пищеварение. В ходе исследований, охвативших двести штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, штамм 1026 продемонстрировал наибольшую эффективность. На его основе был разработан препарат «И-Сак

1026», получивший рецензию Европейского союза для использования в кормлении молочного и мясного скота, включая телят [4]. Кормовые добавки на основе *Saccharomyces cerevisiae* используются в качестве альтернативы противомикробным кормовым добавкам, таким образом уже более 10 лет. Штамм *S. cerevisiae* обладает рядом преимуществ, основные из которых это улучшение переваримости сухого вещества и нейтрально-детергентной клетчатки, повышение молочной продуктивности у коров [9;10; 11; 12; 13]. Актуальность применения кормовых дрожжей в сельском хозяйстве определяется высокоценной питательностью и хорошей 95 % усвояемостью в пищеварительном тракте животного [14].

Ключевыми критериями при выборе кормовых дрожжей являются их устойчивость к кислотности и желчным солям, противостояние к патогенам, а также обладание ими высоких иммуностимулирующих свойств [15]. С экономической и экологической точек зрения дрожжи являются высокоэффективными продуцентами белковых и биологически активных веществ (БАВ). Их главное преимущество – это упрощенная технология производственных процессов, поскольку дрожжи, без особых сложностей, можно культивировать на макроуровне [16]. Применение одной тонны кормовых дрожжей обеспечивает увеличение производства мяса птицы до 1,5 тонн, свинины – до 0,6 т., яиц – до 25 тысяч штук, а также позволяет сократить расход зерна на 5–6 т. [8]. Поэтому современная стратегия кормления сельскохозяйственных животных ориентирована на получении высокоэнергетических и качественных по питательности кормов, использование которых демонстрирует значительный рост продуктивности в сельском хозяйстве [17].

#### 1.1.2 Виды кормовых дрожжей и их питательная ценность

Классификация кормовых дрожжевых продуктов основана на видах используемых микроорганизмов и источников сырья.

##### 1 По видам дрожжевых культур:

1.1 *Saccharomyces cerevisiae* является ценным источником микробного белка: в 100 г дрожжей содержится 40–50 г переваримого белка, включающего все незаменимые аминокислоты, такие как лизин, лейцин, валин, изолейцин и триптофан [4]. По сравнению с аминокислотным составом традиционных кормовых добавок, дрожжевой кормовой продукт по содержанию лизина уступают лишь рыбной муке [18]. Благодаря богатому содержанию ценных аминокислот и витаминов группы В, *Saccharomyces cerevisiae* может рассматриваться как альтернативный источник соевого шрота в рационах животных [19].

1.2 Источником сырья для получения *Candida utilis* является лигноцеллюлозная биомасса древесины. *Candida utilis* представляет собой ценный кормовой продукт, содержащий β - глюкозаны, манноолигосахариды и нуклеиновые кислоты, оказывающий иммуностимулирующее действие и предотвращающий проявление бактериальных инфекций в животном

организме [20]. Дрожжи *Candida utilis* могут успешно заменить до 40% традиционный белковый корм, например, соевый шрот, картофельный белок, рыбная мука и рапсовый жмых, которые широко применяются в животноводстве. Поэтому дополнительное включение в рацион 40% сырого протеина из *Candida utilis* приводит к лучшей переваримости белка и зольных элементов, к повышению абсорбционной функции кишечника, улучшению консистенции фекалий и снижению случаев диареи у животных после их отъема [21].

## 2 По источнику сырья:

2.1 Гидролизные дрожжи представляют собой качественный высокобелковый кормовой продукт. Сырьем для их получения служит древесный растительный материал (опил, стружка, щепа). Гидролизные дрожжи содержат полный комплекс незаменимых аминокислот, таких как лизин, метионин, цистин и др. Они также богаты липидами, витаминами группы В, минеральными веществами (фосфор, калий, кальций, магний). Главное преимущество гидролизных дрожжей – 1 т дрожжей заменяет по питательным и энергетическим ресурсам 5-7 т зерна [22]. Гидролизные кормовые дрожжи по питательности не уступают зерновой барде, шроту соевому [23].

2.2 Спиртовые дрожжи – это дрожжи, получаемые при спиртовом брожении. Промышленно произведенные спиртовые дрожжи представляют собой высококачественный белковый продукт, содержащие около 15 аминокислот, при этом высокое содержание отмечается для таких аминокислот, как аланин, глутаминовая кислота, валин, лейцин и тирозин [24]. Спиртовое брожение сопровождается накоплением тиамина, важного для формирования клеток и быстрого роста дрожжей. Присутствие рибофлавина и никотиновой кислоты в составе спиртовых дрожжей повышает их кормовую ценность. Минералы, такие как натрий, кальций, магний, марганец и кобальт, способствуют улучшению ферментативной активности и улучшают энергетический обмен у животных [25]. Отсутствие в процессе синтеза спиртовых дрожжей побочных примесей, таких как высшие спирты и альдегиды, повышает качество конечного продукта и является главным преимуществом их производства [26]. По оценкам, в 2007-2008 году в Бразилии было произведено 22,3 млрд. л спирта из сахарного тростника. Учитывая, что из одного литра спирта можно получить не менее 40 г сушёных дрожжей, можно прийти к выводу, что спиртовое брожение является еще и экономически целесообразным производством [27].

2.3 Активный ил, образующийся при биологической очистке сточных вод (белково-витаминный ил), также используется в качестве сырья для производства спиртового дрожжевого продукта. Впервые он был открыт учеными в 1976 г., его охарактеризовали как ценное питательное сырье с 50%-ым содержанием белковых веществ, богатым составом аминокислот, микроэлементов и витаминов группы В, включая В12 [28]. Поэтому данный продукт представляет собой перспективное сырье для производства

качественных кормовых дрожжей. Однако его использование может быть ограничено санитарными нормами, что обуславливает необходимость проведения дополнительных исследований по изучению его физиологической и токсикологической безопасности перед включением в рацион животных [29].

### 1.1.3 Полезные свойства кормового дрожжевого продукта

Применение дрожжей в качестве кормового продукта объясняется следующими полезными для животных качествами и свойствами:

- дрожжи улучшают микрофлору желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), повышают иммунитет за счет бета-глюканов, снижают уровень кислорода в рубце, служат источником питательных веществ, не подвергаясь рубцовому расщеплению, и исключают проявление ацидоза [30];

- используются в качестве альтернативы антибиотикам и другим добавкам синтетического происхождения, т. к. одной из распространённых современных проблем является негативное влияние синтетических препаратов на животный организм [31];

- при их включении в рацион вместо растительных источников белка, благодаря полному усвоению протеина кормовых дрожжей сельскохозяйственными животными (до 95%), существенно сокращается объем экскрементов (навоза, помета) III-IV класса опасности [22];

- кормовые добавки с органическими комплексами меди, марганца, кобальта и цинка особенно важны для коров на поздних сроках беременности, так как способствуют у новорожденных телят лучшему росту и укреплению здоровья [32];

- дрожжевые кормовые продукты снижают частоту диареи у поросят в период отъёма, улучшают показатели роста и укрепляют состояние здоровья поросят [33,34];

- обеспечивают поддержание общего состояния организма цыплят-бройлеров за счет иммунобиологической активности [35;36], снижают гибель птиц из-за различных бактериальных инфекций (например, некротический энтерит, сальмонеллез и колибактериоз) [37], стимулируют образование новых клеток, минимизируя апоптоз и поддерживая высокую жизнеспособность клеток при стрессе, снижают у ремонтного молодняка риск развития внутриклеточных воспалений [38];

- у кур-несушек дрожжи повышают кислородную емкость крови, что благоприятно влияет на обмен веществ, увеличивает яйценоскость и снижает расход кормового продукта [39]. Способствуют физиологическому созреванию молодняка кур и усиливают проявление половых различий между особями [40];

- замена рыбной муки на кормовые дрожжевые добавки в питании домашних птиц положительно сказывается на химическом составе мяса, увеличении содержания белка, улучшении количественного соотношения в нем триптофана и оксипролина [40].

## 1.2 Биология дрожжей

Аскомицетовые дрожжи составляют монофилетическую линию с одним порядком, включающих около 1000 известных видов [41]. Ключевыми органоидами в дрожжевой клетке являются ядро с ядрышком, митохондрии, рибосомы, клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и лизосомы [42]. Размер дрожжевых клеток варьирует от 1-2 мкм до 7-8 × 10-12 мкм. В световом микроскопе они имеют круглую, эллипсоидальную или удлинённо-цилиндрическую форму. Клеточная стенка *Saccharomyces cerevisiae* составляет 15-30 % от сухого веса клетки [43]. Ее толщина варьирует в пределах 110-200 нм [44, 45]. Основные компоненты их клеточной стенки:  $\beta$ 1,3 и  $\beta$ 1,6 - глюканы, маннопротеины и хитин. Цитоплазматическая мембрана, расположенная за клеточной стенкой, представлена липидным бислоем, состоящим из двух электронно-плотных слоев [46]. Основная клеточная жидкость, представленная в виде цитоплазмы, имеет в своем составе рибосомы, выполняющие функцию синтеза белка и являющихся также компонентами цитоскелета. Помимо рибосом, функцию синтеза и секреции белка выполняет также эндоплазматический ретикулум [47]. Аппарат Гольджи осуществляет в дрожжевой клетке сортировку и упаковку белков в везикулы, направляющиеся к мембране или вакуолям [48]. Вакуоли ограничены своей собственной однослойной мембраной от цитоплазмы и могут содержать липидные капли и гидролитические ферменты, которые ускоряют внутриклеточное переваривание, являются местом запасаания аминокислот, пуринов и ионов калия, поддерживают осмотическое давление внутри клетки [48]. Главным источником энергии в дрожжевой клетке являются митохондрии, осуществляющие окислительное фосфорилирование и имеющие в своем составе собственную митохондриальную ДНК (мтДНК), которые становятся визуально различимыми при флуоресцентном окрашивании и последующем микроскопировании [49].

Дрожжи с интенсивным окислительным метаболизмом отличаются высокоразвитыми митохондриями, что обусловлено их ключевой ролью в окислительном фосфорилировании [49]. Ядро – это ключевой носитель генетической информации, содержит хромосомы, он выполняет функцию синтеза мРНК, которая, в последующем, используется рибосомами для образования новых белков в клетке [50]. Важнейшим органоидом, регулирующим внутриклеточные процессы и метаболизм, являются лизосомы, представляющие собой гидролитический мешочек и обеспечивающие переработку внутриклеточных отходов, расщепляя высокомолекулярные компоненты на низкомолекулярные соединения [51].

Генетический материал гаплоидной клетки *S. cerevisiae* содержит приблизительно 14 000 кб ДНК, разделенной на 16 линейных хромосомных ДНК размером от 250 до 2000 кб. Штаммы несут 50 – 100 копий плазмид размером 6,3 кб [52]. Генетический материал может быть гаплоидным ( $n=16$ )



и диплоидным ( $2n=32$ ), при этом дрожжевая клетка обладает возможностью быть гомоталлическим (изменять тип спаривания и образовывать диплоиды) или гетероталлическим (образовывать стабильные гаплоиды) организмом [53].

Размножение дрожжевых клеток осуществляется путем почкования, во время которого родительская клетка формирует вырост («почку»), который затем отделяется от материнского организма или остается частично соединенным в вытянутых клетках. Вторым способом размножения является деление материнской клетки на несколько дочерних клеток [54]. Дрожжи являются факультативными анаэробами, в аэробных условиях существования они используют окислительный метаболизм, превращая кислород и сахара в углекислый газ и энергию, что эффективно используются ими для роста и процессов жизнедеятельности. В анаэробных условиях (например, при производстве этанола) эффективность внутриклеточных процессов снижается, в результате чего синтезируется этанол [55]. Основным источником энергии для *Saccharomyces cerevisiae* преимущественно является глюкоза. Полисахариды, такие как сахароза, менее доступны в процессе спиртового брожения, но дрожжевые клетки вырабатывают фермент инвертазу, которая расщепляет сахарозу на глюкозу и фруктозу, что делает ее доступным источником углерода [56]. При нехватке глюкозы дрожжевые клетки в целях обеспечения их устойчивости к неблагоприятным условиям и повышения механизма выживания популяции в условиях стресса могут переходить в состояние спор или покоящихся клеток [57, 58]. Обладая высокой чувствительностью к концентрации глюкозы, они способны быстро адаптировать свой метаболизм к изменениям в окружающей среде, а также переживать период длительного голодания [59].

### 1.3 Культуральные условия для производства кормовых дрожжей

#### 1.3.1 Используемый субстрат

Субстратом для культивирования дрожжевых клеток служат недорогие отходы агропромышленного комплекса. Для дрожжевых клеток *Yarrowia lipolytica* использование недорогого субстрата, в частности, сточных вод завода по производству оливкового масла, было впервые задокументировано *Scioli et al.* (1997) [60].

Для повышения экономической целесообразности биотехнологических процессов также активно используют альтернативные субстраты, такие как сахарная патока и гидролизаты целлюлозных отходов [61]. Для получения кормового продукта культура *S. Cerevisiae* способна активно ферментировать гексозные сахара, поэтому широко применяется для биоконверсии тростниковой и свекловичной патоки в этанол. Для расширения спектра субстратов используются также методы популяционной генетики и генной инженерии, позволяющие дрожжевым клеткам метаболизировать ксилозу и лигноцеллюлозное сырье [62].

