

Современная наука и инновации.
2024. № 2 (46). С. 76-85.
Modern Science and Innovations.
2023;2(46):76-85.

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОДОВОЛЬСТВЕННЫХ
ПРОДУКТОВ /
TECHNOLOGY OF FOOD PRODUCTS

Научная статья / Original article

УДК 637.345; 663.15
<https://doi.org/10.37493/2307-910X.2024.2.8>

Мария Александровна Шпак
[Maria A. Shpak]^{1*}
Светлана Андреевна Рябцева
[Svetlana A. Ryabtseva]²,
Алексей Дмитриевич Лодыгин
[Alexey D. Lodygin]³,
Полина Ивановна Корниенко
[Polina I. Kornienko]⁴,
Полина Сергеевна Колядина
[Polina S. Kolyadina]⁵

**Определение оптимальных условий действия
бета–галактозидаз продуцентов с разными
свойствами**

**Determination of optimal conditions of action of
beta-galactosidases of producers with different
properties**

^{1, 2, 3, 4, 5}Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь, Россия /
North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

*Автор, ответственный за переписку: Мария Александровна Шпак, 1maria.bratsikhina@yandex.ru /
Corresponding author: Maria A. Shpak, 1maria.bratsikhina@yandex.ru

Аннотация. В работе проведены исследования влияния pH и температуры на активность ферментных препаратов дрожжей и молочнокислых бактерий, выделенных в результате их раздельного и совместного культивирования. Установлено, что оптимум действия фермента зависит в первую очередь от вида его продуцента. В случае раздельного культивирования максимальная активность бета-галактозидаз дрожжей была отмечена для вида *K. lactis*, которая в 4 раза превышала показатель *K. marxianus*. При чем для штаммов *K. lactis* Y-1333 и *K. lactis* Y-1339 были выявлены схожие результаты и оптимум действия при pH 5,0 и температуре 60°C. В экспериментах с молочнокислыми бактериями активность бета-галактозидазы ацидофильной палочки в 2 превышала активность фермента термофильного стрептококка, обладала большей устойчивостью к действию температур и сохраняла стабильность практически во всем диапазоне pH. Максимальная активность лактазы *Lb. acidophilus* B была выявлена при температуре 60°C и pH 5,0, а *St. thermophilus* B при 40°C и pH 5,0. Кроме того, было выявлено, что совместное культивирование дрожжей и молочнокислых микроорганизмов оказывает положительное влияние на активность бета-галактозидаз. Максимальная лактазная активность *K. marxianus* Y-1333 + *St. thermophilus* B оказалась на 45% больше, чем отдельно *K. marxianus* Y-1333 и практически в 3 раза превысила активность *St. thermophilus* B. Наибольшая активность (на уровне 1,42 МЕ/см³) была получена для комбинации *K. lactis* Y-1333 + *Lb. acidophilus* B. В случае бета-галактозидаз, полученных в результате совместного культивирования дрожжей и вязких культур молочнокислых микроорганизмов, оптимальными условиями можно считать pH 5,0 и 60°C для сочетания культур *K. lactis* Y-1333 + *St. thermophilus* B и *K. lactis* Y-1339 + *St. thermophilus* B, pH 7,0÷7,5 и 60°C для *K. lactis* Y-1333 + *Lb. acidophilus* B, pH 6,0÷6,6 и 60°C при использовании фермента *K. marxianus* Y-1338 + *Lb. acidophilus* B.

Ключевые слова: бета-галактозидаза, активность фермента, оптимальные условия, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*

Для цитирования: Шпак М. А., Рябцева С. А., Лодыгин А. Д., Корниенко П. И., Колядина П. С. Определение оптимальных условий действия бета–галактозидаз продуцентов с разными свойствами // Современная наука и инновации. 2024. № 2 (46). С. 76-85.
<https://doi.org/10.37493/2307-910X.2024.2.8>

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».

