

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 «Химическая и Биохимическая инженерия»

Дамуллаева Амина Сардаровна

Исследование влияния физико-химических факторов на эффективность
культивирования *Saccharomyces cerevisiae* в разнообразных питательных
средах

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

7М05105–Биотехнология

Алматы 2026

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

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

Институт Геологии и Нефтегазового дела

Кафедра «Химическая и Биохимическая инженерия»

УДК 665.622.43.046.6-52 (043)

На правах рукописи

Дамуллаева Амина Сардаровна

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание академической степени магистра

Название диссертации Исследование влияния физико-химических факторов на
эффективность культивирования *Saccharomyces cerevisiae* в
разнообразных питательных средах

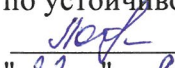
Направление подготовки 7M05105–Биотехнология

Научный руководитель
к. с/х.н., доцент, ассоциированный профессор


 Джамалова Г.А.

«22» января 2026 г.

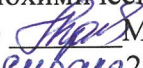
Рецензент
к.т.н., старший преподаватель кафедры «Юнеско
по устойчивому развитию», КазНУ им аль-Фараби

 Курбанова Л.С.
" 22 " января 2026 г.

Норм контроль
Старший преподаватель КХиБИ
доктор Ph.D.

 Демеубаева Н.С.
«22» января 2026 г.

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ

Заведующий кафедрой
Химической и биохимической инженерии,
к.х.н., ассоц. проф  Мангазбаева Р.А.

«22» января 2026 г.

Алматы 2026

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

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

Институт Геологии и Нефтегазового дела

Кафедра «Химическая и Биохимическая инженерия»

7M05105–Биотехнология

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

«Химическая и Биохимическая инженерия»

к.х.н., ассоц проф.

Мангазбаева Р.А.

«22» января 2026 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение магистерской диссертации

Магистранту Дамуллаевой Амине Сардаровне

Тема: Влияние физико-химических факторов на эффективность культивирования
Saccharomyces cerevisiae в разнообразных питательных средах.

Утверждена приказом Проректора по академической работе №133 П/О от 28.03.2024г.

Срок сдачи законченной диссертации: «21» января 2026 г.

Исходные данные к магистерской диссертации получены на основе экспериментальных
расчетных и исследований на основе микробиологического и физио-химического анализа.

Перечень подлежащих разработке в магистерской диссертации вопросов:

1 Проведение теоретических исследований по хлебопекарным дрожжам (биология,
технология культивирования, методы совершенствования питательных сред, требования
предъявляемые к производимой биомассе пекарских дрожжей).

2 Изучение физико-химических показателей трёх видов нестерильных меласс (Меласса
свекловичная: ТОО «Аксуский сахарный завод», ТОО «Коксуский сахарный завод», ОАО
«Черемновский сахарный завод»).

3 Изучение микробиологического состава трёх видов нестерильных меласс и изучение
биохимических свойств выделенных культур.

4 Изучение влияния физико-химических факторов на процесс культивирования
Saccharomyces cerevisiae на модифицированных стерильных трёх видах меласс при разных
условиях культивирования (температура, плотность, pH).

5 Разработка технологии совершенствования трёх видов меласс (Меласса свекловичная:
ТОО «Аксуский сахарный завод», ТОО «Коксуский сахарный завод», ОАО «Черемновский
сахарный завод»)на основе применения витаминов B1 и B2 и определение концентрации
дрожжей в культуральной среде путем выделения биомассы на фильтрах.

Перечень графического материала: в работе представлено 15 рисунков и 8 таблиц.


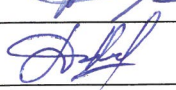
Рекомендуемая основная литература:

1. ГОСТ 30561-2017. Меласса свекловичная. Технические условия.
2. ГОСТ 31747-2012 «Продукты пищевые (Методы выявления и определения
количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)»

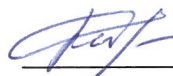
ГРАФИК
подготовки магистерской диссертации

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Введение. Обзор литературы	05.10.2025	
Материал и методика исследований	12.12.2025	
Результаты исследований. Заключение и выводы	01.01.2026	

Подписи
консультантов и нормоконтролера на законченную магистерскую диссертацию с
указанием относящихся к ним разделов диссертации

Наименования Разделов	Консультанты, И.О.Ф. (уч. степень, звание)	Дата подписания	Подпись
Магистерская диссертация	Джамалова Г.А., к.с.х.н., доцент	22.01.2026	
Норм контролёр	Демеубаева Н.С., старший преподаватель, доктор Ph.D.	22.01.2026	

Научный руководитель, ассоц. проф.
КХиБИ, к.с.х.н., доцент



Джамалова Г.А.

Задание принял к исполнению обучающийся



Дамуллаева А.С.

Дата 22.01.2026

АННОТАЦИЯ

Магистерская исследовательская работа посвящена исследованию физико-химических факторов (Т, рН, аэрация, плотность, давление, состав среды) влияющих на эффективность культивирования *Saccharomyces cerevisiae* и качество дрожжей. Изучение влияния физико-химических факторов и их оптимизация позволяют повысить эффективность культивирования, направленных на получение биомассы *Saccharomyces cerevisiae*. В ходе исследования проведен анализ влияния температуры, рН, состава среды на рост дрожжевых клеток и накопление биомассы.

Цель исследования. Изучение влияния физико-химических факторов в условиях Алматинского Дрожжевого Завода. Научная новизна заключается в экспериментальной демонстрации проведения микробиологического и физико-химического анализа питательных сред и совершенствования сред на основе мелассы с применением витаминов В1 и В2, которое влияет на увеличение выхода биомассы хлебопекарных дрожжей.

Исследование подчеркивает важность изучения физико-химических факторов влияющих на эффективность культивирования, выход биомассы и качество дрожжей. Результаты работы могут быть использованы для совершенствования условий промышленного культивирования *Saccharomyces cerevisiae*, что имеет значения для хлебопекарной промышленности, производства хлеба и хлебобулочных изделий.

Диссертационная работа сочетает в себе теоретический анализ, основанный на систематическом обзоре научных источников и экспериментальную часть выполненную с применением микробиологических подходов. Экспериментальные данные представлены в виде таблиц и рисунков, которые наглядно демонстрируют роль данных методов при производстве хлебопекарных дрожжей.

АНДАТПА

Магистрлік диссертациялық зерттеу жұмысы *Saccharomyces cerevisiae* ашытқыларын өсіру тиімділігіне және ашытқы сапасына әсер ететін физика-химиялық факторларды (температура, рН, аэрация, тығыздық, қысым, қоректік ортаның құрамы) зерттеуге арналған. Физика-химиялық факторлардың әсерін зерттеу және оларды оңтайландыру *Saccharomyces cerevisiae* биомассасын алу мақсатындағы өсіру тиімділігін арттыруға мүмкіндік береді. Зерттеу барысында температураның, рН деңгейінің, қоректік ортаның құрамының ашытқы жасушаларының өсуі мен биомассаның жиналуына әсері талданды.

Зерттеудің мақсаты. *Saccharomyces cerevisiae* өсіру тиімділігіне әсер ететін физика-химиялық факторларды Алматы Ашытқы зауыты жағдайында зерттеу. Ғылыми жаңалық қоректік орталарды микробиологиялық және физика-химиялық талдау арқылы меласса негізіндегі орталарды В1 және В2 дәрумендерін қолдана отырып жетілдірудің биомасса шығымын арттыруға әсерін тәжірибелік түрде көрсету.

Бұл зерттеу физика-химиялық факторларды зерттеудің ашытқы өсіру тиімділігіне, биомасса шығымына және ашытқы сапасына әсер етуіндегі маңыздылығын көрсетеді. Зерттеу нәтижелері *Saccharomyces cerevisiae* өнеркәсіптік өсіру жағдайларын жетілдіруге қолданылуы мүмкін, бұл наубайхана өнеркәсібі, нан және нан өнімдерін өндіру үшін маңызды.

Диссертациялық жұмыс ғылыми дереккөздерге жүйелі шолу жасауға негізделген теориялық талдауды және микробиологиялық тәсілдерді қолдану арқылы орындалған эксперименттік бөлімді қамтиды. Эксперименттік деректер кестелер мен суреттер түрінде ұсынылған, олар нан пісіруге арналған ашытқыларды өндіру үдерісінде аталған әдістердің рөлін айқын көрсетеді.

ANNOTATION

This master's research is dedicated to the study of physico-chemical factors (temperature, pH, aeration, density, pressure, and medium composition) influencing the efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* cultivation and the quality of the yeast. Investigating the impact of these factors and their optimization contributes to improving cultivation processes aimed at increasing *Saccharomyces cerevisiae* biomass production. The study analyzes the effects of temperature, pH, medium composition on yeast cell growth and biomass accumulation.

Objective of the study. To investigate the influence of physico-chemical factors on *Saccharomyces cerevisiae* cultivation under the conditions of the Almaty Yeast Plant. Scientific novelty consists in experimental demonstration of microbiological and physico-chemical analysis of nutrient media and the enhancement of molasses-based media through the addition of vitamins B1 and B2, which positively affects the biomass yield of baker's yeast.

This research highlights the importance of understanding physico-chemical factors affecting cultivation efficiency, biomass yield, and yeast quality. The results can be applied to improve industrial cultivation conditions of *Saccharomyces cerevisiae*, which is of significant relevance for the baking industry and the production of bread and bakery products.

The dissertation combines a theoretical analysis based on a systematic review of scientific sources with an experimental component carried out using microbiological approaches. The experimental data are presented in the form of tables and figures, which clearly demonstrate the role of these methods in the production of baker's yeast.

СОДЕРЖАНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	
1	Обзор литературы	11
1.1	Экология пекарских дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
1.1.1	Генетика пекарских дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
1.1.2	Морфология и физиология пекарских дрожжей	13
1.1.3	Биологические особенности пекарских дрожжей	17
1.1.4	Технологии применения пекарских дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
1.2	Технология культивирования <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	18
1.2.1	Культуральные свойства <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	20
1.2.2	Методы и способы культивирования <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	22
1.2.3	Факторы, влияющие на выход биомассы <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23
1.3	Методы и особенности совершенствования питательных сред для повышения выхода биомассы	25
1.3.1	Требования, предъявляемые к производимой биомассе пекарских дрожжей; биотехнологические качества биомассы	27
2	Материалы и методы исследования	31
2.1	Материалы исследования	31
2.2	Методика исследования	31
3	Результаты исследования	32
3.1	Физико-химические показатели трёх видов нестерильных меласс (ТОО «Аксуский сахарный завод», ТОО «Коксуский сахарный завод», ОАО «Черемновский сахарный завод»)	32
3.2	Определение массовой доли сахарозы по прямой поляризации	34
3.3	Определение содержания инвертного сахара методом Офнера	36
3.4	Определение содержания нитритобразующих бактерий в мелассе	37
3.5	Определение содержания микробиологического состава мелассы	39
3.6	Изучение влияния физико-химических факторов на процесс культивирования <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на модифицированной среде	41
3.7	Технология совершенствования мелассы на основе применения витаминов В1 и В2	45
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы: Оптимизация процессов микробиологического синтеза с целью повышения эффективности биотехнологического производства. *Saccharomyces cerevisiae* широко используется в различных отраслях, в пищевой, фармацевтической и биотопливной, что требует глубокого понимания факторов, влияющих на её рост и метаболическую активность. Исследование влияния физико-химических параметров на культивирование дрожжей позволяет не только повысить биомассу и продуктивность, но и адаптировать условия культивирования под конкретные технологические задачи. В связи с этим разработка оптимальных условий культивирования *S. cerevisiae* в различных питательных средах представляет собой актуальное направление в области прикладной микробиологии и биотехнологии. Понимание физико-химических факторов позволяют увеличить выход продукции, повысить стабильность процессов, также снизить производственные издержки и повысить качество продукта.

Цель работы: Исследование влияния физико-химических факторов на эффективность культивирования *Saccharomyces cerevisiae* в разнообразных питательных средах.

Научная новизна. Впервые в условиях Алматинского Дрожжевого Завода экспериментальным путем был проведен микробиологический и физико-химический анализ питательных сред, была разработана технология совершенствования мелассы с разных сахарных заводов на основе применения витаминов В1 и В2, что повлияло на увеличение выхода биомассы хлебопекарных дрожжей.

Задачи работы:

1 Проведение теоретических исследований по хлебопекарным дрожжам (биология, технология культивирования, методы совершенствования питательных сред, требования предъявляемые к производимой биомассе пекарских дрожжей).

2 Изучение физико-химических показателей трёх видов нестерильных меласс (Меласса свекловичная: ТОО «Аксукий сахарный завод», ТОО «Коксукий сахарный завод», ОАО «Черемновский сахарный завод»).

3 Изучение микробиологического состава трёх видов нестерильных меласс и изучение биохимических свойств выделенных культур.

4 Изучение влияния физико-химических факторов на процесс культивирования *Saccharomyces cerevisiae* на модифицированных стерильных трёх видах меласс при разных условиях культивирования (температура, плотность, рН).

5 Разработка технологии совершенствования трёх видов меласс (Меласса свекловичная: ТОО «Аксукий сахарный завод», ТОО «Коксукий сахарный завод», ОАО «Черемновский сахарный завод») на основе применения витаминов В1 и В2 и определение концентрации дрожжей в

культуральной среде путем выделения биомассы на фильтрах.

Научное и практическое значение. *Saccharomyces cerevisiae* или хлебопекарные дрожжи, являются одним из наиболее важных микроорганизмов в биотехнологии и промышленности. Эти дрожжи широко используются в производстве пива, вина, хлеба и биотоплива. Оптимизация условий культивирования хлебопекарных дрожжей может существенно улучшить экономические и качественные показатели производственных процессов.

При проведении исследований были освоены методы физико-химических и микробиологических исследований, были изучены физико-химические факторы, влияющие на культивирование *Saccharomyces cerevisiae*, был изучен химический и микробиологический состав мелассы из трех различных сахарных заводов. Результаты исследований могут в будущем повлиять на производственные процессы, они могут повысить качество продукта и увеличить выход биомассы хлебопекарных дрожжей.

Практическая значимость работы определена на базе микробиологической лаборатории Алматинского дрожжевого завода. Полученные в ходе лабораторных исследований результаты могут быть использованы для совершенствования технологических параметров процесса культивирования дрожжей, увеличения выхода биомассы, а также повышения качества готовой продукции.

Диссертационная работа изложена на 65 страницах текста и включает три основных раздела: пояснительную часть, основное содержание и список использованных источников. В работе представлены результаты теоретических исследований, выполненных с анализом 233 литературных источников, а также экспериментальные данные, обобщённые и проиллюстрированные в 8 таблицах и 15 рисунках

1 Обзор литературы

1.1 Экология пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae — одноклеточный грибок, обладающий ядерной геномной ДНК длиной 12068 килобаз (т.п.н.), организованной в 16 хромосомах [1].

В природе дрожжи в изобилии встречаются на виноградниках, но их также можно найти в дубах и в других естественных местах обитания [2]. Бродильные виды рода *Saccharomyces cerevisiae*, встречаются в крайне малом количестве на здоровых неповрежденных ягодах или в почвах, в то время как поврежденный виноград считается важным источником *Saccharomyces cerevisiae* [3].

Хотя *Saccharomyces cerevisiae* очень распространена в антропогенной среде, например, на винодельнях, в природных водоемах она встречается довольно редко [4].

Следует отметить, что *Saccharomyces cerevisiae* не передается по воздуху, а для перемещения требуется переносчик [5].

Редкое присутствие *Saccharomyces cerevisiae* в неповрежденном винограде и гораздо более частое его присутствие в поврежденном, по-видимому, представляет собой противоречие, которое, однако, объясняется тем, что этот организм может занимать дополнительную нишу, т. е. насекомых. *Saccharomyces cerevisiae* передается насекомыми [6] и был обнаружен у нескольких различных насекомых, таких как осы и виды *дрозофилы*, которые питаются, в частности, поврежденным виноградом [7].

В результате комплексных исследований популяций *Saccharomyces cerevisiae* известно, что вид в целом состоит как из «культивируемых», так и из «природных» популяций, причем генетическая дивергенция связана как с экологией, так и с географией [8].

Saccharomyces cerevisiae участвует в производстве многих ферментированных напитков, таких как вино, пиво и сидр; дистиллированные напитки, такие как ром, водка, виски, бренди и саке; тогда как в других алкогольных напитках по всему миру, таких как фрукты, мед и чай, также присутствует *Saccharomyces cerevisiae*. Ферментация может происходить как за счет самопроизвольного развития микрофлоры сырья, так и за счет добавления чистой культуры дрожжей [9].

В настоящее время широко используются отборные дрожжевые закваски, поскольку они обладают очень хорошими ферментативными и энологическими способностями, способствуя как стандартизации процесса

брожения, так и качеству вина [10].

1.1.1 Генетика пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae - первый эукариот, геном которого был полностью секвенирован, и его геном до сих пор лучше всего аннотирован и наиболее поддается генетическим манипуляциям и анализу [11]. Тринадцать лет назад лабораторный штамм *Saccharomyces cerevisiae* S288c стал первым эукариотом, геном которого был полностью секвенирован [12].

Геном диких и лабораторных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* обладает значительной генетической изменчивостью [13]. В целом, природные изоляты часто являются полиплоидными или анеуплоидными, имеют высокую степень генетической изменчивости и практически бесполой жизненный цикл [14].

Saccharomyces cerevisiae имеет три типа размножения, включая размножение почкованием, размножение спорами и конъюгативное размножение, основным из которых является размножение почкованием [15].

Клетки *Saccharomyces cerevisiae* растут вегетативно путем почкования. Каждая материнская клетка производит дочернюю клетку, которая может оставаться прикрепленной к материнской клетке. Это прикрепление между материнскими и дочерними клетками приводит к самоадгезии и способствует стратегии пребывания вместе [16].

Дрожжи участвуют в половом и бесполом размножении, а половое размножение включает инбридинг и аутбридинг. Вкратце, диплоидные клетки размножаются митотически в богатой питательными веществами среде, но при голодании диплоидные клетки подвергаются мейозу с образованием от одной до четырех гаплоидных спор (аскоспор), заключенных в мешочек (ascus, множественное число asci; большинство аск содержат мейотическую тетраду из четырех аскоспор, по два каждого типа спаривания) [17],[233].

В связи с половой дифференциацией дрожжевые клетки имеют два типа спаривания: а и альфа [18].

В ответ на азотное голодание дрожжевые клетки образуют споры и подвергаются мейозу, в результате чего в сумке образуются четыре гаплоидные споры. Две споры имеют тип спаривания а (*MATa*), а две другие — *MATα* [19].

Пара спор с противоположными типами спаривания может спариваться внутри сумки при прорастании (интратрадное спаривание или аутомиксис) и образовывать диплоидную клетку. Аскоспоры также могут прорасти с образованием гаплоидных клеток, которые могут размножаться митотически путем почкования, что приводит к образованию гаплоидных клонов *MATa*

и *MATa* . Однако гаплоидная фаза обычно существует только в течение очень короткого периода жизненного цикла [20].

Когда питательные вещества восстанавливаются, аскоспоры могут прорасти в гаплоидные клетки. Гаплоидная клетка может размножаться митотически, но обычно сливается с другой гаплоидной клеткой противоположного типа спаривания, образуя диплоидную вегетативную клетку вскоре после прорастания [21,22].

Гаплоидные клетки указывают на простой жизненный цикл митоза, который в стрессовых условиях погибает. Диплоидные клетки, как и гаплоидные, демонстрируют жизненный цикл митоза, но в условиях сильного стресса вступают в жизненный цикл мейоза и производят четыре гаплоидные споры. Время их удвоения составляет примерно 90 мин [23],[233].

