

УДК 57.083.133

## Утилизация сахаров из ферментолитатов соломы пшеничной психрофильными дрожжами в анаэробных условиях

Канд. хим. наук **И.В. Кручина-Богданов**, igogo011@gmail.com

ООО «АМТ»

198097, Россия, Санкт-Петербург, пр. Стачек, 47

**Е.Р. Якубов**, rescaolofe@gmail.com

д-р техн. наук **А.В. Канарский**, alb46@mail.ru

канд. техн. наук **З.А. Канарская**, zosya\_kanarskaya@mail.ru

Казанский национальный исследовательский технологический университет

420015, Россия, Казань, ул. Карла Маркса, 68

Исследовали возможность сбраживания редуцирующих сахаров, синтеза этанола и органических кислот штаммами таких психрофильных дрожжей, как *Debaryomyces hansenii* H<sub>4651</sub>, H<sub>433</sub> и H<sub>18-3</sub> и *Guehomyces pullulans* KB<sub>1-34</sub> при культивировании их при температурах 15; 20 и 25°C на питательной среде, приготовленной из ферментолитатов пшеничной соломы. Изучено влияние внесения солей на возможности штаммов. Исследовали глубокую утилизацию углеводов в ферментолитатах соломы при двухступенчатом способе культивирования. Эксперимент осуществлялся в два этапа: штаммы дрожжей культивировались с добавлением и без добавления сульфата аммония, солей калия и фосфора в аэробных условиях. Культивирование проводилось в колбах Эрленмейра объемом 250 мл в течение трех суток. После достижения необходимой биомассы перемешивание прекращалось, тем самым создавались анаэробные условия, необходимые для сбраживания и утилизации простых сахаров. Сбраживание так же продолжалось в течение трех суток. Состав остаточных углеводов и продуктов брожения анализировали методом ионно-эксклюзионной ВЭЖХ на колонке с катионитом Hitachi 2614 с двойным детектированием (рефрактометр + фотометр с длиной волны 210 нм). Полученные результаты показывают продолжительную активность внеклеточных целлюлолитических ферментов, которые гидролизуют олигомерные углеводы клетчатки соломы с образованием простых сахаров как субстрата для сбраживания с получением вторичных продуктов метаболизма. При ограниченном доступе воздуха происходит гетероферментативное кислотообразование с преобладанием пропионовокислого механизма, а также спиртовое брожение.

**Ключевые слова:** культивирование микроорганизмов; ферментолитат; психрофильные дрожжи; брожение; утилизация сахаров.

DOI: 10.17586/2310-1164-2019-12-2-3-10

## Utilization of sugars from wheat fermentatives with psychrophilic yeast under anaerobic conditions

Ph. D. **Igor V. Kruchina-Bogdanov**, igogo011@gmail.com

Ltd "AMT"

26, Stachek ave., St. Petersburg, 198096, Russia

**Eugene R. Yakubov** rescaolofe@gmail.com

D. Sc. **Albert V. Kanarskiy**, alb46@mail.ru

Ph. D. **Zosya A. Kanarskaya**, zosya\_kanarskaya@mail.ru

Kazan National Research Technological University

68, Karl Marx str., Kazan, 420015, Russia

The possibility of reducing fermentation of sugars, the synthesis of ethanol and organic acids by strains of psychrophilic yeasts, such as *Debaryomyces hansenii* H<sub>4651</sub>, H<sub>433</sub> and H<sub>18-3</sub> and *Guehomyces pullulans* KB<sub>1-34</sub>, was studied under cultivation at the temperatures of 15; 20; 25°C in c. The effect of salt addition on the capabilities of the strains was also studied. Deep utilization of carbohydrates in fermentatives straw with a two-step method of cultivation was examied. The experiment was carried out in two stages: first, yeast strains were cultivated with and without adding ammonium sulfate, potassium salts, and phosphorus under aerobic conditions. Cultivation was carried out in 250 ml Erlenmeyer flasks for three days. After reaching the required biomass, mixing was stopped, thereby creating the anaerobic conditions necessary for the digestion and utilization of simple sugars. Fermentation lasted for three days also.

