

УДК 57.083.133

DOI: <http://dx.doi.org/10.20914/2310-1202-2016-1-191-197>

Аспирант Ле Ань Туан, профессор А.В. Канарский,

доцент З.А. Канарская

(Казанский национальный исследовательский технологический университет)

кафедра пищевой биотехнологии. тел. (843) 231–89–13

E-mail: alb46@mail.ru

доцент Т.В. Свиридова

(Воронеж. гос. ун-т. инж. технол.) кафедра биохимии и биотехнологии.

тел. (473) 255–07–51

E-mail: sviridovtv@yandex.ru

Graduate Le Anh Tuan, professor A.V. Kanarskii,

associate professor Z.A. Kanarskaya

(Kazan national research technological university) Department of food biotechnology.

phone (843) 231–89–13

E-mail: alb46@mail.ru

associate professor T.V. Sviridova

(Voronezh state university of engineering technologies) Department of biochemistry and biotechnology. phone (473) 255–07–51

E-mail: sviridovtv@yandex.ru

Эффективность синтеза β -фруктофуранозидазы дрожжами *Debaryomyces hansenii* при культивировании на питательной среде из мелассы

The efficiency of synthesis of β -fructofuranosidase by *Debaryomyces hansenii* yeast when cultured on a nutrient medium from molasses

Реферат. Распространение *D. hansenii* в различных субстратах можно объяснить достаточно высокой гидролитической активностью, что является предпосылкой их применения в биотехнологии для получения различных биопродуктов, в частности литических ферментов. В работе определена продуктивность и эффективность синтеза внеклеточного фермента β -фруктофуранозидазы дрожжами *D. hansenii* на питательной среде из мелассы. Показано, что эффективность культивирования дрожжей *D. hansenii* на питательной среде из мелассы зависит, прежде всего, от штамма. Установлено, что наиболее продуктивным и эффективно синтезирующим внеклеточный фермент β -фруктофуранозидазу являются дрожжи *D. hansenii* штамм H4651. Наибольшая продуктивность и эффективность синтеза внеклеточного фермента β -фруктофуранозидаза у дрожжей *D. hansenii* штамм H4651 проявляется при культивировании на питательной среде из мелассы без дополнительных биогенных веществ при температуре 20 °C. Установлено, что потребление редуцирующих веществ не адекватно количеству синтезируемой биомассы дрожжей *D. hansenii*. Содержание редуцирующих веществ после 50 час культивирования дрожжей *D. hansenii* H4651 начинает увеличиваться. Полученную закономерность увеличения РВ в культуральной жидкости можно объяснить синтезом дрожжами *D. hansenii* внеклеточного фермента β -фруктофуранозидазы, которая гидролизует сахарозу в питательной среде. Наибольшая удельная скорость роста наблюдается у дрожжей *D. hansenii* H4651 при температурах культивирования 15 и 20 °C. Выход биомассы дрожжей *D. hansenii* H4651 превышает выход биомассы при культивировании дрожжей *D. hansenii* штаммов H433 и H18-3.

Summary. Distribution *D. hansenii* in different substrates can be explained sufficiently high hydrolytic activity, which is a prerequisite for their use in biotechnology to produce various biological products, in particular lytic enzymes. The paper is picked productivity and efficiency of synthesis of extracellular enzyme β -fructofuranosidase *D. hansenii* yeast nutrient medium from molasses. The efficiency of *D. hansenii* yeast culture in a nutrient medium of molasses depends primarily on the strain. It was found that the most productive and efficient synthesizing extracellular enzyme β -fructofuranosidase is yeast strain *D. hansenii* H4651. Maximum productivity and efficiency of the synthesis of the extracellular enzyme β -fructofuranosidase *D. hansenii* yeast strain H4651 seen when cultured in a nutrient medium from molasses without additional nutrients at a temperature of 20 °C. It was found that the consumption of reducing substances is not an adequate amount of yeast biomass synthesized *D. hansenii*. The content of reducing substances after 50 hours of cultivation *D. hansenii* yeast H4651 Uwe-creases. The resulting pattern PB increase in liquid culture may explain synthesis drozh-Jamie *D. hansenii* β -fructofuranosidase extracellular enzyme which hydrolyzes sucrose medium. The highest specific growth rate observed in yeast *D. hansenii* H4651 at temperatures cultivated-tion 15 and 20 °C. Out *D. hansenii* yeast biomass H4651 exceeds the yield of biomass when cultured yeast *D. hansenii* strains H433 and H18-3.