Клеточный цикл – это промежуток времени, за который клетка формирует новую идентичную себе. Выделяют четыре стадии клеточного цикла.

G1 (предсинтетическая фаза). На данном этапе начинается активный синтез ферментов, необходимый для создания почки и репликации ДНК. Старт этих процессов начинается, когда клетке достигает определенных размеров.

S (синтетическая фаза). Эта стадия ,на которой происходит удвоение ДНК. К концу этой фазы почка увеличивается до одной трети размеров материнской клетки.

G2 (постсинтетическая фаза). Это период дальнейшего роста клетки. На данном этапе идет подготовка к делению, которая включает распределение ядерного содержимого между материнской и формирующейся дочерней клеткой.

Митоз - последний этап клеточного цикла ,который включает разделение ядра и цитоплазмы. В процессе митоза почка продолжает расти и к его завершению достигает размеров материнской клетки [24].

У клеток дрожжевой формы почка растет сначала преимущественно на ее верхушке; в дальнейшем рост становится более равномерным по всей ее поверхности и, наконец, дочерняя клетка отделяется от материнской, не достигнув размеров последней. Как следствие, новая клетка меньшего размера должна потратить некоторое время на рост в G₁ , прежде чем достигнет критического размера для перехода к фазе S в начале [25].

1.1.2 Морфология и физиология пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae относится к семейству *Saceharomycetaceae* и представляет собой одноклеточный гриб с овальной или сферической формой клеток и размером клеток 2,5–10 мкм × 4,5–21 мкм [26].

Дрожжи классифицируются как грибы, основной морфологической

формой которых является одноклеточная форма, которая делится путем почкования или деления [27].

Вегетативные клетки многих видов дрожжей, принадлежащих к семейству *Saccharomycetaceae* или близлежащим родам (в частности, секвенированным консорциумом Ge'nolevures), имеют схожую эллипсоидную или сферическую форму, несколько микрометров в диаметре и делятся почкованием [28].

Многие, но не все виды дрожжей претерпевают серьезный морфогенный переход: диморфный переход к псевдогифалорифическому/нитевидному росту [29].

Переход от одноклеточного роста к псевдогифам или истинным септатным гифам (филаментам) обычно запускается неблагоприятными условиями окружающей среды. Это отличает дрожжи от многих дрожжеподобных грибов.

У *Saccharomyces cerevisiae* псевдогифальный переход включает в себя переход от биполярного к униполярному паттерну почкования [30].

У конкретного диплоидного штамма *Saccharomyces cerevisiae* азотное голодание вызывает образование псевдогиф и приводит к нитевидному росту. Во время псевдогифального роста (роста РН) клетки удлиняются, почкование происходит синхронно униполярным образом, и почки не разделяются, образуя цепочки клеток, которые называются псевдогифами [31].

Как диплоиды, так и гаплоиды образуют псевдогифы, хотя у диплоидов эти нити простираются по поверхности агара в сторону от колонии, в то время как у гаплоидов на YPD нити не простираются значительно. Кроме того, диплоиды проникают в агар еще сильнее, чем гаплоиды: их филаменты устойчивы к энергичному вымыванию клеток с поверхности агара, в то время как гаплоиды не выдерживают столь жесткой обработки, но не удаляются при щадящем промывании [32,33,34].

Все дрожжи являются одноклеточными грибами, которые имеют ультраструктурные особенности, сходные с особенностями высших эукариотических клеток. То есть они состоят из клеточной стенки, ядра, митохондрий, эндоплазматического ретикулума (ЭР), аппарата Гольджи, вакуолей, микротел и секреторных пузырьков, а также сложной внеклеточной и внутриклеточной мембранной сети [35,36].

Митохондрии — важные органеллы эукариотических клеток. Они осуществляют различные метаболические процессы, включая реакции цикла трикарбоновых кислот, сборку кластеров железа/серы и биосинтез многих клеточных метаболитов [37].

Структуру клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* можно разделить на две части: внутренний слой и внешний слой. Наружный слой клеточной стенки дрожжей состоит из гликозилированных маннопротеинов. Они сохраняют периплазматические белки и ограничивают доступность чужеродных ферментов к клетке [38,39]. Внутренний слой состоит из β -глюкана и хитина. β 1,3-глюкан и хитин синтезируются комплексами,

связанными с плазматической мембраной [40], в то время как β 1,6-глюкан синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме и процессируется вне клетки.

Saccharomyces cerevisiae состоит из внешней толстой клеточной стенки, которая включает в себя сеть бета-глюканов и небольшое количество хитина, связанного со слоем маннопротеина [41].

Тот факт, что *Saccharomyces cerevisiae* являются факультативными анаэробными дрожжами, способными удовлетворять свои энергетические потребности за счет АТФ, вырабатываемого в результате ферментации, является причиной того, что лишь относительно небольшое количество митохондриальных белков необходимы для жизнеспособности клеток [42].

Почкующиеся дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* содержат разветвленную сеть митохондриальных канальцев, расположенных вблизи плазматической мембраны и равномерно распределенных в периферической цитоплазме [43].

Колонии нетрадиционных видов дрожжей (например, *Candida* или *Kluyveromyces*) обычно демонстрируют более структурированную морфологию, чем колонии лабораторных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* [44].

Клеточная стенка представляет собой прочную структуру, обеспечивающую физическую защиту и осмотическую поддержку [45].

Клеточная стенка дрожжей выполняет четыре основные функции:

- 1) Стабилизация внутреннего осмотического состояния. Чтобы ограничить возникающий приток воды, который может нарушить внутренние условия реакции и вызвать чрезмерное набухание клетки, что в конечном итоге приведет к разрыву плазматической мембраны, грибы строят прочную и эластичную стенку [46].
- 2) Защита от физического стресса. Клеточная стенка не только участвует в поддержании осмотического гомеостаза, но также выполняет функцию защитной оболочки [47].
- 3) Поддержание формы клеток, что является предпосылкой морфогенеза. Дрожжевые клетки могут расти как овальные клетки, так и в более вытянутой форме при ограничении азота или при псевдогифальном росте [48].
- 4) Клеточная стенка как каркас для белков. Несущие стресс полисахариды клеточной стенки пекарских дрожжей и других грибов действуют как каркас для внешнего слоя гликопротеинов [49].

Почкующиеся дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* — одноклеточный эукариотический микроорганизм, который является отличной моделью для изучения временной и пространственной регуляции органелл и белковых комплексов внутри клетки. В дополнение к простым методам визуализации с использованием световых микроскопов и признанным методам флуоресцентного мечения органелл, около 75% протеома *Saccharomyces cerevisiae* успешно визуализируется путем мечения зеленым флуоресцентным

белком (GFP)[50].

Хотя они имеют относительно простой эллипсоидный вид, почкующиеся дрожжи радикально меняют свою форму и субклеточную морфологию не только в течение своего жизненного цикла, но также в ответ на экологические и генетические нарушения [51].

Saccharomyces cerevisiae может расти аэробно и анаэробно. Его способность использовать разные сахара зависит от того, каким способом он растет. Если он растет аэробно, галактоза и фруктоза являются лучшими ферментирующими сахарами. Для роста всех штаммов требуются источники азота и фосфора. Для приготовления азота они потребляют аммиак и мочевины. В качестве источника фосфора они используют дигидрофосфат. Они также нуждаются в сере и различных металлах, таких как магний, для оптимального роста [52].

Saccharomyces cerevisiae могут использовать широкий спектр моно-, ди- и олигосахаридов, а также дыхательных субстратов, таких как этанол, уксусная кислота, пируват, лактат и глицерин. Глюкоза является излюбленным источником углерода, а предпочтительным способом метаболизма является ферментативный, использующий путь ЕМР и приводящий к образованию этанола [53].

Saccharomyces cerevisiae является факультативным анаэробным грибом, который может использовать глюкозу, мальтозу, фруктозу, сахарозу, галактозу и рафинозу для ферментации, но не может использовать лактозу и целлобиозу. Он преобразует сахара в CO₂, энергию и биомассу в аэробных условиях, в то время как в отсутствие кислорода он превращает сахара в этанол, CO₂ и глицерин посредством алкогольного брожения хотя *Saccharomyces cerevisiae* иногда называют факультативным анаэробом, эти дрожжи на самом деле не могут расти в строго анаэробных условиях. Это связано с тем, что кислород абсолютно необходим в качестве фактора роста для биосинтеза мембранных жирных кислот (например, олеиновой кислоты) и стероидов (например, эргостероидов). *Saccharomyces cerevisiae* является ауксотрофным по отношению к олеиновой кислоте и эргостеролу в анаэробных условиях [54].

Saccharomyces cerevisiae обладают богатым метаболизмом, который позволяет ему выживать или расти в широком диапазоне сред, затмевающих те, которые встречаются в плодах или коре, с различным содержанием питательных веществ — как с низкими, так и с высокими концентрациями углерода и азота [55].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* преимущественно метаболизируют сахар путем анаэробной ферментации с образованием этанола и CO₂, даже когда кислород доступен для аэробного дыхания. Этот аэробный ферментативный признак, известный как эффект Крэбтри [56],[233].

Ингибирующие соединения включают производные фурана, слабые кислоты, такие как уксусная кислота, муравьиная кислота и леволиновая кислота, а также фенольные соединения. Эти соединения обычно подавляют

рост дрожжей [57].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, основная рабочая лошадка биотехнологической промышленности [58], естественным образом метаболизирует сахарозу либо путем ее гидролиза в периплазматическом пространстве, либо путем прямого поглощения через активный транспорт дисахарида и его гидролиз в цитозоле [59],[233].

1.1.3 Биологические особенности пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Преимущества *Saccharomyces cerevisiae* заключаются в том, что их можно легко выращивать на дешевых средах и подвергать генетическим манипуляциям [60].

Увлекательные биохимические и генетические особенности *Saccharomyces cerevisiae* сделали его популярным эукариотическим модельным организмом для синтеза широкого спектра биологических, биоматериальных и химических продуктов [61,62].

Хромосома III *Saccharomyces cerevisiae* была первой полной хромосомой, секвенированной для любого организма [63], а завершение полной последовательности генома в 1996 году представляло собой первый доступный геном для любого эукариота [64].

Среди микроорганизмов дрожжи, в частности *Saccharomyces cerevisiae*, превосходят многие другие эукариотические организмы и виды бактерий в промышленном применении, в первую очередь благодаря своему уникальному механизму посттрансляционной модификации (ПТМ). В отличие от бактерий, у которых отсутствует способность к сложным эукариотическим ПТМ, таким как фосфорилирование, ацетилирование и специализированное гликозилирование (например, добавление гиперманнозы), дрожжи проявляют эту функциональность, что делает их идеальными кандидатами для производства белка в биотехнологии [65].

Кроме того, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США классифицирует *Saccharomyces cerevisiae* как «организм, признанный безопасным» (GRAS), что повышает ее привлекательность для широкомасштабного промышленного использования [66].

1.1.4 Технологии применения пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Дрожжи являются основным источником различных соединений, таких как белки, липиды, нуклеиновые кислоты и т.д. Дрожжи *S.cerevisiae* широко используются при изготовлении хлеба, вина, пива и сидра; дистиллированных

напитков, таких как ром, водка, виски, бренди и саке, с древних времен [67,68].

Они также являются удобными организмами для использования в генной инженерии, и таким образом мы можем получать различные ценные соединения, такие как пищевые добавки, лекарства, ферменты и т.д. Эти дрожжи также могут быть использованы в процессах биоремедиации [69].

Saccharomyces cerevisiae является важным промышленным микроорганизмом. Эти дрожжи долгое время использовались в пекарнях для поднятия теста, а также в производстве алкогольных напитков, ферментируя сахара, получаемые из риса, пшеницы, ячменя, кукурузы и виноградного сока. В последнее время он использовался в качестве клеточной фабрики для производства фармацевтических препаратов [70], таких как инсулин [71] и поликетиды [72]. *Saccharomyces cerevisiae* также широко используется в качестве модели эукариотической системы [73].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* используются в производстве этанола, хлебобулочных изделий и алкогольных напитков [пиво, вино, *кашаса*]. В производстве пива этот вид дрожжей является биоагентом, ответственным за преобразование крахмала, присутствующего в солоде, в этанол и углекислый газ, процесс, известный как алкогольное брожение [74].

Благодаря быстрому росту на стадии брожения, дрожжевая масса может размножаться примерно в 3–5 раз, образуя излишек продукции и становясь вторыми по величине отходами пивоваренных заводов. Процесс переработки дрожжей является обычной практикой в пивоваренной промышленности [75].

В производстве алкогольных напитков во всем мире доминирует вид дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, и отдельные штаммы этого вида, используемые в ферментации, оказывают глубокое влияние на вкусовые и ароматические характеристики различных напитков. Для крупномасштабного брожения напитков, как в пивоварении, виноделии и производстве дистиллированных спиртных напитков, обычно используются чистые культуры отборных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* [76].

Пальмовое вино является еще одним алкогольным напитком, в котором *S. Saccharomyces cerevisiae* участвует в брожении. Пальмовое вино известно в большей части Западной Африки под различными названиями, такими как «nsafufuo» в Гане, «emu» в Нигерии и «akpeteshie» в Гане и Нигерии [77].

Saccharomyces cerevisiae, также известные как пекарские дрожжи, являются наиболее распространенным видом дрожжей в хлебе и закваске. Он используется в качестве закваски с 19 века, где пекарские дрожжи получались из остатков производства пива [78,79].

Saccharomyces cerevisiae в целом рассматривается как безопасный идеальный модельный организм для изучения механизма биосорбции, высокой способности к поглощению металлов и высокого производства биомассы в недорогих средах дрожжей. Его можно было получить из различных промышленных стоков. Существует множество источников, доказывающих, что эти дрожжи способны удалять ионы тяжелых металлов и

восстанавливать ценные металлы [81].

1.2 Технология культивирования *Saccharomyces cerevisiae*

Технология ферментации играет ключевую роль в развитии предшествующих процессов и связанном с ними масштабировании, что приводит к созданию фабрик микробных клеток, биоэнергетике [82,83], утилизации побочных продуктов или отходов, устойчивому производству продуктов питания [84,85] и фармацевтике.

Saccharomyces cerevisiae является наиболее полезным видом дрожжей, который широко используется для промышленной ферментации и демонстрации исследований. В первую очередь это связано с его хорошо известным генетическим и физиологическим фоном, а также с совместимостью высокоплотной и крупномасштабной ферментации [86,87]. Дрожжи использовались для коммерческого производства самых разнообразных продуктов, а также для изучения новых технологий брожения. Таким образом, научные разработки в области ферментации *Saccharomyces cerevisiae* обычно служат образцом более широкого применения у многих видов.

Saccharomyces cerevisiae на протяжении веков был краеугольным камнем производства ферментированных продуктов питания и является наиболее широко используемым микроорганизмом в производстве традиционно ферментированных продуктов, как правило, в ферментированных продуктах, таких как ферментированные алкогольные напитки и выпечка [88,89].

Saccharomyces cerevisiae отвечает за процесс ферментации, в результате которого сахара в сырье превращаются в спирт и другие соединения [90,91].

Несмотря на то, что *Saccharomyces cerevisiae* уже давно используется в хлебопекарной промышленности, его производительность несколько ограничена из-за различных промышленных ограничений и требований. Во-первых, ферментация *Saccharomyces cerevisiae* является трудоемким процессом, который может не подходить для всех коммерческих операций, направленных на быстрое производство хлебобулочных изделий. Во-вторых, в промышленных масштабах *Saccharomyces cerevisiae* подвергается различным множественным и колеблющимся воздействиям окружающей среды, что в конечном итоге снижает выход продукции и негативно влияет на качество выпечки товаров. Более того, процесс ферментации *Saccharomyces cerevisiae* чувствителен к факторам окружающей среды, таким как температура и влажность, которые необходимо тщательно контролировать для получения стабильных результатов. При неправильном обращении срок годности ферментированных мучных изделий может быть ограничен продолжающейся активностью дрожжей или микробной порчей. Чтобы преодолеть эти ограничения, во многих исследованиях использовались

передовые биотехнологии для модификации штаммов *Saccharomyces cerevisiae* целью увеличения индукции вкуса, устойчивости к различным промышленным стрессам и улучшения возможностей ферментации [92].

Микроэлементы являются необходимыми питательными веществами для поддержания жизни и развития, и они играют важную роль в живом организме. *Saccharomyces cerevisiae* является хорошим переносчиком микроэлементов и часто используется в качестве носителя для обогащения [93]. Ферментация *Saccharomyces cerevisiae* позволяет синтезировать богатые питательные и активные вещества, включая аминокислоты, белки, полисахариды, сложные эфиры и витамины [94]. Существует два способа обогащения микроэлементов у *Saccharomyces cerevisiae*: (1) процесс биосорбции, который происходит быстро и не имеет ничего общего с обменом веществ. На него влияют значение pH, тип микроорганизма и время культивирования, тип и концентрация ионов, другие конкурирующие ионы и время обогащения. Дефект заключается в том, что *Saccharomyces cerevisiae* не может превращать неорганический цинк в органическую форму, его биологическая функция плохая, а скорость поглощения и использования низкая; (2) Активный процесс транспортировки медленный и потребляет энергию, которая связана с обменным процессом и в основном зависит от активности микроорганизмов, температуры культуры, условий питания, влияния ингибиторов метаболизма и др. Факторов [95].

Ферментация часто контролируется с помощью простых индикаторов микробного роста, таких как снижение pH или концентрации сахара или увеличение числа клеток (мутность, прямое микроскопическое исследование), кислотности или концентрации алкоголя. Одна лишь ферментация может привести к ингибированию микробного роста и, в некоторых случаях, к гибели микроорганизмов, хотя это будет зависеть как от типа, так и от концентрации метаболитических продуктов, производимых ферментирующими организмами [96,97].

1.2.1 Культуральные свойства *Saccharomyces cerevisiae*

Модельные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются одними из немногих дрожжей, способных к быстрому анаэробному росту на синтетических минеральных средах с добавлением сбраживаемого сахара, определенного набора витаминов группы В, источником стероидов и ненасыщенных жирных кислот [98,99].

Saccharomyces cerevisiae на твердой среде молочно-белые и выпуклые, поверхности влажные и блестящие, края аккуратные [100].

В жидкой среде неадгезивные дрожжевые клетки являются планктонными и образуют мутные культуры отдельных клеток, которые, однако, могут образовывать небольшие агрегаты из нескольких клеток [101].

Дрожжи образуют так называемые адгезивные колонии на твердых

агаровых средах, подвергающихся воздействию воздуха. Для образования неудаляемых биопленок необходимо производить флоккулины, обеспечивающие чужеродную адгезию. Обычно клетки биопленок прилипают друг к другу и к чужеродной твердой или полутвердой поверхности [102].

Известно, что на рост микроорганизма и его устойчивость сильно влияет состав среды. В анаэробных условиях азот необходим для пролиферации клеток. Следовательно, принято считать, что эффективность ферментации может быть улучшена за счет присутствия питательных веществ и особенно хороших источников азота и металлов [103].

Субстраты должны обеспечивать высокую концентрацию углеродных соединений, которые могут быть полностью преобразованы в биомассу. Богатая сахарозой патока сахарного тростника и свеклы, а также сиропы на основе крахмала с высоким содержанием глюкозы соответствуют этим требованиям и уже давно являются излюбленными субстратами в дрожжевой промышленности [104, 105, 106, 107, 108].

