

## ПРОИЗВОДСТВО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОДУКТА НА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

**В. Б. Цугкиева**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор

**Л.Б. Дзантиева**, кандидат биологических наук, доцент

**Л.Х. Тохтиева**, кандидат биологических наук, доцент

**Дз.Н. Доев**, кандидат биологических наук, доцент

**И.А. Шабанова**, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

**Б.А. Датиева**, старший преподаватель

*Горский государственный аграрный университет, Владикавказ, Россия*

**E-mail:** [tehnologmen@yandex.ru](mailto:tehnologmen@yandex.ru)

**Ключевые слова:** топинамбур, сорт Интерес, культивирование, питательная среда, культуральная жидкость, биомасса, дрожжи, ферментер, микроорганизмы.

**Реферат.** Одним из экономически выгодных путей решения проблемы дефицита белка в пище и кормах является производство дрожжей, которые выращиваются на питательных средах различного происхождения и состава. Перспективными в этом плане являются многолетние нетрадиционные растения. Одной из технических культур, широко используемых в биотехнологии, сельском хозяйстве, медицине, пищевой промышленности и т.д., является топинамбур (*Helianthus tuberosus*), в том числе и сорт Интерес. Нами был определен химический состав клубней топинамбура в воздушно-сухом состоянии. Анализ данных показал, что клубни топинамбура имеют богатый состав и являются подходящим сырьем для приготовления питательных сред. Питательную среду готовили путем термической обработки. Выращивание дрожжей проводили при температуре 37°C, pH среды 4,5. В качестве продуцента белка одноклеточных использовали штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Основным компонентом питательной среды является топинамбур. В процессе выращивания изучена динамика изменения числа клеток и накопления их биомассы. Прирост биомассы дрожжей составил 21 г/л, а число КОЕ – 450 млн/мл. Активное усвоение сахаров дрожжами происходит с первого часа после начала культивирования и приостанавливается к девятому часу. Неполное усвоение сахаров связано с накоплением в среде продуктов метаболизма, что существенно сказывается на их активности. Полученные результаты исследований свидетельствуют о сбалансированности субстрата по компонентам питания, а также целесообразности ее использования для культивирования разных видов дрожжей.

## PRODUCTION OF A BIOTECHNOLOGICAL PRODUCT ON A NUTRITIONAL MEDIUM FROM PLANT RAW MATERIALS

**V.B. Tsugkieva**, Doctor of Agricultural Sciences, Professor

**L.B. Dzantieva**, Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor

**L.Kh. Tokhtieva**, Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor

**Dz.N. Doev**, Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor,

**I.A. Shabanova**, Ph.D. in Agricultural Sciences, Associate Professor,

**B.A. Datieva**, Senior Lecturer

*Gorsky State Agrarian University, Vladikavkaz, Russia*

**E-mail:** [tehnologmen@yandex.ru](mailto:tehnologmen@yandex.ru)

**Keywords:** Jerusalem artichoke, variety Interest, cultivation, nutrient medium, culture liquid, biomass, yeast, fermenter, microorganisms.

**Abstract.** Yeast production is one of the cost-effective ways to solve the problem of protein deficiency in food and feed. They are grown on nutrient media of various origins and compositions. Perennial non-traditional plants are promising in this regard. One of the industrial crops widely used in biotechnology, agriculture, medicine, food industry, etc., is Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), including the variety Interest. The authors determined the chemical composition of Jerusalem artichoke tubers in the air-dry state. Data analysis showed that Jerusalem artichoke tubers have a rich composition and are a suitable raw material for nutrient media preparation. The nutrient medium was prepared by heat treatment. Yeast cultivation was carried out at a temperature of 37°C, pH

4.5. The yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* was used as a producer of unicellular protein. The main component of the nutrient medium is Jerusalem artichoke. During cultivation, the dynamics of changes in the number of cells and accumulation of their biomass were studied. The increase in yeast biomass was 21 g/l, and the number of CFU was 450 million/ml. Active assimilation of sugars by yeast occurs from the first hour after the start of cultivation and stops by the ninth hour. Incomplete assimilation of sugars is associated with the accumulation of metabolic products in the environment, which significantly affects their activity. The obtained research results indicate the balance of the substrate in terms of nutritional components, as well as the expediency of its use for the cultivation of different types of yeast.

