

Современная наука и инновации.
2023. № 2(42). С. 133-144
Modern Science and Innovations.
2023; 2(42):133-144

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОДОВОЛЬСТВЕННЫХ
ПРОДУКТОВ /
TECHNOLOGY OF FOOD PRODUCTS

Научная статья / Original article

УДК 637.345: 663.15
DOI: 10.37493/2307-910X.2023.2.13

Мария Александровна Шпак
[Maria A. Shpak] *
Светлана Андреевна Рябцева
[Svetlana A. Ryabtseva],
Алексей Дмитриевич Лодыгин
[Aleksey D. Lodygin],
Анастасия Андреевна Семченко
[Anastasia A. Semchenko]

**Исследование особенностей
культивирования молочнокислых
бактерий в подсырной сыворотке и уф-
пермеате для получения β -галактозидаз**

**The research of lactic acid bacteria
cultivation in cheese whey and UF
permeate for β -galactosidases production**

*Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь, Россия /
North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia, maria.bratsikhina@yandex.ru*

Аннотация. Молочнокислые микроорганизмы являются потенциальными источниками фермента β -галактозидазы, которая может быть использована для гидролиза лактозы при производстве низко- и безлактозных продуктов питания, а также в качестве катализатора при проведении биосинтеза лактулозы, галактоолигосахаридов и других ценных пищевых добавок. Потребность молочнокислых бактерий к наличию в среде культивирования дополнительных источников углерода, азота и др. компонентов значительно удорожает стоимость получения бактериальных β -галактозидаз. Лактозосодержащее сырье, в частности молочная сыворотка и её УФ-пермеат являются перспективным и достаточно дешевым аналогом дорогостоящих сложно компонентных сред для культивирования молочнокислых микроорганизмов. В работе исследованы особенности культивирования различных видов молочнокислых бактерий (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* LGG, *Lactococcus lactis* ssp.) в разных видах вторичного молочного сырья (молочная сыворотка и УФ-пермеат). Показано, что подсырная сыворотка является более благоприятной средой для их роста, чем УФ-пермеаты. Самая высокая концентрация молочной кислоты была получена в опытах с *L. acidophilus*. Для ускорения роста молочнокислых бактерий в пермеате предложено использовать добавление 2% пептона.

Ключевые слова: подсырная сыворотка, УФ-пермеат, лактаза, β -галактозидаза, продуценты, молочнокислые бактерии.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства по теме: «Создание первого в России высокотехнологичного производства пребиотика лактулозы и функциональных молочных ингредиентов для импортозамещения в медицине, ветеринарии, детском питании, производстве лечебно-профилактических продуктов для людей и животных» (Соглашение о предоставлении из федерального бюджета субсидии на развитие кооперации государственного научного учреждения и организации реального сектора экономики в целях реализации комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства №075-11-2022-021 от 07.04.2022 г.) в рамках Постановления Правительства РФ от 9 апреля 2010 г. № 218 на базе ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет».

Для цитирования: Шпак М. А., Рябцева С. А., Лодыгин А. Д., Семченко А. А. Исследование особенностей культивирования молочнокислых бактерий в подсырной сыворотке и УФ-пермеате для получения β -галактозидаз // *Современная наука и инновации*. 2023. №2 (42). С. 133-144. <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2023.2.13>

Abstract. *Lactic acid microorganisms are potential sources of the β -galactosidase enzyme, which can be used for the hydrolysis of lactose in the production of low- and lactose-free food products, as well as a catalyst in the biosynthesis of lactulose, galactooligosaccharides, and other valuable food additives. The need of lactic acid bacteria for the presence in the cultivation medium of additional sources of carbon, nitrogen, and other components significantly increases the cost of bacterial β -galactosidases. Lactose-containing raw materials, in particular whey and its UV permeate, are a promising and fairly cheap analogue of expensive complex media for the cultivation of lactic acid microorganisms. In this work, the features of cultivation of various types of lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* LGG, *Lactococcus lactis* ssp.) in different types of secondary milk raw materials (whey and UV permeate) were studied.. It has been shown that cheese whey is a more favorable medium for their growth than UV permeates. The highest concentration of lactic acid was obtained in experiments with *L. acidophilus*. To accelerate the growth of lactic acid bacteria in the permeate; it was proposed to use the addition of 2% peptone.*

Key words: cheese whey, UF permeate, lactase, β -galactosidase, producers, lactic acid bacteria.

Funding: The work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the implementation of a comprehensive project to create a high-tech production on the topic: "Creation of Russia's first high-tech production of lactulose prebiotic and functional dairy ingredients for import substitution in medicine, veterinary medicine, baby food, Production of therapeutic and prophylactic products for humans and animals" (Agreement on the provision of subsidies from the federal budget for the development of cooperation between a state scientific institution and an organization of the real sector of the economy in order to implement a comprehensive project to create high-tech production No. 075-11-2022-021 dated 07.04.2022) within the framework of the Decree of the Government of the Russian Federation No. 218 dated April 9, 2010 on the basis of the Federal State Educational Institution "North Caucasus Federal University".

For citation: Shpak M. A., Ryabtseva S. A., Lodygin A. D., Semchenko A. A. The research of lactic acid bacteria cultivation in cheese whey and UF permeate for β -galactosidases production // *Modern Science and Innovations*. 2023;2(42): 133-144. <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2023.2.13>

Введение. β -галактозидаза (лактаза) относится к ферментам класса гидролаз, которые способны расщеплять лактозу до галактозы и глюкозы, а затем могут присоединять галактозный остаток к фруктозе (т.е. проводить трансгалактозилирование). Это позволяет использовать β -галактозидазу при производстве низко- и безлактозных продуктов для питания людей с лактазной недостаточностью, для предотвращения кристаллизации лактозы в сгущенных продуктах, а также для получения ценных пищевых добавок, таких как лактулоза, галактоолигосахариды и др. Механизм действия β -галактозидазы включает в себя: образование лактоферментного комплекса; галактозильный перенос и образование галактозильного комплекса с ферментом, при этом высвобождается глюкоза; перенос галактозы к нуклеофильному акцептору, содержащему гидроксильную группу. В случае если акцептором является вода, образуется галактоза, а когда акцептором является другой сахар, продуктом является олигосахарид [7].