Ключевые слова: меласса, дрожжи *Debaryomyces hansenii*, культивирование, β -фруктофуранозидаза.

Keywords: molasses, yeast *Debaryomyces hansenii*, cultivation, β -fructofuranosidase.

© Ле Ань Туан, Канарский А.В.,
Канарская З.А., Свиридова Т.В., 2016

Для цитирования

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. С. 191-197. doi:10.20914/2310-1202-2016-1-191-197.

For cite

Le Anh Tuan, Kanarskii A.V., Kanarskaya Z.A., Sviridova T.V. The efficiency of synthesis of β -fructofuranosidase by *Debaryomyces hansenii* yeast when cultured on a nutrient medium from molasses. *Vestnik voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernyh tekhnologij* [Proceedings of the Voronezh state university of engineering technologies]. 2016, no. 1, pp. 191-197. (In Russ.). doi: 10.20914/2310-1202-2016-1-191-197.

Наиболее распространенный вид аскомицетовых дрожжей – это телеоморфные аскопоровые дрожжи *Debaryomyces hansenii*, которые обнаруживаются в почвенно-растительных субстратах. Дрожжи *D. hansenii* находят в помете растительноядных животных [1], в гниющей древесине [2] на скорлупе яиц птицы [3], в воде с высоким содержанием солей [4].

В значительных количествах дрожжи *D. hansenii* обнаруживается в соленых богатых белком животного происхождения продуктах питания: сыре, колбасных изделиях [5]. *D. Hansenii* участвует в традиционной ферментации растительного сырья, в частности оливок [6].

Присутствие *D. hansenii* в субстратах с высоким содержанием солей связано с наличием у них галотолерантности. Этот наиболее солеустойчивый вид дрожжей способен расти при концентрации NaCl более 10 % [7].

Дрожжи *D. hansenii* обладают широкими пределами толерантности по отношению к кислотности среды, что обуславливает широкое распространение этих дрожжей в разнообразных местах обитания. Некоторые штаммы *D. hansenii* способны расти при pH 10 и более, что позволяет относить эти дрожжи к умеренно алкалотолерантным видам [8]. Отмечается, что *D. hansenii* устойчивы к дегидротации [9]. Установлено, что для дыхания некоторых штаммов *D. Hansenii*, в частности штамма ВКМ Y-2482, оптимальным для роста является температура от 15 до 25 °C и pH от 6, 8 до 7,2 [10]. В этих условиях дрожжи *D. Hansenii* способны окислять субстрат, содержащий до 25 % солей.

Распространение *D. hansenii* в различных субстратах можно объяснить достаточно высокой гидролитической активностью. Рассмотренные особенности экологии *D. hansenii* являются предпосылкой их применения в биотехнологии для получения различных биопродуктов, в частности литических ферментов [11, 12, 13].

Цель настоящей работы – определение продуктивности и эффективности синтеза внеклеточного фермента β -фруктофуранозидазы дрожжами *D. hansenii* на питательной среде из мелассы.

Для достижения данной цели определено влияние температуры и продолжительности культивирования на рост клеток дрожжей, количество биомассы дрожжей, потребление редуцирующих веществ и синтез внеклеточной β -фруктофуранозидазы. На основании полученных результатов были рассчитаны кинетические и экономические факторы роста дрожжей *D. hansenii* на питательной среде из мелассы.

Методическая часть

В работе использованы штаммы дрожжей *D. Hansenii*:

– Н₄₃₃, предоставленный Всероссийской коллекцией непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (г. Пушкин);

– Н₄₆₅₁ – предоставленный коллекцией кафедры «Бионанотехнология и биоорганический синтез» Московского государственного университета пищевых производств;

– Н_{18.3} – предоставленный коллекцией кафедры биологии почв Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Штамм выделен 6.06.2011 из купола муравейника колонии муравьев *Formica aquilonia* в Новосибирской области.

Культуры дрожжей выращивали на питательной среде, приготовленной из мелассы при pH 5,5 с начальным содержанием редуцирующих веществ $0,9 \pm 0,1$ % с добавлением и без добавления биогенных веществ. Определение редуцирующих сахаров проводили по методике, приведенной в работе [14]. К 120 мкл исследуемой пробы добавляли 1200 мкл дистиллированной воды и 600 мкл DNSA. Выдерживали пробы 10 минут при 100 °C, затем 5 мин. при 0 °C. Далее добавляли во все пробы по 6 мл дистиллированной воды и измеряли оптическую плотность при 540 нм при ширине кюветы 5 мм. В контрольный образец вместо пробы добавляли дистиллированную воду – 120 мкл.