Abstract. The synthesis of beta-galactosidase is observed in microorganisms of various taxonomic groups, including some strains of yeast fungi and lactic acid bacteria. The present work considers the study of optimal conditions of beta-galactosidase activity obtained as a result of separate and co-cultivation of domestic yeast strains *Kluyveromyces marxianus* Y-1338, *Kluyveromyces lactis* Y-1333, *Kluyveromyces lactis* Y-1339 and starter cultures *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*. Studies of the pH and temperature effect on the activity of yeast and lactic acid bacteria enzymes received as a result of their separate and co-cultivation were carried out in the work. It has been established that the optimum of the enzyme activity depends primarily on the type of its producer. In the case of separate cultivation, the maximum activity of yeast beta-galactosidases was observed for the species *K. lactis* and was 4 times higher than *K. marxianus*. Moreover, for the *K. lactis* Y-1333 and *K. lactis* Y-1339 strains, similar results and optimal conditions were found at pH 5.0 and temperature 60°C. In experiments with lactic acid bacteria, the activity of beta-galactosidase of acidophilic bacillus was twice higher than the thermophilic streptococcus enzyme activity, had greater resistance to temperatures and stability over almost the entire pH range. Maximum lactase activity of *Lb. acidophilus* B was observed at 60°C and pH 5.0, and *St. thermophilus* B at 40° C and pH 5.0. It was found that the activity of combined enzymes of yeast and lactic acid microorganisms was significantly higher than the activity of beta-galactosidase after their separate cultivation. The maximum lactase activity of *K. marxianus* Y-1333 + *St. thermophilus* B was higher by 45% than *K. marxianus* Y-1333 and almost 3 times higher than value of *St. thermophilus* B. The greatest activity (~1.42 IU/cm³) was obtained for the combination of *K. lactis* Y-1333 + *Lb. acidophilus* B. In the case of beta-galactosidases obtained by co-cultivation of yeast and viscous cultures of lactic acid microorganisms, optimal conditions include pH 5.0 and 60°C for the combination of cultures *K. lactis* Y-1333 + *St. thermophilus* B and *K. lactis* Y-1339 + *St. thermophilus* B, pH 7,0÷7,5 and 60°C for *K. lactis* Y-1333 + *Lb. acidophilus* B, pH 6,0÷6,6 and 60°C using the enzyme *K. marxianus* Y-1338 + *Lb. acidophilus* B.

Keywords: beta-galactosidase, enzyme activity, optimal conditions, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*

For citation: Shpak MA, Ryabtseva SA, Lodygin AD, Kornienko PI, Kolyadina PS. Determination of optimal conditions of action of beta-galactosidases of producers with different properties. *Modern Science and Innovations*. 2024;2(46):76-85. (In Russ.). <https://doi.org/10.37493/2307-910X.2024.2.8>

Funding: the work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of a comprehensive project to create a high-tech production on the topic: "Creation of the first high-tech production in Russia of lactulose prebiotic and functional dairy ingredients for import substitution in medicine, veterinary medicine, baby food, production of medical preventive 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 for the creation of high-tech production No. 075-11-2022-021 of 04/07/2022) in the framework of the Decree of the Government of the Russian Federation of April 9, 2010 No. 218 on the basis of the North-Caucasus Federal University.

Введение. Реакции под действием ферментов в условиях промышленного производства могут протекать в экстремальных условиях с точки зрения температуры, pH, присутствия солей, поверхностно-активных веществ и органических растворителей. Перечисленные факторы оказывают существенное влияние на эффективность ферментных препаратов, именно поэтому с технологической и экономической точки зрения так важно обеспечить их стабильность.

На активность и стабильность бета-галактозидазы (β-галактозидазы) оказывает влияние ряд факторов: вид её продуцента, состав питательной среды, состояние фермента (природный, иммобилизованный, рекомбинантный), кинетические величины, в том числе,

концентрация лактозы в субстрате, содержание воды и присутствие возможных ингибиторов (галактозы/глюкозы). Среди перечисленных параметров решающую роль в активности и стабильности фермента играют pH и температура, которые определяют не только его пригодность для промышленного применения, но и возможность участия в синтезе ди- и олигосахаридов [1]. От оптимального для активности бета-галактозидазы значения pH зависит выбор субстрата для проведения реакции с её участием. Так, например, ферменты, проявляющие максимальную активность при $\text{pH} < 7$, могут быть использованы для гидролиза лактозы в ферментированных молочных продуктах и творожной сыворотке, а при нейтральных значениях pH подходят для применения в молоке и подсырной сыворотке [2].