Многие молочнокислые бактерии обладают способностью вырабатывать фермент β -галактозидазу. Использование ферментного препарата β -галактозидазы, выделенной из клеток *Streptococcus thermophilus*, и 30 % раствора лактозы в качестве субстрата, позволило провести синтез галактоолигосахаридов (ГОС), выход которых составил 53,45 г/л [15]. β -галактозидаза *Lactobacillus acidophilus* [5] была успешно применена для биосинтеза

лактозы и галактоолигосахаридов, при этом максимальное количество лактулозы 25 г/л было получено через 7 ч реакции и содержания в субстрате лактозы и фруктозы в соотношении 40:20% (масса/объем). Культивирование *Bifidobacterium longum* в течение 30 ч при температуре 37°C в среде, содержащей 10 % сыворотки, 10 % кукурузного экстракта и 0,05 % цистеин-НСI, позволило получить β -галактозидазу высокой степени активности [4]. Сравнительный анализ 60 лактаз показал, что наряду со *Streptococcus thermophilus*, β -галактозидаза которого достаточно термоустойчива, высокоактивна и стабильна при длительном хранении по сравнению с аналогичными ферментами дрожжей [3], *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Leuconostoc citrovorum subsp.* также являются потенциальными источниками данного фермента [12].

β -галактозидазы бактериального происхождения чаще всего представляют собой белки внутриклеточной локализации и различаются молекулярной массой, количеством субъединиц, аффинностью к различным субстратам, рН оптимумом действия, термостабильностью. Практически все бактериальные β -галактозидазы проявляют максимум своей активности в диапазоне рН 6,5 – 7,5. Температурный оптимум действия фермента зависит от его продуцента и колеблется в пределах от 37 до 75°C [6, 13].

Процесс получения бактериальной β -галактозидазы включает в себя следующие этапы: культивирование выбранной чистой культуры в селективных средах при оптимальных условиях, выделение, очистку фермента и получение ферментного препарата. Несмотря на то, что некоторые молочнокислые микроорганизмы, в частности *Lactobacillus brevis*, обладают способностью выделять β -галактозидазу в среду в конце процесса культивирования [10], большинство бактериальных лактаз являются внутриклеточными и прочно ассоциированы с клеточной стенкой. По этой причине процесс их получения, как правило, включает стадию разрушения, т.е. дезинтеграции клетки, в результате чего происходит экстракция фермента в среду культивирования [2, 16]. Проведение этапов выделения и очистки ферментов существенно удорожают стоимость их получения. Использование неочищенных ферментных препаратов позволило бы значительно снизить затраты и ресурсы, идущие на их очистку и транспортировку. В этом случае в качестве продуцентов лактаз могут быть использованы только безопасные для употребления в пищу бактерии, клетки которых будут присутствовать в конечном продукте [1]. К их числу, относятся, в первую очередь, молочнокислые микроорганизмы, которые обладают доказанной безопасностью (GRAS статус).

Важнейшим этапом при получении β -галактозидазы является процесс культивирования клеток, который состоит из трех стадий: получения и активизации посевного материала (инокуляции), выращивания биомассы посевного материала и основной ферментации, при которой происходит как рост микроорганизмов, так и накопление фермента. От состава среды и условий культивирования клеток зависит количество и активность накопленной клетками β -галактозидазы. Особенностью роста молочнокислых микроорганизмов является их потребность в присутствии в среде дополнительных питательных веществ: источников азота ((NH₄)₂PO₄, (NH₄)₂SO₄, пептон, дрожжевой экстракт и др.), источников углерода (глюкоза, галактоза, лактоза и др.), ацетата натрия, сульфата магния, сульфата марганца и др. компонентов [11], что значительно увеличивает затраты на получение фермента. Именно по этой причине, несмотря на явные преимущества по сравнению с ферментами дрожжей β -галактозидазы молочнокислых бактерий не получают в промышленных масштабах. Таким образом, поиск дешевых сред для культивирования молочнокислых бактерий, обеспечивающих высокий прирост их биомассы, а также синтез активной и стабильной лактазы, является актуальным.

В проведенных ранее исследованиях установлено, что наличие в среде культивирования лактозы позволяет индуцировать механизм синтеза микроорганизмами β -галактозидазы и получить высокую активность фермента [9]. Учитывая это факт, использование в качестве среды для культивирования молочнокислых микроорганизмов-продуцентов лактазы молочной сыворотки и её УФ-пермеатов, содержащих до 5 % и 85 %

лактозы соответственно представляет значительный интерес [14]. Кроме того, наличие в сывороточном пермеате такого количества лактозы позволяет использовать его при участии фермента β -галактозидазы для биоконверсии лактозы в более ценные соединения, в частности получения пребиотика лактулозы и галактоолигосахаридов [8].

В связи с вышеизложенным, целью работы было исследование особенностей культивирования молочнокислых бактерий в подсырной сыворотке и УФ-пермеате, как основы получения β -галактозидаз для биоконверсии лактозы и синтеза лактулозы, ГОС и других функциональных пищевых компонентов.

Объекты исследования. Объектами исследования были бактериальные закваски молочнокислых микроорганизмов: *Lactobacillus acidophilus* (БК-Углич-АВ), *Streptococcus thermophilus* (LAT BY-R), *Lactobacillus plantarum* (LAT CH-PL 03), *Lactobacillus rhamnosus* LGG (LGG), *Lactococcus lactis* ssp. (ECO BIO CH – 101 (R1/R2), (характеристика которых, в т.ч. обозначения, оптимальная температура развития и фирмы-производители представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика бактериальных заквасок
Table 1 – Characteristics of bacterial starter cultures

Условное обозначение закваски	Состав		Оптимальная температура, °С	Производитель/ Страна
БК-Углич-АВ (вязкая)	<i>Lactobacillus acidophilus</i>		37 – 38	ФГУП «Экспериментальная биофабрика» Россельхозакадемии / г. Углич
ECO BIO CH – 101 (R1/R2)	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ; <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>		28 – 32	ООО «Лактина», ЭКОКОМ / Болгария
LAT BY – R	<i>Streptococcus thermophilus</i>		40 – 45	
LAT CH-PL 03	<i>Lactobacillus plantarum</i>		37 – 39	
LGG	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LGG		28 – 32	Chr. Hansen A/S. / Дания

В качестве среды культивирования использовали подсырную молочную сыворотку и УФ-пермеат, предоставленные АО Молочный комбинат «Ставропольский». Для интенсификации роста молочнокислых микроорганизмов в качестве дополнительного источника азота проводили добавление в сыворотку или пермеат 2% пептона.