В качестве полной или частичной замены патоки и сиропов постоянно ведутся поиски альтернативных субстратов. Двумя привлекательными вариантами являются барды, полученные в результате дистилляции этанола [109,110], и глицерин, полученный в результате переэтерификации триглицеридов при производстве биодизеля [111,112]. Барды содержат глицерин, ацетат и лактат, которые являются аэробными субстратами для *Saccharomyces*, но они также содержат остаточные твердые вещества, которые необходимо удалить (как в случае с патокой, которую необходимо осветлить перед использованием) [113]. Потенциальное применение барды [114] и глицерина [115] в качестве субстрата для размножения *Saccharomyces*. Сыворотка, побочный продукт производства сыра, также была продемонстрирована в качестве возможной частичной замены патоки при выращивании хлебопекарных дрожжей [116].

Лигноцеллюлозные гидролизаты считаются потенциальным источником новых субстратов. Тем не менее, необходимо преодолеть значительные экономические и технические проблемы, чтобы они были регулярно доступны в промышленных масштабах для размножения *Saccharomyces* [117].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* в аэробных условиях могут использовать в качестве источников углерода короткоцепочечные органические кислоты, такие как уксусная кислота и молочная кислота [118].

Лабораторные условия культивирования *Saccharomyces cerevisiae*, будь то в жидких средах или на твердом агаре, были разработаны для оптимизации роста клеток. Как правило, эти условия изначально обеспечивают избыток всех необходимых питательных веществ. Клетки реагируют на такую богатую среду, содержащую обильные источники азота и сбраживаемый источник углерода, принимая дисперсную форму дрожжей и быстро развиваясь, при этом брожение активно смешивается с выделяющимся углекислым газом и/или механическим перемешиванием. Аналогичная закономерность

наблюдается на ранних стадиях брожения пивного сусла и винного сусла [119].

Однако, как только истощение среды приводит к достаточно низким концентрациям питательных веществ, чтобы ограничить рост клеток, дрожжи подвергаются дивергентным реакциям, которые отражают питательные вещества, доступные в среде, и микроокружение клетки. При диаосном сдвиге, когда сбраживаемые источники углерода исчерпаны, клетки временно останавливаются, а затем перепрограммируют свои метаболические паттерны для метаболизма этанола и продолжения медленного вегетативного роста. Одновременно с этим переключением клетки могут стать хлопьевидными или изменить морфологию [120].

1.2.2 Методы и способы культивирования *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae является факультативным анаэробом, который может одинаково хорошо расти аэробно и анаэробно в присутствии глюкозы [121,122].

Большинство идентифицированных видов дрожжей могут ферментировать сахара до этанола и углекислого газа [123]. Таким образом, они не зависят от кислорода для своего диссимиляторного метаболизма и быстро растут в условиях ограниченного количества кислорода. Лишь очень немногие виды могут расти при полном отсутствии кислорода [124]. Фактически, наиболее важный вид дрожжей в фундаментальных и прикладных исследованиях, *Saccharomyces cerevisiae*, выделяется среди дрожжей и эукариот в отношении своего быстрого роста как в аэробных, так и в строго анаэробных условиях [125].

Модельные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются одними из немногих дрожжей, способных к быстрому анаэробному росту на синтетических минеральных средах с добавлением сбраживаемого сахара, определенного набора витаминов группы В, источником стероидов и ненасыщенных жирных кислот [126,127,233].

Анаэробные камеры, заполненные водородсодержащей атмосферой и оснащенные катализатором Pd для удаления следов кислорода, часто используются для анаэробного периодического культивирования дрожжей в колбах или на планшетах [128,129].

В дрожжевой промышленности исторически был разработан аэробный fed-batch процесс для производства пекарских дрожжей [130], а в последнее время этот же режим культивирования применяется для получения высоких концентраций чужеродных (рекомбинантных) белков [131].

Типичный fed-batch проводится путём продления фазы культивирования за счёт непрерывной или прерывистой подачи свежей питательной среды в ферментер.

Широко сообщалось, что достигнутые максимальные плотности в fed-batch культурах обычно ниже ожидаемых, и это объясняется рядом факторов: ограничение переноса кислорода, накопление токсичных побочных продуктов, увеличение вязкости среды и её ионной проводимости, образование CO₂ и тепла [132,133,134].

Иными словами, микробная популяция не может расти бесконечно из-за ограниченной экологической ёмкости среды: по мере приближения популяции к этим пределам темпы роста снижаются и в итоге прекращаются.

В случае с *S. cerevisiae*, культивируемыми в аэрированных fed-batch реакторах, снижение темпа роста чаще всего связано с ограничением переноса кислорода [135], особенно в крупных биореакторах [136]. Также такие ограничения, как высокая вязкость среды, низкий pH и температурные отклонения, рассматриваются как причины трудностей при культивировании штаммов с высокой плотностью клеток, особенно рекомбинантных [137].

Культивации Chemostat обеспечивают определенные и постоянные условия выращивания, в которых отдельные параметры, такие как температура, pH, состав питательных веществ или концентрация, могут быть исследованы в зависимости от применяемой скорости роста [138].

Промышленные биопроцессы обычно благоприятствуют выращиванию в режиме подачи партия, поскольку этот режим культивирования был признан эффективным для обхода нежелательных явлений, таких как ингибирование субстрата, подавление катаболитов или эффект Крэбтри [139,140].

Для периодического выращивания дрожжевых культур характерно периодическое или непрерывное подачу питательных веществ для роста микроорганизмов. Удельную скорость роста при выращивании партиями можно контролировать, скармливая одно питательное вещество, ограничивающее рост, с желаемой скоростью [141].

Лабораторные биореакторы являются популярными системами для выполнения контролируемого порционного, подачного или непрерывного культивирования дрожжей в анаэробных условиях [142].

Сосуды и крышки биореакторов обычно изготавливаются из непроницаемых для кислорода материалов, таких как стекло и/или нержавеющей сталь. Их отношение площади к объему (A/V), которое иногда упоминается как ключевой фактор диффузии кислорода, поэтому сам по себе не является ключевым фактором утечки кислорода. Вместо этого синтетические трубки, кольца и уплотнения, а также датчики и отверстия для отбора проб являются одними из ключевых потенциальных точек поступления кислорода [143,144].

Доступность питательных веществ также модулирует степень асимметрии клеточного деления: бедная среда обычно дает большие родительские клетки и очень маленькие дочерние клетки, в то время как в богатых средах асимметрия между родительскими и дочерними клетками значительно уменьшается [145].

Saccharomyces cerevisiae является прототипом кребтри-положительных

дрожжей . Для обеспечения оптимального роста в реакторе должны поддерживаться аэробные условия [146].

1.2.3 Факторы, влияющие на выход биомассы *Saccharomyces cerevisiae*

Уникальное преимущество *Saccharomyces cerevisiae* — это его способность процветать в широком диапазоне условий окружающей среды. Он может расти при значениях pH от 2,5 до 8,5, выдерживать температуру от 2 °C до 45 °C и выдерживать высокие концентрации сахара и этанола [147]. Эти характеристики повышают его экономическую жизнеспособность для различных промышленных процессов.

Как правило, эукариотические клетки поддерживают свой внутриклеточный pH в узком диапазоне, несмотря на значительные колебания, которые могут иметь место во внеклеточном pH [148]. В условиях ферментации внутриклеточный pH *Saccharomyces cerevisiae* обычно поддерживается в диапазоне от 5,5 до 5,75 при внешнем pH 3,0 [149] или между 5,9 и 6,75 при изменении внешнего pH от 6,0 до 10,0 [150].

Температура влияет на скорость роста микроорганизмов [151]. Высокая температура является стрессовым фактором для микроорганизмов и неблагоприятна для развития клеток. Оптимальный температурный диапазон ферментации составляет от 20°C до 35°C [152]. Свободные клетки *Saccharomyces cerevisiae* имеют оптимальную температуру около 30°C, тогда как иммобилизованные клетки имеют значительно более высокую оптимальную температуру благодаря своей способности передавать тепло от поверхности частиц внутрь клеток [153].

Дрожжи являются пойкилотермными организмами, и поэтому их жизнь зависит от температуры окружающей среды. Окно термической толерантности дрожжей из рода *Saccharomyces* колеблется между более низкой допустимой температурой роста (Тнижний, т.е. температура, ниже которой деление клеток больше не наблюдается и количество клеток застывает) примерно при 3 °C и верхней допустимой температуре роста (Тверхний) при температуре приблизительно 42 °C, с оптимальной температурой роста (Твыбирать; где наблюдаются самые быстрые темпы роста биомассы) при температуре примерно 30–33 °C [154].

Рост дрожжей происходит быстрее, а получаемая биомасса больше в средах, содержащих сложные ингредиенты, чем в минимальной среде [155]. Считается, что улучшение роста в сложных средах полностью связано с доступностью большего количества питательных веществ, хотя в настоящее время признано, что ингредиенты сложных сред также играют непитательную роль в содействии росту и выживанию дрожжей [156].

Для увеличения биомассы *Saccharomyces cerevisiae* субстрат должен содержать достаточное количество растворимых углеводов и азота для роста

дрожжевых клеток [157]. тип и концентрация источников углерода и азота, а также соотношение С и N среды для культивирования *Saccharomyces cerevisiae* влияют на рост клеток [158]. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* обычно могут использовать некоторые аминокислоты из патоки, но требуется добавление источников азота из мочевины.

Доступность азота напрямую связана с образованием биомассы во время фазы экспоненциального роста дрожжей на ранних стадиях алкогольного брожения [159].

Низкое содержание азота в сусле может привести к вялому или застрявшему брожению [160]. Для предотвращения этих проблем обычной практикой является добавление азота в сусло, предпочтительно на ранних стадиях алкогольного брожения.

Экстракт дрожжей содержит большое количество компонентов (% по массе) углеводов и производных (~10–35%), белков (~45–50%) и свободных аминокислот (~8–15%), производных витаминов (~5–10%), минералов и микроэлементов (~5–10%), нуклеотидов (~5–15%) и жиров (~3–10%), которые необходимы для роста микробных клеток [161]. Определенная ВРМ среда, добавленная с помощью YE, на самом деле называется «среда с частично определенным составом». Среда в основном состоит из определенных компонентов с одним или двумя сложными питательными веществами [162].

1.3 Методы и особенности совершенствования питательных сред для повышения выхода биомассы

Состав питательной среды является одним из наиболее важных параметров, который необходимо анализировать в биотехнологических процессах с промышленными целями, поскольку предполагается, что около 30–40% производственных затрат приходится на стоимость среды для роста [163].

Для того чтобы повысить эффективность того или иного биотехнологического процесса, необходимо получить большее количество микробной биомассы. Существует несколько режимов процесса выращивания. Среди них наиболее широко применяются периодические, полупериодические, непрерывные. Периодический режим, вероятно, является самым простым с точки зрения управления процессом. Однако такие режимы вполне могут привести к накоплению побочных продуктов в среде, что, в свою очередь, может существенно повлиять на урожайность биомассы. Непрерывный режим может обеспечить постоянный отток растущей биомассы из биореактора. Тем не менее, разделение биомассы на месте должно быть обеспечено для обеспечения соответствующего целевого качества продукта. Подающие порционные обработки сочетают в себе лучшие черты как в порционном, так и в непрерывном режимах. При правильной реализации можно свести к минимуму накопление побочных продуктов,

обеспечить контроль концентрации субстрата в питательной среде, повысить эффективность преобразования всех компонентов среды, а также осуществлять рост и накопление микробной биомассы в одном сосуде [164].

Несмотря на существование полных биосинтетических путей в геноме *Saccharomyces cerevisiae* для производства витаминов группы В [165], наиболее химически определенные среды для культивирования дрожжей включают эти витамины для поддержки более быстрого роста клеток [166].

Ионы металлов в среде необходимы для поддержания определенных биохимических реакций, важных для роста и жизнеспособности дрожжей. Таким образом, они играют решающую роль в производстве биомассы и поддержании жизнеспособности [167]. Ионы магния, железа и цинка могут оказывать значительное влияние на активность ферментов, синтез липидов, накопление биомассы и жизнеспособность [168,169] сообщили, что добавление сульфата цинка, меди и марганца в среду на основе мелассы увеличивает выход биомассы *Saccharomyces cerevisiae* до 30% в полуаэробных условиях [233].

Несмотря на то, что комплексные среды (на основе дрожжевого экстракта) содержат все необходимые соединения для роста микроорганизмов, их использование в откормочных партиях может быть ненадежным из-за неоптимальных концентраций витаминов, соединений N, C, P и S [170]. Кроме того, присутствие большого количества органического азота может индуцировать биосинтез широкого спектра побочных продуктов, которые, в свою очередь, могут подавлять рост биомассы. Кроме того, затраты на дрожжевой экстракт (YE) значительно выше по сравнению с затратами на отдельные витамины (при введении в питательную среду в тех же количествах, что и в YE). Синтетические среды, с другой стороны, предлагают возможность манипулировать концентрацией каждого компонента по отдельности, обменивать источники углерода или азота и добавлять определенные субстраты для индуцирования производства рекомбинантного белка и т. д. [171,172].

Во многих исследованиях, в том числе по оптимизации компонентов среды с использованием методологии поверхности отклика (RSM), изучались культуры дрожжевых клеток высокой плотности. В лабораториях дорогостоящие материалы, такие как дрожжевой экстракт, аминокислоты и витамины, используются для производства метаболитов с высокой добавленной стоимостью в качестве конечных продуктов [173]. Тем не менее, для промышленного производства дешевых продуктов, таких как дрожжевые клетки и биоэтанол, дешевые и возобновляемые материалы, такие как патока и кукурузный настой (CSL), в основном используются из-за их экономической целесообразности.

Патока, побочный продукт переработки сахара, состоит из воды (17–25%), сахара (39–61%), азотистых соединений (2–6%), витаминов (пиридоксин, тиамин, рибофлавин, фолиевая кислота, биотин и пантотеновая кислота) и микроэлементов [174,175]. Мусковадо (MC) – это

нецентрифугированный (нерафинированный) тростниковый сахар, содержащий натуральную патоку. Хотя МС, как правило, дороже патоки, потому что она производится органически в небольших количествах, ее стоимость может сильно варьироваться в зависимости от производственного процесса и качества; В нем примерно в два раза больше сахара (сахарозы, глюкозы и фруктозы) по сравнению с патокой, что делает его жизнеспособным вариантом в качестве источника углерода для дрожжей. CSL, побочный продукт мокрого помола кукурузы, является одним из самых дешевых источников азота [176]. Он содержит белки (30–50%), аминокислоты, минералы и витамины, служащие питательной заменой дорогостоящим сложным средам, таким как дрожжевой экстракт и пептон [177,178,179].

Выращивание *Saccharomyces cerevisiae* является сложным и динамичным биопроцессом, имеющим важное промышленное значение, особенно в пищевой и биотехнологической отраслях [180,181]. По прогнозам, к 2029 году мировой рынок достигнет 8,5 млрд долларов США, что отражает растущее экономическое влияние [182]. По мере того, как промышленность все чаще внедряет передовые производственные стратегии, наблюдается всплеск интереса к математическому моделированию и автоматизации для оптимизации процессов на основе дрожжей [183].

В промышленных биопроцессах дрожжевые культуры часто опираются на сложные источники углерода и азота, особенно в регионах, где сырьем служат побочные продукты агропромышленного производства. Как правило, *S. cerevisiae* культивируется с использованием субстратов, полученных из сахарного тростника, богатых сахарозой, глюкозой и фруктозой [184], с мочевиной в качестве источника азота. Хотя этот состав обеспечивает экономичную доступность питательных веществ, он также вносит метаболические сложности, которые влияют на эффективность ферментации. Одновременное использование нескольких сахаров приводит к метаболическим сдвигам, таким как диауксический рост, изменения скорости поглощения субстрата и эффект Крэбтри, которые изменяют эффективность ферментации и образование продукта [185,186].

Промышленное выращивание дрожжей в Латинской Америке обычно опирается на побочные продукты агропромышленного производства, богатые смесевыми сахарами, в первую очередь сахарозой, глюкозой и фруктозой [187,188], с мочевиной в качестве источника азота [189]. Несмотря на широкое использование этих субстратов, большинство исследований ферментации *Saccharomyces cerevisiae* сосредоточены на условиях одного источника углерода, преимущественно глюкозы [190,191,192].

Более глубокое понимание того, как *Saccharomyces cerevisiae* метаболизирует смешанные сахара и мочевины, имеет решающее значение для улучшения эффективности ферментации [193,194,195], особенно в промышленных условиях, где обычно используется сырье, полученное из сахарного тростника, и в лабораторных синтетических средах, разработанных для воспроизводимости [196,197].

1.3.1 Требования, предъявляемые к производимой биомассе пекарских дрожжей; биотехнологические качества биомассы

В качестве активного ингредиента для коммерческого и бытового хлебопекарного применения, основной целью традиционных процессов является получение высоких выходов активных пекарских дрожжей из недорогих средних ингредиентов [198,199].

Для достижения высокого выхода биомассы пекарские дрожжи производятся с использованием аэробного порционного брожения. Дрожжи должны быть выращены в аэробных условиях, чтобы обеспечить более эффективное аэробное дыхание вместо брожения. При аэробном выращивании урожайность биомассы может достигать до $0,5 \text{ г г}^{-1}$ по сравнению с примерно $0,1 \text{ г г}^{-1}$ в анаэробных условиях, в которых большая часть углерода субстрата превращается в этанол вместо нового клеточного вещества [200]. Для того, чтобы быть аэробной, требуется активная аэрация для поддержания уровня кислорода выше критической концентрации растворенного кислорода, значение которой изменяется в ответ на адаптивный метаболизм дрожжей [201].

Для любого будущего специализированного предприятия по производству дрожжей есть возможность спроектировать процесс таким образом, чтобы адаптировать свойства биомассы или снизить стоимость производства. К контролируемым параметрам, которые будут влиять на свойства и стоимость производимой биомассы, относятся выбор штамма дрожжей, конструкция и эксплуатация реактора, состав питательной среды, сроки уборки дрожжей и режим культивирования.

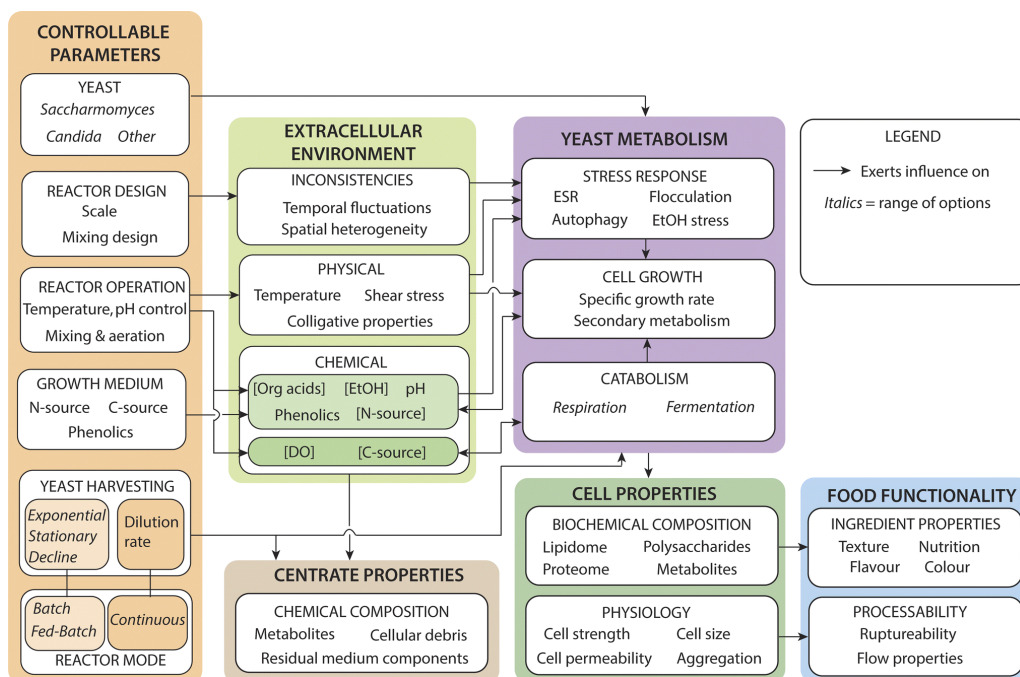


Рисунок 1 – Диаграмма, иллюстрирующая ключевые связи между контролируемыми параметрами производства дрожжей, внеклеточной

средой, метаболизмом дрожжей, свойствами собранных клеток и концентрата, а также функциональностью собранных дрожжей для производства пищевых ингредиентов [202]

Для экономичного производства дрожжей многие дешевые сельскохозяйственные и промышленные отходы, в основном патока, которая в изобилии доступна, используются для последовательного брожения под водой [203,204,233]. Использование мелассы в качестве основного субстрата упростило процесс производства дрожжевой биомассы и снизило ее стоимость по сравнению с использованием другого сырья и зерна [205,206,207,233]. После ферментации дрожжевая биомасса легко собирается благодаря большим размерам клеток и способности к флокуляции, и может быть подвергнута последующим этапам обработки, таким как промывка, разрушение клеток, экстракция и очистка белка. Биомасса пищевых дрожжей также может быть получена в качестве побочного продукта промышленного производства этанола на патоке [208,233].