Среди продуцентов бета-галактозидазы наибольшее распространение получили признанные безопасными дрожжи рода *Kluyveromyces* и молочнокислые бактерии, стабильность и оптимум действия которых определяется видом продуцента фермента, а также в значительной степени зависит от показателей pH и температуры. Считается, что дрожжевые и бактериальные бета-галактозидазы проявляют наиболее высокую активность в диапазоне pH 6,0÷7,5 и температуре (30÷60) °C, причем оптимум действия фермента определяется в первую очередь видом его продуцента [3-7].

В исследованиях, проведенных ранее, установлено, что использование двухэтапного совместного культивирования лактозосбраживающих дрожжей и термофильных молочнокислых бактерий позволяет повысить эффективность дальнейшего автолиза клеток и выделения бета-галактозидазы [8]. Это объясняется накоплением в среде культивирования этилового спирта и других продуктов метаболизма молочнокислых бактерий и дрожжей, которые могут способствовать пермеабиллизации клеток, интенсификации их разрушения и получению более активного ферментного препарата. Однако данные по оптимальным условиям действия такого фермента отсутствуют.

В связи с этим задачей данной работы было исследование влияния pH и температуры на активность ферментных препаратов, полученных в результате раздельного и совместного культивирования дрожжей и термофильных молочнокислых бактерий.

Материалы и методы исследований. В качестве продуцентов бета-галактозидаз были выбраны штаммы лактозосбраживающих дрожжей *Kluyveromyces lactis* ВКМ Y-1333 и Y-1339, *Kluyveromyces marxianus* Y-1338 (Всероссийская коллекция микроорганизмов, г. Пущино), а также вязкие штаммы *Lactobacillus acidophilus* (БК-Углич-АВ, оптимальная температура 37-38°C) и *Streptococcus thermophilus* (БК-Углич-ТВ, оптимальная температура 40-45°C) производства ФГУП «Экспериментальная биофабрика» Россельхозакадемии, г. Углич. Для получения среды культивирования продуцентов использовали сывороточный продукт сухой (пермеат) (ПАО Молочный комбинат «Воронежский» филиал «Калачеевский сырзавод») с массовой долей влаги 1,38%, белка 3,44%, золы 4,1%, pH восстановленного продукта 6,5.

Для получения неочищенных ферментных препаратов на первом этапе культивирование выбранных продуцентов проводили раздельно. Дрожжи активизировали путем пересева из коллекционных культур на плотную питательную среду Сабура (скошенный агар) и инкубации в течение 24 ч при оптимальной температуре 30°C, после чего готовили суспензию клеток в фосфатном буфере с оптической плотностью $D_{460} = (0,15 \pm 0,02)$. Далее 1 см³ полученной суспензии вносили в коническую колбу со 150 см³ стерилизованного восстановленного УФ-пермеата с массовой долей сухих веществ 6,5%, тщательно перемешивали и инкубировали в условиях аэрации в шейкер-инкубаторе при температуре 30°C и перемешивании при 100 об/мин в течение 24 ч для накопления биомассы.

Активизацию молочнокислых бактерий проводили в обезжиренном молоке в течение 24 ч при оптимальной температуре, после чего 5% полученной закваски вносили в стерилизованный восстановленный пермеат, тщательно перемешивали и инкубировали при оптимальной температуре в течение 24 ч для накопления биомассы.