Кроме начального содержания редуцирующих веществ в питательной среде определяли общее содержание редуцирующих веществ. Для этого проводили гидролиз всех углеводов питательной среды в закрытых пробирках при pH 12 нагреванием до температуры кипения в течение 60 мин. Общее содержание редуцирующих веществ в экспериментах составляло 15 ± 1 %.

Предварительно разбавленную мелассу стерилизовали в автоклаве при 120 °C в течение 20 минут. Затем в стерилизованный раствор мелассы добавляли (NH₄)₂SO₄ и KН₂PO₄ исходя из начального содержания редуцирующих веществ и выхода дрожжей. В питательной среде pH составило 6,65.

Культивирование осуществлялось в колбах Эрленмейера объемом 100 мл при 15 ± 1 °C; 20 ± 1 °C; 25 ± 1 °C при непрерывном перемешивании на шейкере инкубатора ES-20 в течение 5 суток. Отбор проб проводили каждые 24 часа.

Определение биомассы дрожжей проводили фотометрическим методом с предварительным построением калибровочного графика. Оптическую плотность биомассы дрожжей определяли при длине волны 540 нм и ширине кюветы 5 мм [15]. Для определения количества дрожжевых клеток использовали камеру Горяева – Тома [16].

Активность β -фруктофуранозидазы определяли по скорости ферментативной реакции гидролиза сахарозы, которую устанавливали по количеству образовавшегося инверта в реакционной жидкости [17].

Удельную скорость роста, продолжительность генерации и выход дрожжей рассчитывали согласно рекомендациям в работе [18].

Результаты и обсуждение

Как видно из представленных на рисунках 1 и 2 результатов исследования, эффективность культивирования дрожжей *D. hansenii* на питательной среде из мелассы зависит, прежде всего, от штамма. В частности, у дрожжей *D. hansenii* Н₄₆₅₁ непродолжительные периоды лаг-фазы и экспоненциального роста. При этом в экспоненциальный период роста дрожжей *D. hansenii* штамма Н₄₆₅₁ наблюдается более интенсивное накопление клеток и их биомассы по сравнению с штаммами Н₄₃₃ и Н₁₈₋₃.

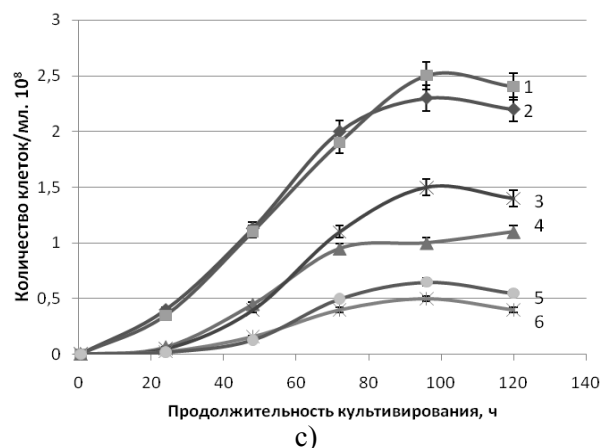
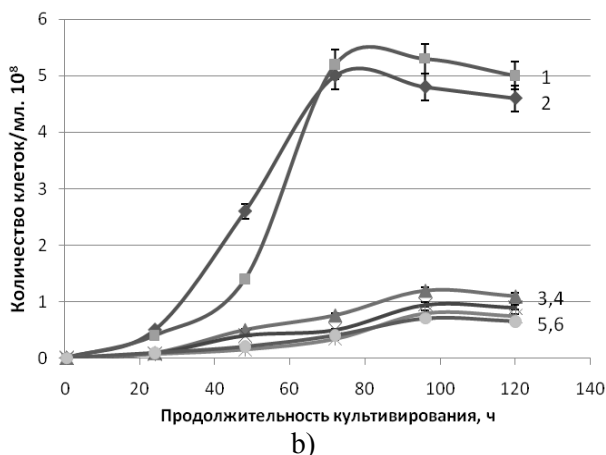
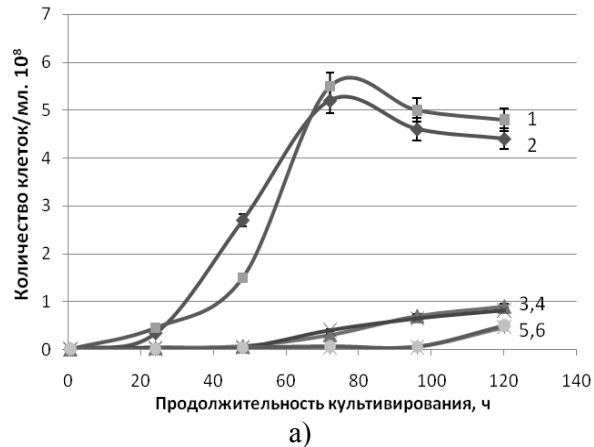