Растущий белковый дефицит в питании человека и животных можно устранить производством дрожжевой биомассы. Целесообразно при составлении дрожжевых заквасок использовать разные виды и штаммы дрожжей, так как они дополняют друг друга и при этом повышается выход дрожжевой биомассы, например, включать дрожжи рода *Candida*: *C. utilis*, *C. tropicalis*, а также *Trichosporon cutaneum* и *Cryptococcus diffluens*. Для производства дрожжевой биомассы можно применять дешевое растительное сырье, например, топинамбур [1].

Для повышения сбалансированности кормов в животноводстве применяют кормовые дрожжи, значительно превосходящие растительные корма по составу незаменимых аминокислот, витаминов и микроэлементов. Из каждой 1000 т дрожжей можно получить 450–500 т переваримого белка, содержащего свыше 220 т незаменимых аминокислот: лизина – 90, метионина – 7,5, цистеина – 9, триптофана – 12,5, витаминов группы В и D – 9 т [2, 3].

Высокопродуктивными штаммами дрожжей при выращивании на гидролизатах и гидролизоспиртовой барде являются *C. scottii* (штаммы Кр-9, Кр-9в, Астр-1, Тул-1, Кс-2), *C. tropicalis* (штаммы Л-2, Сясь-1, Кэ-14, Ахм-1, Кн-1, Гб-1, Сд-5, К-41), *C. utilis* (штаммы Св-1, Тал-1) и некоторые другие [4].

Микроорганизмы имеют еще одно ценное преимущество – способность быстро наращивать белковую массу. По мнению А.А. Андреева, Л.Н. Брызгалова [5], дрожжи представляют собой высококачественную белковую кормовую добавку. В 1 кг сухого вещества биомассы содержится витаминов (мг): тиамин ( $B_1$ ) – 15–18, пиридоксин ( $B_6$ ) – 19–30, рибофлавин ( $B_2$ ) – 54–68, биотин ( $B_7$ ) – 1,6–3,0, пантотеновой кислоты ( $B_3$ ) – 130–160, инозита ( $B_8$ ) – 500, холина ( $B_4$ ) – 2600, фолиевой кислоты ( $B_9$ ) – 3,4, никотиновой кислоты (РР) – 500–600, кобаламина ( $B_{12}$ ) – 0,08.

Зола кормовых дрожжей содержит ценные для животных макро- и микроэлементы, достаточно переваримого (истинного) протеина – 380–480 г.

И.Е. Парамонова и др. [6] утверждают, что сахарное сорго представляет собой альтернативу для микробиологического производства как дешевый, высокоэнергетический, богатый углеродом субстрат. В.И. Родригес и др. [7] изучены закономерности глубинного культивирования дрожжей на негидролизованном растительном сырье и установлено, что дрожжи *Pichia anomala* характеризуются стабильностью роста на негидролизованных сырьевых материалах.

Т.Е. Банничиной и др. [8] проведен обзор использования дрожжевых культур в биотехнологических процессах: пищевой промышленности, фармацевтике, кондитерском и хлебопекарном производстве, животноводстве. Ю.Р. Малашенко и др. [9] отмечают возможность применения метанола в качестве субстрата для производства белка одноклеточных, а также полисахаридов, аминокислот и витаминов.

В условиях Северного Кавказа, как главного кукурузосеющего региона России, для получения дрожжевых кормов целесообразно использовать отходы кукурузо-крахмального производства [10].