В дрожжевой промышленности в качестве основного сырья используется патока. Тем не менее, некоторые дрожжевые заводы используют среды на основе солода для приготовления предкультур дрожжей [209].

Быстрый темп роста и высокий выход биомассы в сочетании с хорошей тестообразующей способностью являются важнейшими требованиями для эффективного коммерческого производства хлебопекарных дрожжей [210,211,212,233].

В промышленном производстве пекарские дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* получают либо из коллекционных центров на начальных стадиях, либо выделяют и культивируют собственные штаммы, а затем поддерживают культуры, обеспечивая стабильность качества и продуктивности [213]. Успешное коммерческое производство *Saccharomyces cerevisiae* определяется биологическими (штамм *Saccharomyces cerevisiae* с хорошими селекционными характеристиками; размер урожая и др.) и технологическими факторами (качество патоки: природа, состав и концентрация субстрата; дешёвый, подходящий для культивирования источник углерода; легко контролируемый процесс культивирования для получения наиболее жизнеспособной биомассы, физико-химические условия культивирования, прежде всего температура, pH; продолжительность культивирования; разработка процесса консервирования и др. в соответствии с условиями) [214].

Качество коммерческих хлебопекарных дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) определяется многими параметрами, включая стабильность при хранении, осмоотолерантность, устойчивость к заморзанию-оттаиванию, устойчивость к регидратации сухих дрожжей и цвет. Учитывая первостепенную роль пекарских дрожжей в тесте, особенно важным параметром является ферментативная способность (т.е. удельная скорость выделения углекислого газа дрожжами при введении его в тесто) [215].

У *Saccharomyces cerevisiae* высокие концентрации сахара и высокие удельные темпы роста вызывают алкогольное брожение даже в полностью аэробных условиях [216]. Спиртовое брожение при промышленном производстве хлебопекарных дрожжей крайне нежелательно, так как снижает выход биомассы на углеводное сырье. Поэтому промышленное производство пекарских дрожжей осуществляется в аэробных культурах с ограниченным содержанием сахара. Условия в таких культурах резко отличаются от условий в среде для теста, которая является анаэробной и в которой сахара, по крайней мере, первоначально присутствуют в избытке [217].

В то время как урожайность и продуктивность субстратов являются ключевыми экономическими проблемами при производстве дрожжевой биомассы, не менее важно, чтобы биомасса обладала всеми другими качествами, необходимыми для ее промышленной полезности. Размножаемая биомасса должна быть пригодна для последующей обработки, стабильна при хранении и хорошо работать в целевых условиях [218].

Основными параметрами качества дрожжевых продуктов являются жизнеспособность клеток [219], выживаемость криоконсервации [220], внутриклеточное содержание трегалозы [221], внутриклеточное содержание АТФ [222] и жизнеспособность клеток [223]. Измерение этих параметров позволяет различным компаниям оценивать и дифференцировать дрожжи, а также может быть лучше использовано в производстве. В традиционных методах измерения в основном выполняются с помощью биохимического культивирования и химического обнаружения [224]. В частности, жизнеспособность клеток — это доля активных дрожжевых клеток в дрожжевых продуктах [224], что делает ее важным параметром для эффективности брожения дрожжей.

2 Материалы и методы исследования

2.1 Материалы

Для проведения исследования использовалось следующее оборудование и материалы:

1 Термостат сухожаровой ТС-80М-2, паровой стерилизатор ВК-75-01, ламинарный бокс, шейкер лабораторный GFL 3015, вакуумный насос, воронка Бюхнера, лабораторный микроскоп Meiji Techno MT4200H, pH-метр лабораторный pH-150МИ, лабораторные весы.

2 В качестве лабораторной посуды применялись чашки Петри одноразовые среднего размера, микробиологические петли, спиртовка. Для работы использовались одноразовые и стеклянные мерные пипетки, пробирки, в том числе круглодонные, мерные, плоскодонные и конические (Эрленмейера) колбы, мерные цилиндры, шпатель лабораторный металлический, Воронка В-100, фильтр из крупнопористой бумаги.

3 Лабораторные принадлежности включали стерильный халат, одноразовые перчатки, одноразовые шапочки, одноразовые бахилы.

4 В работе применялись питательные среды и реактивы: Мясопептонный агар (МПА-агар), Агар, Сабуро агар, Среда Эндо, L-лизин моногидрохлорид, Меласса свекловичная: ТОО «Аксуский сахарный завод», ТОО «Коксуский сахарный завод», ОАО «Черемновский сахарный завод», солодовый экстракт, Реактив Герлеса, реактив Грисса, реактив Оффнера, аммиачная, ортофосфорная кислота, глюкоза, соли NaCl, Mg сернокислый, Zn, янтарная кислота, витамины тиамин и пиридоксин, глицерин для консервации дрожжей.

2.2 Методы исследования

Исследовательская работа проводилась в городе Алматы на базе АО «Алматинский Дрожжевой Завод».

Работа состоялась из нескольких этапов:

1 Отбор проб нестерильной свекловичной мелассы с трёх сахарных заводов: ТОО «Аксуский сахарный завод», ТОО «Коксуский сахарный завод», ОАО «Черемновский сахарный завод» согласно стандарту ГОСТ 30561-2017.

2 Физико-химический анализ мелассы: определение pH, плотности и содержания сухих веществ.

3 Микробиологический анализ мелассы по стандартам ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ 10444.12-2013, ГОСТ 31747-2012 выделением и идентификацией микрофлоры.

4 Культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на стерилизованных образцах мелассы с добавлением витаминов B1 (0,5 мг/л) и

В2 (1,0 мг/л). Изучалось влияние температуры, рН и плотности среды на рост дрожжей.

5 Определение биомассы дрожжей методом фильтрации и сушки.

3 Результаты исследования

В ходе работы проведён комплексный микробиологический и физико-химический анализ трёх видов нестерильной свекловичной мелассы, используемой для культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Были выявлены колонии с признаками загрязнения, которые после дополнительного анализа показали наличие сопутствующих микроорганизмов.

Добавление витаминов B1 и B2 в питательную среду улучшило рост дрожжей и увеличило выход биомассы. Также установлено, что оптимальные значения pH, температуры и плотности среды положительно влияют на культивирование.

Результаты подчёркивают важность полного микробиологического и физико-химического контроля для повышения эффективности производства хлебопекарных дрожжей.

3.1 Физико-химические показатели трёх видов нестерильных меласс с ТОО «Аксуский сахарный завод», ТОО «Коксуский сахарный завод», ОАО «Черемновский сахарный завод».

Физико-химические показатели мелассы определялись в соответствии с требованиями ГОСТ 30561-2017 «Меласса свекловичная. Технические условия».

Согласно данному стандарту, по органолептическим характеристикам меласса должна соответствовать показателям, приведенным в таблице 1.

Таблица 1 – Органолептические показатели мелассы [225]

Наименование показателя	Характеристика показателя
Внешний вид	Густая вязкая непрозрачная жидкость
Цвет	От коричневого до темно-бурого
Запах	Свойственный свекловичной мелассе, без постороннего запаха
Растворимость в воде	Полная

По физико-химическим показателям меласса должна соответствовать требованиям, указанным в таблице 2.

Таблица 2- Физико-химические показатели мелассы [225]

Название показателя	Значение показателя
Массовая доля сухих веществ, %	75
Массовая доля сахарозы по прямой поляризации, %	43,0
Массовая доля редуцирующих веществ, %	1,0
pH	От 6,5 до 8,5

Определяли удельный вес (плотность) мелассы по ГОСТ 8.587. Для этого использовали ареометр и цилиндр ГОСТ 18481:

Для исследования предоставили мелассу производители трех сахарных заводов:

- 1) ТОО «Аксуский сахарный завод»;
- 2) ТОО «Коксуский сахарный завод»;
- 3) ОАО «Черемновский сахарный завод».



Рисунок 2 — Определение плотности мелассы с помощью ареометра

pH мелассы определяла с помощью pH-метра по ГОСТ 30561-2017. Для точности проводила измерения по несколько повторов для каждого производителя.

В стеклянный стакан объемом 50 мл наливаем раствор мелассы, предварительно разбавленный дистиллированной водой. Затем в раствор погружаем электроды pH-метра и записываем полученные данные.



Рисунок 3 —Определение pH мелассы с помощью pH-метр

3.2 Определение массовой доли сахарозы.

Массовую долю сахарозы по прямой поляризации определяла по ГОСТ 30561-2017

По ГОСТ 30561-2017 для определения массовой доли сахаров по прямой поляризации готовим реактивы Герлеса .

Реактив Герлеса представляет собой смесь двух растворов : реактива Герлеса 1 с массовой долей азотнокислого свинца 34% и реактива Герлеса 2 с массовой долей гидроксида натрия 3,2%. В стеклянный стакан отвешиваем 340 г азотнокислого свинца, добавляем дистиллированную воду и перемешиваем до растворения. Полученный раствор переносим в мерную колбу. Тоже самое повторяем с реактивом Герлеса 2, в стакан взвешиваем 32 г гидроксида натрия, растворяем его в дистиллированной воде и переносим в мерную колбу.

Далее готовим пробу, в чашке отвешиваем 65 г мелассы, растворяем ее в дистиллированной воде и переносим в колбу. Нагреваем наш раствор до однородной массы, а затем охлаждаем его. Для осветления в колбу последовательно добавляем реактивы Герлеса. Осветление проводим 3-5 раз вводя реактивы в раствор. После этого объем раствора доводим дистиллированной водой до метки, а образовавшуюся пены устраняем добавлением нескольких капель эфира. Содержимое колбы перемешиваем и фильтруем через бумажный фильтр, получая фильтрат 1. К полученному фильтрату добавляем сернисто-кислый натрий из расчета 0,2 г на 100 мл раствора, перемешиваем и выдерживаем 20 минут, затем фильтруем через двойной бумажный фильтр, отбрасывая первые капли фильтрата (фильтрат 2).

Далее проводим измерения. Поляриметрическую кювету предварительно промываем исследуемым раствором (фильтрат 2). Затем

измеряем температуру раствора в стакане и фиксируем показания термометра [225].

Массовую долю сахарозы по прямой поляризации P , %, вычисляем по формуле [225]:

$$P = P_t \times [1 + 0,000611 \times (t - 20)]; \quad (1)$$

где P_t — среднее арифметическое значение отсчетов по шкале сахариметра при температуре измерения, %; t — температура раствора при измерении, °C;

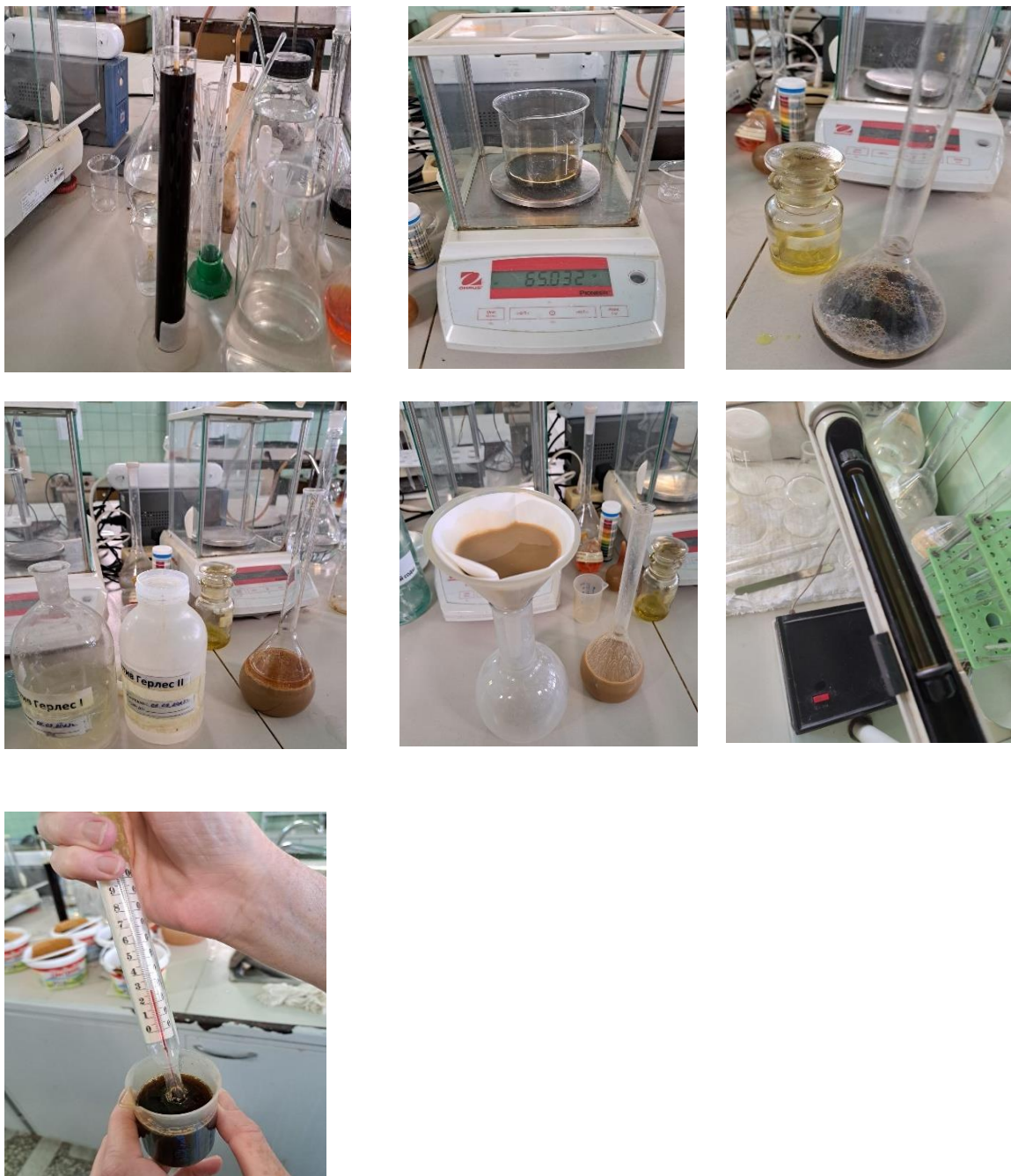


Рисунок 4 – Определение массовой доли сахарозы по прямой поляризации на сахариметре

3.3 Определение содержания инвертного сахара методом Офнера

Из осветленного раствора, оставшегося после определения прямой поляризации, отбираем 10 мл (соответствующие 2,6 г мелассы) и доливаем дистиллированную воду. Отбираем 25 мл разбавленного таким образом раствора (соответствующего 0,65 г мелассы), прибавляем 25 мл реактива Офнера. Колбу нагреваем в течение 4–5 мин, доводим до кипения, затем содержимое колбы охлаждаем до 20 °С в холодной воде. 7,5 мл 1 М раствора соляной кислоты вливаем в охлажденный раствор для растворения осадка, и сразу же после добавляем к 20 мл 0,0323 М раствора йода. Затем оттитровываем избыток йода, в колбе раствором гипосульфита. Когда раствор станет светло-желтым, в него добавляем 0,5%-го раствора крахмала и титруем до перехода окраски от синей в зеленую или бронзовую. Далее проводим контрольный опыт (с тем же количеством раствора мелассы, реактивом йода, что и в основном опыте, но без кипячения) [225].

По разнице между объемами гипосульфита, израсходованными при титровании в основном и контрольном опытах, определяют количество связанного йода. Учитывая, что 1 мл 0,0323 М раствора йода соответствует 1 мг инвертного сахара, массовую долю инвертного сахара рассчитывают по соответствующей формуле:

$$I_c = (V_1 - V_2) \times 100 / 1000 \times H, \quad (2)$$

где: I_c – содержание инвертного сахара к массе мелассы, %; V_1 , V_2 – соответственно объем 0,0323 М раствора гипосульфита в контрольном и рабочем опыте, мл; H – навеска мелассы, г.

Сумму сбраживаемых сахаров рассчитываем по формуле:

$$C_{сб} = 0,68 - P + 0,96 \times I + 0,80 \times I_c, \quad (3)$$

где: $C_{сб}$ – сумма сбраживаемых сахаров мелассы, %; P и I – значения прямой и инверсионной поляризаций, %; I_c – содержание инвертного сахара (по Офнеру) [225].



Рисунок 5 – Определение содержания инвертного сахара методом Офнера

3.4 Определение содержания нитритобразующих бактерий в мелассе

Определяла содержание нитритобразующих бактерий в мелассе по ГОСТ 32257-2013 (пункт 8.2 Определение нитритов).

Взвесила в стерильную пробирку 1 грамм мелассы и добавила 9 мл стерильной водопроводной воды.

Пробирку поставили в термостат на 16 часов, при температуре 34 °С.

Утром взяла навеску в пробирке с реактивом Грисса (0,2г), добавила 10 мл дистиллированной воды, над спиртовкой довела до растворения под нагревом.

В другую чистую просушенную пробирку вливаем 1-2 см исследуемого раствора мелассы + 1- 2 см горячего раствора реактива Грисса. Показания:

- *мало нитритов (следы)* – чуть розовое окрашивание раствора, еле заметное
- *среднее содержание* – розовое окрашивание
- *много нитритов* – от малинового до красно-бурого цвета, иногда с осадком.

Нитриты обладают высокой токсичностью. Даже их присутствие в среде в концентрации 0,0005 % приводит к торможению нормального почкования дрожжевых клеток. При содержании нитритов на уровне 0,004 % прирост биомассы дрожжей уменьшается на 40-50 %. Повышение концентрации до 0,02% практически полностью подавляет рост и размножение дрожжей и может вызывать их частичную гибель.