Рисунок 1. Влияние продолжительности и температуры (а – 15 °C, б – 20 °C, в – 25 °C) культивирования дрожжей *D. hansenii* на питательной среде из мелассы на рост числа клеток.

2а, 1б, 2с – Н₄₆₅₁ с дополнительными биогенными веществами

1а, 2б, 1с – Н₄₆₅₁ без дополнительных биогенных веществ

3а, 5б, 3с – Н₄₃₃ с дополнительными биогенными веществами

4а, 3б, 4с – Н₄₃₃ без дополнительных биогенных веществ

6а, 6б, 5с – Н₁₈₋₃ с дополнительными биогенными веществами

5а, 4б, 6с – Н₁₈₋₃ без дополнительных биогенных веществ

Максимальное количество клеток накапливается дрожжами *D. hansenii* штамма Н₄₆₅₁ также за менее продолжительный период культивирования на этапе линейного роста, чем штаммами Н₄₃₃ и Н₁₈₋₃. При равной продолжительности культивирования накопление количества биомассы на данном этапе культивирования также происходит интенсивней дрожжами *D. hansenii* штамма Н₄₆₅₁.

На продолжительность линейной фазы роста и последующую фазу замедленного роста дрожжей *D. hansenii* влияет температура культивирования. Наиболее благоприятная температура культивирования дрожжей *D. hansenii* штамма Н₄₆₅₁ 20 °C. При этой температуре культивирования наблюдается максимальное накопление клеток и количество биомассы этим штаммом дрожжей за более короткий период культивирования, чем при температурах 15 °C и 25 °C. Следует отметить, что дрожжи *D. hansenii* штамма Н₄₆₅₁ выходят на стационарную фазу роста за более короткий период культивирования и с максимальным количеством клеток и биомассы при температуре 20 °C по сравнению со штаммами Н₄₃₃ и Н₁₈₋₃.

Биогенные вещества, дополнительно внесенные в питательную среду, существенного влияния на рассмотренные фазы роста клеток дрожжей *D. hansenii* и рост биомассы не оказывает. Видимо, присутствующих в мелассе соединений азота, калия и фосфора достаточно для жизнедеятельности всех использованных в настоящей работе штаммов дрожжей *D. hansenii*.

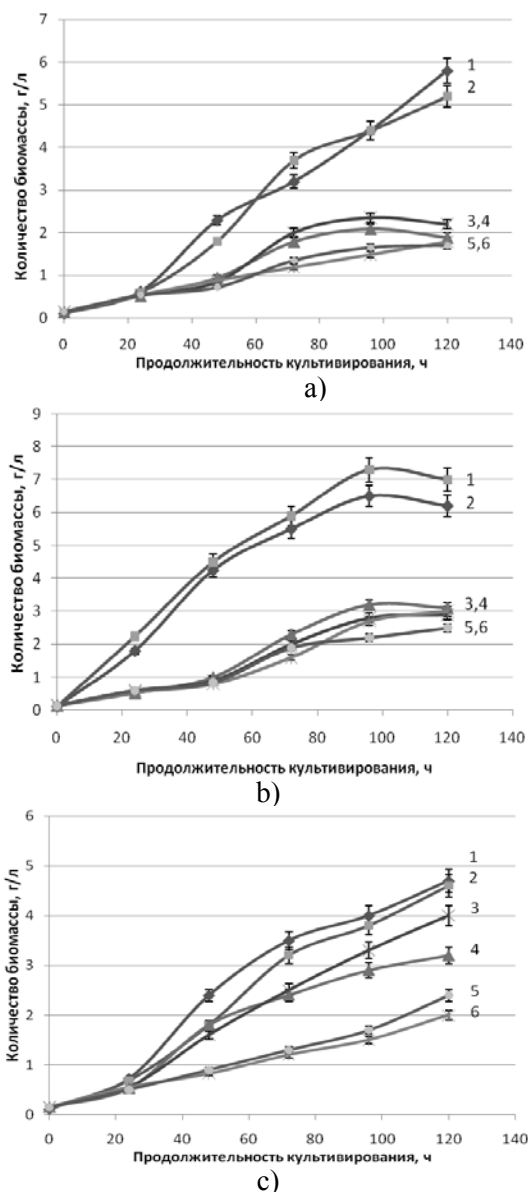


Рисунок 2. Влияние продолжительности и температуры (а -15°C, б - 20 °С, с - 25 °С) культивирования дрожжей *D. hansenii* на питательной среде из мелассы на синтез биомассы.