**The composition of the residual carbohydrates and fermentation products was analyzed by ion-exclusion HPLC using a Hitachi 2614 double-detection cation exchange resin (refractometer + photometer with a wavelength of 210 nm). The results show a prolonged activity of extracellular cellulolytic enzymes that hydrolyze the oligomeric carbohydrates of the straw fiber to form simple sugars as a substrate for digestion with the production of secondary metabolic products. With limited air access heterofermentative acid formation occurs with a predominance of the propionic acid mechanism, as well as alcoholic fermentation.**

**Keywords:** cultivation of microorganisms; fermentative; psychrophilic yeast; fermentation; utilization of sugars.

## Введение

Микроорганизмы, называемые психрофильными, преимущественно обнаруживаются в местах с низкой температурой. Выделяют психротолерантные дрожжи, которые способны произрастать в условиях, характерных для психрофилов – при температурах, близких к нулю градусов по Цельсию, но наивысшую скорость роста имеют в диапазоне температур 15–25°C и истинные психрофилы, не способные расти при температуре выше 20°C [1]. При температуре более 20°C наблюдается увеличение скорости деления клеток психротолерантных дрожжей, но снижается выход биомассы и активность внеклеточных ферментов [2]. Дрожжи *Debaryomyces hansenii* – один из самых распространенных видов среди аскомицетов. Они часто встречается в морской воде и других соленых водоемах [3]. Такое обилие *D. hansenii* в средах с высоким содержанием солей связано с наличием у этого вида галотолерантности. *D. hansenii* способны расти при концентрации NaCl свыше 10%, поэтому они относятся к одним из наиболее солеустойчивых видов [4]. Их устойчивость к солям объясняется свойствами, включающими в себя поддержание внутриклеточной концентрации ионов, изменение состава мембран, накопление осмопротекторов. Известно, что цитоплазма клеток *D. hansenii* обладает высокой буферностью, объясняемой активной регуляцией внутриклеточного содержания Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> благодаря специфике их переноса через мембраны клеток [5]. В средах с высоким содержанием NaCl *D. hansenii* активно синтезируют и запасают в клетках арамит и глицерин – осмопротекторы и сахароспирты [6].

Высокая гидролитическая активность *D. hansenii* так же может объяснять их широкое распространение. Данному виду свойственна и высокая пектинолитическая активность [7].

При ферментативном гидролизе целлюлозы штаммами дрожжей *G. pullulans* происходит накопление олигомерных продуктов, в частности, целлюбиозы, которые мешают более полному гидролизу целлюлозы до глюкозы. Установлено, что свободные или иммобилизованные клетки дрожжей *G. pullulans* в альгинате кальция синтезируют фермент Р-глюкозидазу, гидролизующую целлюбиозу [8].

В этанол содержащей питательной среде дрожжи *G. pullulans* синтезируют глюкопротеин с молекулярной массой 100–151 а.е.м, обладающий иммуностимулирующей активностью, которая обусловлена высоким содержанием маннозы в гликопротеине. Синтез данного глюкопротеина интенсивно проходит в фазе активного роста дрожжей при ограничении содержания азота. Активность этих ферментов повышается при недостатке углерода в среде [9].

Анализ ферментативных свойств психрофильных дрожжей, проведенный авторами ранее, показывает результат перспективности применения этих микроорганизмов в биотехнологии. Наряду с этим были выявлены технологические преимущества культивирования психрофильных дрожжей вида *Debaryomyces hansenii* и *Guehomyces pullulans* на мелассе – питательной среде из вторичных ресурсов переработки растительного сырья. Установлено, что дрожжи штаммов *D. hansenii* Н<sub>4651</sub> и *G. pullulans* КВ<sub>1-34</sub> активно растут при температуре 15–25°C на питательных средах с мелассой, в том числе без источника азота – за счет поглощения присутствующих азотсодержащих компонентов – с накоплением биомассы дрожжей, использующейся для кормовых целей и в качестве продуцента ферментов. Однако на логарифмической фазе роста в аэробных условиях эти психрофильные дрожжи ассимилируют не более 1–2% простых сахаров из питательной среды, так что в культуральной жидкости остается значительная часть сахарозы [10].