К.И. Джанаев [11] обосновал целесообразность переработки топинамбура с целью получения микробного белка. Известно, что биологически ценным источником в приготовлении субстратов для дрожжей является зеленая масса многолетних высокоурожайных культур [12, 13].

Проведено также исследование эффективности использования высушенной и натуральной зеленой массы сельфии пронзеннолистной, корнеклубней якона, зеленой массы горца сахалинского в качестве компонента питательной среды для культивирования дрожжей [14–19].

Определена эффективность биомассы дрожжей *Pichia kudriavzevii* и *Metschnikovia pulcherrima* в кормлении цыплят-бройлеров кросса КОББ 500 [20].

Таким образом, исходя из вышеизложенного, целесообразно изучение производства дрожжей на растительной среде.

Цель исследований – изучение возможности культивирования дрожжей на питательной среде из корнеклубней топинамбура сорта Интерес. В связи с этим в задачи исследований входило:

- определение химического состав клубней топинамбура;
- приготовление субстрата на основе клубней топинамбура;
- изучение динамики накопления клеток дрожжей в питательной среде из корнеклубней топинамбура.

### ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для исследований явились клубни топинамбура сорта Интерес, выращенные в коллекционном питомнике Горского ГАУ и готовые кормовые дрожжи.

Исследования проводились по общепринятым методикам [21] на базе НИИ биотехнологии Горского ГАУ. Проведены работы по определению химического состава клубней топинамбура, содержанию в них редуцирующих сахаров, дана физико-химическая и органолептическая оценка качества кормовых дрожжей. Количественный учет микроорганизмов проводили под микроскопом, биомассу определяли взвешиванием.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследований использовали культуру *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-3414 [22] и субстрат из корнеклубней топинамбура сорта Интерес.

Корнеклубни топинамбура измельчали на мясорубке и помещали в стеклянные баллоны. Содержимое баллонов стерилизовали автоклавированием в течение 60 мин при 1 атм.

Питательную среду готовили путем термической обработки. С этой целью содержимое баллонов разбавляли водой в соотношении 1 : 1 и нагревали с выдерживанием температурных пауз : 1) при 37°C; 2) при 43°C; 3) при 53°C; 4) при 63°C; 5) при 70°C. Питательную среду фильтровали, сливали в баллоны и подвергали стерилизации. Выращивание дрожжей проводили в ферментере, который заполняли питательной средой на 2/3 объема. В качестве источника азота использовали карбамид из расчета 0,2%.

Параметры культивирования: температура 37°C, перемешивание, рН 4,5–5,0, аэрирование из расчета 4–5 л на 1 л среды в час.

Готовую дрожжевую суспензию сливали в стерильные баллоны. Отделение дрожжей от субстрата осуществляли методом центрифугирования.

Предварительно был определен химический состав клубней топинамбура в воздушно-сухом состоянии (табл. 1). Анализ данных показал, что клубни топинамбура имеют богатый состав и являются подходящим сырьем для приготовления питательных сред.

Таблица 1

Содержание питательных веществ в клубнях топинамбура сорта Интерес, %  
The content of nutrients in the tubers of Jerusalem artichoke varieties Interest, %

Показатели	Состояние	
	натуральное	воздушно-сухое
Сухое вещество	23,80±2,12	
БЭВ	20,03±2,05	84,65±1,09
Сырой» протеин	2,29±0,20	6,47±0,40
Сырой» жир	1,30±0,07	1,28±0,10
Сырая» клетчатка	1,06±0,07	4,59±0,73
Сырая» зола	0,92±0,05	4,01±0,59
Кальций	0,09±0,00	0,41±0,04
Фосфор	0,050±0,004	0,230±0,200