### 1.3.2 Питательные среды

Рост и размножение *Saccharomyces cerevisiae* на макроуровне зависит от сбалансированного и качественного состава питательной среды. Для поддержания скорости синтеза дрожжевого компонента и максимального выхода биомассы осуществляют процесс оптимизации питательной среды за счет добавления в различной концентрации питательных веществ, витаминов и минералов. При этом их оптимальные показатели определяются экспериментальным путем [63].

Актуальные используемые питательные среды для культивирования дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Питательные среды для культивирования *Saccharomyces cerevisiae*

Название среды	Полусинтетическая среда M2 [64, 65]	Соевые белковые гидролизаты [66, 67]	YPD [68]	Среда Сабуро [69]
Краткое описание	Представляет собой имитацию разбавленного сока агавы	Основана на питательной среде Ридера, актуально используется в биотехнологической отрасли	Богатая, твердая питательная среда, используемая для культивирования дрожжей	Предназначена для культивирования дрожжей и тестирования чувствительности к антибиотикам у дрожжевой культуры
Ключевые компоненты химического состава				
Фруктоза (г/л)	90	80	80	60
Глюкоза (г/л)	10	20	20	40
Дрожжевой экстракт (г/л)	1	0,5	0,5	2
Панкреатин (по массе, %)	-	2	-	-
Пептон (по массе, %)	-	0,5	-	-
Гидролизат рыбной муки (г/л)	-	-	-	10
Казеин (г/л)	-	-	-	10
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

### 1.3.3 Уровень кислотности (pH)

Дрожжи поддерживают свою активность в культуре при pH 2,5-6,5, но оптимальным для их роста и развития служит pH 4,5-5,8. Снижение pH ниже 4,0 замедляет рост биомассы, а при pH 3,0-3,5 рост дрожжей прекращается, особенно при активном потреблении аммонийного азота. Подщелачивание среды может происходить из-за выделения аммиака при автолизе дрожжевых

клеток. Нестабильность pH в процессе культивирования негативно влияет на качество дрожжей, замедляет клеточные процессы и останавливает их рост и размножение [70].

#### 1.3.4 Температура

Температура является основополагающим фактором, поддерживающим рост и процесс брожения дрожжевых клеток. Оптимальный диапазон температур для лабораторных и промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* составляет 20-30 °C [71]. Повышение температуры выше 36 °C вызывает стресс у дрожжевых клеток, приводя к снижению роста, морфологическим изменениям и потемнению дрожжевых культур. При повышении температуры до 42-43 °C отмечается повреждение клеточной стенки, нарушение внутриклеточной жизнедеятельности [72].

#### 1.3.5 Влияние анаэробных и аэробных условий культивирования на ферментативную активность дрожжевых клеток

В аэробной среде, при стимулировании ионами Mg, Zn, Mn и Co, активируются ферменты углеводного и азотного обмена (инвертаза, α-глюкозидаза, алкогольдегидрогеназа, глюкоамилаза, протеазы).

В анаэробных условиях дрожжи получают энергию за счет гликолиза, что приводит к накоплению гликогена и метаболическим перестройкам, при этом усиливается синтез ключевых ферментов брожения (инвертазы, альдолазы, алкогольдегидрогеназы).

Эти различия в метаболизме сопровождаются характерными морфологическими особенностями аэробных (8-10 × 11-13 мкм, клетки овальной формы, развитые органеллы) и анаэробных (6-7 × 7-9 мкм и 9 × 9 мкм, округлые клетки, плотная цитоплазма с гликогеном, редуцированные митохондрии, отсутствие Гольджи, крупное ядро) дрожжевых клеток [73].

#### 1.3.6 Роль витаминов в процессе культивирования дрожжевых клеток

Пиродоксин (витамин B6) оказывает стимулирующее действие на рост дрожжей, данный факт был еще отмечен еще в 1939 г [74]. Пиродоксин принимает активное участие в работе более 50 ферментов *S.cerevisiae*, регулируя метаболизм аминокислот, глюкозы, липидов и биосинтез тиамин [75].

Тиамин (витамин B1) является ключевым компонентом в процессе энергетического обмена дрожжевой клетки. Его активная форма тиаминдифосфат является кофактором ферментов пируват- и оксоглутаратдегидрогеназ, транскетолазы и других ферментов [76].

Тиаминдифосфат также образует ковалентные промежуточные соединения с субстратами, повышая устойчивость к окислительному, осмотическому и тепловому стрессу у дрожжевой клетки [76].

Рибофлавин (витамин В2) способствует увеличению концентрации дрожжевых клеток, улучшая при этом их физиологическое состояние. Однако, по мере роста клеток скорость почкования снижается, так как процесс брожения ускоряется, что приводит к ускоренному достижению предельного значения [77].

### 1.3.7 Влияние минеральных солей на выход дрожжевой биомассы

Концентрация минеральных солей в питательной среде необходим для культивирования дрожжевых клеток, т.к. оказывает влияние на процесс биомассообразования дрожжей. Оптимальные концентрации минеральных солей способствуют их наилучшему росту, в то время как превышение оптимальных концентраций приводит к снижению выхода продукта [78].

Оптимальные концентрации минеральных солей, применяемых для культивирования дрожжевых клеток, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Оптимальные концентрации минерального питания для культивирования дрожжей [79]

Минеральная соль	Оптимальный диапазон концентрации
$\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,2–0,3 г/л
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,4–0,6 г/л
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,07 г/л
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,002 г/л
KCl	0,8 г/л

Повышение концентрации минеральных солей в питательной среде стимулирует рост дрожжевой биомассы до определенного оптимального уровня. Дальнейшее увеличение содержания солей уже не способствует росту, а наоборот, может привести к угнетению и снижению выхода биомассы [78]. Поэтому для максимальной производительности процесса важно учитывать оптимальные концентрации минеральных солей в ходе биотехнологического производства дрожжевого продукта.

## 2 Объект, материал, методы и методика исследования

### 2.1 Объект исследования

*Saccharomyces cerevisiae* – дыхательно-ферментативный микроорганизм, отличается коротким циклом клеточного развития, компактным и хорошо изученным геномом, высокой склонностью к гомологичной рекомбинации и уникальной способностью чередовать гаплоидный и диплоидный этапы жизненного цикла [80].

*Saccharomyces cerevisiae* обладают метаболической пластичностью и химически полезным белковым потенциалом, позволяют на макроуровне производить одноклеточный кормовой продукт за счет эффективного использования в качестве углерода – глюкозы, как основного источника питания [81].

Высокая адаптивность к культуральным условиям *Saccharomyces cerevisiae*, результативность преобразования доступных углеводных субстратов [82] – это основополагающие факторы для их использования в научно-промышленных исследованиях, а также в аграрном секторе и в пищевой промышленности.

### 2.2 Материалы исследования



Рисунок 1 – Свекловичная меласса

Материалы для исследования:

1 Культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (косячки (Гларипан, Angel), в целях производства кормового продукта для сельскохозяйственных животных и птиц.

2 Питательные среды в целях изучения особенностей роста культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и процессов их массообразования, бактериальной безопасности мелассы и готового кормового продукта:

– меласса свекловичная (рисунок 1),

– агар-агар,

– готовые порошкообразные

питательные среды для

микробиологических исследований (рисунок 2).

Как видно из рисунка 1, в темно-коричневой бутылке представлена свекловичная меласса Коксукского сахарного завода (г. Талдыкорган), в голубой бутылке – меласса свекловичная завода «Аксу-кант» (г. Талдыкорган).

В дополнение к рисунку 2 следует отметить, что подготовленные для исследования по методике, изложенной в инструкции, питательные среды в обязательном порядке подвергались стерилизации.

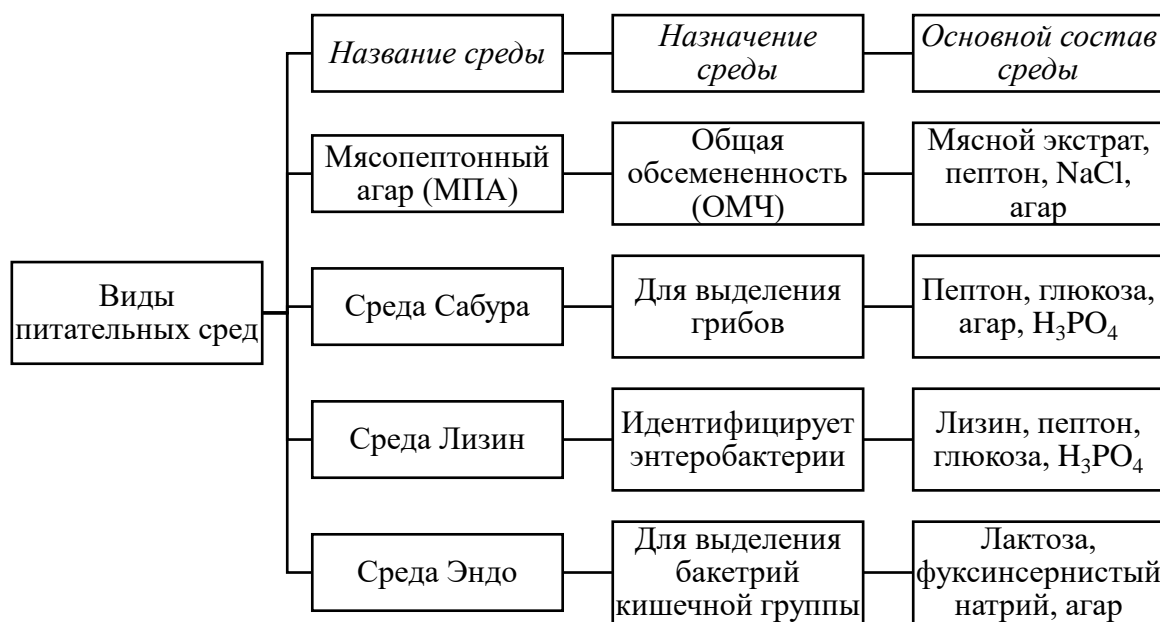


Рисунок 2 – Питательные среды, использованные для бактериологических исследований

3 Различные добавки в целях модификации питательных сред на основе мелассы:

- раствор концентрированной ортофосфорной кислоты  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,
- раствор аммиака  $\text{NH}_3$ ,
- лизин.

4 Красители в целях выявления в мазках  $\Gamma^+$  и  $\Gamma^-$  бактерий методом дифференциальной окраски по Граму:

- генцианвиолет,
- раствор люголя,
- фуксин Циля.

5 Лабораторная посуда в целях проведения всех видов работ, намеченных в задачах исследования:

- бактериологическая петля,
- мерные колбы,
- пипетки градуированные,
- стеклянные мерные стаканы,
- термостойкие колбы объемом 100 и 500 мл с пробкой,
- стеклянные термостойкие пробирки,
- фарфоровая чашка,
- стеклянные палочки,
- чашки Петри.

В исследованиях использовалась стерилизованная лабораторная посуда.

5 Приборы и оборудование в целях проведения всех видов работ, намеченных в задачах исследования:

- термостат,
- автоклав,
- сушильный шкаф,
- шейкер,
- микроскоп с увеличением от 250 до 1000 раз,
- весы лабораторные общего назначения,
- аппарат для фильтрования с вакуумным насосом и воронками Бюхнера,
- спиртовая горелка,
- плита,
- рН-мометр,
- ареометр.

6 Нормативные документы, где изложены стандартизированные методы и методика исследований:

- ГОСТ 30561-2017 [83],
- ГОСТ 10444.12-2013 [84].

### **2.3 Методика исследования**

Методика исследования в научно-производственной лаборатории Алматинского дрожжевого завода основывалась на выполнении следующих видов работ:

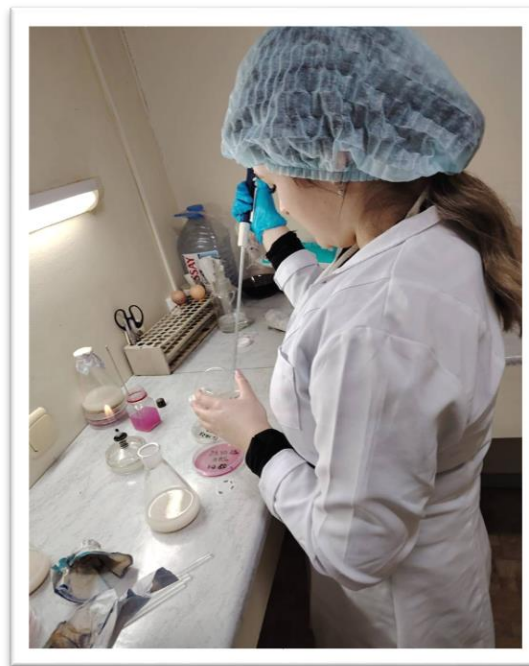
- приготовление питательных сред и материнских косячков,
- оценка бактериальной контаминации мелассы и дрожжевого продукта,
- оптимизация условий культивирования (рисунки 3, 4),
- анализ роста дрожжевых клеток при культивировании,
- оценка процессов биомассообразования.