Ранее проведенные исследования показали, что выращивание психрофильных дрожжей *G. pullulans* КВ<sub>1-34</sub> и *D. hansenii* Н<sub>4651</sub> на мелассе помимо накопления биомассы как источника кормового белка может быть направлено на биосинтез важных для ветеринарии и кормления

сельскохозяйственных животных органических кислот, в частности пропионовой, изомасляной и других [11]. Необходимо выделить, что дрожжи обладают  $\beta$ -фруктофуранозидазной активностью [12]. Фермент  $\beta$ -фруктофуранозидаза выделяется в культуральную жидкость, вследствие этого происходит гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы, которые в дальнейшем сбраживаются дрожжами.

Также была установлена способность штаммов дрожжей *D. hansenii* H<sub>4651</sub> и *G. pullulans* KB<sub>1-34</sub> проявлять ксиланазную, целлюлазную и целлобиазную активности, что позволяет, следовательно, утилизировать олигомерные гемицеллюлозы, полученные при ферментализе клетчатки соломы [13]. Однако при аэробном культивировании полного исчерпания редуцирующих веществ и олигосахаридов не происходит: в культуральной жидкости остаются значительные количества простых сахаров и олигомерных углеводов.

Цель настоящих исследований — определить возможности глубокой утилизации углеводов в ферментализатах соломы психрофильными дрожжами при двухступенчатом способе культивирования: в аэробных условиях с накоплением биомассы дрожжей и далее в условиях ограниченного доступа воздуха с получением продуктов брожения.

### Объекты и методы исследования

В экспериментах использовались штаммы дрожжей *D. hansenii* H<sub>4651</sub>, H<sub>433</sub> и H<sub>18-3</sub> и *G. pullulans* KB<sub>1-34</sub>, биомассу которых наращивали до  $3-5 \cdot 10^8$  кл./мл культивируя их на питательных средах, изготовленных из ферментализатов соломы. Культивирование проводили с добавлением и без добавления сульфата аммония, солей калия и фосфора в аэробных условиях. Начальное содержание редуцирующих веществ (РВ) составляло 0,25%. Культивирование дрожжей *D. hansenii* и *G. pullulans* проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл, помещенных в термостат, при температуре от 15 до 25°C и 120 об/мин.

Необходимая концентрация дрожжей достигалась за 3 суток. Остаточное содержание РВ составляло от 0,01 до 0,05%.

Затем перемешивание прекращалось, и тем самым создавались анаэробные условия для утилизации остаточных простых сахаров рассматриваемыми психрофильными дрожжами. Сбраживание остаточных сахаров продолжалось в течение 3 суток.

Состав остаточных углеводов и продуктов брожения в ферментационной жидкости для штаммов *D. hansenii* H<sub>4651</sub>, H<sub>433</sub> и H<sub>18-3</sub> и *G. pullulans* KB<sub>1-34</sub> анализировали методом ионно-эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на колонке с катионитом Hitachi 2614 с двойным детектированием (рефрактометр + фотометр с длиной волны 210 нм) [14, 15].

### Результаты и их обсуждение

Таблица 1 – Начальная концентрация углеводов (г/л) в питательной среде из пшеничной соломы после стерилизации

Table 1. Initial concentration of carbohydrates (g/l) in a substratum from wheat after sterilization

Углеводы	Концентрация
Гемицеллюлозы	0,001
Тетраозы	—
Триозы	—
Дисахариды	0,048
Глюкоза	0,039
Фруктоза	0,059

Анализ результатов, представленных в таблице 2, показывает, что содержание остаточных сахаров в культуральной среде после стадии брожения повышалось в ряде случаев, прежде всего, за счет дисахаридов, очевидно образующихся из присутствующих в среде не полностью гидролизованной целлюлозы и гемицеллюлоз под действием экзо- $\beta$ -целлюлолитической активности штаммов *D. hansenii* H<sub>18-3</sub> и H<sub>433</sub>.