1а, 1б, 1с – H_{4651} с дополнительными биогенными веществами
 2а, 2б, 2с – H_{4651} - без дополнительных биогенных веществ
 4а, 4б, 4с – H_{433} с дополнительными биогенными веществами
 3а, 3б, 3с – H_{433} без дополнительных биогенных веществ
 5а, 5б, 5с – H_{18-3} с дополнительными биогенными веществами
 6а, 6б, 6с – H_{18-3} без дополнительных биогенных веществ

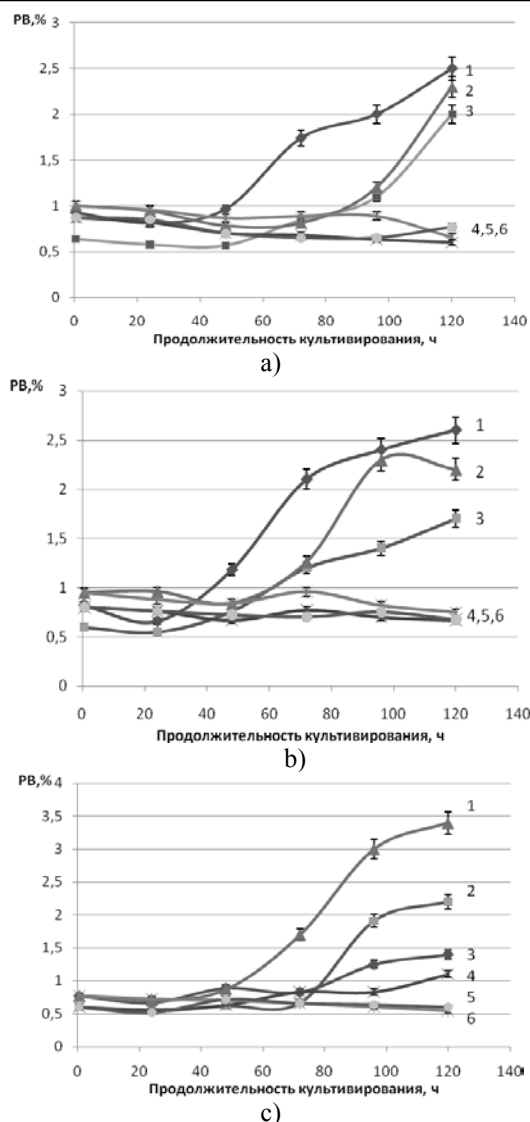


Рисунок 3. Влияние продолжительности и температуры (а -15 °С, б - 20 °С, с - 25 °С) культивирования дрожжей *D. hansenii* на питательной среде из мелассы на содержание редуцирующих веществ в культуральной жидкости

3а, 3б, 3с – H_{4651} с дополнительными биогенными веществами
 1а, 1б, 1с – H_{4651} - без дополнительных биогенных веществ
 6а, 6б, 6с – H_{433} с дополнительными биогенными веществами
 2а, 2б, 2с – H_{433} без дополнительных биогенных веществ
 4а, 4б, 4с – H_{18-3} с дополнительными биогенными веществами
 5а, 5б, 5с – H_{18-3} без дополнительных биогенных веществ

При культивировании дрожжи *D. hansenii* потребляют редуцирующие вещества. Однако, как показали исследования, потребление редуцирующих веществ не адекватно количеству синтезируемой биомассы дрожжей *D. hansenii*. Содержание редуцирующих веществ после 50 ч культивирования дрожжей *D. hansenii* H_{4651} и H_{433} начинает увеличиваться (рисунок 3). На образование дополнительных РВ этими штаммами дрожжей существенного влияния температура культивиро-

вания не оказывает. Присутствие в питательной среде дополнительных биогенных веществ влияет неоднозначно на образование РВ веществ. Следует заметить, что увеличение содержания РВ в культуральной жидкости сочетается с ростом числа клеток до примерно 70 часов культивирования и практически накоплением биомассы до окончания культивирования дрожжей *D. hansenii* H₄₆₅₁ и H₄₃₃. Дрожжи *D. hansenii* H₁₈₋₃ в рассматриваемых условиях культивирования практически не склонны к образованию в культуральной жидкости избыточного количества РВ.