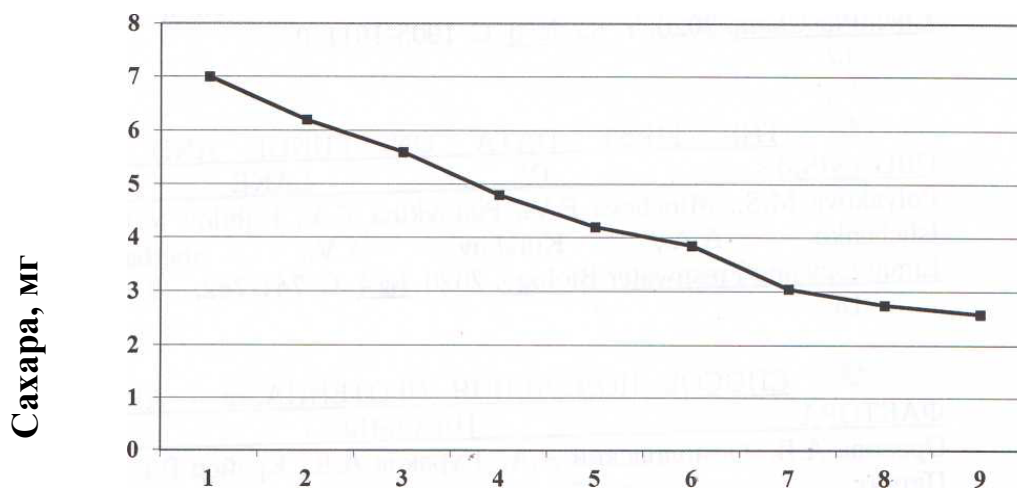
Таблица 2

Содержание редуцирующих сахаров в клубнях топинамбура сорта Интерес и в готовой питательной среде  
The content of reducing sugars in Jerusalem artichoke tubers of the variety Interest and the prepared nutrient medium

Номер пробы	Концентрация сахаров, мг/мл	
	клубни топинамбура	готовая питательная среда
1	10,6	6,2
2	12,7	7,4
3	12,0	7,0
4	11,3	6,6
5	13,4	7,8
M± m	12,0 ± 0,49	7,0 ± 0,28

Из данных табл. 2 видно, что смешивание измельченных клубней топинамбура с водой в соотношении 1 : 1 приводит к уменьшению содержания сахаров примерно наполовину.

Динамика изменения редуцирующих сахаров при культивировании дрожжей представлена на рисунке.



Динамика изменения редуцирующих сахаров при культивировании дрожжей  
Dynamics of changes in reducing sugars during yeast cultivation

Активное усвоение сахаров дрожжами начинается с первого часа после начала культивирования и приостанавливается к девятому часу. Неполное усвоение сахаров связано с накоплением в среде продуктов метаболизма,

что существенно сказывается на их активности.

В процессе культивирования изучена динамика изменения дрожжевых клеток и накопления их биомассы (табл. 3).

Таблица 3

Концентрация дрожжевых клеток в процессе культивирования  
The concentration of yeast cells during cultivation

Час культивирования	Концентрация клеток в среде, млн/мл			
	Генерация			M± m
	1	2	3	
1	2	3	4	5
1	20	35	20	25,0 ± 4,7
2	25	50	25	33,0 ± 7,9

1	2	3	4	5
3	65	70	45	60,0 ± 1,6
4	145	125	90	120,0 ± 6,3
5	235	190	215	213,0 ± 14,2
6	340	235	345	307,0 ± 33,2
7	405	345	430	393,0 ± 19,0
8	435	395	455	428,0 ± 12,6
9	450	430	470	450,0 ± 6,3

Данные табл. 3 свидетельствуют о положительной динамике во всех трех генерациях. С третьего по восьмой час культивирования отмечается фаза наибольшей активности (логарифмическая), после восьмого часа наступает некоторое замедление в росте (стационарная фаза).

В среднем накопление биомассы составило в среднем 21 г/л. Готовый продукт представляет собой суспензию светло-коричневого цвета с характерным дрожжевым запахом. Полученные показатели сопоставимы с литературными данными [1].

На основании результатов исследований установлена эффективность использования субстрата из корнеклубней топинамбура для культивирования дрожжей.