Выбранные культуры активизировали в обезжиренном молоке в течение 24 ч. при оптимальной температуре, после чего 5% полученной закваски вносили в коническую колбу со 150 см³ стерилизованной подсырной сыворотки или восстановленного УФ-пермеата подсырной сыворотки (далее пермеат), или сыворотки (пермеата) с пептоном, тщательно перемешивали и инкубировали при оптимальной температуре в течение 24 – 48 часов.

Количественный учет клеток молочнокислых микроорганизмов выполняли методом наиболее вероятного числа микроорганизмов согласно ГОСТ 33951-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов» и МУК 4.2.2884—11 «Методы микробиологического контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов с использованием петрифильмов». Определение титруемой кислотности – по ГОСТ 3624-92. Эксперименты проводили в трех-пяти повторностях, для обработки результатов использовали стандартные методы статистической обработки и программу Microsoft Office Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. В первой серии экспериментов были исследованы закономерности роста выбранных молочнокислых бактерий в подсырной сыворотке. Культивирование микроорганизмов проводили в течение 48 ч. Результаты

определения титруемой кислотности показаны на рисунке 1, количества молочнокислых микроорганизмов – на рисунке 2.

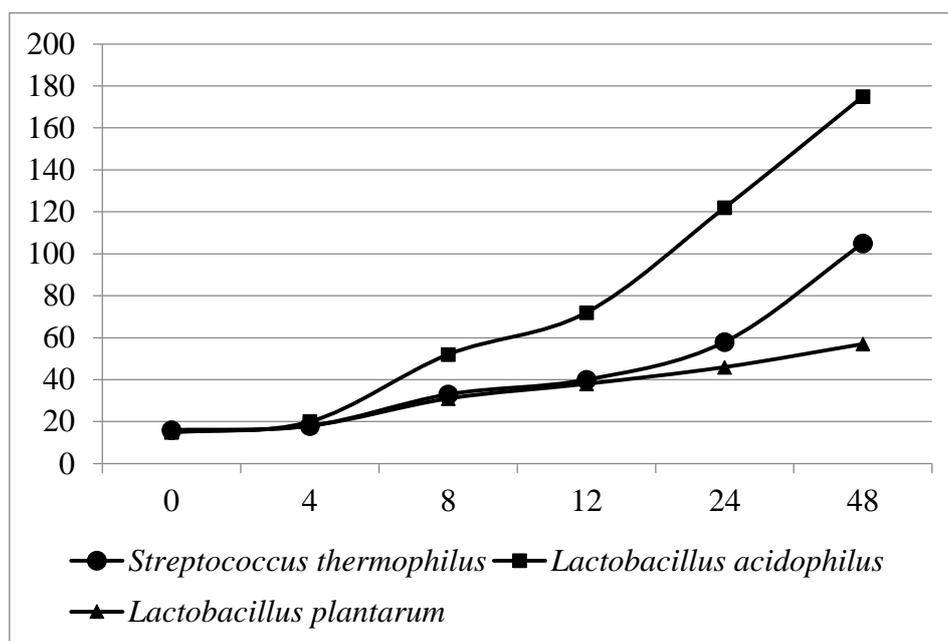


Рисунок 1. Зависимость титруемой кислотности подсырной сыворотки с разными заквасками от времени культивирования
Figure 1. The dependence of the titrated acidity of the subsurface serum with different ferments on the cultivation time

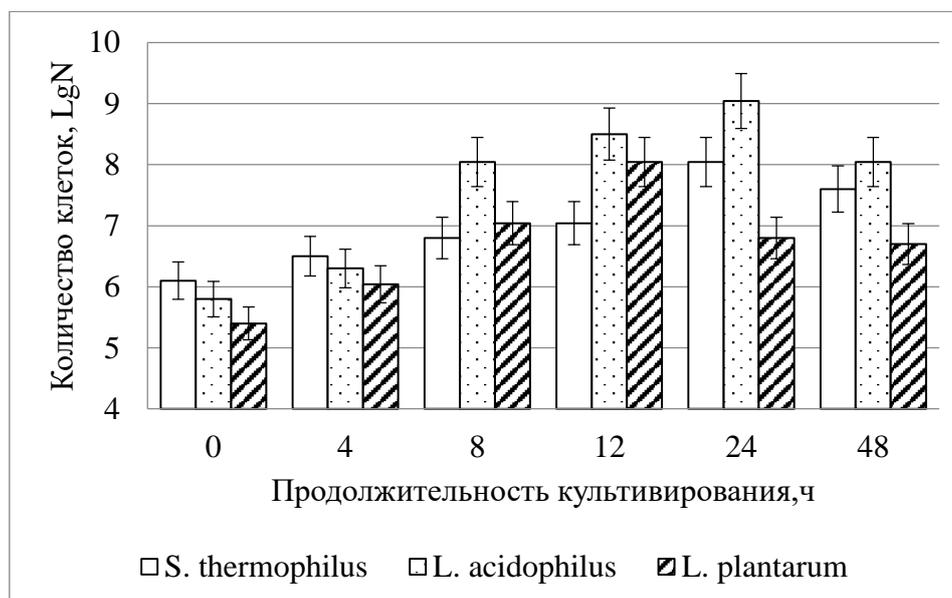


Рисунок 2. Зависимость количества клеток молочнокислых бактерий (LgN, КОЕ/см³) от времени их культивирования в подсырной сыворотке
Figure 2. Dependence of the number of lactic acid bacteria cells (Lg, CFU/cm³) on the time of their cultivation in the subcutaneous serum