На втором этапе проводили совместное культивирование дрожжей и молочнокислых бактерий. Для этого ферментированный дрожжами пермеат смешивали в соотношении 1:1

с пермеатом, ферментированным молочнокислыми микроорганизмами, полученную смесь выдерживали в анаэробных условиях в инкубаторе с углекислой средой при температуре 30°C, концентрации CO₂ 6% в течение 24 ч для дополнительного накопления биомассы культур и продуктов их метаболизма. Для инактивации клеток и получения неочищенных ферментных препаратов полученные образцы подвергали тепловой обработке при 50°C в течение 24 ч, после чего проводили их охлаждение до температуры 22°C и исследование влияния различных значений pH и температуры на активность полученной бета-галактозидазы.

Активность бета-галактозидаз определяли общепринятым методом с о-нитрофенил-β-D-галактопиранозидом, основанном на измерении интенсивности окраски о-нитрофенола, образующегося при гидролизе бета-галактозидазой синтетического субстрата о-нитрофенил-β-D-галактопиранозида (о-НФГ) [9]. К 50 мкл раствора бета-галактозидазы (суспензия с дезинтегрированными клетками) добавляли 2 см³ 1,25 мМ раствора о-НФГ в буфере (50мМ КН₂РO₄, pH 6,6-6,8), смесь инкубировали при температуре (38±2)°C в течение 5 мин. Реакцию останавливали добавлением 0,5 см³ 1М раствора Na₂CO₃. Образующийся в ходе реакции о-нитрофенол имеет желтый цвет. Измерение оптической плотности полученной пробы проводили при длине волны 420 нм. Активность бета-галактозидазы А рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{D \cdot V}{\varepsilon \cdot t \cdot V_{\text{пр}}}, \quad (1)$$

где D – оптическая плотность раствора при 420 нм; ε – коэффициент молекулярной экстинкции о-нитрофенола, л/ммоль·см ($\varepsilon=4,5$); t – время инкубации, мин; V – объем реакционной смеси, см³; $V_{\text{пр}}$ – объем ферментного препарата, см³.

Эксперименты проводили в трех-пяти повторностях, для обработки результатов использовали стандартные методы статистической обработки и программу Microsoft Office Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты влияния pH и температуры на активность бета-галактозидаз *K. lactis* Y-1333 и *St. thermophilus* в после их раздельного и совместного культивирования представлены на диаграммах (рисунок 1). Полученные результаты позволяют говорить о том, что бета-галактозидаза вязкого термофильного стрептококка показала достаточно низкую активность, максимальное её значение было получено при pH 5,0 и температуре 40°C и составило (0,26±0,01) МЕ/см³. Дальнейшее повышение температуры при том же pH привело к снижению активности фермента и, вероятно, его инактивации. Активность бета-галактозидазы при pH 6,0 и 7,5 была примерно одинаковой, достигая максимума при 50°C, но снижалась в 1,5-2 раза при температуре 60°C.

Активность бета-галактозидазы *K. lactis* Y-1333 была выше, по сравнению с *St. thermophilus* В, однако, оставалась невысокой и достигала максимального значения (0,42±0,02) МЕ/см³ при pH 5,0 и температуре 60°C. Данный факт можно объяснить тем, что клетки молочнокислых бактерий, обладая меньшим размером, сложнее, чем дрожжи, поддаются разрушению и, как следствие, высвобождению фермента в среду культивирования [10]. В целом независимо от pH при 60°C фермент проявлял большую активность, чем при остальных температурных режимах.

Активность бета-галактозидазы, полученной в ходе совместного культивирования *St. thermophilus* В и *K. marxianus* Y-1333 была существенно выше, чем фермента после их раздельной ферментации. Так, например, максимальная активность бета-галактозидазы *St. thermophilus* + *K. marxianus* Y-1333 оказалась на 45% больше, чем отдельно *K. marxianus* Y-1333 и практически в 3 раза превысила активность *St. thermophilus*. Данное наблюдение можно объяснить тем, что выделение спирта дрожжами *K. marxianus* Y-1333 в ходе двухстадийной ферментации запускает процесс автолиза клеток вязкого *St. thermophilus* и способствует более эффективному выделению бета-галактозидазы в среду культивирования. Оптимальными условиями для действия такого фермента можно считать pH 5,0 и температуру 60°C.