Таблица 2 – Концентрация сахаров (мг/л) после двух стадий культивирования дрожжей *D. hansenii* и *G. pullulans* на питательной среде из гидролизата соломы

Table 2. Concentration of sugars (mg/l) after two stages of *D. hansenii* and *G. pullulans* yeast cultivation in a substratum from wheat hydrolyzate

Углеводы	Температура культивирования	Штаммы							
		<i>D. hansenii</i> Н <sub>18-3</sub>		<i>D. hansenii</i> Н <sub>433</sub>		<i>D. hansenii</i> Н <sub>4651</sub>		<i>G. pullulans</i> КВ <sub>1-34</sub>	
		+С*	-С	+С	-С	+С	-С	+С	-С
Гемицеллюлозы	15°C	1,88	2,45	1,79	0,45	0,6	0,015	0,58	0
	20°C	1,31	-	1,4	0,58	-	-	-	-
	25°C	-	-	-	-	2,05	-	0	0
Тетраозы	15°C	0,08	0,081	0,088	0,046	0	0,041	0	0,046
	20°C	0,084	-	0,093	0,11	-	-	-	-
	25°C	-	-	-	-	0	-	0,058	0
Триозы	15°C	0,78	0,881	0,83	0,54	0	0	0	0
	20°C	0,65	-	0,79	0,86	-	-	-	-
	25°C	-	-	-	-	0	-	0,007	0
Дисахариды	15°C	10,54	10,822	9,87	6,4	0,044	0	0,074	0
	20°C	7,45	-	8,87	8,84	-	-	-	-
	25°C	-	-	-	-	2,16	-	0,24	0,018
Глюкоза	15°C	4,11	4,71	3,9	3,08	0,057	0,05	0,092	0
	20°C	2,58	-	3,79	3,27	-	-	-	-
	25°C	-	-	-	-	0	-	0	0,008
Фруктоза	15°C	0,42	0,64	0,51	0,35	0	0	0	0
	20°C	0,43	-	0,54	0,47	-	-	-	-
	25°C	-	-	-	-	0	-	0	0

\*+С – с внесением солей; -С – без внесения солей

\*\*Знак «-» – исследования не проводились

Одновременно с этим происходил процесс сбраживания: до конечной плотности 1,10–1,95% (культивирование *D. hansenii* Н<sub>18-3</sub> и Н<sub>433</sub>). Содержание сахаров после сбраживания штаммами *D. hansenii* Н<sub>4651</sub> и *G. pullulans* КВ<sub>1-34</sub> стало значительно ниже — близко к пределу чувствительности анализа. При этом продукция целлюлолитических экзоферментов данными штаммами могла быть менее значительной.

Внесение солей в среду заметно усиливало накопление сахаров в присутствии штамма *D. hansenii* Н<sub>18-3</sub>, тогда как для штаммов *D. hansenii* Н<sub>433</sub> и *G. pullulans* КВ<sub>1-34</sub> наблюдался обратный эффект.

Штаммы *D. hansenii* Н<sub>18-3</sub> и Н<sub>433</sub> при брожении синтезируют этанол в сравнимых количествах. При этом максимальный выход этанола наблюдался на ферментоллизате при температуре 15°C, причем для первого из этих штаммов — без внесения солей, а для второго — с солями (таблица 3). Напротив, штаммы *D. hansenii* Н<sub>4651</sub>, *G. pullulans* КВ<sub>1-34</sub>, проявляли низкую метаболическую активность во всех отношениях при всех условиях.

Таблица 3 – Продукты брожения после двух стадий культивирования дрожжей *D. hansenii* и *G. pullulans* на питательной среде из гидролизата соломы

 Table 3. Fermentation products after two stages of *D. hansenii* and *G. pullulans* yeast cultivation in a substratum from wheat hydrolyzate