Установленную закономерность увеличения РВ в культуральной жидкости можно объяснить синтезом дрожжами *D. hansenii* внеклеточного фермента β – фруктофуранозидазы, которая гидролизует сахарозу в питательной среде. Анализ результатов, представленных в таблице 1 показывает, что наибольшая активность внеклеточного фермента β – фруктофуранозидазы наблюдается в культуральной жидкости при культивировании дрожжей *D. hansenii* H₄₆₅₁ при температуре 20 °С. При этом внесение дополнительных биогенных веществ в питательную среду приводит к снижению активности внеклеточного фермента β – фруктофуранозидазы.

Активность внеклеточного фермента β – фруктофуранозидазы, синтезируемого дрожжами *D. hansenii* H₄₃₃, ниже, чем активность этого фермента, синтезируемого дрожжами *D. hansenii* H₄₆₅₁. При культивировании дрожжей *D. hansenii* H₄₃₃ с внесением дополнительных биогенных веществ β – фруктофуранозидазная активность в культуральной жидкости не наблюдается. И, наконец, дрожжи *D. Hansenii* H₁₈₋₃ не синтезируют внеклеточный фермент β – фруктофуранозидазы, активность этого фермента в культуральной жидкости отсутствует и, соответственно, в культуральной жидкости не наблюдается увеличение РВ при культивировании этих дрожжей (рисунок 3).

Т а б л и ц а 1

Активность внеклеточной β – фруктофуранозидазы, синтезируемой дрожжами *D. Hansenii*, при культивировании на питательной среде из мелассы

Штамм дрожжей <i>D. Hansenii</i>	Активность β -фруктофуранозидазы, мкмоль/мл культуральной среды при температуре культивирования, °С		
	15	20	25
H ₄₃₃	0,94/0,00	1,63/0,00	1,15/0,00
H ₄₆₅₁	1,32/0,15	3,50/0,46	1,62/0,09
H ₁₈₋₃	0,00/0,00	0,00/0,00	0,00/0,00

* числитель – культивирование без дополнительных биогенных веществ;
знаменатель – культивирование с внесением дополнительных биогенных веществ

Продолжительность культивирования дрожжей 120 час.

Наибольшая удельная скорость роста наблюдается у дрожжей *D. hansenii* H₄₆₅₁ при температурах культивирования 15 и 20 °С. Применение дополнительных биогенных веществ существенно на этом показателе не сказывается. Продолжительность генерации дрожжей *D. hansenii* H₄₆₅₁ значительно ниже продолжительности генерации дрожжей *D. hansenii* штаммов H₄₃₃ и H₁₈₋₃.

Выход биомассы дрожжей *D. hansenii* H₄₆₅₁ при культивировании без дополнительных биогенных веществ при температурах культивирования 15 и 20 °С значительно превышает выход биомассы при культивировании дрожжей *D. hansenii* штаммов H₄₃₃ и H₁₈₋₃. Как показано выше, культивирование дрожжей *D. hansenii* H₄₆₅₁ на питательной среде из мелассы без дополнительных биогенных веществ при температуре 20 °С являются благоприятными условиями синтеза этими дрожжами внеклеточного фермента β – фруктофуранозидазы.

Т а б л и ц а 1

Кинетические и экономические факторы культивирования дрожжей *D. hansenii* на питательной среде из мелассы*

Наименование штамм	Факторы**	Температура культивирования, °С		
		15	20	25
H ₄₃₃	Удельная скорость роста μ , ч ⁻¹	0,015/ 0,016	0,02/ 0,018	0,016/ 0,020
	Продолжительность генерации Q, ч ⁻¹	46,20/ 43,30	34,60/ 38,50	43,30/ 34,60
	Выход биомассы, %	30,00/ 39,20	17,00/ 35,00	14,00/ 28,60
H ₄₆₅₁	Удельная скорость роста μ , ч ⁻¹	0,030/ 0,026	0,031/ 0,032	0,028/ 0,027
	Продолжительность генерации Q, ч ⁻¹	23,10/ 26,60	22,30/ 21,70	24,70/ 25,70
	Выход биомассы, %	55,00/ 56,00	49,40/ 19,00	25,00/ 60,00
H ₁₈₋₃	Удельная скорость роста μ , ч ⁻¹	0,013/ 0,013	0,017/ 0,015	0,012/ 0,014
	Продолжительность генерации Q, ч ⁻¹	53,30/ 53,30	40,70/ 46,20	57,70/ 49,50
	Выход биомассы, %	18,00/ 24,20	22,50/ 31,50	10,00/ 15,00