Накопление биомассы дрожжей в культуральной жидкости характеризуется следующими данными:

1	21
2	19
3	23
M ± m	21, 00 ± 0,63

## ВЫВОДЫ

1. Клубни топинамбура сорта Интерес, выращенные в условиях РСО-Алания, имеют богатый химический состав.

2. Топинамбур является перспективным и эффективным сырьем для производства микробного белка дрожжами.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Нейман Б.Я.* Индустрия микробов. – М.: Знание, 1983. – 208 с.
2. *Винниченко А.Н., Дворецкий А.И.* Биопрепараты в животноводстве и растениеводстве. – Днепропетровск: Проминь, 1989. – С. 124–125.
3. *Bergkvist R., Yare N.* // *Moder. Kemi.* – 1969. – Vol. 11. – P. 44.
4. *Босенко А.М., Петроченко Л.В.* Культивирование дрожжей *Candida scotii* на древесных гидролизатах, разбавленных отработанной культуральной жидкостью // *Гидролизная и лесохимическая промышленность.* – 1977. – №1. – С. 5–6.
5. *Андреев А.А., Брызгалова Л.И.* Производство кормовых дрожжей. – М.: Лесн. пром-сть, 1986. – 248 с.
6. *Культивирование дрожжей–продуцентов кормового белка на соке сахарного сорго / И.Е. Парамонова, Н.Л. Кравченко, Б.С. Балпанов, О.А. Тен // Биотехнология, теория и практика.* – 2013. – № 1. – С. 52–56.
7. *Родригес В.И., Лаптева Е.А., Борисенко Е.Г.* Некоторые закономерности глубинного культивирования дрожжей на негидролизованном растительном сырье // *Пищевая промышленность.* – 2019. – №5. – С. 49–51.
8. *Дрожжи в современной биотехнологии / Т.Е. Банницына, А.В. Канарский, А.В. Щербаков, В.К. Чеботарь, Е.И. Кипрушкина // Вестник Международной академии холода.* – 2016. – №.1. – С. 24–29.
9. *Малашенко Ю.Р., Соколов И.Г., Романовская В.А.* Микробный метаболизм не ростовых субстратов. – Киев: Наукова думка, 1987. – 189 с.
10. *Тменов И.Д., Цугкиев Б.Г.* Использование продуктов микробиологического синтеза в животноводстве: учеб. пособие. – Владикавказ: Эра, 1996. – 122 с.