Анализ полученных данных показывает, что исследованные культуры по-разному развиваются в подсырной сыворотке. Первые 4 часа культуры развивались медленно, что соответствует лаг-фазе, в ходе которой происходит адаптация клеток к новой среде. Максимальное количество жизнеспособных клеток *L.acidophilus* и *S.thermophilus* наблюдалось через 24 часа культивирования и достигало значений lgN=9 и lgN=8 соответственно, т.е. увеличение числа клеток происходит на $\Delta \lg N = 3,3$ для *L. acidophilus* и $\Delta \lg N = 1,9$ для *S. thermophilus*. При этом *L.acidophilus* проявляет более высокую активность

кислотообразования, чем *S.thermophilus*: титруемая кислотность через 24 часа составляет 120°Т и 60°Т соответственно. В последующие сутки инкубации происходит снижение количества клеток на $\Delta \lg N = 1,0$ для *L.acidophilus*, и $\Delta \lg N = 0,4$ для *S.thermophilus*. Скорость нарастания кислотности при этом сохраняется для обеих культур, что свидетельствует о высокой кислотообразующей способности оставшихся молочнокислых микроорганизмов.

L.plantarum показывает максимум жизнеспособных клеток ($\lg N = 8$) и аналогичную *S.thermophilus* активность кислотообразования через 12 часов культивирования, после чего наблюдается резкое снижение количества микроорганизмов (более чем на порядок за последующие 12 часов). То, что *L.plantarum* развивается в сыворотке хуже, чем другие исследованные бактерии, может быть связано с особыми потребностями данной культуры в определенных аминокислотах и витаминах.

На основании проведенных экспериментов для дальнейших исследований были отобраны две культуры (*L.acidophilus* и *S.thermophilus*) и определена оптимальная продолжительность их культивирования – 24 часа. Анализ корреляции между количеством клеток $\lg N$ и титруемой кислотностью показывает, что для выбранных культур в период инкубации до 24 часов существует прямая зависимость между этими показателями, описываемая линейным уравнением со степенью достоверности аппроксимации более 0,9 (рисунок 3). В связи с этим в следующем эксперименте кислотность была использована в качестве комплексного показателя развития культур молочнокислых микроорганизмов.

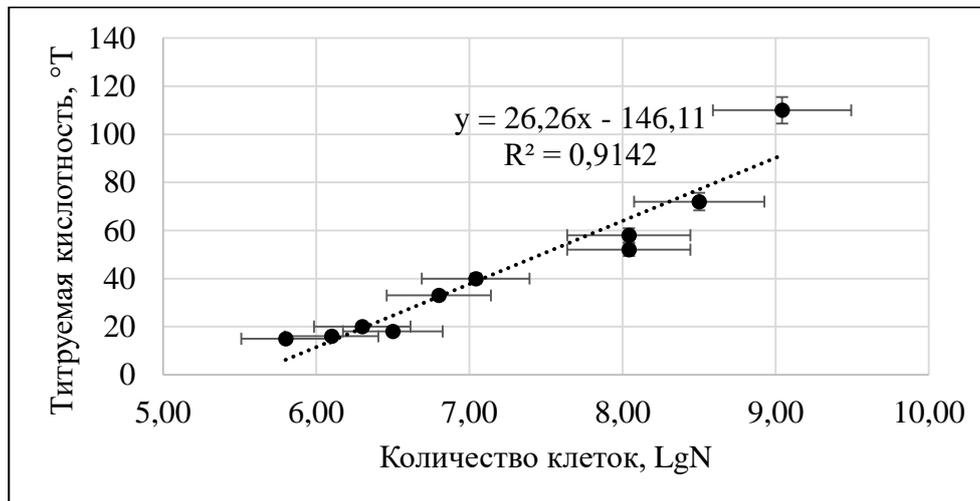


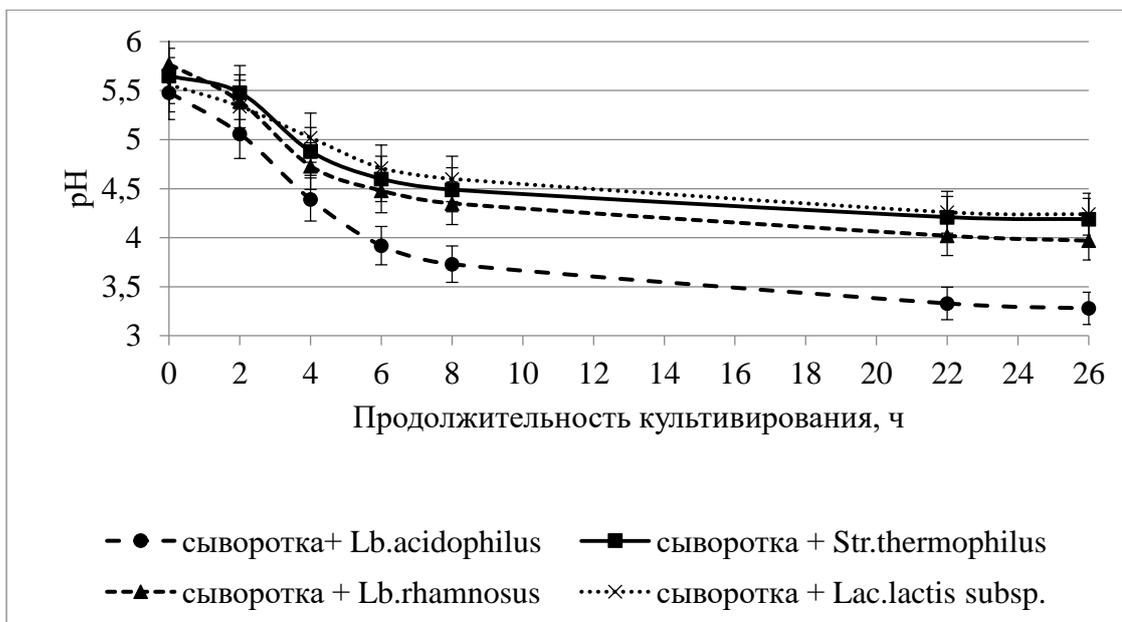
Рисунок 3. Зависимость титруемой кислотности сыворотки от количества клеток *L.acidophilus* и *S.thermophilus* (LgN) за период культивирования 24 часа