В дополнение к вышеизложенному следует отметить, что особое внимание уделялось анализу роста дрожжевых клеток при различных условиях кислотности, оценке биобезопасности мелассы и продукта, стерильности на всех этапах работы, т.к. именно соблюдение всех биотехнологических условий позволяет получать высококачественный кормовой продукт.

Проведенное исследование позволило выявить ключевые параметры для оптимального роста дрожжевых клеток в различных экспериментальных условиях, рассмотреть ключевые задачи по улучшению технологических условий производства дрожжевого продукта. Для поддержания конкурентоспособности дрожжевой завод постоянно работает над совершенствованием состава питательной среды, оптимальных условий культивирования, технологии производства в целях производства высокоценной дрожжевой продукции, поэтому проведение сравнительных анализов по исследуемой теме поможет заводу увеличить продуктивные качества культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.



а) разлив раствора дрожжей "Гларипан" по стерилизованным пробиркам



б) посев раствора дрожжей «Ангел» на питательные среды 4-х составов: Сабуро, МПА, ЭНДО и Лизин

Рисунок 3 – Исследования в научно-производственной лаборатории Алматинского дрожжевого завода

### 2.3.1 Подготовка питательной среды

1 Методика складывалась из выполнения следующих ключевых процедур:

- в мерную колбу в объеме 500 мл наливали дистиллированную воду,
- разливали дистиллированную воду в стеклянные конические колбы.

2 Взвешивали, согласно инструкции, определенную порцию порошкообразной среды, представляющая собой:

- партию питательной среды,
- однородную и полностью прослеживаемую единицу среды,
- определенные количества бестарного продукта, полуфабриката и/или

конечного продукта, соответствующие одному типу и качеству, выпущенные в течение определенного периода производства с одним присвоенным на партию номером по ГОСТу ISO 6887-1 [85].

На 500 мл воды было использовано среды: Сабуро – 32,5 г, МакКонки – 17,505 г, Эндо – 20,75 г, агар – 14 г.

3 Смесь тщательно перемешивали с одновременным прогревом на плите, затем стерилизовали в автоклаве при 121°C, 1,1 атм., 20 минут.

4 После охлаждения разливали готовую питательную среду по стерильным чашкам Петри. Разлив осуществляли вблизи спиртовки в целях соблюдения стерильных условий. (рисунок 3, а).

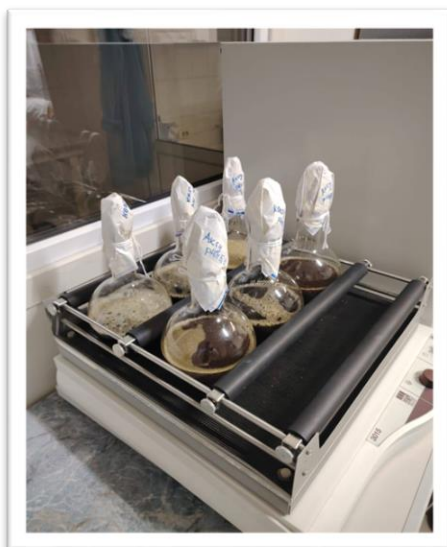




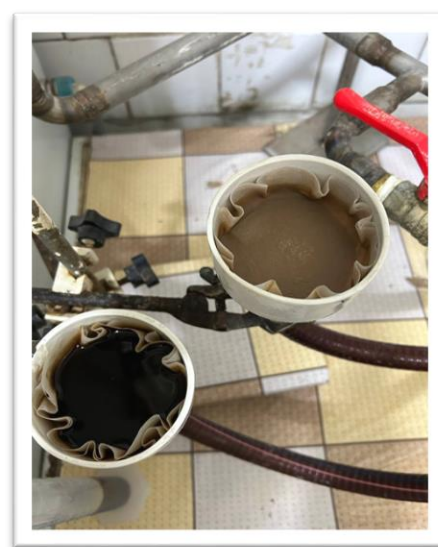
а)



б)



с)



д)

- а) 2 отбор 10 мл раствора дрожжей «Гларипан» для следующей пробирки;  
 б) определение плотности раствора Мелассы с помощью ареометра и доведение плотности до 15 Ба;  
 с) культивирование (24 ч) на шейкере колб с суспензией, включающий раствор мелассы и разведенные дрожжи «Гларипан»;  
 д) фильтрование на воронке Бюхнера (аппарат состоит из 2 воронок и вакуумного насоса) гомогенного раствора, состоящего из среды мелассы с предварительно разведенными дрожжами «Гларипан» (в каждую воронку наливали по 100 мл раствора и выжидали 8-10 мин до получения на фильтровальной бумаге дрожжевого осадка)

Рисунок 4 – Разведение и культивирование дрожжей

### 2.3.2 Приготовление материнских косячков

Материнские косячки дрожжей «Гларипан, Angel» готовили для изучения процессов накопления биомассы дрожжевых клеток.

Разведение дрожжей «Гларипан, Angel»:

1 Приготовление раствора. Смешивали следующие компоненты: 100 мл дистиллированной воды, 2,6–2,7 мл агар-агара и 0,9 мл хлорида натрия. Сначала солодовый экстракт растворяли в воде, для получения плотности раствора 8–10 Ба ( $1,037 \text{ кг/м}^3$ ), измеряя ее с помощью ареометра (рисунок 4, б). После этого раствор фильтровали через колбу, чтобы извлечь солодовый экстракт. Полученный раствор подогревали на водяной бане при температуре 2–3 часа до полного растворения компонентов.

2 Подготовленный раствор разливали по 7–8 мл в стерильные пробирки.

3 Автоклавирование пробирок осуществляли в течение 30 мин при  $121^\circ\text{C}$ , 0,8 атм.

4 После автоклавирования пробирки оставляли остывать до комнатной температуры в стерильном боксе на 4 ч.

### 2.3.3 Разведение дрожжей «Гларипан, Angel»

1 Подготавливали:

– 4 колбы, в каждой из которых содержалось по 90 мл дистиллированной воды;

– 10 пробирок, в каждой из которых содержалось по 4,5 мл дистиллированной воды.

Колбы и пробирки с дистиллированной водой были стерильными. Работу проводили, согласно требованиям, в боксе в стерильных условиях.

В первую колбу добавляли 10 г дрожжей «Гларипан, Angel», смешивали с 90 мл дистиллированной воды (рисунок 4, а). Оставляли на 10 мин для гомогенного распределения клеток.

2 Циклическое титрование

Отбирали 10 мл раствора из 1-ой колбы и переносили во 2-ую, содержащую 90 мл дистиллированной воды. Аналогично эти процедуры проводили до четвертой колбы: переносили 10 мл из 2-ой колбы в 3-ю, затем из 3-ей в 4-ую.

Из 4-ой колбы 0,5 мл разведенного раствора переносили в пробирку с 4,5 мл дистиллированной воды. Из 1-ой пробирки 0,5 мл раствора переносили во 2-ую и, таким образом, повторяли данную процедуру до 9-й пробирки включительно.

3 В каждую питательную среду (ЭНДО, Сабура, МПА, лизин) бактериологической петлей добавляли по 2 капли разведенных кормовых дрожжей. Осторожным перемешиванием равномерно распределяли кормовые дрожжевые клетки в толще питательной среды (рисунок 3, б)

4 Пробирки с посевами инкубировали в термостате в течение 48 ч для получения дрожжевых колоний, а также возможного выявления бактериальных микроорганизмов:

- при 37°C с посевами на среде ЭНДО, МПА и лизиновая среда;
- при 34°C с посевами на среде Сабуро.

#### 5 Проверка на чистоту готового дрожжевого продукта

Через 48 ч культивирования чашки Петри извлекали из термостата. Изучали культуральные свойства, потом дрожжевые колонии окрашивали генцианвиолетом, раствором Люголя и фуксином Циля. Для окрашивания на предметное стекло наносили 1 мл физиологического раствора, распределяли колонии бактериологической петлёй, добавляли 1–2 капли красителя и выдерживали 2 минуты с каждым красителем поочередно: генцианвиолетом, раствором Люголя, затем фуксином Циля.

После каждого окрашивания препараты промывали дистиллированной водой, исключением является раствор Люголя, который предварительно смывали спиртом.

В процессе микроскопирования препаратов, объектив и окуляр микроскопа после каждого применения обрабатывали дезинфицирующим раствором.

#### 2.3.4 Оценка мелассы на бактериальную контаминацию

1 В мерной колбе с предельной точностью отмеривали 5 мл мелассы. Затем, используя дистиллированную воду, объём содержимого был доведён до финальной отметки в 50 мл. После этого, путем перемешивания доводили раствор до полного растворения мелассы.

2 Осуществляя последующее разведение, отбирали из 1-ой колбы 5 мл полученного раствора и добавляли в следующую колбу, содержащую 45 мл воды.

3 Для проверки на бактериальную контаминацию используемого субстрата, были использованы 4 селективных питательных сред: Сабуро, ЭНДО, лизин, МПА. Посев разбавленной мелассой на твердые питательные среды в чашках Петри был осуществлен с помощью бактериологической петли. Чашки Петри с посевом культивировали в термостате в течение 24 ч при температуре 34 °C.

4 По истечении 24 ч, чашки Петри извлекали из термостата, изучали у выросших на твердой питательной среде культуральные свойства колоний, методом дифференциальной окраски по Граму выявляли в мазках  $\Gamma^+$  и  $\Gamma^-$  бактерии, согласно методике исследования, изложенной в пункте 5 подглавы 2.3.3.

#### 2.3.5 Приготовление раствора мелассы с различной кислотностью

Для эксперимента использовалась меласса, поставляемых из двух сахарных заводов г. Талдыкорган:

- Аксуйский сахарный завод («Аксу-кант»),
- Коксукский сахарный завод («Коксу-кант»).

Приготовление раствора мелассы с различной кислотностью было проведено в четыре этапа:

- 1 Растворение мелассы в 1500 мл воды, плотность – 15Ба (1,062 кг/м<sup>3</sup>).
- 2 Подготовка колб с 500 мл раствора + 5 мл аммиака:
  - «Аксу-кант»: рН 5,9 (8 мл Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub>), 5,5 (9 мл Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub>), 4,0 (16 мл Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub>).
  - Коксукский завод: рН 5,9 (8 мл Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub>), 5,2 (11,5 мл Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub>), 4,03 (20,5 мл Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub>).

После добавления кислот плотность в субстрате увеличилось до 17 Ба.

Добавление Н<sub>3</sub>РO<sub>4</sub> позволило скорректировать кислотность среды для создания оптимальных условий роста и метаболической активности дрожжей, в каждую колбу был добавлен соответствующий объем (см. вышеизложенный п.2).

- 3 Автоклавирование подготовленных растворов в течение 20 мин при 121°С, 0,8 атм.

Охлаждение под проточной водой.

- 4 Инокуляция дрожжами

Били использованы материнские косячки «Гларипан, Angel» с разбавленными дрожжами. Добавляли 8 мл дистиллированной воды в косячки, тщательно перемешивали стеклянной палочкой и переливали суспензию в соответствующие колбы с мелассой. Колбу закрывали герметичной пробкой и помещали на шейкер для гомогенизации растворов и культивирования на 24 ч (рисунок 4, с).

#### 2.3.6 Оценка накопления биомассы дрожжей

Работа осуществлялась в три этапа:

- 1 Из каждой экспериментальной колбы были отмерены 100 мл раствора мелассы с дрожжами.

2 Осуществляли фильтрацию через воронку Бюхнера. Использовали 2 фильтровальные бумаги, предварительно смоченные водой. Поместили их в воронки Бюхнера, соединенные с вакуумным насосом.

В каждую воронку заливали 100 мл раствора, фильтрация длилась 8–10 мин. После полного удаления жидкости на фильтровальной бумаге оставался осадок дрожжевых клеток (рисунок 4, д).

- 3 После высыхания фильтровальной бумаги с осадком производили взвешивание.

### 3 Результаты исследования

#### 3.1 Оценка бактериальной безопасности мелассы

Микробиологический контроль в пищевой промышленности по производству дрожжей включает проверку биологической чистоты воды, воздуха производственных помещений, мелассы, дрожжевых продуктов, санитарного состояния технологического оборудования, инвентаря, тары, гигиенического состояния обслуживающего персонала (чистота рук, одежды и др.) [86]. Неотъемлемой частью микробиологического контроля является анализ мелассы на наличие чужеродной микрофлоры, а также проведение метода дифференциальной окраски по Граму для выявления в мазках  $\Gamma^+$  и  $\Gamma^-$  бактерий, в комплексе позволяющие оценить качество используемой производственной мелассы.