Рисунок 6 - ход выполнения анализа мелассы на нитриты

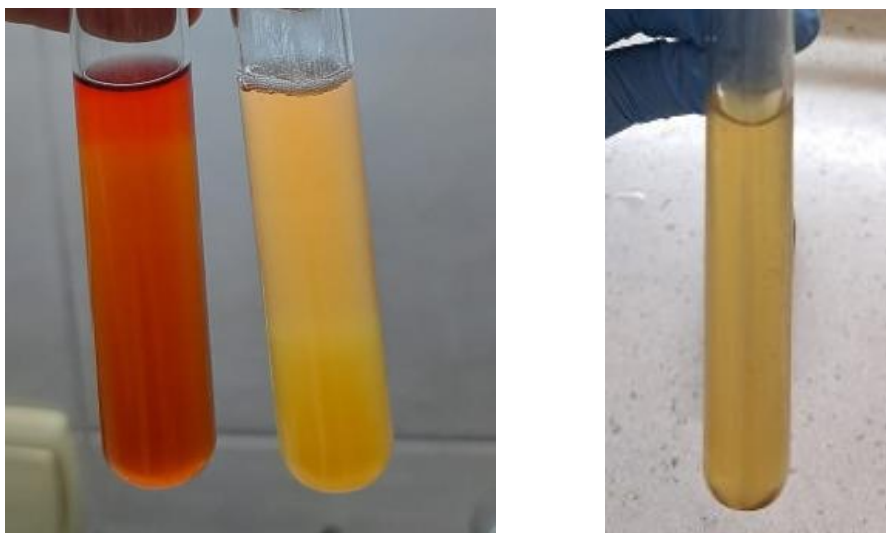


Рисунок 7- результат анализа на нитрифицирующие бактерии

В данном опыте мы исследовали 3 сахарных завода это:

- 1) ТОО «Аксуский сахарный завод»;
- 2) ТОО «Коксуский сахарный завод»;
- 3) ОАО «Черемновский сахарный завод».

Результат анализа на нитриты:

Аксу -Кант- нитрифицирующие бактерии нет .

Коксуский сахарный завод- нитрифицирующих бактерии нет

Черемновский сахарный завод – нитрифицирующих бактерии нет

Таблица 3 – Физико-химические показатели мелассы

Физико-химический показатель	Статистический показатель	Сахарный завод		
		Аксу-кант	Коксу-кант	Черемновский
рН	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$	6,98	$8,13 \pm 0,1956$	$7,6475 \pm 0,1047$
	$C_v, \%$		4,168	2,371
Удельный вес	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \text{кг/м}^3$	1,375	$1,3875 \pm 0,0037$	$1,387 \pm 0,0046$
	$C_v, \%$		0,465	0,585
Соединение сахара по прямой поляризации	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \%$	$45,975 \pm 0,098$	$50,4 \pm 0,3399$	$49,475 \pm 0,401$
	$C_v, \%$	0,371	1,168	1,404

Сумма сбражива- емых сахаров	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \%$	$\overline{44,355} \pm 1,023$	$\overline{46,2325} \pm 0,2191$	$\overline{45,6975} \pm 0,1519$
	$C_v, \%$	1,772	0,820	0,575
Содержа- ние сахароз- ы	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \%$	$\overline{42,565} \pm 0,363$	$\overline{44,8175} \pm 0,2085$	$\overline{44,03} \pm 0,4381$
	$C_v, \%$	1,478	0,806	1,723
Инвертн- ый сахар	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}, \%$	$\overline{1,7425} \pm 5,426$	$\overline{0,315} \pm 0,0173$	$\overline{0,25} \pm 0,0359$
	$C_v, \%$	9,399	9,523	24,873
	$C_v, \%$	9,399	9,523	24,873

В таблице 3 отображены результаты по физико-химическим методам исследования мелассы.

Как видно из таблицы 1, физико-химические показатели мелассы от трёх производителей находятся на относительно одном уровне по удельному весу (1,38-1,39 кг/м³) и сумме сбраживаемых сахаров (44,36-46,23), тогда как по показателям:

- рН слабокислое значение (6,98) показала меласса от производителя ТОО «Аксуский сахарный завод», щелочные – меласса от производителей ТОО «Коксуский сахарный завод» и ОАО «Черемновский сахарный завод» (8,13 и 7,65 соответственно);

- массовая доля сахарозы по прямой поляризации и содержание сахарозы показала наибольшее значение меласса от производителя ТОО «Коксуский сахарный завод» (50,4 %; 44,82 % соответственно), а наименьшее – меласса производителя ТОО «Аксуский сахарный завод» (45,98 %; 42,57 % соответственно);

- инвертного сахара меласса ТОО «Аксуский сахарный завод» имела более высокие значения (1,74 %) по сравнению с мелассой от производителей ТОО «Коксуский сахарный завод» (0,32 %) и ОАО «Черемновский сахарный завод» (0,25 %).

3.5 Определение содержания микробиологического состава мелассы

Для опыта мы использовали мелассу трех производителей :

- 1) ТОО «Аксуский сахарный завод»;
- 2) ТОО «Коксуский сахарный завод»;
- 3) ОАО «Черемновский сахарный завод».

Проводили контроль бактериологической частоты на присутствие диких дрожжей, плесневых грибов, КМФАМ и кишечной палочки на агаризованных средах сабуро,эндо,лизин, МПА.

Согласно ГОСТ 31747-2012, ГОСТ 10444.12-2013, ГОСТ 10444.15-94 определяли микробиологический состав мелассы.

Для определения бактериологической частоты готовили агаризованные питательные среды: сабуро, лизин, эндо, МПА

Согласно ГОСТ ISO 11133-2016 для приготовления питательных сред мы использовали дистиллированную воду и готовые порошкообразные среды. Питательные среды готовили на 500 мл. Взвешивали питательные среды согласно инструкции.

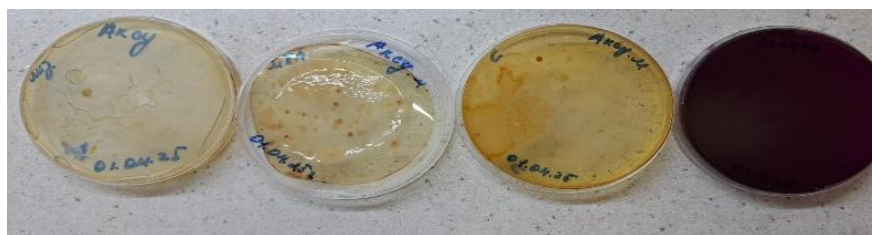
Приготовление лизина :

1) Лизин готовили на основе простой воды и стерилизовали 20 минут в автоклаве.

- 500 мл воды
- глюкоза-25 гр, сразу 50 мл разбавляем водой
- лизин-1,5 гр
- KH_2PO_4 -0,5 гр
- MgSO_4 -0,5 гр
- FeSO_4 -крупинку 1-2 шт
- агар бактериологический-7,5 гр

Далее 2) Остальные питательные среды эндо, сабуро готовили на основе дистиллированной воды и стерилизовали 15 минут в автоклаве [233].

Согласно ГОСТ 30561-2017 ,взвесили 10 г мелассы и смешали со 100 мл стерильной воды, как указано в ISO 7218 [233] пипеткой набирали 1 мл раствора мелассы и с помощью бактериологической петли распределяли раствор мелассы на чашки петри со средами ЭНДО,МПА, сабуро и лизин. Оставили в термостат на 2 суток при температуре 34 °С чашки петри с лизин и сабуро , при температуре 37 °С чашки петри с МПА и эндо.



1- Аксу -Кант



2- Коксуский сахарный завод



3- Черемновский сахарный завод

Рисунок 8 — Результат микробиологического контроля

Таблица 4– Результат микробиологического контроля

Меласса (Завод)	КМФАМ ГОСТ 10444.15-94	Плесень/ дрожжи ГОСТ 10444.12- 2013	Дикие дрожжи	БГКП ГОСТ 31747-2012
	МПА	Сабуро	Лизин	Эндо
Коксуский сахарный завод	48 колоний	—	—	—
Аксу-Кант	75 колоний	2 колонии плесени/ 2 колонии дрожжей	—	—
Черемновский сахарный завод	23 колонии	9 колоний плесени	—	—

Микробиологические исследования показали, как это отображено в таблице 4, отсутствие в трех видах меласс диких дрожжей, БГКП и нитритобразующих бактерий. Содержание плесневых грибов было зафиксировано (не более 10 колоний) для меласс от производителей ТОО «Аксуский сахарный завод» и ОАО «Черемновский сахарный завод», а в мелассе ТОО «Коксуский сахарный завод» плесневых грибов не обнаружено. Обсемененность КМФАМ для трех видов меласс определено на уровне 23 (ОАО «Черемновский сахарный завод»), 48 (ТОО «Коксуский сахарный завод») и 75 (ТОО «Аксуский сахарный завод») колоний. Полученные результаты свидетельствуют, что все три вида мелассы соответствуют по биобезопасности требованиям качества.

3.6 Изучение влияния физико-химических факторов на процесс культивирования *Saccharomyces cerevisiae* на модифицированной среде

Для данного опыта я взвесила около 25 г мелассы в чистую 0,5-литровую колбу (нестерильную), довела ее водопроводной водой до 5 Ва.

Для данного опыта мы подготавливали 6 пробирок мелассы с фактическим рН ($\text{pH} = 7,8$) и 6 пробирок мелассы с измененным рН ($\text{pH}=4,97-5,07$). В итоге у нас было 12 пробирок мелассы.

рН мы изменяли с помощью аммиачной и ортофосфорной кислоты.

Разливала мелассу по 10 мл в 12 пробирок и стерилизовала при 0,7 атм. 30 мин. Делала первый пересев дрожжей, для этого после охлаждения 2 пробирки подписали А1 и В1 и добавили в пробирки с мелассой по 1 капле стерильной пипеткой разведенных в стерильной воде дрожжей. Засеянные пробирки в стаканчике с ватой поставили в термостат на 24 часа при температуре 34 °С.

Делала второй пересев дрожжей, для этого через 24 ч достала пробирки засеянные и верхний слой раствора аккуратно слила над спиртовкой в стакан оставляя в пробирке 0,5 см осадка, там должны быть дрожжи. Пипеткой 1 каплю этого осадка в следующие пробирки А1 в А2, В1 в В2. Оставшийся осадок смотрела под микроскоп. Результаты записывала, указывая количество клеток в поле зрения, степень почкования, морфологические особенности клеток, количество мертвых клеток в поле зрения, наличие примесей и бактерий.

Засеянные пробирки А2 и В2 убрала в термостат на 24 часа. На след день делали пересев аналогично вчерашнему дню. (А2 в А3, В2 в В3 и т.д. по дням). Также при этом зафиксировали результат.

Пересевы в этом опыте мы делаем для того чтобы посмотреть как почкуются дрожжи в разные дни.

На рисунках 9 и 10 представлены фотоизображения, показывающие результаты 72 ч культивирования дрожжей в зависимости от рН среды (5,07; 7,8) и температурного режима (34 °С, 37 °С).

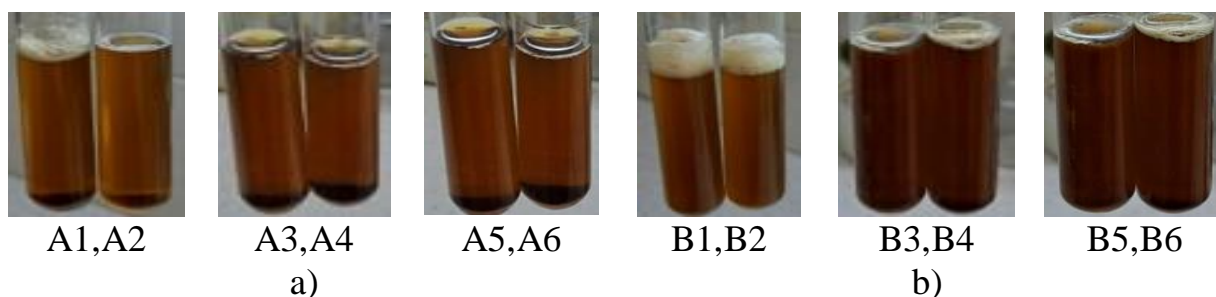


Рисунок 9 – Культивирование дрожжей при 34 °С в первый (А1,А2; В1,В2), второй (А3,А4; В3,В4) и третий (А5,А6; В5,В6) день пересева при рН 5,07 (а: А1,А2,А3,А4,А5,А6) и 7,8 (б: В1,В2,В3,В4,В5,В6)

Таблица 5– Особенности роста дрожжей *saccharomyces cerevisiae* на первый день пересева

День пересева	Первый день пересева			
Номер	A1	A2	B1	B2
Ph	ph =5		ph =7,8	
Степень почкуемости, %	25 % почкуются	25 % почкующихся	26% почкующихся	35% почкующихся
Морфологические признаки клеток	клетки мелкие однородные округлые	клетки мелкие, есть крупные	округлые однородные клетки	крупные почкующиеся клетки

Таблица 6– Особенности роста дрожжей *saccharomyces cerevisiae* на второй день пересева

День пересева	Второй день пересева			
Номер	A3	A4	B3	B4
Ph	ph =5		ph =7,8	
Степень почкуемости, %	40 % почкуются	50 % почкуются	6% почкуются	30 % мелких клеток почкуются
Морфологические признаки клеток	Клетки мелкие	крупные однородные клетки	клетки мелкие и крупные , есть механические включения	одинокных крупных клеток много

Таблица 7– Особенности роста дрожжей *saccharomyces cerevisiae* на третий день пересева

День пересева	Третий день пересева			
Номер	A5	A6	B5	B6
Степень почкуемости, %	почкуются не все	10 % почкуются	Почкующихся клеток почти нет	5 % почкуются
Морфологические признаки клеток	Очень много раздутых развитых клеток, много мертвых клеток	много раздутых клеток, 10 мертвых клеток	клетки стали недоразвитые ,с мелкими почками	клетки мелкие

В результате анализа биопробы было выявлено что оптимальный рост дрожжи достигают на 3й день пересева при $\text{pH}=4,97-5,07$. Рост дрожжей при фактическом $\text{pH}=7,8$ на первый день пересева был обильным, но с каждым последующим пересевом размножение дрожжей становилось медленным и наблюдался низкий рост дрожжей, мертвых клеток становилось больше. Почкующихся клеток при фактическом $\text{pH}=7,8$ при $\text{pH}=4,97-5,07$ к 3 пересеву становится меньше.

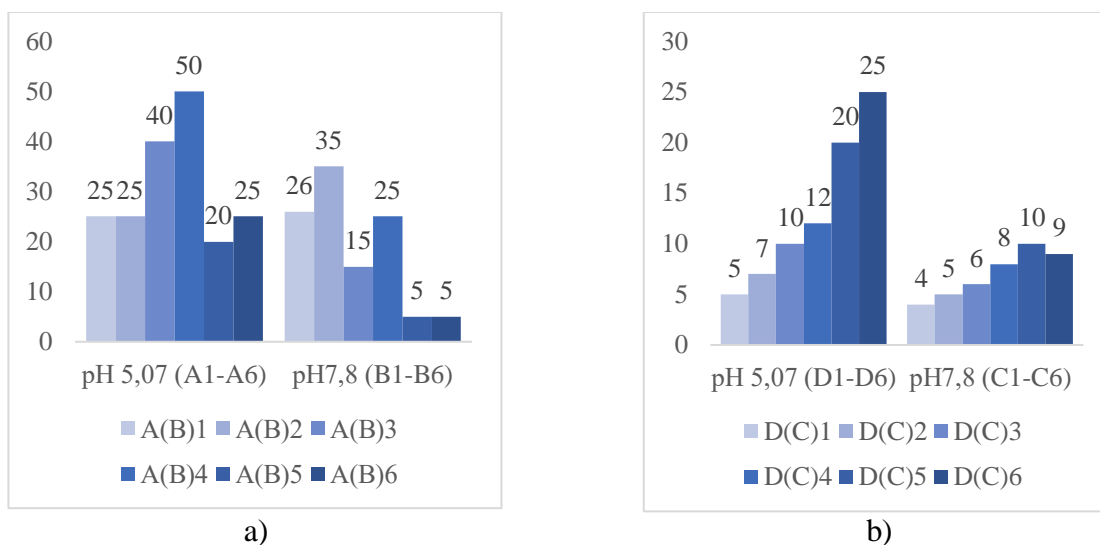


Рисунок 12 – Степень почкуемости *Saccharomyces cerevisiae* в различные дни пересева при температурах 34 °С (а) и 37 °С (b) и pH 5,07 и 7,8

Полученные дрожжевые клетки соответствовали требованиям к морфологии (овальные и округлые формы клеток, имели чёткие и гладкие контуры) и степени почкуемости дрожжей (в активной стадии роста (А4, В4) почкующихся клеток от общего числа было не менее 40–50 % (рисунок 12). Низкий процент почкующихся клеток в активной стадии роста (ниже 40 %) может свидетельствовать о сниженной активности, либо о неблагоприятных условиях. Как видим из рисунка 12 (b), по степени почкуемости дрожжи, культивированные при температуре 37 °С уступали дрожжам, культивированных при температуре 34 °С.

3.7 Технология совершенствования мелассы на основе применения витаминов В1 и В2

Концентрацию дрожжей в культуральной среде определяли путем выделения на фильтрах. Для этого отбирали 100 мл среды с витаминами, отфильтровывали на воронке Бюхнера через двйоной фильтр крупнопористой бумаги. Фильтрование закончили при получении пласта прессованных дрожжей плотной консистенции. Дрожжи взвешивали на технических весах ,не снимая их с фильтровальной бумаги, причем нижний кружок фильтровальной бумаги помещали на чашку весов с гирями , чтобы избежать потери дрожжей. Взвесили пласт дрожжей, определяли влажность и вносили коррективы в массу дрожжей, чтобы установить концентрации прессованных дрожжей стандартной влажностью 75 %.

Лабораторные исследования начали с приготовления питательной

среды. Для приготовления среды 3 л стерильной мелассы разбавили дистиллированной водой и довели до плотности равной 17 Ба ($\rho=17$ Ба), на аналитических весах взвесили соли: 27 г NaCl, 0.25 г Mg сернокислый, 0.25 г Zn, 0.0025 г янтарная кислота и добавили к разбавленному раствору мелассы, затем среду разлили по колбам по 500 мл и отправили в автоклав при $\rho=1.1$ атм на полчаса.

Далее к уже стерильной мелассе добавили витамины B1, B6 и засеяли среду дрожжами. Получили 2 колбы с витамином B1, 2 колбы с витамином B6, 2 колбы с дрожжами без витаминов для сравнения. Затем поставили среды с витаминами на шейкер на 24 часа

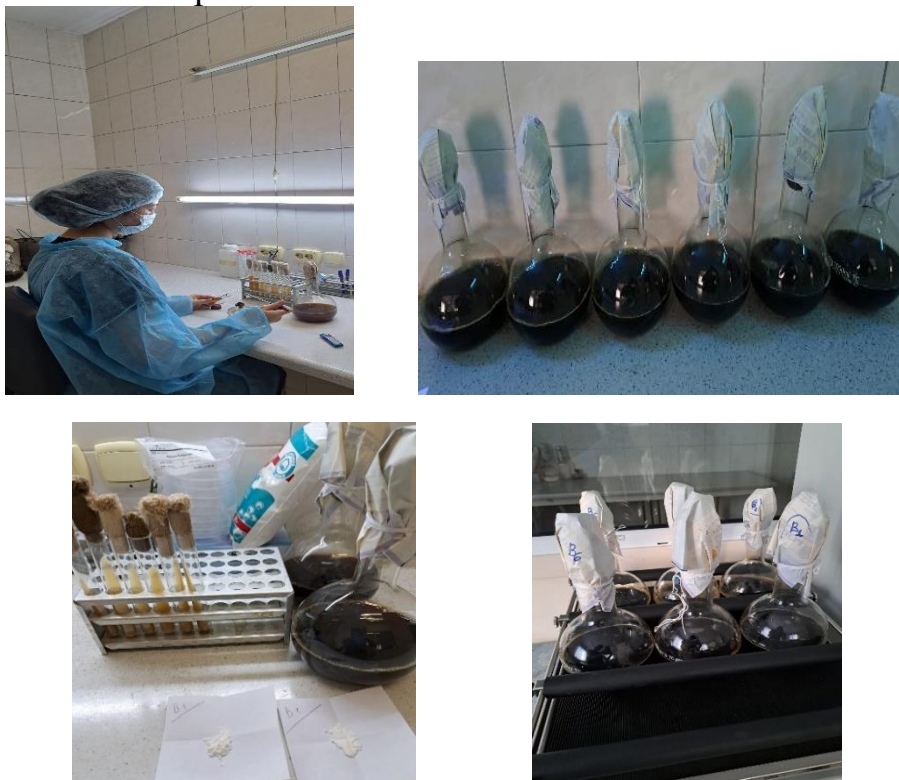


Рисунок 13- Культивирование дрожжей в питательной среде с витаминами

Затем определяли концентрацию дрожжей на воронке Бюхнера, составляли зависимость влияния витаминов на накопление дрожжей в среде.