Figure 3. Dependence of titrated serum acidity on the number of *L.acidophilus* and *S.thermophilus* (Lat) cells during the cultivation period of 24 hours

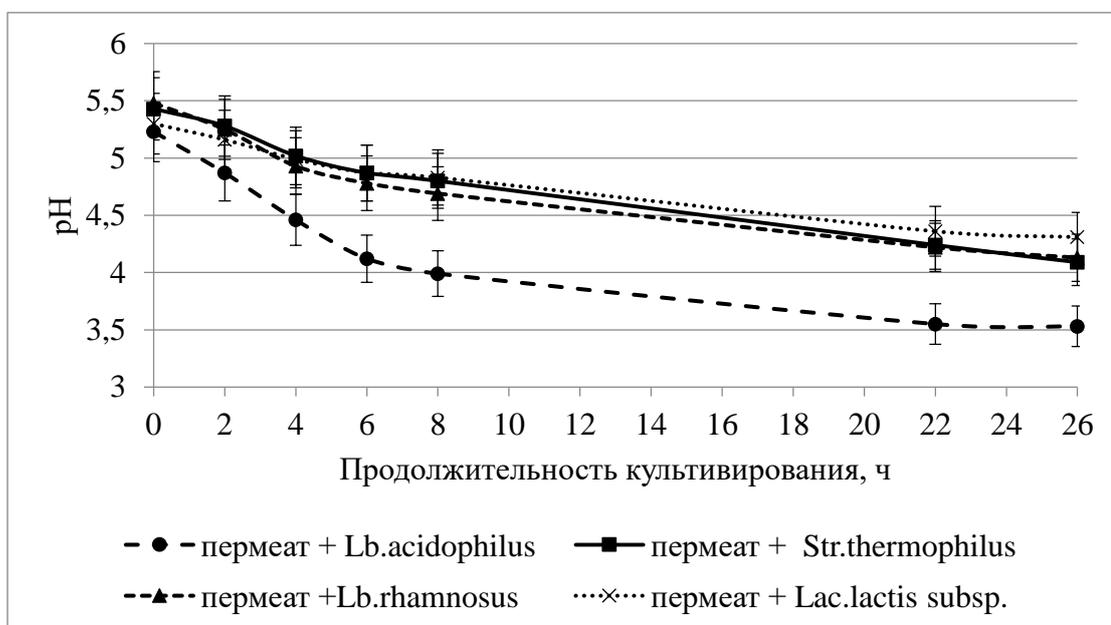
Во второй серии экспериментов проводили сравнение закономерностей роста молочнокислых бактерий в подсырной сыворотке и ее УФ-пермеате.

В ходе исследования было принято решение дополнить выбранные ранее культуры мезофильными лактококками и пробиотической культурой, поэтому во второй серии экспериментов использовали не только *Lactobacillus acidophilus* (БК-Углич-АВ) и *Streptococcus thermophilus* (LAT BY-R), но и *Lactococcus lactis ssp.* (ЕСОВІОСН – 101 R1/R2) и *Lactobacillus rhamnosus* (LGG).

Результаты определения активной кислотности (рН) в разных средах культивирования показаны на рисунке 4, титруемой кислотности – на рисунке 5.



А



Б

Рисунок 4. Зависимость активной кислотности сыворотки (А) и пермеата (Б) от времени культивирования молочнокислых микроорганизмов

Figure 4. Dependence of the active acidity of serum (А) and permeate (Б) on the time of cultivation of lactic acid microorganisms