* числитель – культивирование без дополнительных биогенных веществ;

Знаменатель – культивирование с внесением дополнительных биогенных веществ

**общая продолжительность культивирования 120 час.

Выводы

1. Установлено, что наиболее продуктивным и эффективно синтезирующим внеклеточный фермент β -фруктофуранозидазу являются дрожжи *D. hansenii* штамм H₄₆₅₁.

2. Показано, что наибольшая продуктивность и эффективность синтеза внеклеточного

фермента β -фруктофуранозидаза у дрожжей *D. hansenii* штамм H₄₆₅₁ проявляется при культивировании на питательной среде из мелассы без дополнительных биогенных веществ при температуре 20 °C.

ЛИТЕРАТУРА

1 Abranches J., Valente P., Nóbrega H.N., Fernandez F.A.S. et al. Yeast diversity and killer activity dispersed in fecal pellets from marsupials and rodents in a Brazilian tropical habitat mosaic // FEMS Microb. Ecol. 1998. V. 26. P. 27–33.

2 Zhang H.B., Yang M.X., Tu R., Gao L. et al. Fungal communities in decaying sapwood and heartwood of a conifer *Keteleeria evelyniana* // Curr Microbiol 2008. V. 56. № 4. P. 358–362.

3 Musgrove M.T., Jones D.R., Hinton A.Jr., Ingram K.D. et al. Identification of Yeasts Isolated from Commercial Shell Eggs Stored at Refrigerated Temperatures // J. Food Protection. 2008. V. 71. №. 6. P. 1258–1261

4 Butinar L, Santos S., Spencer-Martins I., Oren A. et al. Yeast diversity in hypersaline habitats // FEMS Microbiol Lett. 2005. V. 244. P. 229–34.

5 Capece A., Romano P. «Pecorino di Filiano» cheese as a selective habitat for the yeast species, *Debaryomyces hansenii* // International Journal of Food Microbiology. 2009. V. 132. № 2–3. P. 180–184.

6 Arroyo-López F.N., Querol A., Bautista-Gallego J., Garrido-Fernández A. Role of yeasts in table olive production // Int J Food Microbiol. 2008. V. 128. № 2. P. 189–96.

7 Prista C., Loureiro-Dias M.C., Montiel V., García R. et al. Mechanisms underlying the halotolerant way of *Debaryomyces hansenii* // FEMS Yeast Res. 2005. V. 5. P. 693–701.

8 Kurita O., Yamazaki E. Growth under alkaline conditions of the salt-tolerant yeast *Debaryomyces hansenii* IFO10939 // Curr Microbiol. 2002. V. 45. № 4. P. 277–280.

9 Khroustalyova G., Adler L., Rapoport A. Exponential growth phase cells of the osmotolerant yeast *Debaryomyces hansenii* are extremely resistant to dehydration stress // Process Biochemistry. 2001. V. 36. № 12. P. 1163–1166.

10 Юдина Н.Ю., Арляпов В.А. Зайцева А.С., Решетиллов А.Н. Влияние времени культивирования, состава исследуемых проб и условий анализа на окислительную активность дрожжей *Debaryomyces hansenii* // Естественные науки. 2012. Вып.3. С.186–197.

11 Breuer U. H, Harms *Debaryomyces hansenii* – an extremophilic yeast with biotechnological potential // Yeast. 2006. V. 23. P. 415–437.

12 Чернов И.Ю. Дрожжи в природе. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2013. 336 с.

13 Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. М.: Наука, 2004, 221 с.

14 Морозова Ю.А., Скворцов Е.В., Алимова Ф.К., Канарский А.В. Биосинтез ксиланаз и целлюлаз грибами рода *Trichoderma* на послеспиртовой барде // Вестник Казанского технологического университета. 2012. Т. 15. № 19. С. 120–122.

15 Чакчир Б.А., Алексеева Г.М. Фотометрические методы анализа: Методические указания. СПб.: Изд-во СПХФА, 2002. 44 с.