Продукты метаболизма	Темп. культ.	Штамм							
		<i>D. hansenii</i> H <sub>18-3</sub>		<i>D. hansenii</i> H <sub>433</sub>		<i>D. hansenii</i> H <sub>4651</sub>		<i>G. pullulans</i> KB <sub>1-34</sub>	
		+С	-С	+С	-С	+С	-С	+С	-С
Этанол (%)	15°C	1,51	1,68	1,56	0,94	0,024	0,031	0,036	0
	20°C	1,132	–	1,41	1,38	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	–	0	0,011
Лимонная	15°C	0,028	0,005	0,032	0,063	0	0	0,001	0,001
	20°C	0,019	–	0,009	0,018	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0,001	–	0	0
Яблочная	15°C	0,22	0,052	0,22	0,24	0,004	0	0	0,001
	20°C	0,16	–	0,17	0,19	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	–	0,003	0,002
Пировиноградная	15°C	0,008	0	0,008	0,011	0	0	0	0
	20°C	0,005	–	0,007	0,007	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	–	0	0
Янтарная	15°C	2,41	0,22	2,35	0,077	0,002	0,033	0	0,005
	20°C	2,16	–	2,44	1,43	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0,004	–	0	0
Молочная	15°C	0,173	0	0,2	0,36	0	0	0	0
	20°C	0,095	–	0,14	0,065	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	–	0	0
Муравьиная	15°C	0,18	0,059	0,22	0,046	0	0	0	0
	20°C	0,17	–	0,81	0,066	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	–	0	0
Уксусная	15°C	0,74	1,95	0,78	0,19	0	0	0,002	0,003
	20°C	0,56	–	0,8	0,64	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	–	0	0,034
Фумаровая	15°C	0	0	0	0,008	0	0	0	0
	20°C	0	–	0	0	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	–	0	0
Пропионовая	15°C	5,54	5,47	5,79	2,32	0,057	0,053	0,012	0,003
	20°C	5,3	–	6,27	4,79	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0,014	0	0,012	0,178
Изомасляная	15°C	0,093	0,93	0,091	0	0,162	0,135	0	0
	20°C	0,055	–	0,077	0,074	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0,003	0	0	0
Масляная	15°C	0,048	0,062	0,05	0,029	0,017	0,015	0	0
	20°C	0,027	–	0,017	0,18	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	0	0	0
Изовалериановая	15°C	0,187	0,09	0,15	0,049	0,075	0,071	0	0,003
	20°C	0,305	–	0,191	0,127	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	0	0,004	0
Валериановая	15°C	0,124	0,032	0,106	0,07	0,155	0,157	0,001	0
	20°C	0,001	–	0,221	0,09	–	–	–	–
	25°C	–	–	–	–	0	0	0	0

На рисунке собраны данные о составе культуральной жидкости исследованных штаммов в выбранных условиях. Здесь можно видеть, что метаболическая активность трех из четырех штаммов заметно выше при 15°C, и только у штамма *D. hansenii* H<sub>433</sub> проявляется более высокий уровень метаболитов при 20°C, причем это касается взаимосвязанных процессов проявления внеклеточной целлюлолитической активности и накопления продуктов брожения.