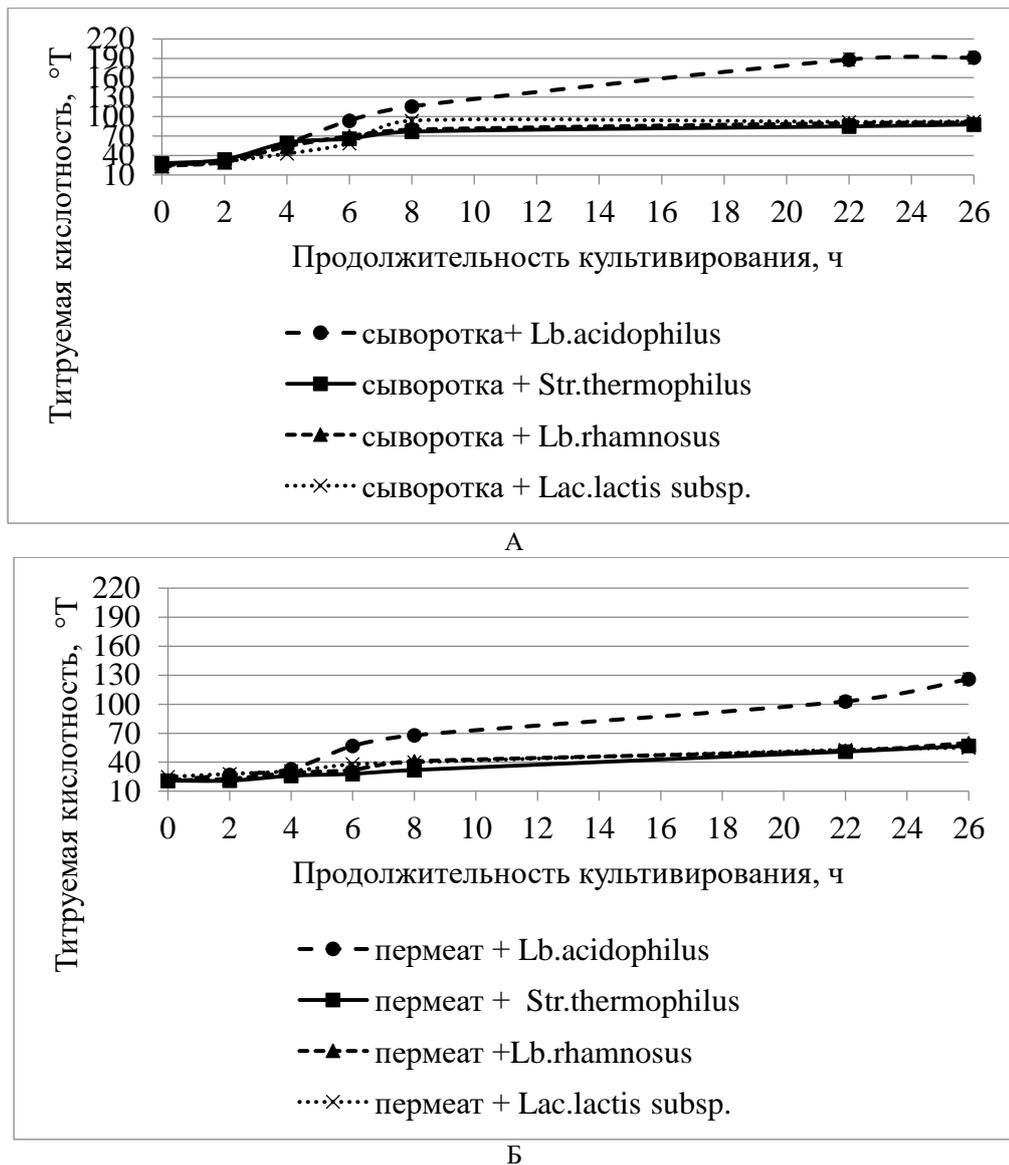


Рисунок 5. Зависимость титруемой кислотности сыворотки (А) и пермеата (Б) от времени культивирования молочнокислых микроорганизмов
Figure 5. Dependence of titrated acidity of serum (A) and permeate (B) on the time of cultivation of lactic acid microorganisms

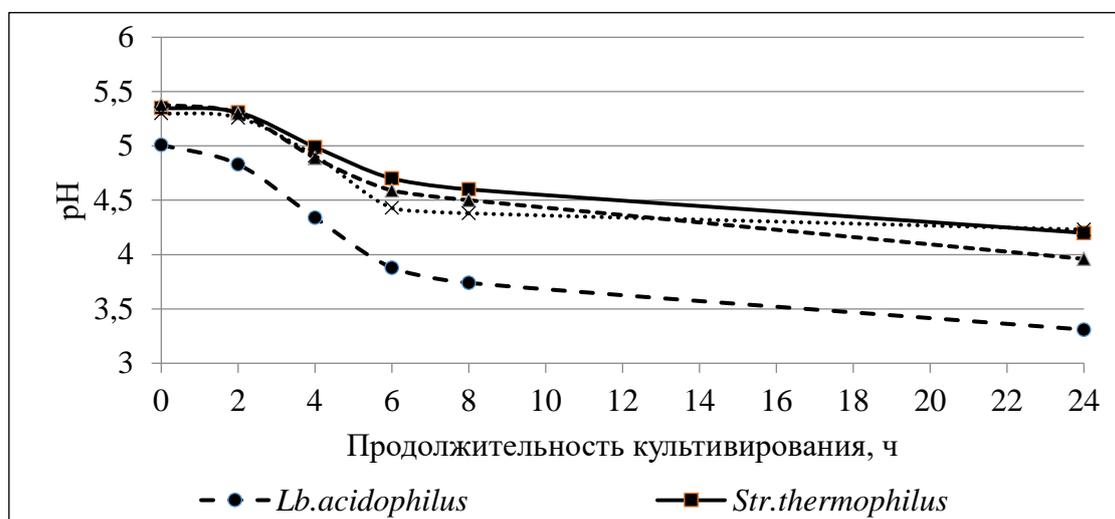
Анализ полученных данных показывает, что скорость сбраживания лактозы зависит и от вида культуры, и от среды культивирования. Самую высокую активность кислотообразования показала *L. acidophilus*, однако в пермеате накопление кислоты происходило медленнее, чем в сыворотке: через 8 часов культивирования снижение pH в сыворотке составило 31,8%, в пермеате – 24,5%; через 22 часа – 40% и 32,1% соответственно. Еще более значимыми были расхождения в показателях титруемой кислотности: через 8 часов этот показатель увеличился в сыворотке в 4,6 раза, в пермеате – в 3,2 раза; через 24 часа – в 7,5 и 4,9 раза соответственно.

Другие культуры показали более низкую активность кислотообразования, чем *L. acidophilus*, и развивались примерно одинаково. Различия в показателях pH и титруемой кислотности *S.thermophilus* и *L.rhamnosus* не имели статистической значимости в течение всего времени культивирования, как в сыворотке, так и в пермеате. В опытах с *L.lactis ssp.* через 8 часов культивирования в сыворотке отмечены более высокие значения титруемой кислотности по сравнению со *S. thermophilus* и *L.rhamnosus*. При этом через 24 часа в сыворотке и в течение всего времени культивирования в пермеате различия в показателях pH и титруемой кислотности не были существенными. В пермеате скорость сбраживания лактозы для трех культур (*S.thermophilus*, *L.rhamnosus*, *L.lactis ssp.*) была ниже, чем в сыворотке, но разница была менее выражена, чем для *L.acidophilus*. Максимальное