Для того чтобы определить концентрацию измеряли 100 мл среды с витаминами B1, B6 и без витаминов для сравнения, затем ставили накопление на воронку Бюхнера на 15-20 минут, взвесили полученную биомассу на аналитических весах и зафиксировали полученные результаты.



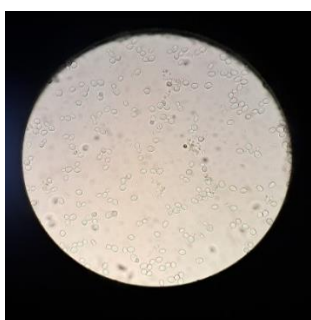
а) культивирование дрожжей



б) определение накопления массы дрожжей



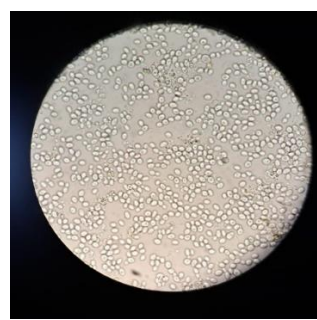
Рисунок 14 – Культивирование *Saccharomyces cerevisiae* на модифицированной мелассе



а)



б)



с)

Рисунок 15 — Рост *Saccharomyces cerevisiae* в средах с мелассой при pH=5,07 без добавок (а) и с добавлением витаминов В1 (б) и В6 (с)

Таблица 8 – Массообразование *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании на модифицированной мелассе

Модифицированная среда	Показатель	
	Статистический параметр	Экспериментально полученный показатель
Контроль	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$, г/л	$30,7 \pm 1,9$
	C_v , %	10
С витамином В1(тиамин)	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$, г/л	$37,8 \pm 3,2$
	C_v , %	10
С витамином В6 (пиридоксин)	$\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$, г/л	$42,1 \pm 5,4$
	C_v , %	20

Интерпретируя результаты, отраженные на рисунке 15 и в таблице 8, можно заключить, что:

1) модифицированные среды с витаминами дают больший выход биомассы по сравнению с контрольной группой: 37,8 и 42,1 г/л против 30,7 г/л;

2) витамин В6 обеспечивает более высокий выход массы дрожжей ($42,1 \pm 5,4$ г/л), по сравнению с витамином В1 ($37,8 \pm 3,2$ г/л);

3) в средах без добавок клетки дрожжей мелкие, тогда как с витаминами клетки имеют более крупные формы.

Как видим, наилучший результат показали дрожжи, культивированные в модифицированной среде с добавлением витамина В6 (пиридоксин).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование влияния физико-химических параметров на культивирование дрожжей влияет на выход биомассы и качество продукта. Успешное коммерческое производство *S. cerevisiae* определяется биологическими (штамм *S. cerevisiae* с хорошими селекционными характеристиками; размер урожая и др.) и технологическими факторами (качество патоки: природа, состав и концентрация субстрата; дешёвый, подходящий для культивирования источник углерода; легко контролируемый процесс культивирования для получения наиболее жизнеспособной биомассы, физико-химические условия культивирования, прежде всего температура, pH; продолжительность культивирования; разработка процесса консервирования и др. в соответствии с условиями).

Исследование влияния физико-химических параметров на культивирование дрожжей позволяет не только повысить биомассу и продуктивность, но и адаптировать условия культивирования под конкретные технологические задач.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., et al. Life with 6000 genes // *Science*. — 1996. — Vol. 274. — P. 546–567.
- 2 Greig D., Leu J.Y. Natural history of budding yeast // *Current Biology*. — 2009. — Vol. 19, No. 19. — P. R886–R890.
- 3 Mortimer R., Polsinelli M. On the origins of wine yeast // *Research in Microbiology*. — 1999. — Vol. 150. — P. 199–204.
- 4 Goddard M.R., Greig D. *Saccharomyces cerevisiae*: a nomadic yeast with no niche? // *FEMS Yeast Research*. — 2015. — Vol. 15. — Article fov009.
- 5 Mortimer R., Polsinelli M. On the origins of wine yeast // *Research in Microbiology*. — 1999. — Vol. 150. — P. 199–204.
- 6 Stefanini I., Dapporto L., Legras J.L., et al. Role of social wasps in *Saccharomyces cerevisiae* ecology and evolution // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. — 2012. — Vol. 109. — P. 13398–13403.
- 7 Buser C.C., Newcomb R.D., Gaskett A.C., et al. Niche construction initiates the evolution of mutualistic interactions // *Ecology Letters*. — 2014. — Vol. 17. — P. 1257–1264.
- 8 Drumonde-Neves J., Franco-Duarte R., Vieira E., Mendes I., Lima T., Schuller D., Pais C. Differentiation of *Saccharomyces cerevisiae* populations from vineyards of the Azores Archipelago: geography and ecology // *Food Microbiology*. — 2018. — Vol. 74. — P. 151–162.
- 9 Stewart G.G. *Saccharomyces* | *Saccharomyces cerevisiae* // *Encyclopedia of Food Microbiology*. — 2nd ed. — Oxford: Academic Press, 2014. — P. 309–315.
- 10 Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., et al. Life with 6000 genes // *Science*. — 1996. — Vol. 274. — P. 546–567.
- 11 Brückner S., Mösch H.-U. Choosing the right lifestyle: adhesion and development in *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Microbiology Reviews*. — 2012. — Vol. 36. — P. 25–58.
- 12 Wheals A.E., Basso L.C., Alves D.M., Amorim H.V. Fuel ethanol after 25 years // *Trends in Biotechnology*. — 1999. — Vol. 17. — P. 482–487.
- 13 Biddenne C., Blondin B., Dequin S., Vezinhet F. Analysis of the chromosomal DNA polymorphism of wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* // *Current Genetics*. — 1992. — Vol. 22. — P. 1–7.
- 14 Nadal D., Carro D., Fernandez-Larrea J., Pina B. Analysis and dynamics of the chromosomal complements of wild sparkling-wine yeast strains // *Applied and Environmental Microbiology*. — 1999. — Vol. 65. — P. 1688–1695.
- 15 Haber J.E. Mating-type genes and MAT switching in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*. — 2012. — Vol. 191. — P. 33–64.
- 16 Brückner S., Mösch H.-U. Choosing the right lifestyle: adhesion and development in *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Microbiology Reviews*. — 2012. — Vol. 36. — P. 25–58.

- 17 Haber J.E. Mating-type genes and MAT switching in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*. — 2012. — Vol. 191. — P. 33–64.
- 18 Kraft P., Pharoah P., Chanock S.J., et al. Genetic variation in the HSD17B1 gene and risk of prostate cancer // *PLoS Genetics*. — 2005. — Vol. 1, No. 5. — Article e68.
- 19 Haber J.E. Mating-type genes and MAT switching in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*. — 2012. — Vol. 191. — P. 33–64.
- 20 Haber J.E. Mating-type gene switching in *Saccharomyces cerevisiae* // *Annual Review of Genetics*. — 1998. — Vol. 32. — P. 561–599.
- 21 Coluccio A.E., Rodriguez R.K., Kernan M.J., Neiman A.M. The yeast spore wall enables spores to survive passage through the digestive tract of *Drosophila* // *PLoS ONE*. — 2008. — Vol. 3. — Article e2873.
- 22 Reuter M., Bell G., Greig D. Increased outbreeding in yeast in response to dispersal by an insect vector // *Current Biology*. — 2007. — Vol. 17. — P. R81–R83.
- 23 Friedman N. Growing yeasts (robotically) // *The Friedman Lab Chronicles*. — 2011.
- 24 Меледина Т.В., Давыденко С.Г. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм. — СПб.: Университет ИТМО, 2015. — 88 с.
- 25 Kron S.J., Styles C.A., Fink G.R. Symmetric cell division in pseudohyphae of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Molecular Biology of the Cell*. — 1994. — Vol. 5. — P. 1003–1022.
- 26 Winans M.J. Yeast hybrids in brewing // *Fermentation*. — 2022. — Vol. 8, No. 2. — Article 87.
- 27 Dujon B., Sherman D., Fischer G., et al. Genome evolution in yeasts // *Nature*. — 2004. — Vol. 430. — P. 35–44.
- 28 Souciet J.L., Dujon B., Gaillardin C., et al. Comparative genomics of protoploid Saccharomycetaceae // *Genome Research*. — 2009. — Vol. 19. — P. 1696–1709.
- 29 O'Shea D.G., Walsh P.K. The effect of culture conditions on the morphology of the dimorphic yeast *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* // *Applied Microbiology and Biotechnology*. — 2000. — Vol. 53. — P. 316–322.
- 30 Gimeno C.J., Ljungdahl P.O., Styles C.A., Fink G.R. Unipolar cell divisions in *Saccharomyces cerevisiae* lead to filamentous growth // *Cell*. — 1992. — Vol. 68. — P. 1077–1090.
- 31 Roberts R.L., Fink G.R. Elements of a single MAP kinase cascade mediate mating and invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genes & Development*. — 1994. — Vol. 8. — P. 2974–2985.
- 32 Mösch H.-U., Fink G.R. Dissection of filamentous growth by transposon mutagenesis in *Saccharomyces cerevisiae* // *Genetics*. — 1997. — Vol. 145. — P. 671–684.

- 33 Liu H., Styles C.A., Fink G.R. *Saccharomyces cerevisiae* S288C has a mutation in FLO8 required for filamentous growth // *Genetics*. — 1996. — Vol. 144. — P. 967–978.
- 34 Bardwell L., Cook J.G., Zhu-Shimoni J.X., et al. Repression by unactivated MAP kinase Kss1 requires Dig1 and Dig2 proteins // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. — 1998. — Vol. 95. — P. 15400–15405.
- 35 Walker G.M. *Yeast Physiology and Biotechnology*. — Chichester: John Wiley & Sons, 1998.
- 36 Walker G.M. Yeasts // In: Schaechter M. (ed.) *Eukaryotic Microbes*. — Oxford: Elsevier, 2011. — P. 3–17.
- 37 Scheffler I.E. A century of mitochondrial research: achievements and perspectives // *Mitochondrion*. — 2000. — Vol. 1. — P. 3–31.
- 38 Zlotnik H., Fernandez M.P., Bowers B., Cabib E. Mannoproteins form an external cell wall layer determining wall porosity in *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of Bacteriology*. — 1984. — Vol. 159. — P. 1018–1026.
- 39 De Nobel J.G., Klis F.M., Munnik T., Priem J., Van den Ende H. An assay of relative cell wall porosity in yeasts // *Yeast*. — 1990. — Vol. 6. — P. 483–490.
- 40 Cabib E., Roberts R., Bowers B. Synthesis of the yeast cell wall and its regulation // *Annual Review of Biochemistry*. — 1982. — Vol. 51. — P. 763–793.
- 41 Sadeghi F., Torab M., Khatlab M., Homayouni A., Afrasiabi Garekani H. Improvement of physico-mechanical properties of partially amorphous acetaminophen using spray drying // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. — 2013. — Vol. 16, No. 10. — P. 1100–1108.
- 42 Tzagoloff A., Dieckmann C.L. PET genes of *Saccharomyces cerevisiae* // *Microbiological Reviews*. — 1990. — Vol. 54. — P. 211–225.
- 43 Hermann G.J., Shaw J.M. Mitochondrial dynamics in yeast // *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. — 1998. — Vol. 14. — P. 265–303.
- 44 Kuthan M., Devaux F., Janderová B., Slaninová I., Jacq C., Palková Z. Domestication of wild *Saccharomyces cerevisiae* is accompanied by changes in gene expression and colony morphology // *Molecular Microbiology*. — 2003. — Vol. 47. — P. 745–754.
- 45 Smith A.E., Zhang Z., Thomas C.R., Moxham K.E., Middelberg A.P. The mechanical properties of *Saccharomyces cerevisiae* // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. — 2000. — Vol. 97. — P. 9871–9876.
- 46 Koch A.L. Development of the saccus marked emergence of the bacteria // *ASM News*. — 2003. — Vol. 69. — P. 229–233.
- 47 Morris G.J., Winters L., Coulson G.E., Clarke K.J. Effect of osmotic stress on ultrastructure and viability of *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of General Microbiology*. — 1986. — Vol. 132. — P. 2023–2034.
- 48 Osumi M. The ultrastructure of yeast: cell wall structure and formation // *Micron*. — 1998. — Vol. 29. — P. 207–233.

- 49 Tokunaga M., Kusamichi M., Koike H. Ultrastructure of the outermost cell wall layer of *Candida albicans* // *Journal of Electron Microscopy*. — 1986. — Vol. 35. — P. 237–246.
- 50 Baggett J., et al. Fluorescent labeling of yeast // *Current Protocols in Cell Biology*. — 2003.
- 51 Меледина Т.В., Давыденко С.Г. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм. — СПб.: Университет ИТМО, 2015. — 88 с.
- 52 Kraft P., Pharoah P., Chanock S.J., et al. Genetic variation in the HSD17B1 gene and risk of prostate cancer // *PLoS Genetics*. — 2005. — Vol. 1, No. 5. — Article e68.
- 53 Dickinson R., Dickinson J. Carbon metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* // In: *The Metabolism and Molecular Physiology of Saccharomyces cerevisiae*. — London: Taylor & Francis, 1999. — P. 23–55.
- 54 Bušić A., Marđetko N., Kundas S., et al. Bioethanol production from renewable raw materials: a review // *Food Technology and Biotechnology*. — 2018. — Vol. 56, No. 3. — P. 289–311.
- 55 Goddard M.R. Quantifying the complexities of *Saccharomyces cerevisiae* ecosystem engineering via fermentation // *Ecology*. — 2008. — Vol. 89. — P. 2077–2082.
- 56 Wenger J.W., Piotrowski J., Nagarajan S., et al. Hunger artists: yeast adapted to carbon limitation // *PLoS Genetics*. — 2011. — Vol. 7. — Article e1001372.
- 57 Almeida J.R.M., Modig T., Petersson A., et al. Increased tolerance to inhibitors in lignocellulosic hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae* // *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. — 2007. — Vol. 82. — P. 340–349.
- 58 Steensels J., Snoek T., Meersman E., et al. Improving industrial yeast strains // *FEMS Microbiology Reviews*. — 2014. — Vol. 38. — P. 947–995.
- 59 Badotti F., Dário M.G., Alves S.L., et al. Switching the mode of sucrose utilization by *Saccharomyces cerevisiae* // *Microbial Cell Factories*. — 2008. — Vol. 7. — Article 4.
- 60 Massoud R., Hadiani M.R., et al. Bioremediation of heavy metals using *Saccharomyces cerevisiae* // *Electronic Journal of Biotechnology*. — 2019. — Vol. 37. — P. 56–60.
- 61 Rodriguez A., Kildegaard K.R., Li M., Borodina I., Nielsen J. Establishment of a yeast platform strain for production of p-coumaric acid // *Metabolic Engineering*. — 2015. — Vol. 31. — P. 181–188.
- 62 Jouhten P., Boruta T., Andrejev S., et al. Yeast metabolic chassis designs // *Scientific Reports*. — 2016. — Vol. 6. — Article 29694.
- 63 Oliver S.G., et al. The complete DNA sequence of yeast chromosome III // *Nature*. — 1992. — Vol. 357. — P. 38–46.
- 64 Goffeau A., Barrell B.G., Bussey H., et al. Life with 6000 genes // *Science*. — 1996. — Vol. 274. — P. 546–567.

- 65 Shrivastava A., Pal M., Sharma R.K. *Pichia* as yeast cell factory // *Journal of Bioresources and Bioproducts*. — 2023. — Vol. 8. — P. 108–124.
- 66 Ienczak J.L., de Oliveira Pereira I., da Silveira J.M. Utilization of *Saccharomyces cerevisiae* as a source of natural food additives // In: *Natural Additives in Foods*. — Cham: Springer, 2023. — P. 185–214.
- 67 Mukherjee A., Verma J.P., et al. Yeast as a potential bio-agent in sustainable agriculture // *Applied Microbiology and Biotechnology*. — 2020. — Vol. 104. — P. 1497–1510.
- 68 Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.S., Hatziloukas E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications // *AIMS Microbiology*. — 2020. — Vol. 6, No. 1. — P. 1–31.
- 69 Bahafid W., Joutey N.T., et al. Yeast biomass as an alternative for bioremediation of heavy metals // In: Morata A. (ed.) *Yeast – Industrial Applications*. — London: IntechOpen, 2017. — P. 269–289.
- 70 Nielsen J., Jewett M.C. Impact of systems biology on metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS Yeast Research*. — 2008. — Vol. 8. — P. 122–131.
- 71 Kjeldsen T. Yeast secretory expression of insulin precursors // *Applied Microbiology and Biotechnology*. — 2000. — Vol. 54. — P. 277–286.
- 72 Maury J., Asadollahi M., Møller K., Clark A., Nielsen J. Microbial isoprenoid production // *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. — 2005. — Vol. 100. — P. 19–51.
- 73 Miklos G., Rubin G. The role of the genome project in determining gene function // *Cell*. — 1996. — Vol. 86. — P. 521–529.
- 74 Stewart G.G. *Saccharomyces* species in beer production // *Beverages*. — 2016. — Vol. 2, No. 4. — Article 34.
- 75 Hellborg L., Piskur J. Yeast diversity in the brewing industry // In: Preedy V.R. (ed.) *Beer in Health and Disease Prevention*. — Oxford: Elsevier, 2009. — P. 1068–1073.
- 76 Walker G.M., Stewart G.G. *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages // *Beverages*. — 2016. — Vol. 2. — Article 30.
- 77 Ejiofor A.O., Okafor N., Ugwueze E.N. Development of baking yeast from Nigerian palm wine yeasts // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. — 1994. — Vol. 10. — P. 199–202.
- 78 Heitmann M., Zannini E., Arendt E. Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites on bread quality // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. — 2018. — Vol. 58. — P. 1152–1164.
- 79 Menezes R., Tenreiro S., Macedo D., et al. From the baker to the bedside: yeast models of Parkinson's disease // *Microbial Cell*. — 2015. — Vol. 2. — P. 262–279.
- 80 Nandy S.K., Srivastava R.K. A review on sustainable yeast biotechnological processes and applications // *Microbiol. Res.* — 2018. — Vol. 207. — P. 83–90. doi: 10.1016/j.micres.2017.11.013.

81 Kareena A., Siripongvutikorn S., Usawakesmanee W., Wichienchot S. In vitro evaluation of probiotic bacteria and yeast growth, pH changes and metabolites produced in a pure culture system using protein base products with various added carbon sources // *Food Sci. Technol.* — 2021. — Ahead of print. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/fst.18321>.

82 Rangel A.E.T., Gómez Ramírez J.M., González Barrios A.F. From industrial by-products to value added compounds: design of efficient microbial cell factories by coupling systems metabolic engineering and bioprocesses // *Biofuels Bioprod. Biorefin.* — 2020. — Vol. 14(6). — P. 1228–1238. doi: 10.1002/bbb.2127.