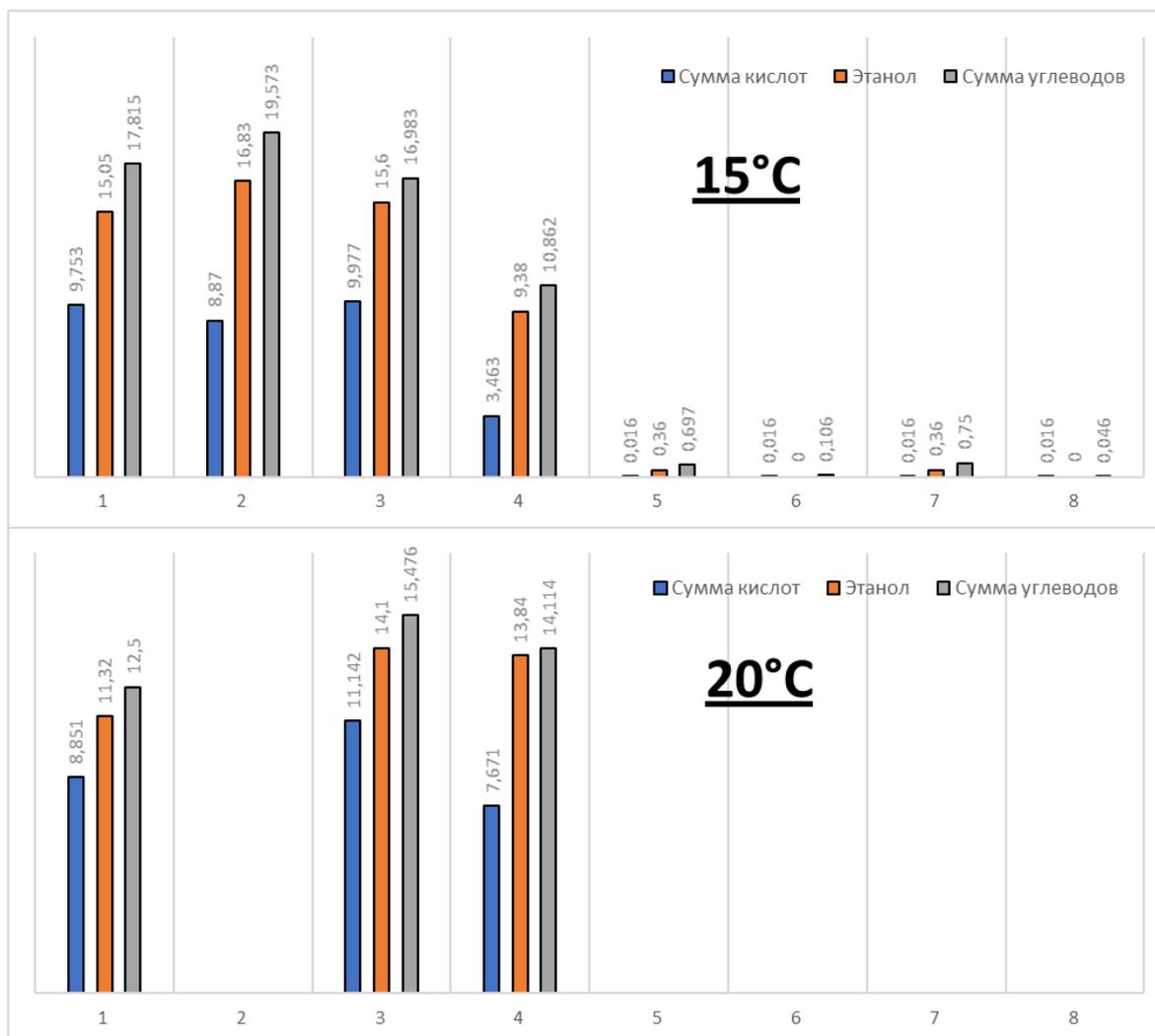


Рисунок – Состав (г/л) продуктов анаэробного культивирования психрофильных дрожжей на гидролизатах пшеничной соломы при 15 и 20°C

Штаммы: 1 и 2 – *D. hansenii* H<sub>18-3</sub> с добавкой и без добавки солей соответственно; 3 и 4 – *D. hansenii* H<sub>433</sub> с добавкой и без добавки солей соответственно; 5 и 6 – *D. hansenii* H<sub>4651</sub> с добавкой и без добавки солей соответственно; 7 и 8 – *G. pullulans* KB<sub>1-34</sub> с добавкой и без добавки солей соответственно

Figure. Composition (g/l) of psychrophilic yeasts' anaerobic cultivation products in wheat hydrolyzates at 15 and 20°C  
 Starins of: 1 and 2 – *D. hansenii* H<sub>18-3</sub> with and without the addition of salts; 3 and 4 – *D. hansenii* H<sub>433</sub> with and without the addition of salts; 5 and 6 – *D. hansenii* H<sub>4651</sub> with and without the addition of salts; 7 and 8 – *G. pullulans* KB<sub>1-34</sub> with and without the addition of salts

Присутствие солей приводило к повышению активности только штамма *D. hansenii* H<sub>18-3</sub>, тогда как на остальные дрожжи соли оказали ингибирующее действие.

Стоит отметить, что во всех случаях кислотообразование в описываемой системе конкурировало со спиртовым брожением, что может служить основанием считать вторую стадию культивирования процессом с ограниченным доступом воздуха, а не полностью анаэробным.

Наблюдаемый спектр органических кислот (таблица 3) при ферментации у обоих исследованных штаммов типичен для гетероферментативного кислотообразования дрожжами с преобладанием пропионовокислого механизма брожения (пропионовая и янтарная кислоты) [12]. В незначительных количествах синтезируются лимонная, уксусная, молочная, масляная, изовалериановая и валериановая кислоты. Однозначного влияния температуры и присутствия солевой добавки не отмечено.

### Выводы

При культивировании штаммов дрожжей *D. hansenii* H<sub>4651</sub>, H<sub>433</sub> и H<sub>18-3</sub> и *G. pullulans* KB<sub>1-34</sub> на ферментализатах соломы наблюдается активность внеклеточных целлюлолитических ферментов, которые гидролизуют олигомерные углеводы клетчатки соломы с образованием простых сахаров как субстрата для сбраживания с получением вторичных продуктов метаболизма. При ограниченном доступе воздуха происходит гетероферментативное кислотообразование с преобладанием пропионовокислого механизма, а также спиртовое брожение с максимальным уровнем этанола в бражке до 1,6%. Все три вида метаболической активности взаимосвязаны и характеризуют физиологическое состояние дрожжей.