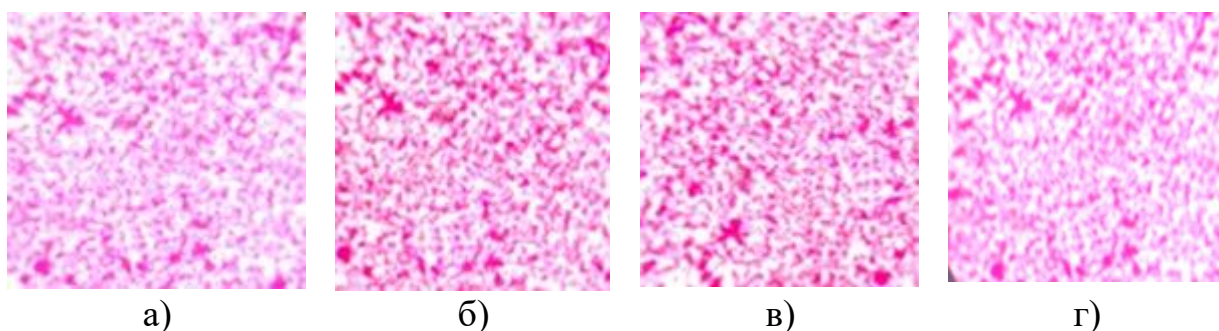


Рисунок 5 – Микроскопирование окрашенных дрожжевых мазков, культивированных на питательных средах «ЭНДО» (а), «МПА» (б), «Сабуро» (в) и «Лизин» (г)

Окраску по методу Грама осуществляли по методике, изложенной в подглаве 2.3.3. Для осуществления микроскопирования использовали микроскоп Biomed 1 (биологический световой микроскоп для наблюдения в проходящем свете).

Показатели проведенного анализа по определению наличия грамположительных и грамотрицательных бактерий в мелассе до стерилизации представлены в таблице 3 и на рисунке 5.

Основные параметры микроскопирования:

- увеличение x200 (на рисунке 5, все изображения представлены в данном увеличении),
- фокусировка грубая и точная.

Грамположительные бактерии, как это показано на фотоизображениях рисунка 5, имеют характерную фиолетовую окраску, грамотрицательные – малиново-красную.

Таблица 3 – Характеристика питательных сред, используемых для обнаружения бактериальной контаминации мелассы

Питательная среда	Характеристика	Оцениваемые показатели		
		Рост	Грам <sup>+</sup> бактерии	Грам <sup>-</sup> бактерии
МПА	Универсальная, используется для культивирования дрожжей и бактерий, поэтому применяют для выявления общей микробиологической контаминации	Обильный	<i>Bacillus spp.</i>	-
Бульон Сабуро	Прозрачная светло-желтая жидкость. Используется для культивирования дрожжевых и плесневых грибов, оптимальный для роста дрожжевых клеток уровень pH равен около 5,6. Используется для контроля чистоты мелассы и дрожжевого продукта	Обильный	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Escherichia coli.</i>
Лизин	Имеет в своем составе индикатор pH (бромкрезоловый фиолетовый), что позволяет четко определять метаболическую активность бактерий и дрожжей.	Обильный	<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i>	-
ЭНДО	Селективно-дифференциальная, особенность заключается в способности микроорганизмов расщеплять лактозу и давать соответствующую окраску клеткам	Обильный	<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i>	<i>Escherichia coli.</i>

Исходя из данных таблицы 3 и рисунка 5 можно заключить, что рост дрожжевых колоний на питательных средах МПА (рисунок 5,б), Сабуро (рисунок 5, в), Лизин (рисунок 5, г) и ЭНДО (рисунок 5, а) был обильным и при микроскопировании отчетливо видны колонии.

При микроскопировании дрожжевых колоний были дополнительно выделены как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии. Среди грамположительных микроорганизмов обнаружены кокки (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*), а также палочковидные бактерии (*Bacillus spp.*), из грамотрицательных бактерий были обнаружены бактерии *Escherichia spp.*, что свидетельствует о присутствии в мелассе конкурирующих за источники питания с дрожжами микроорганизмов.

Поэтому обязательным условием при выращивании кормовых дрожжей является стерилизация мелассы перед использованием в качестве питательной

среды, чтобы обеспечить для готового кормового продукта бактериальную безопасность.

При проведении метода дифференциальной окраски по Граму для выявления в мазках дрожжей  $\Gamma^+$  и  $\Gamma^-$  бактерий и последующем микроскопировании, наиболее часто встречаются представители родов *Bacillus*, образуя протеолитические ферменты, вызывая при отсутствии стерильных условий размягчение дрожжей при хранении. Из бактерий кишечной группы, распространены в большей степени *Escherichia coli*, развивающиеся в безбелковых субстратах, которые сбраживают сахара, образуя при этом летучие кислоты, оказывающие негативное влияние на метаболизм дрожжевых клеток при хранении. Данные микроорганизмы способны понижать размножение дрожжей, ухудшая бродильную активность и их стойкость, при том, что дрожжи имеют высокую стойкость лишь в случае, когда в 1 г дрожжевого продукта содержание гнилостных бактерий не превышает 1–5 тыс. клеток [87]. В полученных нами экспериментальных данных, в основном, в мелассе были обнаружены грамположительные бактерии рода *Bacillus* и грамотрицательные бактерии *Escherichia spp.*, что, соответственно, при отсутствии стерилизации мелассы в произведенном дрожжевом продукте, в последующем, может привести к ухудшению бродильной активности и их качества. Главными источниками контаминации мелассы являются почва, вода, инвентарь, оборудование и персонал. Следует помнить, что патогенные бактерии очень устойчивы и могут сохраняться в продуктах от нескольких дней до месяцев, и что на их выживаемость влияют состав продукта, влажность, pH и условия хранения [86]. Поэтому необходимо учитывать и следовать всем правилам санитарно-гигиенического контроля на всех стадиях производства дрожжевого продукта.

### **3.2 Биомассообразование кормовых дрожжевых клеток при культивировании в питательной среде на основе мелассы**

Сравнительный анализ биомассообразования дрожжевых клеток осуществляли на свекловичной мелассе, произведённых в двух сахарных заводах Казахстана – Коксукского («Коксу-кант») и Аксуйского («Аксу-кант») г. Талдыкорган.

В таблице 4 представлены сведения по химическому составу свекловичных меласс, произведенных на сахарных заводах г. Талдыкорган – «Коксу-кант» и «Аксу-кант».

Как видно из таблицы 4, в исследуемых партиях меласса «Коксу-кант» характеризуется по сравнению с мелассой «Аксу-кант» большей динамической вязкостью кг\л (1,380-1,390 против 1,375), преобладающим содержанием сахарозы (48-50 % против 75,5 %) и сбраживаемых сахаров (45-45,5 % против 44,5 %), что, вероятно, повышает ее ферментативную активность. Уровень pH мелассы из «Коксу-кант» варьирует от 7,2-7,5 что не

эффективно для микробиологической активности дрожжевых клеток, тогда как меласса из «Аксу-кант» характеризуется уровнем pH 6,45. Меньшая цветность мелассы «Коксу-кант» по сравнению с мелассой «Аксу-кант» по шкале (1,0 мл 0,1 н. раствора йода против 3,0 мл 0,1 н. раствора йода) свидетельствует о более низком уровне примесей и по бродильной пробе она проявляет лучшую микробиологическую активность. Таким образом, меласса «Коксу-кант» является более оптимальным субстратом для культивирования кормовых дрожжевых клеток.

Таблица 4 – Химический состав свекловичных меласс

Наименование показателей	Меласса		Производственный норматив АДЗ
	«Коксу-кант»	«Аксу-кант»	
Плотность, кг\л	1,380-1,390	1,375	-
Содержание сахарозы по прямой поляризации, %	48 – 50,0	47,5	43
Сумма сбраживаемых сахаров, %	45,0 – 45,5	44,5	46
Цветность, мл 0,1 н. раствора йода	1,0	3,0	до 2
pH	7,2 – 7,5	6,45	6,5-8,5
Бродильная проба	3 пересева	1 пересев	-

Различный химический состав мелассы обусловлен географическими, природно-климатическими, почвенными, технологическими и агротехническими (используемое сырье; технологии выращивания, уборки, переработки; условия и продолжительность хранения сырья; вносимые удобрения, способ уборки и др.) параметрами [88].

Плотность, как один из физических параметров свекловичной мелассы, напрямую зависит от концентрации в его составе сухих веществ и температурных условий хранения. В работе Суздальцева О.А. (2022) [89] продемонстрирована зависимость значения плотности растворов свекловичной мелассы от температуры при различном содержании сухих веществ. В работе отмечается, что при 293К и плотности 1,393 кг/л содержание сухих веществ составило 77,7 %, а при плотности 1,375 кг/л – меньше 74%. Если же сопоставлять с результатами, отраженных в таблице 4 можно заключить, что показатель плотности мелассы «Коксу-кант» свидетельствует о большем содержании питательных веществ по сравнению с «Аксу-кант», где плотность составила 1,375 кг/л.

В работе Palmonari A. (2020) [90] показано, что оптимальное содержание сахарозы по прямой поляризации для дрожжевых клеток, в среднем, составляет 60,9% масс., с лимитами от 46,5% масс до 66,1% масс. Эти показатели согласуются с нашими экспериментальными данными: «Коксу-кант» - 48 – 50,0 масс. %, «Аксу-кант» - 47,5 масс. %.



Сумма сбраживаемых сахаров, как ценный качественный показатель используемого сырья, является основным субстратом для дрожжевых клеток. Данный показатель характеризуется, как отмечено в работе Суздальцева О.А. (2022) [89] интервальным стандартным значением 46-50 масс.%. По результатам наших исследований (таблица 4), в мелассе «Аксу-кант» сумма сбраживаемых сахаров составила 44,5 масс. %, а в «Коксу-кант» – 45,0–45,5 масс.%. Следовательно, можно заключить, что содержание сбраживаемых сахаров в мелассе «Аксу-кант» и «Коксу-кант» оптимальны.

Меласса представляет собой жидкость по цвету от коричневого до темно-бурого [91]. Цветность «Коксу-кант» по шкале (1,0 мл 0,1 н. раствора йода) имеет более светлый оттенок раствора, что указывает на меньшее содержание количества примесей, в отличие от «Аксу-кант», где цветность находилось на уровне 3 мл 0,1 н. раствора йода.

Уровень кислотности, свекловичной мелассы характеризуется интервальным стандартным значением от 6,5 до 8,0 [91], что также подтверждено и нашими исследованиями, где рН «Коксу-кант» находился в интервале 7,2 – 7,5, а «Аксу-кант» рН составил 6,45.

Уровень кислотности питательной среды оказывает существенное влияние на усвоение питательных веществ, ферментативную активность и синтез биомолекул, включая белки и витамины. Оптимальный рН для роста дрожжей составляет 5,2–5,5, т.к. при данных значениях зафиксировано максимальное количество дрожжевых клеток – 380 клеток/см<sup>3</sup>. При рН выше 6,5 интенсивность роста снижается, а при рН 3,0–4,0 количество клеток уменьшается до 100–200 клеток/см<sup>3</sup>. Это связано, в первую очередь, с нарушением транспорта питательных веществ и снижением ферментативной активности в кислых (рН <5,2) и щелочных (рН > 7,5) условиях [92]. В наших экспериментах на мелассе «Аксу-кант» и «Коксу-кант» было определено, что максимальный выход биомассы *Sacharomyces cerevisiae* отмечается при рН 5,9 и составляет 0,627 г и 0,623 г соответственно. Различия в оптимальном уровне кислотности по сравнению с *Yarrowia lipolytica* объясняются использованием различных штаммов дрожжей, а также использованием аэрации. Аэрация играет ключевую роль в накоплении биомассы, поскольку дрожжевые клетки требуют растворенного кислорода для биосинтеза клеточного материала и оптимального роста. Исследования показали, что при соотношении 0,7 объема воздуха к 1 объему питательной среды обеспечивается наибольший выход биомассы [92]. Однако, аэрация не была использована в наших экспериментальных условиях, так как *Sacchoromyces cerevisiae* – это факультативный анаэроб, они имеют также два пути энергетического обмена - анаэробный (гликолиз) и оксидативный, каждый из которых может быть реализован в отдельности, что позволяет получить максимальный выход дрожжевой биомассы [42]. Тогда как дрожжи *Yarrowia lipolytica* – это аэробный микроорганизм и их рост находится в прямой зависимости от кислорода [93]. Таким образом, оптимизация рН субстрата и аэрации является критически

важным фактором для повышения эффективности биотехнологического производства дрожжевой биомассы.

Подводя итоги, можно отметить, что используемое сырье отображает все оптимальные показатели и соответствует данным, полученных от ранее проведенных исследований. Поэтому можно заключить, что меласса «Коксу-кант» и «Аксу-кант», используемые на заводе, позволяют получать биотехнологический кормовой продукт наивысшего качества.

На следующем этапе исследования, выполненных по методикам, изложенным в под главах 2.3.2; 2.3.4 и 2.3.5 главы 2, был проведен анализ по накоплению дрожжевых клеток на мелассе от двух производителей.