16 Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. и др.: Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.

17 Польшалина Г.В., Чередниченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов. Справочник. М.: ДеЛи принт, 2003. 375 с.

18 Скиба Е.А. Технология производства дрожжей: учебное пособие. Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2010. 121 с.

REFERENCES

1 Abranches J., Valente P., Nóbrega H.N., Fernandez F.A.S. et al. Yeast diversity and killer activity dispersed in fecal pellets from marsupials and rodents in a Brazilian tropical habitat mosaic. FEMS Microb. Ecol. 1998, vol. 26, pp. 27–33.

2 Zhang H.B., Yang M.X., Tu R., Gao L. et al. Fungal communities in decaying sapwood and heartwood of a conifer *Keteleeria evelyniana*. Curr Microbiol 2008, vol. 56, no. 4, pp. 358–362.

3 Musgrove M.T., Jones D.R., Hinton A. JR., Ingram K.D. et al. Identification of Yeasts Isolated from Commercial Shell Eggs Stored at Refrigerated Temperatures. J. Food Protection, 2008, vol. 71, no. 6, pp. 1258–1261.

4. Butinar L., Santos S., Spencer-Martins I., Oren A. et al. Yeast diversity in hypersaline habitats. FEMS Microbiol Lett. 2005, vol. 244, pp. 229–34.

5 Capece A., Romano P. «Pecorino di Filiano» cheese as a selective habitat for the yeast species, *Debaryomyces hansenii*. International Journal of Food Microbiology 2009, vol. 132, no. 2–3, pp. 180–184.

6 Arroyo-López F.N., Querol A., Bautista-Gallego J., Garrido-Fernández A. Role of yeasts in table olive production. *Int J Food Microbiol.* 2008, vol. 128, no. 2, pp.189–96.

7 Prista C., Loureiro-Dias M.C., Montiel V., García R. et al. Mechanisms underlying the halotolerant way of *Debaryomyces hansenii*. *FEMS Yeast Res.* 2005, vol. 5, pp. 693–701.

8 Kurita O., Yamazaki E. Growth under alkaline conditions of the salt-tolerant yeast *Debaryomyces hansenii* IFO10939. *Curr Microbiol.* 2002, vol. 45, no. 4, pp. 277–280.

9 Khroustalyova G., Adler L., Rapoport A. Exponential growth phase cells of the osmotolerant yeast *Debaryomyces hansenii* are extremely resistant to dehydration stress. *Process Biochemistry*, 2001, vol. 36, no. 12, pp. 1163–1166.

10 Yudin N.Yu., Arlyapov V.A. Zaitsev A.S., Reshetilov A.N. Influence of time of cultivation, the composition of the test sample and assay conditions on the oxidation of asset-yeast *Debaryomyces hansenii*. *Estestvennye nauki.* [Science]. 2012, no. 3, pp.186–197. (In Russ.).

11 Breuer U. H, Harms *Debaryomyces hansenii* – an extremophilic yeast with biotechnological potential. *Yeast.* 2006, vol. 23, pp. 415–437.

12 Chernov I.Yu. *Drozhzhi v prirode* [Yeast in nature]. Moscow: KMK Partnership scientific publications, 2013. 336 p. (In Russ.).

13 Babeva I.P., Chernov I. Yu. *Biologiya drozhzhei* [Biology yeast]. Moscow, Nauka, 2004, 221 p. (In Russ.).

14 Morozova Yu. A., Skvortsov E.V., Alimova F.K., Canarskii A.V. The biosynthesis of xylanase and cellulase of *Trichoderma* fungi to in slespirtovoy bard. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta.* [Herald of Kazan Technological University], 2012, vol. 15, no. 19, pp. 120–122. (In Russ.).

15 Chakchir B.A., Alekseeva G.M. *Photometricheskie metody analiza* [Photometric methods of analysis]. Saint-Petersburg, Publishing house SPHFA, 2002. 44 p. (In Russ.).

16 Netrusov A.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M. et al. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on microbiology]. Moscow, Akademiya, 2005. 608 p. (In Russ.).

17 Polygalina G.V., Cherednichenko V.S., Rimareva L.V. *Opreделение aktivnosti fermentov* [Determination of activity enzymes]. Moscow, DeLee print, 2003. 375 p. (In Russ.).

18 Skiba E.A. *Tekhnologiya proizvodstva drozhzhei* [Technology of production of yeast]. Biysk, AltGTU, 2010. 121 p. (In Russ.).