Проведенные исследования показали возможность более полноценного использования ферментализатов клетчатки с использованием психрофильных дрожжей *D. hansenii* H<sub>4651</sub>, H<sub>433</sub> и H<sub>18-3</sub> и *G. pullulans* KB<sub>1-34</sub> с получением биомассы дрожжей и продуктов метаболизма (органических кислот и спиртов). Разрабатываемая технология даст возможность экономить энергоресурсы в микробиотехнологии указанных биопродуктов.

В дальнейших исследованиях необходима оптимизация параметров получения биомассы дрожжей, органических кислот и спиртов на ферментализатах клетчатки.

### Литература

1. Robinson R.R., Feirag J., Slavin J.L. Effects of dietary arabinogalactan on gastrointestinal and blood parameters in healthy human subjects. *Journal of the American College of Nutrition*. 2001, V. 20, no. 4, pp. 279–285.
2. Андреева И.С., Соловьянова Н.А., Вечканов В.А., Терновой В.А. Разнообразие психротолерантных микроорганизмов в атмосферных аэрозолях западной Сибири // Международный научно-исследовательский журнал. 2015. № 1-1(32). С. 52–56.
3. Butinar L., Santos S., Spencer-Martins I., Oren A., Gunde-Cimerman N. Yeast diversity in hypersaline habitats. *FEMS Microbiology Letters*. 2005, V. 244, pp. 229–234.
4. Cocolin L., Urso R., Rantsiou K., Cantoni C., Comi G. Dynamics and characterization of yeasts during natural fermentation of Italian sausages. *FEMS Yeast Res.* 2006, V. 6, no. 5, pp. 692–701.
5. Lucas C., da Costa M., van Uden N. Osmoregulatory active sodium- glycerol co-transport in the halotolerant yeast *Debaryomyces hansenii*. *Yeast*. 1990, V. 6, pp. 187–191.
6. Prista C., Almagro A., Loureiro-Dias M.C., Ramos J. Physiological basis for high salt tolerance of *Debaryomyces hansenii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997, V. 63, pp. 4005–4009.
7. Наумович Н.И., Федоренчик А.А., Алещенкова З.М. Галофильные микроорганизмы из солевых отходов Старобинского месторождения // Биотехнология: состояние и перспективы развития: сб. тр. М., 2015. С. 400–401.
8. Кривовоз Б. Г. Производство биоэтанола на сахарном заводе // Техника и оборудование для села. 2010. № 3. С. 25–26.
9. Ермакова Н.В. Возможности переработки вторичного сырья // Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: Техника и технологии. 2012. № 2. Ч. 1. С. 234–237.
10. Ле Ань Туан, Канарский А.В., Щербakov А.В., Чеботарь В.К. Эффективность культивирования дрожжей *Debaryomyces hansenii* на питательной среде из мелассы // Вестник Казанского технологического университета. 2015. Т. 18. № 13. С. 218–222.
11. Якубов Е.Р., Кручина-Богданов И.В., Канарская З.А., Канарский А.В. Утилизация сахаров мелассы психрофильными дрожжами в анаэробных условиях // Инновационные технологии в пищевой промышленности: наука, образование и производство: сб. тр. Воронеж, 2018. С. 544–548.
12. Ле Ань Туан, Канарский А.В., Канарская З.А., Свиридова Т.В. Эффективность синтеза β-фруктофуранозидазы дрожжами *Debaryomyces hansenii* при культивировании на питательной среде из мелассы // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2016. № 1(67). С.191–197.
13. Ле Ань Туан, Баннищина Т.Е., Канарский А.В., Качалкин А.В., Максимова И.А. Ферментативная активность и эффективность синтеза белка дрожжами *Debaryomyces hansenii* и *Guehomyces pullulans* при глубоинной твердофазной ферментации свекловичного жома // Вестник Казанского технологического университета 2015. № 15. С. 243–248.
14. Doyon G., Gaudreau G., St.-Gelais D., Beaulieu Y., Randall C.J. Simultaneous HPLC Determination of Organic Acids, Sugars and Alcohols. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. 1991, V. 24, no. 112, pp. 87–94.
15. Kruchina-Bogdanov I.V., Anosoff A.V. Organic Acid IE-HPLC in Brewing Diagnostics. *27th Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques* (15–19 June 2003, Nice – France), 2003. P. 61.