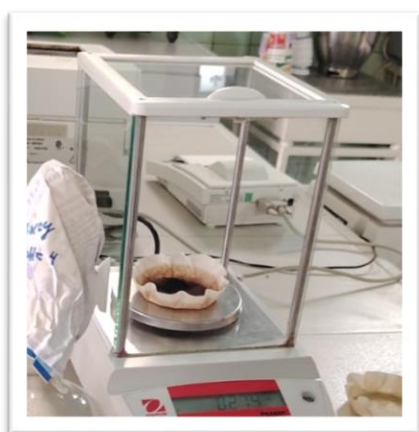


Рисунок 6 – Взвешивание мелассы на весах

На рисунке 6 представлено фотоизображение, показывающее процесс взвешивания массы фильтра с осадком на лабораторных весах после фильтрования раствора мелассы в воронке Бюхнера, а в таблице 6 представлены результаты исследования, полученные при взвешивании произведенных в процессе культивирования биомасс мелассы.

Изучение массы фильтрата и массы осадка в сравнительном аспекте при культивировании кормовых дрожжей на мелассе от разных производителей показало, как это представлено в таблице 5, что тестируемые значения имеют общие

и отличающиеся значения.

Таблица 5 – Производство биомассы *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе

Меласса	pH	Статистический показатель	Масса, г	
			Фильтрат с осадком	Осадок
«Аксу-кант»	4,0	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	2,317±0,0099	0,458±0,0084
		C <sub>v</sub> , %	0,43	1,83
	5,5	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	2,471±0,0092	0,5±0,0098
		C <sub>v</sub> , %	0,37	1,96
	5,9	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	2,604±0,0084	0,627±0,0084
		C <sub>v</sub> , %	0,32	1,33
«Коксу-кант»	4,03	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	2,35±0,0071	0,475±0,0084
		C <sub>v</sub> , %	0,30	1,76
	5,2	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	2,487±0,0056	0,557±0,0092
		C <sub>v</sub> , %	0,22	1,65
	5,9	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	2,628±0,0078	0,623±0,0084
		C <sub>v</sub> , %	0,29	1,34

Сходства в полученных данных были отмечены в том, что, во-первых, диапазон рН в растворе мелассы «Коксу-кант» и «Аксу-кант» был использован от 4,0 до 5,9, что является оптимальным для успешного микробиологического культивирования; во-вторых, максимальный выход осадка отмечается при рН 5,9, это свидетельствует о том, что образцы отражают закономерное увеличение массы осадка с повышением уровня кислотности и, в третьих, изменчивость по исследуемым показателям незначительна, т.к. оба вида мелассы произведены в г. Талдыкорган.

При получении биомассы из меласс разных производителей, в частности, «Коксу-кант» и «Аксу-кант», можно отметить следующие особенности:

1 рН среды «Аксу-кант» варьировал в диапазоне от 4,0 до 5,9, а мелассы производства «Коксу-кант» от 4,03 до 5,9. Как видим, имеется различие, хоть и минимальное, для рН мелассы производства «Коксу-кант» на начальном уровне (4,03 против 4,0).

С увеличением рН наблюдается закономерное возрастание массы фильтра с осадком и массы осадка (биомассы дрожжей), произведенного на мелассе «Аксу-кант». Экспериментальные данные показывают, что при рН 4,0 масса фильтра с осадком составляет 2,370 г, а масса осадка – 0,458 г; при рН 5,5 – 2,471 г и 0,500 г соответственно; при рН 5,9 – 2,604 г и 0,627 г соответственно.

Аналогичная тенденция отмечена при выращивании дрожжей на мелассе «Коксу-кант». С увеличением рН наблюдается рост массы фильтра с осадком и массы осадка. При рН 4,03 масса фильтра с осадком составляет 2,35 г, а масса осадка – 0,475 г; при рН 5,2 – 2,487 г и 0,557 г соответственно; при рН 5,9 – 2,628 г и 0,623 г соответственно.

2 Продуктивность дрожжевого производства при использовании мелассы «Коксу-кант» и «Аксу-кант» в сравнительном аспекте:

2.1 Масса фильтра с осадком при культивировании кормовых дрожжей на мелассе «Аксу-кант» варьируется от 2,317 г до 2,604 г, а на мелассе «Коксу-кант» выход дрожжевого осадка выше на 1 – 1,43 %, т.е. от 2,35 г до 2,628 г

2.2 Масса дрожжевого осадка при культивировании кормовых дрожжей на мелассе «Аксу-кант» и «Коксу-кант» имеет различия:

а) по минимальным значениям: продуктивность кормовых дрожжей, культивированных на мелассе производителя «Коксу-кант», было выше на 3,72 % по сравнению с культивированием их на мелассе производства «Аксу-кант» (0,458 г против 0,475 г);

б) по максимальным значениям: продуктивность кормовых дрожжей, культивированных на мелассе производства «Аксу-кант» было выше на 0,64 % по сравнению с культивированием их на мелассе производства «Коксу-кант» (0,627 г против 0,623 г).

В дополнение следует отметить, что при переходе на промышленный уровень, повышение продуктивности кормовых дрожжей на мелассе на 0,64-3,72 % является для рыночного производства рентабельным показателем.

По результатам проведенных исследований можно заключить следующее:

1 В ходе осуществления сравнительной характеристики двух меласс, используемых на заводе, было определено, что различия в химическом составе определяют их эффективность при использовании в культивировании кормовых дрожжей. Меласса производства «Коксу-кант», благодаря наибольшему содержанию сахарозы (48-50,0), является ценным углеродным источником для питания дрожжевых клеток, тогда как меласса производства «Аксу-кант», имея более низкий уровень pH (6,45), способствует поддержанию метаболической активности дрожжей и их быстрому размножению. Оптимальный выбор сырья зависит от процесса ферментации и требуемых условий роста кормовых дрожжей.

2 Был выявлен оптимальный уровень pH для накопления биомассы кормовых дрожжей. Показатель кислотности pH на уровне 5,9 позволяет накапливать наибольшую биомассу кормовых дрожжей, как для мелассы производства «Аксу-кант» (0,627 г), так и для производства «Коксу-кант» (0,623 г). При этом следует обратить внимание, что на мелассе «Аксу-кант» производство биомассы на 0,004 г больше по сравнению с мелассой «Коксу-кант». Обе мелассы отражают в результатах тенденцию к увеличению массы осадка при повышении кислотности, но меласса «Коксу-кант» имеет выше показатели стабильности результатов (минимальное отклонение – 0,0056, максимальное – 0,0092) тогда как «Аксу-кант» (максимальное – 0,0099, минимальное – 0,0084) характеризуется большей изменчивостью показателей экспериментальных данных.

3 Снижение активности роста дрожжевых клеток наблюдалось при отклонении от оптимального уровня pH (5,9), минимальном содержании сбраживаемых сахаров (менее 46%), низкой концентрации сахаров (менее 43%) и повышенной цветности раствора (более 2). Помимо этого, чрезмерно высокая плотность (выше 1,390 кг/л) или дефицит аммонийных соединений, минералов, вызывают снижение скорости размножения дрожжевых клеток и общий выход биомассы.

4 Результаты исследования и научные литературные данные показывают, как сходства, так и различия по влиянию субстрата на ферментативную активность и рост дрожжевых клеток. Экспериментально установлено, что меласса «Коксу-кант» (плотность 1,380–1,390 кг/л; сахарозы по прямой поляризации 48–50%, сумма сбраживаемых сахаров не менее 45-45,5 %) демонстрирует сниженный выход биомассы (0,623 г). В то же время можно указать, что меласса «Коксу-кант» при плотности 1,393 кг/л, обладает массовой долей сухих веществ 77,7% и, соответственно, обеспечивает более высокую продуктивность по сравнению с «Аксу-кант», которая при плотности 1,375 кг/л, обладает массовой долей сухих веществ 74%. Литературные данные по свекловичной мелассе (сахароза 46,5–66,1%) подтверждают её эффективность как сырья, что согласуется с экспериментальными значениями сахарозы: «Аксу-кант» – 47,5%, «Коксу-кант» – 45,0–50%. Максимальный

выход осадка (0,627 г) для мелассы «Аксу-кант» достигнут при pH 5,9, тогда как в литературе при pH 5,2–5,5 отмечалась наибольшая плотность культуры (380 клеток/см<sup>3</sup>). Различия обусловлены особенностями штаммов дрожжей и условиями аэрации.

### 3.3 Особенности роста кормовых дрожжевых клеток в питательных средах на основе мелассы с различным составом и уровнем кислотности

*Saccharomyces cerevisiae* – это дрожжи (сахаромицеты), относящиеся к аскомицетам, широко используемые в пищевой промышленности. Клетки *Saccharomyces cerevisiae* имеют овальную или яйцевидную форму. Размножаются *Saccharomyces cerevisiae* вегетативным способом (почкованием) и половым (образование аскоспор в неблагоприятных условиях). Оптимальной температурой культивирования для *Saccharomyces cerevisiae* является диапазон 30-33 °C. *Saccharomyces cerevisiae* относятся к стрессоустойчивым микроорганизмам, они способны выдерживать повышение температуры до 37,5-40 °C, при которой для них возможно проявление ускоренного размножения. *Saccharomyces cerevisiae* используют для своего питания моно- и дисахариды (глюкоза, фруктоза, сахароза), а также азотистые соединения (аммонийные соли, аминокислоты) [42]. Поэтому основным субстратом для выращивания является меласса, содержащая для дрожжей полезные питательные вещества [94]. Обладают двумя совершенными путями энергетического обмена: анаэробный (гликолиз) и окислительный, протекать два данных процесса могут одновременно. В ходе процесса ферментативной активности вырабатывают инвертазу, которая расщепляет сахарозу на глюкозу и фруктозу, а также сбраживают в процессе метаболизма сахара с образованием этанола и углекислого газа [42]. Таким образом, применение физиологического потенциала *S. cerevisiae* позволяет оптимально накапливать биомассу в зависимости от производственных биотехнологических задач.

В таблицах 6-7 и на рисунках 7-8 представлены результаты, полученные при изучении культуральных свойств *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе с различным составом и уровнем кислотности.

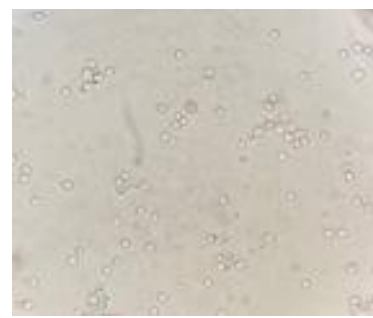
Как видно из таблиц 6 и 7 и на рисунках 7 и 8, на первом этапе исследования изучали культуральные свойства кормовых дрожжей на твердой питательной среде.



а)



б)



в)

Рисунок 7 - Микроскопирование дрожжевых клеток, культивированных на мелассе «Аксу-кант» при pH 4,0 (а), 5,5 (б) и 5,9 (в)

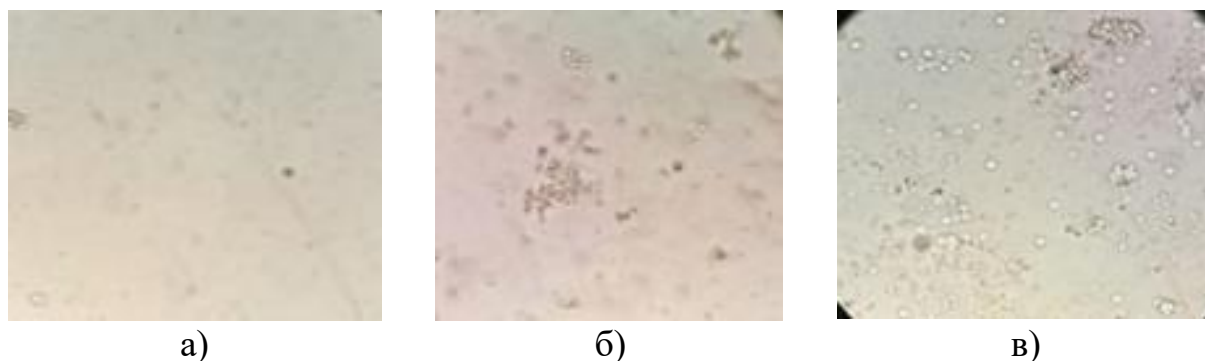


Рисунок 8 - Микроскопирование дрожжевых клеток, культивированных на мелассе «Коксу-кант» при pH 4,03 (а), 5,2 (б) и 5,85 (в)

Таблица 6 – Морфологические особенности роста *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе «Аксу-кант»

Меласса «Аксу-кант»	Форма колонии	Размер клеток	Поверхность колонии	Цвет колонии	Структура колонии	Почкование
pH 4,0	округлые	точечные	гладкая	белый	однородная	единичные почкующиеся клетки
pH 5,5	округлые	точечные	гладкая	белый	однородная	цепочки из почкующихся колоний
pH 5,9	округлые	точечные	гладкая	белый	однородная	множественное почкование

Таблица 7 - Морфологические особенности роста *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе «Коксу-кант»

Меласса «Коксу-кант»	Форма колонии	Размер клеток	Поверхность колонии	Цвет колонии	Структура колонии	Наличие почкующихся клеток
pH 4,03	округлые	точечные	гладкая	белый	однородная	единичные почкующиеся клетки
pH 5,2	округлые	точечные	гладкая	белый	однородная	цепочки из почкующихся клеток
pH 5,85	округлые	точечные	гладкая	белый	однородная	множественное почкование

Исходя из данных таблиц 6 и 7 и рисунков 7 и 8, можно резюмировать, что морфологические особенности дрожжевых клеток, культивированных на мелассе «Аксу-кант» и «Коксу-кант» имеют преимущественно сходства, но также отмечаются и различия. Клетки *Saccharomyces cerevisia* выращенные на мелассе «Коксу-кант» с pH 4,03 (рисунок 8,а), 5,2 (рисунок 8,б), 5,85 (рисунок 8,в) и на мелассе «Аксу-кант» с pH 4,0 (рисунок 7,а), 5,5 (рисунок 7,б) и 5,9 (рисунок 7,в) характеризуются округлой формой, гладкой поверхностью, белым цветом и однородностью колоний, точечным размером клеток (не превышает 1 мм).