11. Джанаев К.И. Биоконверсия зеленой массы и клубней топинамбура сорта Скороспелка разными видами дрожжей с целью получения кормового белка: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владикавказ, 2012. – 28 с.
12. Медведев В.В. Топинамбур пищевого назначения // Топинамбур и топинсолнечник – проблемы возделывания и использования: тез. докл. III Всесоюз. науч.-произв. конф., 7–11 окт. – Одесса: Маяк, 1991. – С. 17.
13. Effect of feeding Yeast obtained from Sakhalin Buckwheat on the growth of broiler chickens / V.B. Tsugkiewa, B.G. Tsugkiew, L.B. Dzantieva, A.T. Kokoeva, L.Kh. Tokhtieva, I.A. Shabanova, E.A. Tokhtieva // Jomal of Livestock Science. – Vol. 12. – P. 71–75. Received on 2/9/20. Accepted on 22/12/2020. Published on 15/1/2021 DOI: 10.33259 / JlivestSci. 2021. P. 71-75.
14. Технология выращивания дрожжей на питательных средах из зеленой массы силфики пронзеннолистной / Б.Г. Цугкиев, В.Б. Цугкиева, А.М. Хозиев, Л.Б. Дзантиева, И.Э. Солдатова // Биотехнология. – 2021. – Т. 37, № 4. – С. 60–64.
15. Цугкиева В.Б., Дзантиева Л.Б., Цугкиева И.Б. Качество кормовых дрожжей в зависимости от технологии производства и вида исходного сырья // Новые направления в решении проблем АПК на основе современных ресурсосберегающих, инновационных технологий: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию победы в Великой Отечественной войне. 26–28 янв. – Волгоград, 2010. – Т. 2. – С. 164–166.
16. Использование якона в качестве компонента питательной среды для культивирования дрожжей / В.Б. Цугкиева [и др.] // Пищевая промышленность. – 2021. – № 9. – С. 58–60.
17. Цугкиев Б.Г., Каркусова Н.Н., Хозиев А.М. Получение микробного белка на основе питательной среды из зеленой массы горца сахалинского // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2014. – Т. 51, № 1. – С. 255–259.
18. Пат. № 2370531 Российская Федерация, МПК С12N 1/16. Штамм дрожжей *Metschnikowia pulcherrima* – продуцент кормового белка / Цугкиев Б.Г., Кабулова М.Ю., Цугкиева И.Б., Гекиев З.А.; заявитель и патентообладатель: Горский государственный аграрный университет. – № 2008124697/13, заявл. 16.06.2008; опубл. 20.10.2009. Бюл. № 29.
19. Патент № 2449012 С2 Российская Федерация, МПК С12N 1/20, С12R 1/225, А23С 9/12. Штамм *Saccharomyces unisporus* ВКПМ у-3416, используемый для приготовления кисломолочных напитков: № 2010119744/10: заявл. 17.05.2010; опубл. 27.04.2012 / Цугкиев Б.Г., Козырева И.И., Рамонова Э.В., Хаев Д.Л.; заявитель: Горский государственный аграрный университет.
20. Реализация биоресурсного потенциала цыплят бройлеров кросса «КОББ500» с использованием биомассы дрожжей селекции Горского ГАУ / А.М. Хозиев [и др.] // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2020. – Т. 57 (ч. 2). – С. 139–145.
21. Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей: справ. пособие. – М.: Пищ. пром-сть, 1979. – 120 с.
22. Патент № 2445359 С2 Российская Федерация, МПК С12N 1/6, С12R 1/865. Штамм *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-3414, используемый в производстве кисломолочных продуктов смешанного брожения и слабоалкогольных напитков из молочной сыворотки, обладающих профилактическими свойствами: № 2010119753/10А: заявл. 2010-05-17; опубл. 20.03.2012 / Цугкиев Б.Г., Рамонова Э.В., Гудиев Р.В.; заявитель Горский государственный аграрный университет.

## REFERENCES

1. Neiman V. Ya., *Industrija mikrobov* (The microbial industry), Moscow: Knowledge: 1983. p. 208.
2. Vinnichenko A.N., Dvoretzky A.I., *Biopreparaty v zhivotnovodstve i rastenievodstve* (Biological products in livestock and crop production), Dnepropetrovsk: Promin, 1989. p. 124–125.
3. Bergkvist R., Yare N., *Moder. Kemi*, 1969, Vol. 11, pp. 44.
4. Bosenko A.M., Petrochenko L.V., *Gidroliznaja i lesohimicheskaja promyshlennost'*, 1977, No. 1, pp. 5–6. (In Russ.)