### References

1. Robinson R.R., Feirag J., Slavin J.L. Effects of dietary arabinogalactan on gastrointestinal and blood parameters in healthy human subjects. *Journal of the American college of Nutrition*. 2001, V. 20, no. 4, pp. 279–285.
2. Andreeva I.S., Solov'yanova N.A., Vechkanov V.A., Ternovoy V.A. Variety of psychrotolerant microorganisms in atmospheric aerosols of western Siberia. *International Research Journal*. 2015, no. 1-1(32), pp. 52–56 (*In Russian*).
3. Butinar L., Santos S., Spencer-Martins I., Oren A., Gunde-Cimerman N. Yeast diversity in hypersaline habitats. *FEMS Microbiology Letters*. 2005, V. 244, pp. 229–234.
4. Cocolin L., Urso R., Rantsiou K., Cantoni C., Comi G. Dynamics and characterization of yeasts during natural fermentation of Italian sausages. *FEMS Yeast Res*. 2006, V. 6, no. 5, pp. 692–701.
5. Lucas C., da Costa M., van Uden N. Osmoregulatory active sodium- glycerol co-transport in the halotolerant yeast *Debaryomyces hansenii*. *Yeast*. 1990, V. 6, pp. 187–191.
6. Prista C., Almagro A., Loureiro-Dias M.C., Ramos J. Physiological basis for high salt tolerance of *Debaryomyces hansenii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997, V. 63, pp. 4005–4009.
7. Naumovich N.I., Fedorenchik A.A., Alechsenkova Z.M. Halophilic microorganisms from salt waste from Starobinskoe field. *Biotechnology: state and development prospects*. Collection of works. Moscow, 2015, pp. 400–401 (*In Russian*).
8. Krivovoz B.G. Bioethanol production at a sugar factory. *Machinery and Equipment for the Village*. 2010, no. 3, pp. 25–26 (*In Russian*).
9. Ermakova N.V. Recyclability options. *Proceedings of South-West State University. Series Technics and Technologies*. 2012, no. 2, V. 1, pp. 234–237 (*In Russian*).
10. Le An' Tuan, Kanarskiy A.V., Shcherbakov A.V., Chebotar' V.K. The effectiveness of the cultivation of the yeast *Debaryomyces hansenii* on a nutrient medium from molasses. *Proceedings of the Kazan Technological University*. 2015, V. 18, no. 13, pp. 218–222 (*In Russian*).
11. Yakubov E.R., Kruchina-Bogdanov I.V., Kanarskaya Z.A., Kanarskiy A.V. Utilization of molasses sugars with psychrophilic yeasts in anaerobic conditions. *Innovative technologies in the food industry: science, education and production*. Collection of works. Voronezh, 2018, pp. 544–548 (*In Russian*).
12. Le An' Tuan, Kanarskiy A.V., Kanarskaya Z.A., Sviridova T.V. The efficiency of  $\beta$ -fructofuranosidase synthesis by *Debaryomyces hansenii* yeast when cultivated on a nutrient medium from molasses. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2016, no. 1(67), pp. 191–197 (*In Russian*).
13. Le An' Tuan, Banytzina T.E., Kanarskiy A.V., Kachalkin A.V., Maksimova I.A. Enzymatic activity and efficiency of protein synthesis by the yeast *Debaryomyces hansenii* and *Guehomyces pullulans* during deep solid-phase fermentation of beet pulp. *Proceedings of the Kazan Technological University*. 2015, no. 15, pp. 243–248 (*In Russian*).
14. Doyon G., Gaudreau G., St.-Gelais D., Beaulieu Y., Randall C.J. Simultaneous HPLC Determination of Organic Acids, Sugars and Alcohols. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. 1991, V. 24, no. 112, pp. 87–94.
15. Kruchina-Bogdanov I.V., Anossoff A.V. Organic Acid IE-HPLC in Brewing Diagnostics. *27<sup>th</sup> Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques* (15–19 June 2003, Nice – France), 2003. P. 61.

Статья поступила в редакцию 09.04.2019