83 Amoah J., Ogura K., Schmetz Q., et al. Co-fermentation of xylose and glucose from ionic liquid pretreated sugar cane bagasse for bioethanol production using engineered xylose-assimilating yeast // *Biomass Bioenergy*. — 2019. — Vol. 128. — P. 105283. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105283.

84 Martí Quijal F.J., Remize F., Meca G., Ferrer E., Ruiz M.J., Barba F.J. Use of food by-products and fermentation for bioactives // *Agron.* — 2020. — Vol. 10. — P. 133. doi: 10.3390/agronomy10010133.

85 Shiferaw T.N., Augustin M.A. Fermentation for tailoring the technological and health related functionality of food products // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* — 2019. — Vol. 60(17). — P. 2887–2913. doi: 10.1080/10408398.2019.1666250.

86 Nandy S.K., Srivastava R.K. A review on sustainable yeast biotechnological processes and applications // *Microbiol. Res.* — 2018. — Vol. 207. — P. 83–90. doi: 10.1016/j.micres.2017.11.013.

87 Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.-S., Hatziloukas E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications // *AIMS Microbiol.* — 2020. — Vol. 6(1). — P. 1–31. doi: 10.3934/microbiol.2020001.

88 Khlibyshyn Y., Pochapska I. Study of cultivation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in different mediums // *Chem. Technol. Appl. Subst.* — 2021. — Vol. 4(2). — P. 122–126. doi: 10.23939/ctas2021.02.122.

89 Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.-S., Hatziloukas E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications // *AIMS Microbiol.* — 2020. — Vol. 6(1). — P. 1–31. doi: 10.3934/microbiol.2020001.

90 Stanzer D., Hanousek Čiča K., Blesić M., Smajić Murtić M., Mrvčić J., et al. Alcoholic fermentation as a source of congeners in fruit spirits // *Foods*. — 2023. — Vol. 12(10). — P. 1951. doi: 10.3390/foods12101951.

91 Tarimo C.B., Kaale L.D. Use of yeasts in traditional alcoholic beverages in Tanzania and potential opportunities // *J. Am. Soc. Brew. Chem.* — 2023. — Vol. 81(1). — P. 1–11. doi: 10.1080/03610470.2021.2013677.

92 Gibson B.R., Lawrence S.J., Leclaire J.P.R., Powell C.D., Smart K.A. Yeast responses to stresses associated with industrial brewery handling // *FEMS Microbiol. Rev.* — 2007. — Vol. 31. — P. 535–569. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00076.x.

93 Sun J., Xu S., Du Y., Yu K., Jiang Y., et al. Accumulation and enrichment of trace elements by yeast cells and their applications: a critical review

// Microorganisms. — 2022. — Vol. 10(9). — P. 1746. doi: 10.3390/microorganisms10091746.

94 Adadi P., Barakova N.V., Muravyov K.Y., Krivoshapkina E.F. Designing selenium functional foods and beverages: a review // Food Res. Int. — 2019. — Vol. 120(9). — P. 708–725. doi: 10.1016/j.foodres.2018.11.029.

95 Alijan S., Hosseini M., Esmaeili S., Khosravi-Darani K. Impact of ultrasound and medium condition on production of selenium-enriched yeast // Electron. J. Biotechnol. — 2022. — Vol. 60. — P. 36–42. doi: 10.1016/j.ejbt.2022.09.004.

96 Ratcliff W.C., Pentz J.T., Travisano M. Tempo and mode of multicellular adaptation in experimentally evolved *Saccharomyces cerevisiae* // Evolution. — 2013. — Vol. 67(6). — P. 1573–1581.

97 Wang H., Wang Y.H., Wu W.S. Yeast cell cycle transcription factors identification by variable selection criteria // Gene. — 2011. — Vol. 485(2). — P. 172–176.

98 Perli T., Moonen D.P.I., van den Broek M., et al. Adaptive laboratory evolution and reverse engineering of single-vitamin prototrophies in *Saccharomyces cerevisiae* // Appl. Environ. Microbiol. — 2020. — Vol. 86. — P. 1–23.

99 Fekete S., Ganzler K., Fekete J. Fast and sensitive determination of Polysorbate 80 in solutions containing proteins // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2010. — Vol. 52. — P. 672–679.

100 Bušić A., Marđetko N., Kundas S., Morzak G., Belskaya H., et al. Bioethanol production from renewable raw materials and its separation and purification: a review // Food Technol. Biotechnol. — 2018. — Vol. 56(3). — P. 289–311.

101 Piccirillo S., Kapros T., Honigberg S.M. Phenotypic plasticity within yeast colonies: differential partitioning of cell fates // Curr. Genet. — 2016.

102 Bruckner S., Mosch H.U. Choosing the right lifestyle: adhesion and development in *Saccharomyces cerevisiae* // FEMS Microbiol. Rev. — 2012. — Vol. 36. — P. 25–58.

103 Влияние добавления питательных веществ на прединакуляционный рост *S. cerevisiae* для применения в процессах SSF // ScienceDirect.

104 Evans I.H. Yeast strains for baking: recent developments. In: Spencer J.F.T., Spencer D.M., editors. Yeast technology. Berlin: Springer-Verlag; 1990. — P. 13–54.

105 Reed G., Nagodawithana T.G. Yeast technology. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold; 1991.

106 Chen S.L., Chider M. Production of baker's yeast. In: Blanch H., Drew S., Wang D.I.C., editors. Comprehensive biotechnology. Vol. 3. New York: Pergamon Press; 1985. — P. 429–462.

107 Baedekers R.F., van Dam H.W., van der Plait J.B., et al. Developments in baker's yeast production. In: Verachtert H.R., editor. Yeast biotechnology and biocatalysis. New York: Marcel Dekker; 1990. — P. 103–146.

- 108 Wood D., O'Rourke T. Glucose syrups in the fermentation industries. In: Kearsley M.W., Dziedzic S.Z., editors. *Handbook of starch hydrolysis products and their derivatives*. Boston: Springer; 1995. — P. 230–244.
- 109 Tse T.J., Wiens D.J., Chicilo F., et al. Value-added products from ethanol fermentation—a review // *Fermentation*. — 2021. — Vol. 7(4). — P. 267.
- 110 Rosentrater K.A., Yang L. Toward an understanding of physical and biological properties of corn-based whole stillage, thin stillage, and condensed distillers solubles and changes thereof during storage // *Front. Energy Res.* — 2021. — Vol. 9. — P. 1–16.
- 111 Abdul Raman A.A., Tan H.W., Buthiyappan A. Two-step purification of glycerol as a value-added by-product from the biodiesel production process // *Front. Chem.* — 2019. — Vol. 7. — P. 774.
- 112 Xiberras J., Klein M., Nevoigt E. Glycerol as a substrate for *Saccharomyces cerevisiae*-based bioprocesses – knowledge gaps regarding the central carbon catabolism of this “non-fermentable” carbon source // *Biotechnol. Adv.* — 2019. — Vol. 37. — P. 1–15.
- 113 Reed G., Nagodawithana T.G. *Yeast technology*. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold; 1991.
- 114 Narendranath N.V., inventor; POET Research, Inc., assignee. Method and system for propagating a microorganism. United States patent US10900016. 2021 Jan 26.
- 115 Fuentes J.L., Parasie G.R.M., Poilpre E., et al., inventors; Lesaffre et Compagnie, assignee. Use of a carboniferous substitute for the production of yeast. European patent EP2257619. 2010 Dec 8.
- 116 Ferrari M.D., Bianco R., Froche C., et al. Baker's yeast production from molasses/cheese whey mixtures // *Biotech. Lett.* — 2001. — Vol. 23(1). — P. 1–4.
- 117 Zoghلامي A., Paës G. Lignocellulosic biomass: understanding recalcitrance and predicting hydrolysis // *Front. Chem.* — 2019. — Vol. 7. — P. 874.
- 118 Casal M., Cardos H., Leão C. Mechanism regulating transport of acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae* // *Microbiology*. — 1996. — Vol. 142. — P. 1385–1390.
- 119 Kleyn J., Hough J. The microbiology of brewing // *Annu. Rev. Microbiol.* — 1971. — Vol. 25. — P. 583–608.
- 120 Russel M., Bradshaw-Rouse J., Markwardt D., Heideman W. Changes in gene expression in the Ras/adenylate cyclase system of *Saccharomyces cerevisiae*: correlation with cAMP levels and growth arrest // *Mol. Biol. Cell.* — 1993. — Vol. 4. — P. 757–765.
- 121 Gancedo C., Serrano R. Energy-yielding metabolism. In: Rose A.H., Harrison J.S., editors. *The yeasts*, 2nd ed., vol. 3. New York: Academic Press; 1989. p. 205–257.
- 122 Gancedo J.M. Yeast carbon catabolite repression // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* — 1998. — Vol. 62. — P. 334–361.

- 123 van Dijken J.P., van den Bosch E., Hermans J.J., Rodrigues de Miranda L., Scheffers W.A. Alcoholic fermentation by “non-fermentative” yeasts // *Yeast*. — 1986. — Vol. 2. — P. 123–127.
- 124 Visser W., Scheffers W.A., Batenburg-van der Vegte W.H., van Dijken J.P. Oxygen requirements of yeasts // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1990. — Vol. 56. — P. 3785–3792.
- 125 Visser W., Scheffers W.A., Batenburg-van der Vegte W.H., van Dijken J.P. Oxygen requirements of yeasts // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1990. — Vol. 56. — P. 3785–3792.
- 126 Fekete S., Ganzler K., Fekete J. Fast and sensitive determination of Polysorbate 80 in solutions containing proteins // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 2010. — Vol. 52. — P. 672–679.
- 127 Perli T., Moonen D.P.I., van den Broek M., et al. Adaptive laboratory evolution and reverse engineering of single-vitamin prototrophies in *Saccharomyces cerevisiae* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2020. — Vol. 86. — P. 1–23.
- 128 Kozak B.U., van Rossum H.M., Benjamin K.R., et al. Replacement of the *Saccharomyces cerevisiae* acetyl-CoA synthetases by alternative pathways for cytosolic acetyl-CoA synthesis // *Metab. Eng.* — 2014. — Vol. 21. — P. 46–59.
- 129 Madeira-Jr J.V., Gombert A.K. Towards high-temperature fuel ethanol production using *Kluyveromyces marxianus*: on the search for plug-in strains for the Brazilian sugarcane-based biorefinery // *Biomass Bioenergy*. — 2018. — Vol. 119. — P. 217–228.
- 130 Reed G., Peppler H. Baker’s yeast production. In: Reed G., Peppler H., editors. *Yeast technology*. Westport: Avi Publishing; 1973. p. 53–102.
- 131 Porro D., Sauer M., Branduardi P., Mattanovich D. Recombinant protein production in yeasts // *Mol. Biotechnol.* — 2005. — Vol. 31. — P. 245–259.
- 132 Riesenber D., Guthke R. High-cell-density cultivation of microorganisms // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 1999. — Vol. 51. — P. 422–430.
- 133 Riesenber D. High-cell-density cultivation of *Escherichia coli* // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 1991. — Vol. 2. — P. 380–384.
- 134 Shiloach J., Fass R. Growing *E. coli* to high cell density—a historical perspective on method development // *Biotechnol. Adv.* — 2005. — Vol. 23. — P. 345–357.
- 135 Van Hoek P., De Hulster E., Van Dijken J.P., Pronk J.T. Fermentative capacity in high-cell-density fed-batch cultures of baker’s yeast // *Biotechnol. Bioeng.* — 2000. — Vol. 68. — P. 517–523.
- 136 Fu Z., Verderame T.D., Leighton J.M., Sampey B.P., Appelbaum E.R., Patel P.S., et al. Exometabolome analysis reveals hypoxia at the up-scaling of a *Saccharomyces cerevisiae* high-cell-density fed-batch biopharmaceutical process // *Microb. Cell Fact.* — 2014. — Vol. 13. — P. 32.
- 137 Mattanovich D., Gasser B., Hohenblum H., Sauer M. Stress in recombinant protein producing yeasts // *J. Biotechnol.* — 2004. — Vol. 113. — P. 121–135.

- 138 Hoskisson P.A., Hobbs G. Continuous culture—making a comeback? // *Microbiology*. — 2005. — Vol. 151. — P. 3153–3159.
- 139 Pronk J.T., Steensma H.Y., Van Dijken J.P. Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast*. — 1996. — Vol. 12. — P. 1607–1633.
- 140 Hensing M.C.M., Rouwenhorst R.J., Heijnen J.J., van Dijken J.P., Pronk J.T. Physiological and technological aspects of large-scale heterologous-protein production with yeasts // *Antonie Van Leeuwenhoek*. — 1995. — Vol. 67. — P. 261–279.
- 141 Lim H.C., Chen B.J., Creagan C.C. An analysis of extended and exponentially-fed-batch cultures // *Biotechnol. Bioeng.* — 1977. — Vol. 19. — P. 425–433.
- 142 Critical parameters and procedures for anaerobic cultivation of yeasts in bioreactors and anaerobic chambers // *FEMS Yeast Res.* — Oxford Academic.
- 143 Simpson R., Sastry S.K. *Scale-up in Chemical and Bioprocess Engineering*. New York: Springer; 2013.
- 144 da Costa B.L.V., Basso T.O., Raghavendran V., et al. Anaerobiosis revisited: growth of *Saccharomyces cerevisiae* under extremely low oxygen availability // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* — 2018. — Vol. 102. — P. 2101–2116.
- 145 Porro D., et al. Analysis and modeling of growing budding yeast populations at the single cell level // *Cytometry A*. — 2009. — Vol. 75(2). — P. 114–120.
- 146 de Deken R.H. The Crabtree effect: a regulatory system in yeast // *J. Gen. Microbiol.* — 1966. — Vol. 44. — P. 149–156.
- 147 Topaloğlu A., Esen Ö., Turanlı-Yıldız B., Arslan M., Çakar Z.P. From *Saccharomyces cerevisiae* to ethanol: unlocking the power of evolutionary engineering in metabolic engineering applications // *J. Fungi*. — 2023. — Vol. 9. — P. 984.
- 148 Gillies R.J., Deamer D.W. Intracellular pH changes during the cell cycle in *Tetrahymena* // *J. Cell Physiol.* — 1979. — Vol. 100. — P. 23–32.
- 149 Imai T., Ohno T. Measurement of yeast intracellular pH by image processing and the change it undergoes during growth phase // *J. Biotechnol.* — 1995. — Vol. 38. — P. 165–172.
- 150 Imai T., Ohno T. The relationship between viability and intracellular pH in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1995. — Vol. 61. — P. 3604–3608.
- 151 Cot M., Loret M.O., François J., Benbadis L. Physiological behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* in aerated fed-batch fermentation for high level production of bioethanol // *FEMS Yeast Res.* — 2007. — Vol. 7(1). — P. 22–32.
- 152 Cot M., Loret M.O., François J., Benbadis L. Physiological behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* in aerated fed-batch fermentation for high level production of bioethanol // *FEMS Yeast Res.* — 2007. — Vol. 7(1). — P. 22–32.
- 153 Liu X., et al. Effect of initial pH on growth characteristics and fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Food Sci.* — 2015. — Vol. 80(4). — P. M800–M808.

154 Piper P., 1996; Salvado et al., 2011. Metabolic efficiency in yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to temperature dependent growth and biomass yield // ScienceDirect.

155 Narendranath N.V., Thomas K.C., Ingledew W.M. Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. — 2001. — Vol. 26. — P. 171–177.

156 □ Thomas K.C., Hynes S.H., Ingledew W.M. Effects of particulate materials and osmoprotectants on very-high-gravity ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* // Appl. Environ. Microbiol. — 1994. — Vol. 60. — P. 1519–1524.

157 Tefera T., Ameha K., Biruhtesfa A. Cassava based foods: microbial fermentation by single starter culture towards cyanide reduction, protein enhancement and palatability // Int. Food Res. J. — 2014. — Vol. 21. — P. 1751–1756.

158 Danesi E.D.G., Miguel A.S.M., Rangel-Yagui C.O., Carvalho J.C.M., Pessoa A., et al. Effect of carbon:nitrogen ratio (C:N) and substrate source on glucose-6 phosphate dehydrogenase (G6PDH) production by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* // J. Food Eng. — 2006. — Vol. 75. — P. 96–103.

159 Varela C., Pizarro F., Agosin E. Biomass content governs fermentation rate in nitrogen-deficient wine musts // Appl. Environ. Microbiol. — 2004. — Vol. 70. — P. 3392–3400.

160 Bisson L.F., Butzke C.E. Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations // Am. J. Enol. Vitic. — 2000. — Vol. 51. — P. 168–177.

161 Diederichs S., Korona A., Staaden A., Kroutil W., Honda K., Ohtake H., Büchs J. Phenotyping the quality of complex medium components by simple online-monitored shake flask experiments // Microb. Cell Fact. — 2014. — Vol. 13. — P. 149.

162 Zhang G., Mills D.A., Block D.E. Development of chemically defined media supporting high-cell-density growth of Lactococci, Enterococci, and Streptococci // Appl. Environ. Microbiol. — 2009. — Vol. 75. — P. 1080–1087.

163 Hajji M., Rebai A., Gharsallah N., Narsi M. Optimization of alkaline protease production by *Aspergillus clavatus* ES1 in *Mirabilis jalapa* tuber powder using statistical experimental design // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2008. — Vol. 79. — P. 915–923.

164 Wittmann C., Liao J.C. *Industrial Biotechnology: Products and Processes*. Weinheim: Wiley-VCH; 2016.

165 Perli T., Wronska A.K., Ortiz-Merino R.A., Pronk J.T., Daran J. Vitamin requirements and biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* // Yeast. — 2020. — Vol. 37. — P. 283–304. doi: 10.1002/yea.3461.

166 Verduyn C., Postma E., Scheffers W.A., van Dijken J.P. Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts—a continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholic fermentation // Yeast. — 1992. — Vol. 8. — P. 501–517. doi: 10.1002/yea.320080703.

167 Poreda A., Tuszyński T., Zdaniewicz M., Sroka P., Jakubowski M. Support materials for yeast immobilization affect the concentration of metal ions in the fermentation medium // J. Inst. Brew. — 2013. — Vol. 119. — P. 164–171. doi: 10.1002/jib.77.

168 Jernejc K., Legiša M. The influence of metal ions on malic enzyme activity and lipid synthesis in *Aspergillus niger* // FEMS Microbiol. Lett. — 2002. — Vol. 217. — P. 185–190. doi: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11473.x.

169 Stehlik-Tomas V., Zetić V.G., Stanzer D., Grba S., Vahčić N. Zinc, copper and manganese enrichment in yeast *Saccharomyces cerevisiae* // Food Technol. Biotechnol. — 2004. — Vol. 42. — P. 115–120.

170 Hahn-Hägerdal B., Karhumaa K., Larsson C.U., Gorwa-Grauslund M., Görgens J., van Zyl W.H. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use // Microb. Cell Fact. — 2005.

171 Löser C., Urit T., Gruner E., Bley T. Efficient growth of *Kluyveromyces marxianus* biomass used as a biocatalyst in the sustainable production of ethyl acetate // Energy Sustain. Soc. — 2015.

172 Rodrigues D., Pillaca-Pullo O., Torres-Obreque K., Flores-Santos J., Sánchez-Moguel I., Pimenta M.V., Basi T., Converti A., Lopes A.M., Monteiro G., et al. Fed-batch production of *Saccharomyces cerevisiae* L-Asparaginase II by recombinant *Pichia pastoris* MUTs strain // Front. Bioeng. Biotechnol. — 2019.