5. Andreev A.A., Bryzgalova L.I., *Proizvodstvo kormovyh drozhzhej* (Feed yeast production), Moscow: Forest industry, 1986, 248 p.
6. Paramonova I.E., Kravchenko N.A., Balpanov B.S., Ten O.A., Paramonova I.E., *Biotehnologija, teorija i praktika*, 2013, No. 1, pp. 52–56. (In Russ.)
7. Rodriguez V.I., Lapteva E.A., Borisenko E.G., *Pishhevaja promyshlennost'*, 2019, No. 5, pp. 49–51. (In Russ.)
8. Bannitsyna T.E., Kanarsky A.V., Shcherbakov A.V., Chebotar V.K., Kiprushkina E.I., *Vestnik Mezhdunarodnoj akademii holoda*, 2016, No. 1, pp. 24–29. (In Russ.)
9. Malashenko Yu.R., Sokolov I.G., Romanovskaya V.A., *Mikrobnnyj metabolizm ne rostovykh substratov* (Microbial metabolism of non-growth substrates), Kyiv: Naukova Dumka, 1987, 189 p.
10. Tmenov I.D., Tsugkiev B.G., *Ispol'zovanie produktov mikrobiologicheskogo sinteza v zhivotnovodstve* (The use of products of microbiological synthesis in animal husbandry), Vladikavkaz: Era, 1996, 122 p.
11. Dzhanayev K.I., *Biokonversija zelenoj massy i klubnej topinambura sorta Skorospelka raznymi vidami drozhzhej s cel'ju poluchenija kormovogo belka* (Bioconversion of green mass and tubers of Jerusalem artichoke variety Skorospelka with different types of yeast in order to obtain feed protein), Ph. D. dis. ... cand. biologist. Sciences, Vladikavkaz, 2012, 28 p.
12. Medvedev V.V., *Topinambur i topinsolnechnik – problemy vozdeystviya i ispol'zovaniya* (Jerusalem artichoke and Jerusalem artichoke - problems of cultivation and use), abstracts of the III All-Union Scientific and Production Conference, 1991, 7-11 October, Odessa: Lighthouse, 1991, pp. 17. (In Russ.)
13. Tsugkueva V.B., Tsugkiev B.G., Dzantjeva L.B., Kokoeva A.T., Tokhtieva L.Kh., Shabanova I.A., Tokhtieva E.A., Effect of feeding Yeast obtained from Sakhalin Buckwheat on the growth of broiler chickens, *Jornal of Livestock Science*, Vol. 12, pp. 71-75.
14. Tsugkiev B.G., Tsugkiev V.B., Khoziev A.M., Dzantjeva L.B., Soldatova I.E., *Biotehnologija*, 2021, No. 37 (4), pp. 60–64. (In Russ.)
15. Tsugkueva V.B., Dzantjeva L.B., Tsugkueva I.B., *Novye napravlenija v reshenii problem APK na osnove sovremennykh resursosberegajushchih, innovacionnykh tehnologij* (New directions in solving the problems of the agro-industrial complex based on modern resource-saving, innovative technologies), materials of the International scientific and practical conference dedicated to the 65th anniversary of victory in the Great Patriotic War. January 26-28, Volgograd, 2010, T. 2, pp. 164–166. (In Russ.)
16. Tsugkueva V.B., Hoziev A.M., Tsugkiev B.G., Dzantjeva L.B., Khairbekov S.U., *Pishhevaja promyshlennost'*, 2021, No. 9, pp. 58–60. (In Russ.)
17. Tsugkiev B.G., Karkusova N.N., Hoziev A.M., *Izvestija Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2014, No. 51 (1), pp. 255–259. (In Russ.)
18. Pat. 2370531, Russian Federation, Tsugkiev B.G., Kabulova M.Yu., Tsugkueva I.B., Gekiev Z.A., dec. 16.06.2008; publ.20.10.2009. Bull. No. 29. (In Russ.)
19. Pat. 2449012, Russian Federation, Tsugkiev B.G., Kozyreva I.I., Ramonova E.V., Khaev D.L., dec. 17.05.2010; publ.27.04.2012. Bull. No. 12. (In Russ.)
20. Hoziev A.M., Tsugkiev B.G., Kozyrev S.G., Tsugkueva V.B., Siukaev S.A., *Izvestija Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2020, No. 57 (2), pp. 139–145. (In Russ.)
21. Babyeva I.P., Golubev V.I., *Metody vydelenija i identifikacii drozhzhej* (The Methods of yeast isolation and identification), Moscow: Food Industry, 1979, 120 p.
22. Patent No. 2445359 C2, Russian Federation, Tsugkiev B.G., Ramonova E.V., Gudiev R.V., application 17.05.2010, publ. 20.03.2012. (In Russ.)