Отмечается различная интенсивность процесса почкования дрожжевых клеток:

1 При уровне кислотности среды 4,03 «Коксу-кант» и 4,0 «Аксу-кант» дрожжевые клетки практически не заметны, процесс размножения заторможен кислотным стрессом

2 Умеренное количество дрожжевых клеток. В этом случае видны цепочки из почкующихся клеток при pH 5,2 «Коксу-кант» и 5,5 «Аксу-кант».

3 Для мелассы «Коксу-кант» при pH 5,85 отмечается активный процесс размножения дрожжевых клеток с интенсивным процессом почкования, что понижает качественные характеристики дрожжевого продукта. Так общее количество почкующихся клеток в готовом продукте, не должно превышать 20 %. Микроскопирование дрожжевых клеток мелассы «Аксу-кант» с pH 5,9 продемонстрировало высокую плотность колоний и значительно меньшее количество почкующихся клеток, что является показателем высокого качества дрожжевого продукта.

#### Сравнительный анализ

Рост дрожжевой культуры непосредственно находится в прямой зависимости от уровня кислотности питательного субстрата, что подтверждается в других исследованиях [95]. Были использованы штаммы *Saccharomyces cerevisia* Y-503 и DAW-3a, которые выращивались на твердой стандартной среде YPD на чашках Петри в течение двадцати суток при температуре 30 градусов, с соответствующим уровнем pH: 3,0; 4,5; 7,0; 9,0 и 11,0. Оптимальным значением для роста дрожжевых клеток оказался pH 4,5, при котором наблюдалось сохранение стабильной формы и размера, а размер колоний достигал максимального размера (4×15 мкм; 8×9 мкм; 7×8 мкм; 5×6 мкм; 3×3 мкм для *Saccharomyces cerevisia* Y-503 и 10×12 мкм; 6×7 мкм; 5×6 мкм; 3×3 мкм; 2×3 мкм для *S. cerevisiae* DAW-3a). В наших экспериментальных данных был зафиксирован оптимальный рост клеток при pH 5,9 для мелассы «Аксу-кант», отличия в данных объясняются используемым различным субстратом. Среда YPD содержит: дрожжевой экстракт – 0.5 % (BD, США), пептон – 0.5 % (BD, США), которые являются буферными компонентами и стабилизируют pH ближе к нейтральным значениям [95] в то время как в свекловичной мелассе присутствует по массовой доле 14,8 % азотистых соединений [91], что также влияет на повышение pH среды. При кислотном pH 3,0 в исследовании наблюдалось значительное уменьшение размеров клеток



(4×15 мкм ; 8×10 мкм ; 6×7 мкм; 3×3 мкм ; 2×3 мкм для *Sacchoromyces cerevisia* Y-503 и 10×12; 6×7 мкм ; 5×6 мкм; 3×3 мкм; 2×3 мкм для *S. cerevisiae* DAW-3a), а в щелочной среде pH 9,0-11,0 колонии были мелкими, незначительного размера, что подтверждаются нами полученными результатами [95]. В полученных экспериментальных данных, как это отображено в таблицах 4 и 5, при минимальных значениях pH 4,0 («Аксу-кант») и 4,03 («Коксу-кант») был отмечен слабый рост дрожжевых клеток, без явных признаков процесса деления и развития. Таким образом, уровень pH питательной среды определяет рост и развитие дрожжевых клеток, что необходимо учитывать при биотехнологическом производстве дрожжевого продукта для экономической целесообразности и получения качественного, чистого продукта.

### 3.4 Оценка бактериальной безопасности готового кормового дрожжевого продукта

Анализ чистоты готового дрожжевого кормового продукта необходим для контроля его микробиологической безопасности и в целях предотвращения заражения животных при кормлении бактериальными микроорганизмами, нарушая тем самым его внутреннюю микрофлору, а также обеспечения высокого качества продукции [86].

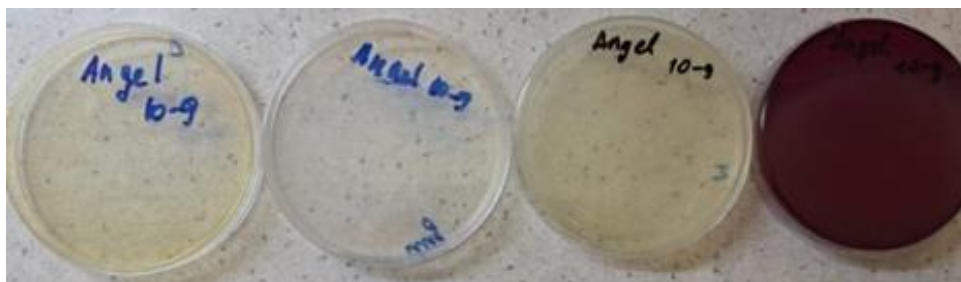


Рисунок 9 – Результаты посева дрожжевых клеток на питательные среды после 24-часовой инкубации в термостате, для оценки бактериальной обсемененности готового дрожжевого продукта

Для оценки бактериальной безопасности полученного дрожжевого кормового продукта осуществлялся посев в соответствии с методиками, прописанных в под главах 2.3.1, 2.3.2, 2.3.3 для четырех готовых порошкообразных питательных сред (Сабура, МПА, Лизин, ЭНДО). Исходя из рисунка 9, можно отметить, что при визуальном осмотре, дрожжевой продукт чистый и не подвергнут процессу контаминации бактериальными микроорганизмами: *Bacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Lactobacillus spp.* Основными причинами возможного бактериального загрязнения являются несоблюдение условий стерильности, использование некачественного сырья, загрязненная вода или оборудование [86]. Соответственно, все данные факторы в нашей работе были исключены, так как в полученном готовом дрожжевом продукте контаминации обнаружено не было.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования изучены биобезопасность мелассы, морфо-культуральные свойства дрожжевых клеток при различных уровнях кислотности питательной среды, а также оценено влияние химического состава мелассы на рост дрожжевых колоний. В работе применялся штамм *Saccharomyces cerevisiae*, отличающийся высокой ферментативной активностью и эффективностью переработки углеводов.

Экспериментально было выявлено, что максимальный выход дрожжевой биомассы был получен при культивировании на мелассе «Аксу-кант» (0,627 г.), также микроскопирования дрожжевых клеток мелассы «Аксу-кант» рН 5,9 продемонстрировало высокую плотность колоний и значительно меньшее количество почкующихся клеток, следовательно, данный субстрат является оптимальным для культивирования дрожжевых колоний. Однако, по оптимальным показателям химического состава преимущественно лидирует меласса «Коксу-кант».

Получить качественный и чистый продукт – это одна из целей любого биотехнологического предприятия, поэтому был проведен микробиологический анализ мелассы и дрожжевого продукта, культивированных на 4-х питательных средах, по результатам которых в мелассе до стерилизации были обнаружены контаминации, что непосредственно указывает на необходимость стерилизации мелассы и соблюдения стерильных условий на всех этапах производства. В произведенном продукте, кормовых дрожжах, контаминации обнаружено не было.

Полученные результаты подтверждают, что уровень кислотности среды и состав сырья значительно влияют на морфо-культуральные характеристики кормовых дрожжей. Данные исследования могут быть использованы для оптимизации условий культивирования и повышения эффективности биотехнологического процесса.

### Выводы:

1 Рассмотрен процесс биомассообразования кормовых дрожжевых клеток на свекловичной мелассе различного производства.

2 Изучена морфология и особенность роста *Saccharomyces cerevisiae* на мелассе с различным составом и уровнем кислотности.

3 Оценена бактериальная безопасность:

- мелассы на начальном этапе исследований;
- полученного в процессе исследования кормового дрожжевого продукта.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Ritala A., Häkkinen S.T., Toivari M., Wiebe M.G. Single cell protein-state-of-the-art, industrial landscape and patents 2001–2016. // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8, No. 2009. (doi: 10.3389/fmicb.2017.02009).
- 2 Цугкиева В.Б. Научное обоснование и практическое использование методов интенсификации кормопроизводства и повышения качества производимых кормов в условиях РСО-Алания: автореферат дис.доктора сельскохозяйственных наук : 06.02.02 / Цугкиева В.Б.; – Владикавказ, 2008. – 39с.
- 3 Berto D.A. Uso da levedura desidratada na alimentacao de suinos. // *Anais do simposio sobre tecnologia da producao e utilizacao da levedura desidratada na alimentacao animal*. – Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1997. – pp. 85–110.
- 4 Гуляева М.Е., Смирнова Л.В. Кормовые дрожжи в питании лактирующих коров. // *Молочнохозяйственный вестник*. – 2011. – № 2. – С. 10–12.
- 5 Онхонова Л.О., Кокиева Г.Е., Онхонова А.В. Получение кормовых дрожжей на отходах растительного сырья в ферментаторе новой конструкции. // Сборник содержит статьи и доклады, представленные на девятую научно-практическую конференцию «Современные проблемы техники и технологии пищевых производств». – 2008. – С. 146.
- 6 Болтовский В.С. Направления совершенствования процессов производства кормовых дрожжей переработкой гидролизатов, полученных кислотным гидролизом растительного сырья. // *Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология*. – 2021. – no. 2 (247). – pp. 13–18.
- 7 Борзенкова И.С. Использование кормовой дрожжевой добавки в молочном скотоводстве. // *Научный журнал молодых ученых*. – 2020. – № 4 (21). – С. 3-6.
- 8 Туршатов М.В., Кривченко В.А., Соловьев А.О. Разработка технологии производства кормовых дрожжей при комплексной переработке зернового и углеводсодержащего сырья. // *Пищевая промышленность*. – 2019. – № 10. – С. 62–64. (doi: 10.24411/0235-2486-2019-10160).
- 9 Carro M.D., Lebzien P., Rohr K. Effects of yeast culture on rumen fermentation, digestibility and duodenal flow in dairy cows fed a silage based diet. // *Livestock Production Science*. – 1992. – 32(3). – 219–229. (doi:10.1016/s0301-6226(12)80003-0).
- 10 Williams P.E., Tait C.A.G., Innes G.M., Newbold C.J. Effects of the inclusion of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. // *Journal of Animal Science*. – 1991. – 69(7). – 3016–3026. (doi:10.2527/1991.6973016x).

11 Harris B, Jr, Webb D.W. The effect of feeding a concentrated yeast culture product to lactating dairy cows. – 1990. – 266.

12 Piva G., Belladonna S., Fusconi G., Sicbaldi F. Effects of Yeast on Dairy Cow Performance, Ruminal Fermentation, Blood Components, and Milk Manufacturing Properties. // Journal of Dairy Science. – 1993. – 76(9). – 2717–2722. (doi:10.3168/jds.s0022-0302(93)77608-0).

13 Kung L., Kreck E.M., Tung R.S., Hession A.O., Sheperd A.C., Cohen M.A., Leedle J.A.Z. Effects of a Live Yeast Culture and Enzymes on In Vitro Ruminal Fermentation and Milk Production of Dairy Cows. // Journal of Dairy Science. 1997. Vol. 80, No. 9. P. 2045–2051. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(97)76149-6.

14 Яковлева С.Ф., Мотина Е.А., Матвиенко Н.А. Оптимизация питательной среды на основе мелассной барды для культивирования *Yarrowia lipolytica* – продуцента кормового белка. // Материалы ЛIII отчетной научной конференции преподавателей и научных сотрудников ВГУИТ за 2014 год, посвященной 85-летию. Воронеж, 2015. Ч.1. С.154.

15 Perez H. Evaluation and selection of strains of yeasts with probiotic characteristics for use as a food additive. The Academic Title of Master in Microbiological Sciences mention in Fermentations. Havana, 2007.

16 Гуляева М.Е., Смирнова Л.В. Влияние скармливания протеиновой добавки И-Сак 1026 на пищеварительный статус и поведенческие реакции коров. // Молочнохозяйственный вестник. 2012. № 1. С. 16–20.

17 Кормовые дрожжи – ключ к молочной продуктивности коров. // Эффективное животноводство. 2024. № 1 (191). С. 63-65.

18 Подобед Л.И. Кормовые дрожжи – сравнительные характеристики питательной и биологической ценности. 2023. URL: [http://podobed.org/kormovye\\_drozhzhi\\_-\\_sravnitelnyeharakteristiki\\_pitatelnoy\\_i\\_biologicheskoy\\_tsennosti.html](http://podobed.org/kormovye_drozhzhi_-_sravnitelnyeharakteristiki_pitatelnoy_i_biologicheskoy_tsennosti.html) (дата обращения: 03.04.2023).