173 Schmach M., Lorenz E., Stahl U., Senz M. Medium optimization based on yeast's elemental composition for glutathione production in *Saccharomyces cerevisiae* // J. Biosci. Bioeng. — 2017. — Vol. 123. — P. 555–561.

174 Paturau J.M. *By-Products of the Cane Sugar Industry. An Introduction to Their Industrial Utilization*, 3rd ed. Amsterdam: Elsevier; 1989.

175 Teclu D., Tivchev G., Laing M., Wallis M. Determination of the elemental composition of molasses and its suitability as carbon source for growth of sulphate-reducing bacteria // J. Hazard. Mater. — 2009. — Vol. 161. — P. 1157–1165.

176 Serna-Saldivar S.O. *Corn: Chemistry and Technology*, 3rd ed. Amsterdam: Elsevier; 2018.

177 Edwinoliver N., Thirunavukarasu K., Purushothaman S., Rose C., Gowthaman M., Kamini N. Corn steep liquor as a nutrition adjunct for the production of *Aspergillus niger* lipase and hydrolysis of oils thereof // J. Agric. Food Chem. — 2009. — Vol. 57. — P. 10658–10663.

178 Seo H.-B., Kim S.S., Lee H.-Y., Jung K.-H. High-level production of ethanol during fed-batch ethanol fermentation with a controlled aeration rate and non-sterile glucose powder feeding of *Saccharomyces cerevisiae* // Biotechnol. Bioprocess Eng. — 2009. — Vol. 14. — P. 591–598.

179 Tang Y., An M., Liu K., Nagai S., Shigematsu T., Morimura S., Kida K. Ethanol production from acid hydrolysate of wood biomass using the flocculating yeast *Saccharomyces cerevisiae* strain KF-7 // Process Biochem. — 2006. — Vol. 41. — P. 909–914.

180 Elhalis H. Expanding the horizons of *Saccharomyces cerevisiae*: nutrition, oenology, and bioethanol production // Sustainability. — 2024. doi: 10.3390/su162411151.

181 Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.S., Hatziloukas E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications // AIMS Microbiol. — 2020. — Vol. 6. — P. 1–31; Nya E., Etukudo O. Industrial potentials of *Saccharomyces cerevisiae* // Briti J. Multidiscipl. Adv. Stud. — 2023. — Vol. 4. — P. 23–46. doi: 10.37745/bjmas.2022.0152.

182 Markets and Markets. Yeast Market by Type (Baker's Yeast, Brewer's Yeast, Wine Yeast, Probiotic Yeast), Application (Food, Feed), Form (Fresh, Instant, Active), Genus (Saccharomyces, Kluyveromyces), Yeast extract (Qualitative) and Region - Global Forecast to 2029 — 2024.

183 Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.S., Hatziloukas E. *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications // AIMS Microbiol. — 2020. — Vol. 6. — P. 1–31.

184 Marques W.L., Raghavendran V., Stambuk B.U., Gombert A.K. Sucrose and *Saccharomyces cerevisiae*: a relationship most sweet // FEMS Yeast Res. — 2015. doi: 10.1093/femsyr/fov107.

185 González-Hernández Y., Michiels E., Perré P. A comprehensive mechanistic yeast model able to switch metabolism according to growth conditions // Fermentation. — 2022. — Vol. 8. — P. 120710. doi: 10.3390/fermentation8120710.

186 Krull R., Peterat G. Analysis of reaction kinetics during chemostat cultivation of *Saccharomyces cerevisiae* using a multiphase microreactor // Biochem. Eng. J. — 2016. — Vol. 105. — P. 220–229. doi: 10.1016/j.bej.2015.08.013.

187 Farzad S., Mandegari M.A., Guo M., et al. Multi-product biorefineries from lignocelluloses: a pathway to revitalisation of the sugar industry? // Biotechnol. Biofuels. — 2017. doi: 10.1186/s13068-017-0761-9.

188 Muller G., de Godoy V.R., Dário M.G., et al. Improved sugarcane-based fermentation processes by an industrial fuel-ethanol yeast strain // J. Fungi. — 2023. doi: 10.3390/jof9080803.

189 Yang X., Yang Y., Huang J., et al. Comparisons of urea or ammonium on growth and fermentative metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* in ethanol fermentation // World J. Microbiol. Biotechnol. — 2021. doi: 10.1007/s11274-021-03056-9.

190 Gerlach I., Tholin S., Hass V.C., Mandenius C.F. Operator training simulator for an industrial bioethanol plant // Processes. — 2016. — Vol. 4. — P. 40034. doi: 10.3390/pr4040034.

191 Ibáñez F., Saa P.A., Bárzaga L., et al. Robust control of fed-batch high-cell density cultures: a simulation-based assessment of probing and model-based control strategies for robust operation of high-cell density cultures in fed-batch mode // Comput. Chem. Eng. — 2021. doi: 10.1016/j.compchemeng.2021.107545.

192 Hass V.C. Operator training simulators for bioreactors. In: Mandenius C.-F., editor. *Bioreactors*. Hoboken: Wiley; 2016.

193 Mavrommati M., Economou C.N., Kallithraka S., et al. Simultaneous improvement of fructophilicity and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* strains through a single adaptive laboratory evolution strategy // *Carbon Resour. Convers.* — 2024. doi: 10.1016/j.crcon.2024.100270.

194 Mamun-Or-Rashid A.N.M., Lucy T.T., Pramanik M.K. Isolation, identification, optimization of baker's yeast from natural sources, scale-up production using molasses as a cheap carbohydrate source, and evaluation for bread production // *Appl. Microbiol.* — 2022. — Vol. 2. — P. 516–533. doi: 10.3390/applmicrobiol2030040.

195 Moser A., Kuchemüller K.B., Deppe S., et al. Model-assisted DoE software: optimization of growth and biocatalysis in *Saccharomyces cerevisiae* bioprocesses // *Bioprocess Biosyst. Eng.* — 2021. — Vol. 44. — P. 683–700. doi: 10.1007/s00449-020-02478-3.

196 Eliodório K.P., Cunha G.C., Lino F.S., et al. Physiology of *Saccharomyces cerevisiae* during growth on industrial sugar cane molasses can be reproduced in a tailor-made defined synthetic medium // *Sci. Rep.* — 2023. doi: 10.1038/s41598-023-37618-8.

197 Hahn-Hägerdal B., Karhumaa K., Larsson C.U., et al. Role of cultivation media in the development of yeast strains for large scale industrial use // *Microb. Cell Fact.* — 2005. doi: 10.1186/1475-2859-4-31.

198 Attfield P.V. Stress tolerance: the key to effective strains of industrial baker's yeast // *Nat. Biotechnol.* — 1997. — Vol. 15(13). — P. 1351–1357.

199 Zamani J., Pournia P., Seirafi H.A. A novel feeding method in commercial Baker's yeast production // *J. Appl. Microbiol.* — 2008. — Vol. 105(3). — P. 674–680.

200 George S., Larsson G., Olsson K., Enfors S.O. Comparison of the Baker's yeast process performance in laboratory and production scale // *Bioprocess Eng.* — 1998. — Vol. 18(2). — P. 135–142.

201 Furukawa K., Heinzle E., Dunn I.J. Influence of oxygen on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in continuous culture // *Biotechnology and Bioengineering*. — 1983. — Vol. 25, No. 10. — P. 2293–2317.

202 Sirisena S., Chan S., Roberts N., Dal Maso S., Gras S.L., Martin G.J.O. Influence of yeast growth conditions and proteolytic enzymes on the amino acid profiles of yeast hydrolysates: implications for taste and nutrition // *Food Chemistry*. — 2024. — Vol. 437. — Article 137906.

203 Bekatorou A.P., Psarianos C., Koutinas A.A. Production of food grade yeasts // *Food Technology and Biotechnology*. — 2006. — Vol. 44. — P. 407–415.

204 Jiru T.M. Evaluation of yeast biomass production using molasses and supplements [dissertation]. — Addis Ababa: Taylor & Francis; 2009.

205 Jiru T.M. Evaluation of yeast biomass production using molasses and supplements [dissertation]. — Addis Ababa: Taylor & Francis; 2009.

- 206 Roman W., editor. *Biologia et Industria, Yeasts*. Vol. 1. — The Hague: Taylor & Francis; 1957.
- 207 Crueger W., Crueger A. *Biotechnology: a textbook of industrial microbiology*. 2nd ed. — Sunderland: Taylor & Francis; 1990.
- 208 Bekatorou A.P., Psarianos C., Koutinas A.A. Production of food grade yeasts // *Food Technology and Biotechnology*. — 2006. — Vol. 44. — P. 407–415.
- 209 Lodder J., Kreger-Van Rij N.J.W. *The yeasts: a taxonomic study*. — Amsterdam: Taylor & Francis; 1952.
- 210 Beudeker R.F., Dam H.W.V., Plaat J.B.V.D., Vellenga K. Developments in baker's yeast production // In: Verachtert H., Mot R.D., editors. *Yeast biotechnology and biocatalysis*. — New York: Taylor & Francis; 1990. — P. 103–146.
- 211 Evans I.H. Yeast strains for baking: recent developments // In: Spencer J.F.T., Spencer D.M., editors. *Yeast technology*. — Berlin Heidelberg: Taylor & Francis; 1990. — P. 13–54.
- 212 Reed G., Nagodawithana T. *Yeast technology*. — New York: Taylor & Francis; 1997.
- 213 Dima S.O., Neamtu C., Desliu-Avram M., et al. Plant biostimulant effects of baker's yeast vinasse and selenium on tomatoes through foliar fertilization // *Agronomy*. — 2020. — Vol. 10. — Article 133.
- 214 Nakata H., Tamura M., Shintani T., Gomi K. Evaluation of baker's yeast strains exhibiting significant growth on Japanese beet molasses and compound analysis of the molasses types // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. — 2014. — Vol. 117. — P. 715–719.
- 215 Benitez B., Gasent-Ramirez J.M., Castrejon F., Codon A.C. Development of new strains for the food industry // *Biotechnology Progress*. — 1996. — Vol. 12. — P. 149–163.
- 216 De Deken R.H. The Crabtree effect: a regulatory system in yeast // *Journal of General Microbiology*. — 1966. — Vol. 44. — P. 149–156.
- Petrik M., Käppeli O., Fiechter A. An expanded concept for glucose effect in the yeast *Saccharomyces uvarum*: involvement of short- and long-term regulation // *Journal of General Microbiology*. — 1983. — Vol. 129. — P. 343–349.
- 217 Reed G., Nagodawithana T.W. *Yeast technology*. 2nd ed. — New York: Van Nostrand Reinhold; 1991. — P. 261–313, 315–368.
- 218 Ho P.W., Piampongsant S., Gallone B., et al. Massive QTL analysis identifies pleiotropic genetic determinants for stress resistance, aroma formation, and ethanol, glycerol and isobutanol production in *Saccharomyces cerevisiae* // *Biotechnology for Biofuels*. — 2021. — Vol. 14, No. 1. — Article 211.
- 219 Kwolek-Mirek M., Zadrag-Tecza R. Comparison of methods used for assessing the viability and vitality of yeast cells // *FEMS Yeast Research*. — 2014. — Vol. 14, No. 7. — P. 1068–1079.
- 220 Ribotta P.D., León A.E., Añón M.C. Effects of yeast freezing in frozen dough // *Cereal Chemistry*. — 2003. — Vol. 80, No. 4. — P. 454–458.

221 Argüelles J.C. Physiological roles of trehalose in bacteria and yeasts: a comparative analysis // *Archives of Microbiology*. — 2000. — Vol. 174. — P. 217–224.

222 Walther T., Novo M., Rössger K., et al. Control of ATP homeostasis during the respiro-fermentative transition in yeast // *Molecular Systems Biology*. — 2010. — Vol. 6, No. 1. — Article 344.

223 Kwolek-Mirek M., Zadrag-Tecza R. Comparison of methods used for assessing the viability and vitality of yeast cells // *FEMS Yeast Research*. — 2014. — Vol. 14, No. 7. — P. 1068–1079.

224 Kwolek-Mirek M., Zadrag-Tecza R. Comparison of methods used for assessing the viability and vitality of yeast cells // *FEMS Yeast Research*. — 2014. — Vol. 14, No. 7. — P. 1068–1079.

225 ГОСТ 30561-2017. Меласса свекловичная. Технические условия.

226 ГОСТ 31747-2012 «Продукты пищевые (Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)»

227 ГОСТ 10444.12-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных (Метод выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов)»

228 ГОСТ 10444.15-94 «Продукты пищевые (Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно – анаэробных микроорганизмов»

229 ГОСТ 8.587.Государственная система обеспечения единства измерений. Масса нефти и нефтепродуктов.

230 ГОСТ ISO 3696-2013 «Вода для лабораторного анализа.Технические требования и методы контроля».

231 ГОСТ 32257-2013 (пункт 8.2 Определение нитритов).

232 ГОСТ ISO 11133-2016. Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды.

233 Дамуллаева А.С. Изучение культуральных свойств промышленных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* на жидких питательных средах: дипломная работа /Дамуллаева А.С.;Satbayev University.- Алматы,2023.-43 стр. [2023_БАК_Дамуллаева Амина.pdf](#). [Дипломные проекты ХиБИ 2023 — Satbayev University](#).

РЕЦЕНЗИЯ

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Дамуллаева Амина Сардаровна

7M05105 – «Биотехнология»

На тему: «Исследование влияния физико-химических факторов на эффективность культивирования *Saccharomyces cerevisiae* в разнообразных питательных средах»

Выполнено:

- а) графическая часть на 33-46 листах
- б) пояснительная записка на 67 страницах

ЗАМЕЧАНИЯ К РАБОТЕ

Структура магистерской диссертации включает в себя: введение, обзор литературы, результаты исследования, заключение и выводы, 15 рисунков, 8 таблиц, 233 научных источников.

Во введении определяется актуальность выбранной темы, новизна, цели и задачи исследования, объект и предмет, научная и практическая значимость, обосновывается структура магистерской диссертации. Обзор литературы посвящен более детальному изучению биологии *Saccharomyces cerevisiae*, методам культивирования, подборе оптимальной питательной среды, технологиям применения и требованиям, предъявляемым к производимой биомассе пекарских дрожжей.

Особого внимания заслуживает экспериментальная часть исследования, выполненная на базе микробиологической научно-производственной лаборатории Алматинского дрожжевого завода. Впервые в данных производственных условиях проведён комплексный физико-химический и микробиологический анализ трёх видов свекловичной мелассы, полученной с разных сахарных заводов. Практический интерес представляет разработанная технология совершенствования мелассы с применением витаминов В₁ и В₂, позволившая увеличить выход биомассы хлебопекарных дрожжей.

Автор грамотно использует современные методы физико-химического и микробиологического анализа, корректно интерпретирует полученные результаты и делает обоснованные выводы. Полученные результаты имеют практическую значимость и могут быть использованы для оптимизации технологических параметров культивирования дрожжей в промышленном производстве.

Оценка работы

Работа актуальна, выполнена методически грамотно.

При оформлении магистерской диссертации были полностью соблюдены требования, предъявляемые к магистерским диссертациям.

Существенных недостатков в работе не выявлено.

В связи с этим, магистерская диссертация заслуживает оценки «отлично» (98 %).

Рецензент

к.т.н. старший преподаватель кафедры «Юнеско по устойчивому развитию», КазНУ им аль-Фараби

Курбанова Л.С.

" _____ 2026 г

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Дамуллаева Амина Сардаровна

7М05105 – «Биотехнология»

На тему: «Исследование влияния физико-химических факторов на эффективность культивирования *Saccharomyces cerevisiae* в разнообразных питательных средах»

Магистерская диссертация Дамуллаевой Амины Сардаровны выполнена в соответствии с заданием научного руководителя, в рамках требований университета. Магистерская диссертация посвящена актуальной и практически значимой теме, связанной с оптимизацией процессов культивирования хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, широко применяемых в пищевой биотехнологической промышленности. Выбранное направление исследования соответствует современным задачам прикладной микробиологии и требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам магистерского уровня.

В процессе выполнения диссертационной работы магистрант проявила высокий уровень самостоятельности, ответственности и заинтересованности в получении научно обоснованных результатов. Магистрантом корректно сформулированы цель и задачи исследования, которые были последовательно и в полном объёме реализованы в ходе теоретических и экспериментальных исследований.

В работе грамотно проведён анализ научной литературы, охватывающий широкий круг отечественных и зарубежных источников.

Особого внимания заслуживает практическая направленность диссертационной работы. Впервые в научно-производственных условиях была проведена сравнительная оценка трёх видов свекловичной мелассы, а также разработана технология её совершенствования с применением витаминов В₁ и В₂, что способствовало увеличению выхода биомассы хлебопекарных дрожжей. Полученные результаты имеют практическую ценность и уже внедрены в производственный процесс.


Тема магистерской диссертации раскрыта полностью, изложение материала четкое и последовательное.

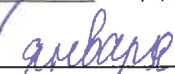
Существенных недостатков в работе не выявлено.

Магистерская диссертация заслуживает оценки «отлично» (98 %).

Научный руководитель

к. с/х.н, доцент, ассоциированный профессор

 Джамалова Г.А.

«15»  2026 г.



Raport podobieństwa

Metadane

Nazwa instytucji Satbayev University		Jednostka organizacyjna ИГИНГД		
Tytuł Исследование влияния физико-химических факторов на эффективность культивирования saccharomyces cerevisiae в разнообразных питательных средах				
Autor/zy Дамуллаева Амина		Promotor Гуля Джамалова		
Liczba słów 10820	Liczba znaków 84878	Data raportu 1/17/2026	Data edycji ---	ID dokumentu 333127027

Metryka podobieństw

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



25
Długość frazy dla WP 2



10820
Liczba słów



84878
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		58
Rozstrzelenia		0
Mikrospacje		93
Ukryte znaki		0
Parafrazy		30

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. "kryptocytały").

10 najdłuższych fragmentów

Kolor w tekście

Nowość

LP	TYTUŁ LUB ADRES URL ŹRÓDŁA (NAZWA BAZY)	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
1	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГИНГД)	58 0.54 %

2	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	44 0.41 %
3	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	42 0.39 %
4	https://allgosts.ru/67/180/gost_30561-2017	39 0.36 %
5	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	28 0.26 %
6	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	28 0.26 %
7	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	21 0.19 %
8	https://standartgost.ru/g/%D0%93%D0%9E%D0%A1%D0%A2_30561-2017	18 0.17 %
9	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	17 0.16 %
10	https://standartgost.ru/g/%D0%93%D0%9E%D0%A1%D0%A2_30561-2017	17 0.16 %

z bazy RefBooks (0.00 %)



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

z bazy macierzystej (2.77 %)



LP	TYTUŁ	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
1	Изучение культуральных свойств промышленных штаммов <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на жидких питательных среда.pdf 5/26/2023 Satbayev University (ИГиНГД)	300 (13) 2.77 %

z Programu Wymiany Baz (0.00 %)



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

z Internetu (1.59 %)



LP	ADRES URL ŹRÓDŁA	IDENTYCZNYCH SŁÓW (FRAGMENTÓW)
2	https://standartgost.ru/g/%D0%93%D0%9E%D0%A1%D0%A2_30561-2017	67 (6) 0.62 %
3	https://allgosts.ru/67/180/gost_30561-2017	62 (4) 0.57 %
4	http://august.in.ua/ru/vocabulary/dstu-3696-98-gost-30561-98-melyasa-buryakovatehnichni-umovi	27 (3) 0.25 %

5	https://ru.wikibrief.org/wiki/Staphylococcus_aureus	10 (1) 0.09 %
6	https://ag-rus.ru/f/gost_30561-2017_melassa_sveklovichnaya.pdf	6 (1) 0.06 %

Lista zaakceptowanych fragmentów

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