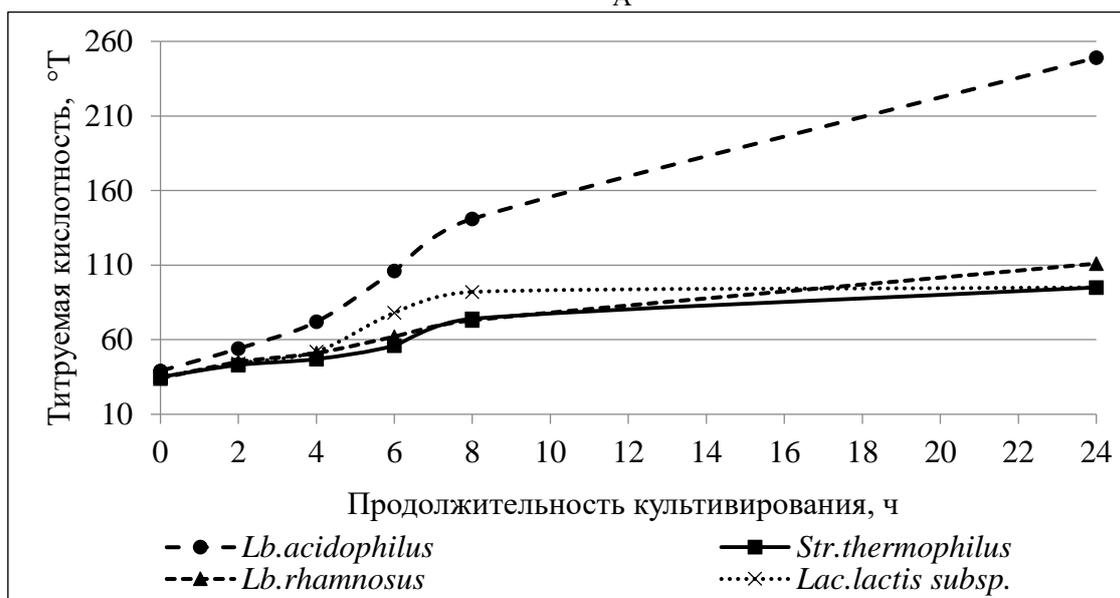
расхождение в показателях для всех трех культур наблюдали через 24 часа культивирования: при использовании сыворотки титруемая кислотность была на 44,4% выше, чем при использовании пермеата.

Наиболее вероятной причиной более быстрого развития молочнокислых микроорганизмов в сыворотке по сравнению с пермеатом может быть повышенное содержание источников азота, прежде всего, сывороточных белков. Однако такие белки обладают высокой биологической ценностью, и их целесообразно использовать для обогащения продуктов питания. В связи с этим были проведены дополнительные эксперименты, целью которых стало исследование возможности интенсификации роста молочнокислых микроорганизмов в пермеате путем добавления пептона – ферментативного гидролизата животной ткани, содержащего основные аминокислоты и пептиды. Такие гидролизаты получают при переработке вторичного сырья, и они имеют меньшую биологическую ценность и стоимость, чем сывороточные белки молока.

Эксперименты проводили с теми же культурами и в той же последовательности. Отличием было использование в качестве питательной среды пермеата с добавлением 2% бактериологического пептона. Результаты определения активной кислотности (pH) и титруемой кислотности показаны на рисунке 6.



А



Б

Рисунок 6. Зависимость активной (А) и титруемой (Б) кислотности пермеата с пептоном от времени культивирования молочнокислых микроорганизмов
Figure 6. Dependence of the active (A) and titrated (B) acidity of permeate with peptone on the time of cultivation of lactic acid microorganisms

Анализ полученных данных показывает, что добавление пептона существенно стимулирует процесс сбраживания лактозы исследуемыми культурами, следовательно, и рост этих молочнокислых микроорганизмов на первом этапе культивирования. *L. acidophilus* показал самую высокую скорость образования молочной кислоты: через 8 часов в пермеате с пептоном титруемая кислотность была в 2 раза, а через 24 часа – в 2,3 раза выше, чем в пермеате. Эта культура была более активной в пермеате с пептоном даже по сравнению с сывороткой (через 24 часа титруемая кислотность была выше на 32%).

S. thermophilus показали в пермеате с пептоном такую же скорость сбраживания лактозы, как и в сыворотке, но существенно выше, чем в пермеате: через 8 часов в пермеате с пептоном титруемая кислотность была в 2,5 раза, а через 24 часа – в 1,8 раза выше, чем в пермеате. В опытах с *L. rhamnosus* и *L. lactis ssp.* через 8 часов были получены похожие результаты, но через 24 часа *L. rhamnosus* показали в пермеате с пептоном даже более высокую активность: титруемая кислотность была в 1,3 раза выше, чем в сыворотке, и в 2,4 раза выше, чем в пермеате.

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований, экспериментально обоснована возможность применения вторичного молочного сырья для культивирования клеток молочнокислых микроорганизмов. В качестве более дешевой альтернативы подсырной сыворотки может быть использован её УФ-пермеат, обогащенный пептоном. Установлено, что оптимальной продолжительностью культивирования молочнокислых микроорганизмов является 24 ч, в течение этого времени обеспечивается максимальный прирост биомассы клеток. Выявлено, что несмотря на способность *L. plantarum* выделять бета-галактозидазу в среду культивирования, этот вид является слишком чувствительным к составу среды, плохо развивается в пермеате, а также совместно с дрожжами. Поэтому среди изученных на данном этапе молочнокислых микроорганизмов наиболее перспективными продуцентами бета-галактозидазы являются *L. acidophilus* и *Str. thermophilus*. В отношении других заквасочных микроорганизмов: молочнокислых (*L. lactis*, *L. casei*, *Leuconostoc*, *L. helveticus*, *L. diacetylactis* и др.), а также бифидобактерий *Bifidobacterium spp.* (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*) требуется проведение дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Dorau R., Jensen P. R., Solem C. Purified lactases versus whole-cell lactases-the winner takes it all // Applied microbiology and biotechnology. 2021. Vol. 105 (12). P. 4943-4955. doi: 10.1007/s00253-021-11388-7.
2. Geciova J., Bury D., Jelen P. Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry—a review // International Dairy Journal. 2002. Vol. 12. P. 541–553. doi: 10.1016/S0958-6946(02)00038-9.
3. Geiger B., Nguyen M. N., Wenig S., Nguyen H., Lorenz C., Kittl R., Mathiesen G., Eijnsink V., Haltrich D., Nguyen Thu-Ha. From by-product to valuable components: Efficient enzymatic conversion of lactose in whey using β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus* // Biochemical Engineering Journal. 2016. Vol. 116. P. 45-53. doi: 10.1016/j.bej.2016.04.003
4. Han Y. R., Youn S. Y., Ji G. E., Park M. S. Production of α - and β -galactosidases from *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* RD47 // Journal of microbiology and biotechnology – 2014. Vol. 24 (5). – P. 675–682. doi: 10.4014/jmb.1402.02037.
5. Hashem A.M., Ismail, S., Helmy W.A., El-Mohamady Y., Abou-Romia R. Factors affecting the production of lactulose by *Lactobacillus acidophilus* NRRL 4495 β -galactosidase and its biological activity // Malaysian Journal of Microbiology. 2013. Vol.11 (3). P. 1–6.24. doi: 10.21161/mjm.43612
6. Information on EC 3.2.1.23 - beta-galactosidase. URL: <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.2.1.23>.