19 Winkler B., et al. Dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a protein source for horses. // Livestock Science. 2011. Vol. 137, No. 1–3. P. 168–177. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.11.004.

20 Hahn T.W., Lohakare J.D., Lee S.L., Moon W.K., Chae B.J. Effects of supplementation of  $\beta$ -glucans on growth performance, nutrient digestibility, and immunity in weanling pigs. // J. Anim. Sci. 2006. Vol. 84. P. 1422–1428. <https://doi.org/10.2527/2006.8461422x>.

21 Cruz A., Håkenåsen I.M., Skugor A., Mydland L.T., Åkesson C.P., Hellestveit S.S., Øverland M. *Candida utilis* yeast as a protein source for weaned piglets: Effects on growth performance and digestive function. // Livestock Science. 2019. DOI: 10.1016/j.livsci.2019.06.003.

22 Гордин А.А., Грабар А.А. Управление производством кормовых гидролизных дрожжей, как фактор устойчивого развития региона. // Аэкономика: экономика и сельское хозяйство. 2017. № 10 (22). С. 55–71.

23 Ветров А., Бонаспетти С. Экзогенная протеаза для коррекции состава комбикорма. // Комбикорма. 2016. № 4. С. 69.

24 Winkler B., Tosi H., Webster A.J.F., Resende F.D., Oliveira A.A.M.A., Villela L.C.V. Dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a protein source for horses. // *Livestock Science*. 2011. Vol. 137, No. 1-3. P. 168–177. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.11.004.

25 Котенко С.Ц., Халилова Э.А., Исламмагомедова Э.А. Биохимические особенности штамма *Saccharomyces cerevisiae* в условиях спиртового брожения. // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2010. Vol. 12, no. 1-3. pp. 721-723.

26 Калужина О.Ю. Изучение способа активации спиртовых дрожжей. // *Пиво и напитки*. 2017. no. 1. pp. 30–32.

27 Pinotti R.F. Situacao atual e perspectivas da producao da industria sucro-alcooleira: levedura. // *Anais do simposio sobre tecnologia da producao e utilizacao da levedura desidratada na alimentacao animal*. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1997. pp. 1–5.

28 Карманов А.П., Полина И.Н. Технология очистки сточных вод. Учебное пособие. – Сыктывкар: СЛИ, 2015. – 207 с.

29 Зайнуллин Р.Р., Галяутдинов А.А. Производство кормовых продуктов из активного ила городских сточных вод. // *Инновационная наука*. 2016. no. 6-2. pp. 79-80.

30 Suarez C, Guevara CA. Probiotic Use of Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* in Animal Feed. *Res J Zool*. 2018. 1:1.

31 Burdick Sanchez NC, Broad-way PR, Carroll JA. Influence of Yeast Products on Modulating Metabolism and Immun-ity in Cattle and Swine. *Animals*. 2021. 11(2):371. <https://doi.org/10.3390/ani11020371>.

32 Marques RS, Cooke RF, Rodrigues MC, Cappellozza BI, Mills RR, Larson CK, Moriel P, Bohnert DW. Effects of organic or inorganic cobalt, copper, manganese, and zinc supplementation to lategestating beef cows on productive and physiological responses of the offspring. *J Anim Sci*. 2016. 94(3):1215–1226. doi: 10.2527/jas.2015-0036.

33 Martinez-Puig D, Manzanilla EG, Morales J, Borda E, Pérez JF, Piñeiro C, et al. Dietary nucleotide supplementation reduces occurrence of diarrhoea in early weaned pigs. *Livest Sci*. 2007. 108:276–9.

34 Davis M, Maxwell C, Erf G, Brown D, Wistuba T. Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. *J Anim Sci*. 2004. 82:1882–91.

35 Al-Homidan A, Fahmy M.O. The effect of dried yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation on growth performance, carcass chemical analysis, immunity, ileum villi heights and bacterial counts of broiler chickens. *Egypt Poult. Sci. J*. 2007. 27. pp. 613-623.

36 Shanmugasundaram R., Sifri M., Selvaraj R.K. Effect of yeast product supplementation (CitriStim) on broiler performance and intestinal immune cell parameters during an experimental coccidial infection. *Poult. Sci*. 2013. 92. pp. 358-363.

37 Dibner J.J., Richards J.D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult. Sci.* 2005. 84. pp. 634-643.

38 Perricone V., Sandrini S., Irshad N., Savoini G., Comi M., Agazzi A. Yeast-Derived Products: The Role of Hydrolyzed Yeast and Yeast Culture in Poultry Nutrition A Review. *Animals*. 2022. 12, 1426. <https://doi.org/10.3390/ani12111426>.

39 Измайлович И.Б. Эффективность импортозамещения подсолнечного жмыха кормовой добавкой дкб-мс в рационах кур-несушек. // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. 2019. no. 22 (1). pp. 114–121.

40 Измайлович И.Б., Садовиков Н.А., Черный Н.В. Влияние новой белковой кормовой добавки на морфо-физиологические и экономические показатели ремонтного молодняка кур. // Животноводство и ветеринарная медицина. 2020. no. 4. pp. 26–29.

41 Suh S.-O., Blackwell M., Kurtzman C.P., Lachance M.-A. Phylogenetics of Saccharomycetales, the ascomycete yeasts. // *Mycologia*. 2006. 98(6). pp. 1006 - 1017. doi:10.1080/15572536.2006.11832629.10.1080/15572536.2006.11832629.

42 Набиева Ф.С., Кудратова З.Э., Кувандиков Г.Б. Роль *Saccharomyces cerevisiae* в современной биотехнологии. // Достижения науки и образования. 2021. (5 (77)). pp. 57–60.

43 Aguilar-Uscanga B., François J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. // *Lett. Appl. Microbiol.* 2003. 37. pp. 268–274.

44 Dupres V., Dufrêne Y.F., Heinisch J.J. Measuring cell wall thickness in living yeast cells using single molecular rulers. // *ACS Nano*. 2010. 4. pp. 5498–5504.

45 Yamaguchi M., Namiki Y., Okada H., Mori Y., Furukawa H. et al. Structure of *Saccharomyces cerevisiae* determined by freeze-substitution and serial ultrathin-sectioning electron microscopy. // *J. Electron Microsc.* (Tokyo). 2011. 60. pp. 321–335.

46 Henschke P.A., Rose A.H. Plasma membranes. // *The yeasts*, vol 4, 2nd edn. / Rose A.H., Harrison J.S. (eds). New York: Academic Press, 1991. pp. 297-346.

47 Lee J.C. Ribosomes. // *The yeasts*, vol 4, 2nd edn. / Rose A.H., Harrison J.S. (eds). New York: Academic Press, 1991. pp. 489-540.

48 Schwenke J. Vacuoles, internal membranous systems and vesicles. // *The yeasts*, vol 4, 2nd edn. *Yeast Organelles*. / Rose A.H., Harrison J.S. (eds). New York: Academic Press, 1991. pp. 347–432.

49 Stevens B. Mitochondrial structure. // *The molecular biology of the yeast Saccharomyces. Life cycle and inheritance*. / Strathern J.N., Jones E.W., Broach J.R. (eds). Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 1981. pp. 471-504.

50 Williamson D.H. Nucleus: chromosomes and plasmids. // *The yeasts*, vol 4, 2nd edn. / Rose A.H., Harrison J.S. (eds). New York: Academic Press, 1991. pp. 433-488.

51 Глущенко Л.Ф., Глущенко Н.А. К вопросу об управлении жизнедеятельностью микроорганизмов (на примере дрожжей). 2010.

- 52 Philippsen P., Stotz A., Scherf C. [11] DNA of *Saccharomyces cerevisiae*. // Methods in Enzymology. 1991. pp. 169–182. doi:10.1016/00766879(91)94014-4.
- 53 Haber J.E. Mating-Type Genes and MAT Switching in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics. 2012. 191. pp. 33–64.
- 54 Evans E.G.V., Heritage J., Killington R.A. Introductory Microbiology. New York, NY: Cambridge University Press, 2000.
- 55 Bekatorou A., Psarianos C., Koutinas A.A. Production of food grade yeasts. Food Technol. Biotechnol. 2006. 44. pp. 407–415.
- 56 Koschwanez J.H., Foster K.R., Murray A.W. Sucrose utilization in budding yeast as a model for the origin of undifferentiated multicellularity. PLoS Biol. 2011. 9. e1001122.
- 57 Allen C., Buttner S., Aragon A.D., Thomas J.A., Meirelles O., Jaetao J.E., Benn D., Ruby S.W., Veenhuis M., Madeo F., et al. Isolation of quiescent and nonquiescent cells from yeast stationary-phase cultures. J. Cell Biol. 2006. 174. pp. 89–100.
- 58 Bojsen R., Regenbreg B., Folkesson A. *Saccharomyces cerevisiae* biofilm tolerance towards systemic antifungals depends on growth phase. BMC Microbiol. 2014. 14. 305.
- 59 Váchová L., Palková Z. How structured yeast multicellular communities live, age and die? FEMS Yeast Res. 2018. 18. foy033.
- 60 Scioli C., Vollaro L. The use of *Yarrowia lipolytica* to reduce pollution in olive mill wastewaters. Water Res. 1997. 31. pp. 2520–2524.
- 61 Darvishi F., Fathi Z., Ariana M., Moradi H. *Yarrowia lipolytica* as a workhorse for biofuel production. Biochem. Eng. J. 2017. 127. pp. 87–96.
- 62 Attfield PV, Bell PJL. Use of population genetics to derive nonrecombinant *Saccharomyces cerevisiae* strains that grow using xylose as a sole carbon source. FEMS Yeast Res. 2006. 6. pp. 862–868.
- 63 Меледина Т.В., Иванова В.А., Разан Х., Головинская О.В., Новикова И.В., Коростелев А.В. Влияние параметров процесса культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в простой периодической культуре на выход биомассы и биосинтез некоторых клеточных компонентов. // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2018. vol. 80, no. 2 (76). pp. 175–181.
- 64 Larralde-Corona C.P., De la Torre-González F.J., Vázquez-Landaverde P.A., Hahn D., Narváez-Zapata J.A. Rational Selection of Mixed Yeasts Starters for Agave Must Fermentation. Front. Sustain. Food Syst. 2021. 5. pp. 1–13.
- 65 Olivia Hernandez A.A., Taillandier P., Reséndez Pérez D., Narváez Zapata J.A., Larralde-Corona C.P. The effect of hexose ratios on metabolite production in *Saccharomyces cerevisiae* strains obtained from the spontaneous fermentation of mezcal. Antonie Van Leeuwenhoek. 2013. 103. pp. 833–843.
- 66 Ong K.L., Li C., Li X., Zhang Y., Xu J., Lin C.S.K. Co-fermentation of glucose and xylose from sugarcane bagasse into succinic acid by *Yarrowia lipolytica*. Biochem. Eng. J. 2019. 148. pp. 108–115.

- 67 Xu Yingchao, et al. Potential yeast growth and fermentation promoting activity of wheat gluten hydrolysates and soy protein hydrolysates during high-gravity fermentation. *Industrial Crops and Products*. 2019. 127. pp. 179-184.
- 68 Patelski P, Berłowska J, Balcerek M, Dziekońska-Kubczak U, Pielech-Przybylska K, Dygas D, Jędrasik J. Conversion of Potato Industry Waste into Fodder Yeast Biomass. *Processes*. 2020. 8(4):453. <https://doi.org/10.3390/pr8040453>.
- 69 Халилова Э.А., Исламмагомедова Э.А., Котенко С.Ц., Абакарова А.А., Аливердиева Д.А. Адаптация дрожжей *S.Cerevisiae* Y-503, *S.Cerevisiae* DAW-3A, *S.Oviformis* M-12X к различным значениям этанола. Твердые питательные среды. // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2020. (4 (208)). pp. 130–142.
- 70 Семихатова Н.М., Лозенко М.Ф., Белова Л.Д. Производство хлебопекарных дрожжей. – М.: ВО Агропромиздат, 1987. – 272 с., с.138.
- 71 Lainioti G.C., Kapolos J., Koliadima A., Karaiskakis G. The study of the effect of fermentation temperature on the growth kinetics of *saccharomyces cerevisiae* yeast strain, in the presence or absence of support, by chromatographic techniques. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2011. 34(3). pp. 195–208. doi:10.1080/10826076.2011.546155.
- 72 Zipaev D.V., Kozhukhov A.N., Makushin A.N. Influence of Thiamine and Riboflavin on Pure Yeast Culture During the Fermentation of Beer Wort. // *Beer and Beverages = Pivo i Napitki*. 2020. No. 3. P. 28–31.
- 73 Котенко С.Ц., Исламмагомедова Э.А., Халилова Э.А. Ферментативная активность и морфологические особенности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-503 при культивировании в аэробных и анаэробных условиях. // Юг России: экология, развитие. 2010. (1). pp. 12–16.
- 74 Schultz A.S., Atkin L., Frey C.N. Fermentation of maltose in the dough. *Cereal Chem*. 1939. 16. pp. 648-651.
- 75 Perli T, Wronska AK, Ortiz-Merino RA, Pronk JT, Daran JM. Vitamin requirements and biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. 2020 Apr;37(4):283-304. doi: 10.1002/yea.3461.
- 76 Wolak N., Kowalska E., Kozik A., Rapala-Kozik M. Thiamine increases the resistance of baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* against oxidative, osmotic and thermal stress, through mechanisms partly independent of thiamine diphosphate-bound enzymes. *FEMS Yeast Research*. 2014. 14. pp. 1249–1262.
- 77 Макушин А.Н., Зипаев Д.В., Кожухов А.Н. Влияние тиамина и рибофлавина на чистую культуру дрожжей при брожении пивного сусла. // Пиво и напитки. 2020. (3). pp. 28-31. doi: 10.24411/2072-9650-2020-10027.
- 78 Nicolas O., Aly S., Marius K.S., François T., Cheikna Z., Alfred S.T. Effect of mineral salts and nitrogen source on yeast (*Candida utilis* NOY1) biomass production using tubers wastes. *African Journal of Biotechnology*. 2017. 16(8). pp. 359–365. doi:10.5897/ajb2016.15801.
- 79 Ibrahim CO, Lee SL. Fungal Isolation and the Production of its Biomass in a Palm Oil Medium. *Pertanika J. Sci. Technol*. 1993. 1(2). pp. 209-224.

- 80 Молине Дж., Урбина К., Вильегас К. и др. Гаплоидный штамм *Saccharomyces eubayanus* для исследовательских работ. *Sci Rep.* 2022. 12, 5976. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10048-8>.
- 81 Santangelo GM. Glucose Signaling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2006. 70. <https://doi.org/10.1128/mmbr.70.1.253-282.2006>.
- 82 Kumar K., Venkatraman V., Bruheim P. Adaptation of central metabolite pools to variations in growth rate and cultivation conditions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Cell Fact.* 2021. 20, 64. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01557-8>.
- 83 ГОСТ 30561-2017 Меласса свекловичная. Технические условия.
- 84 ГОСТ 10444.12-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов.
- 85 ISO 6887-1, Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
- 86 Мойсеяк М.Б., Ильяшенко Н.Г., Гришин А.Г. Микробиологическая безопасность при производстве пищевых продуктов. // Вестник Медицинского института непрерывного образования. 2022. по. 3. pp. 64-67. DOI 10.46393/27821714\_2022\_3\_64.
- 87 Пономарева О.И. Микробиологические аспекты качества хлебопекарных дрожжей. // Пищевая промышленность. 2008. по. 1. pp. 46-48.
- 88 Кулев Д.Х., Позднякова Т.А. Новый ГОСТ на свекловичную мелассу. // Пищевая промышленность. 2005. № 9. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/novyy-gost-na-sveklovichnuyu-melassu> (дата обращения: 21.03.2025).
- 89 Суздальцева О.А., Фомина Е.А., Новоселов А.Г., Сорокин С.А., Баранов И.В., Кравцова Е.В., Гуляева Ю.Н. Процессы молекулярного переноса импульса, тепловой энергии и массы в жидкостных питательных средах дрожжевой и пивной отраслях промышленности. часть 1. исследование плотности водных растворов мелассы и концентрированного пивного сусла. // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2022. по. 2 (52). pp. 28-39.
- 90 Palmonari A., Cavallini D., Sniffen C.J., Fernandes L., Holder P., Fagioli L., Mammi L. Short communication: Characterization of molasses chemical composition. *Journal of Dairy Science.* 2020. doi:10.3168/jds.2019-17644.
- 91 Можарова Я.Р., et al. Сравнительная характеристика химического состава свекловичной и тростниковой меласс. *Technical Science.* 2018. 35.
- 92 Корнеева О.С., Мотина Е.А., Яковлева С.Ф., Яковлев А.Н. Влияние условий культивирования на рост биомассы *Yarrowia lipolytica* - продуцента кормового белка. // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2016. по. 1 (67). pp. 182-185.



93 Snopek P., Nowak D., Zieniuk B., Fabiszewska A. Aeration and Stirring in *Yarrowia lipolytica* Lipase Biosynthesis during Batch Cultures with Waste Fish Oil as a Carbon Source. *Fermentation*. 2021. 7, 88. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020088>.

94 Абрамов Ш.А., Котенко С.Ц., Халилова Э.А. Способ получения сушеных дрожжей. // Патент РФ № 2151795. 2000. Б.И. № 18.

95 Исламмагомедова Э.А., Халилова Э.А., Котенко С.Ц., Гасанов Р.З., Аливердиева Д.А. Влияние экстремальных значений pH на морфологические особенности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018. vol. 20, no. 5-2. pp. 219-225. doi:10.24411/1990-5378-2018-00053.

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

**РЕЦЕНЗИЯ**

На дипломную работу

Канафисовой Дианы Аскаровны

6B05101 Химическая и биохимическая инженерия

На тему: Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей

Выполнено:

- а) графическая часть на 1 листе
- б) пояснительная записка на 32 страницах

**ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ**

Дипломная работа Канафисовой Д.А. посвящена изучению морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей, имеющих значение в области животноводства.

На крупных промышленных животноводческих объектах контроль биобезопасности и обеспечение здоровья и высокой продуктивности сельскохозяйственных животных имеет первостепенное значение, поэтому биотехнологическому сектору по производству кормов предъявляют высокие требования в целях обеспечения хозяйств кормами, имеющих бактериальную безопасность и высокую питательную ценность. В связи с этим представляется целесообразным получение кормовой добавки на основе биомассы дрожжей.

Структура дипломной работы включает в себя: введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты, заключение, список использованной литературы. Во введении четко сформулированы цели и задачи исследования. Представлен обширный литературный обзор по заданной теме с привлечением большого количества иностранной литературы. В ходе исследования автором проведена оценка биобезопасности сырья, изучены особенности роста и морфологии дрожжевых культур, а также определены оптимальные показатели кислотности среды, способствующие получению наибольшего выхода биомассы дрожжей. Экспериментальная часть хорошо иллюстрирована таблицами и графическими изображениями в виде фотографий. По результатам экспериментальной части сделаны выводы, представляющие практический потенциал для Алматинского дрожжевого завода и могут быть в последующем использованы для получения высококачественного дрожжевого продукта.

В данной дипломной работе отмечается хорошая логика, использование современной научной литературы и практическая значимость выводов. Замечаний к работе нет.

**Оценка работы**

Работа Канафисовой Д.А. представлена завершённой и может быть оценена на «Отлично» (98 баллов), а при успешной защите достойна присвоения академической степени бакалавра по специальности «6B05101 Химическая и биохимическая инженерия».

Рецензент:  
Профессор  А.Т. Родченко  
КазНУ имени К.И.Сатпаева, факультет  
биотехнологии  
Ф КазНТУ 706-17. Рецензия

« 11 » 06 2025 г.

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

### ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

на дипломную работу  
Канафиевой Дианы Аскаровны

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

На тему: Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей

Выполнено:

- а) графическая часть на 1 листе
- б) пояснительная записка на 32 страницах

#### Замечания к работе

Дипломная работа Канафиевой Д.А. посвящена изучению морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей, имеющих значение в процессах обогащения основного корма дополнительными питательными веществами в целях снижения конверсии корма и повышения продуктивных качеств животных. Поэтому получение кормовой добавки на основе биомассы дрожжей для агропромышленного комплекса актуально.

В ходе выполнения дипломной работы студентом успешно решены все поставленные задачи, учтены рекомендации, грамотно описана методика и экспериментальные данные.

Литературный обзор информативен и отражает мировые научно-исследовательские данные по теме выполненной работы. Экспериментальная часть содержит анализ результатов, сравнительную характеристику, оценена точность полученных результатов. Проведенные исследования имеют практическую значимость для Алматинского дрожжевого завода, способствуя получению качественного и безопасного кормового продукта. Приведенные в работе заключение и выводы научно обоснованы. Таблицы, рисунки и график соответствуют и дополняют содержание дипломной работы. Список цитируемой литературы соответствует содержанию работы.

Соискателем:

- 1) проведены актуальные и научно значимые для ТОО «АДЗ» исследования;
- 2) впервые изучены морфо-культуральные свойства кормовых дрожжей в сравнительном аспекте, культивированных на мелассе от разных сахарных заводов Алматинской области;
- 3) результаты исследований апробированы на:

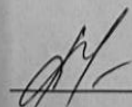
- Международной конференции студентов и молодых ученых «Фараби Элемі» (Алматы, КазНУ имени аль-Фараби, 2025 г.), где Канафиева Д. выступила с докладом на тему «Процесс биомассообразования дрожжевых клеток при культивировании на свекловичной мелассе»,

- Международной научно-практической конференции «Прошлое, настоящее и будущее ветеринарной науки Сибири», посвященной 85-летию основания института экспериментальной ветеринарии Сибири и дальнего востока СФНЦА РАН, Новосибирская обл., р.п. Краснообск, 2025 г.

Дипломная работа Канафиевой Д.А. выполнена на высоком методическом уровне. Замечаний к работе нет.

**Оценка работы.** Студент Канафиева Д.А. выполнила работу в соответствии со всеми требованиями и заслуживает оценки «Отлично» (98 баллов).

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



Джамалова Г.А.

10.06.2025 г.



## Raport podobieństwa

## Metadane

Nazwa instytucji

Satbayev University

Tytuł

Изучение морфо-культуральных свойств кормовых дрожжей

Autor/zy

Promotor

Канафиева Диана Аскарвна Гуля 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

8928

Liczba słów



CYT

69570

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	℘	4
Rozstrzelenia	A→	0
Mikrospacje		19
Ukryte znaki	℘	0
Parafrazy	a	4

## Aktywne listy podobieństw

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

## 10 najdłuższych fragmentów

Kolor w tekście

LP	TYTUŁ LUB ADRES URL ŹRÓDŁA (NAZWA BAZY)	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
1	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnost-ispolzovaniya-izolyatov-drozhzhey-vydelennyh-iz-biologicheskikh-obektov-dlya-utilizatsii-uglevodov-uvelicheniya-biomassy">https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnost-ispolzovaniya-izolyatov-drozhzhey-vydelennyh-iz-biologicheskikh-obektov-dlya-utilizatsii-uglevodov-uvelicheniya-biomassy</a>	18 0.20 %
2	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/rol-saccharomyces-cerevisiae-v-razviti-sovremennoy-biotekhnologii">https://cyberleninka.ru/article/n/rol-saccharomyces-cerevisiae-v-razviti-sovremennoy-biotekhnologii</a>	14 0.16 %
3	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologicheskie-aspekty-kachestva-hlebopekarnyh-drozhzhey">https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologicheskie-aspekty-kachestva-hlebopekarnyh-drozhzhey</a>	13 0.15 %



4	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstremalnyh-znacheniy-pn-na-morfologicheskie-osobennosti-drozhzhey-saccharomyces-cerevisiae">https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstremalnyh-znacheniy-pn-na-morfologicheskie-osobennosti-drozhzhey-saccharomyces-cerevisiae</a>	10 0.11 %
5	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta">https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta</a>	7 0.08 %
6	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta">https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta</a>	7 0.08 %
7	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstremalnyh-znacheniy-pn-na-morfologicheskie-osobennosti-drozhzhey-saccharomyces-cerevisiae">https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstremalnyh-znacheniy-pn-na-morfologicheskie-osobennosti-drozhzhey-saccharomyces-cerevisiae</a>	6 0.07 %
8	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta">https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta</a>	5 0.06 %

#### z bazy RefBooks (0.00 %)

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

#### z bazy macierzstej (0.00 %)

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

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

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

#### z Internetu (0.90 %)

LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
1	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta">https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-kultivirovaniya-shtammov-haemophilus-influenzae-tip-b-produtsentov-poliribozilribitolfosfata-osnovnogo-komponenta</a>	19 (3) 0.21 %
2	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnost-ispolzovaniya-izolyatov-drozhzhey-vydelennyh-iz-biologicheskikh-obektov-dlya-utilizatsii-uglevodov-uvelicheniya-biomassy">https://cyberleninka.ru/article/n/vozmozhnost-ispolzovaniya-izolyatov-drozhzhey-vydelennyh-iz-biologicheskikh-obektov-dlya-utilizatsii-uglevodov-uvelicheniya-biomassy</a>	18 (1) 0.20 %
3	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstremalnyh-znacheniy-pn-na-morfologicheskie-osobennosti-drozhzhey-saccharomyces-cerevisiae">https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekstremalnyh-znacheniy-pn-na-morfologicheskie-osobennosti-drozhzhey-saccharomyces-cerevisiae</a>	16 (2) 0.18 %
4	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/rol-saccharomyces-cerevisiae-v-razvitii-sovremennoy-biotekhnologii">https://cyberleninka.ru/article/n/rol-saccharomyces-cerevisiae-v-razvitii-sovremennoy-biotekhnologii</a>	14 (1) 0.16 %
5	<a href="https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologicheskie-aspekty-kachestva-hlebopekarnyh-drozhzhey">https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologicheskie-aspekty-kachestva-hlebopekarnyh-drozhzhey</a>	13 (1) 0.15 %

#### Lista zaakceptowanych fragmentów (brak zaakceptowanych fragmentów)

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