7. Mahoney R. R. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: A review // *Food Chemistry*. 1998. Vol. 63 (2). P. 147–54. DOI: 10.1016/S0308-8146(98)00020-X.
8. Mano M. C. R., Paulino B. N., Pastore G. M. Whey permeate as the raw material in galacto-oligosaccharide synthesis using commercial enzymes // *Food research international*. Vol. 124. P. 78–58. Doi: 10.1016/j.foodres.2018.09.019.
9. Mobayed F. H., Nunes J. C., Gennari A., de Andrade B. C., Ferreira M. L. V., Pauli P., Renard G., Chies J. M., Volpato G., Volken de Souza C. F. Effect of by-products from the dairy industry as alternative inducers of recombinant β -galactosidase expression // *Biotechnology letters*. 2021. Vol. 43 (3). P. 589–599. doi: 10.1007/s10529-020-03028-3.
10. Montanari G., Zambonelli C., Grazia L. Release of β -galactosidase from *Lactobacilli* // *Food Technology and Biotechnology*. 2000. Vol. 38 (2). P. 129–133.
11. Murad H. A., Refaea R. I., Aly E. M. Utilization of UF-permeate for production of beta-galactosidase by lactic acid bacteria // *Polish journal of microbiology*. 2011. Vol. 60 (2). P. 139–144.
12. Panesar P. S., Kumari S., Panesar, R. Potential Applications of Immobilized β -Galactosidase in Food Processing Industries // *Enzyme research*. 2010. Vol. 24 (5). P. 1–16. 47. doi: 10.4061/2010/473137.
13. Ryabtseva S. A., Khramtsov A. G., Shpak M. A., Lodygin A. D., Anisimov G. S., Sazanova S. N., Tabakova Y. A. Biotechnology of Lactulose Production: Progress, Challenges, and Prospects // *Food Processing: Techniques and Technology*. 2023. Vol. 53 (1). P. 97–122. doi: 10.21603/2074-9414-2023-1-2419.
14. Sampaio F. C., de Faria J. T., da Silva M. F., de Souza Oliveira R. P., Converti A. Cheese whey permeate fermentation by *Kluyveromyces lactis*: a combined approach to wastewater treatment and bioethanol production // *Environmental technology*. 2020. Vol. 41 (24). P. 3210–3218. doi: 10.1080/09593330.2019.1604813.
15. Sangwan V., Tomar S. K., Ali B., Singh R.R., Singh A. K. Production of β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus* for galactooligosaccharides synthesis // *Journal of Food Science and Technology*. 2014. doi: 10.1007/s13197-014-1486-4.
16. Wang Q., Lillevang S. K., Rydtoft S. M., Xiao H., Fan M. T., Solem C., Liu J. M., Jensen P. R. No more cleaning up - Efficient lactic acid bacteria cell catalysts as a cost-efficient alternative to purified lactase enzymes // *Applied microbiology and biotechnology*. 2020. Vol. 104 (14). P. 6315–6323. doi: 10.1007/s00253-020-10655-3.

ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Шпак Мария Александровна, доцент кафедры технологии машиностроения и технологического оборудования инженерного института Северо-Кавказского федерального университета; тел.: +79064688080; <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>, maria.bratsikhina@yandex.ru

Shpak Maria Alexandrovna, Associate Professor, Department of Engineering Technology and Technological Equipment, Engineering Institute, North Caucasus Federal University; tel. +79064688080; <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>, maria.bratsikhina@yandex.ru

Рябцева Светлана Андреевна, профессор кафедры прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий Северо-Кавказского федерального университета, д.т.н., профессор; тел.: +79280084685; <https://orcid.org/0000-0001-9803-8709>, ryabtseva07@mail.ru

Ryabtseva Svetlana Andreevna, Professor, Department of Applied Biotechnology, Faculty of Food Engineering and Biotechnology, North Caucasus Federal University, Doctor of Technical Sciences, Professor; tel.: +79280084685; <https://orcid.org/0000-0001-9803-8709>, ryabtseva07@mail.ru

Лодыгин Алексей Дмитриевич, заведующий кафедрой прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий Северо-Кавказского федерального университета, д.т.н., доцент; тел.: +79288263918; <https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>, allodygin@yandex.by

Lodygin Aleksey Dmitrievich, Head of Applied Biotechnology Department, Faculty of Food Engineering and Biotechnology, North Caucasus Federal University; Doctor of Technical Sciences, Associate Professor; tel.: +79288263918; <https://orcid.org/0000-0001-8460-2954>, allodygin@yandex.by

Семченко Анастасия Андреевна, студент кафедры прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий Северо-Кавказского федерального университета; тел.: +79880904231; <https://orcid.org/0009-0003-1430-6967>, semchenko.anastasiia@gmail.com

Semchenko Anastasia Andreevna, student of Applied Biotechnology Department, Faculty of Food Engineering and Biotechnology, North Caucasus Federal University; tel.: +79880904231; <https://orcid.org/0009-0003-1430-6967>, semchenko.anastasiia@gmail.com

Дата поступления в редакцию: 19.03.2023

После рецензирования: 13.04.2023

Дата принятия к публикации: 07.06.2023