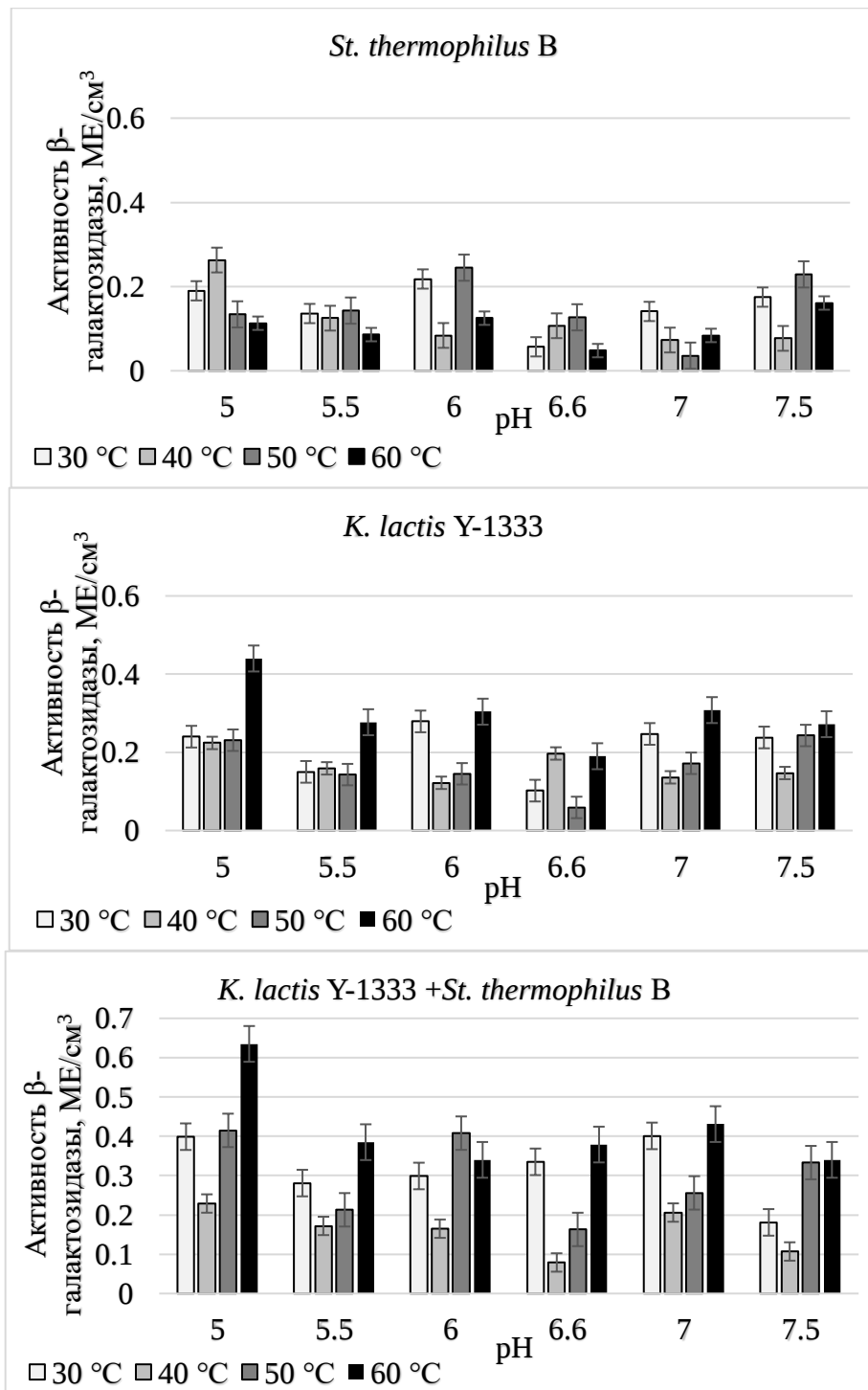


Рисунок 1 – Зависимость активности бета-галактозидаз *K. lactis* Y-1333 и *St. thermophilus* B после их раздельного и совместного культивирования от pH и температуры

Figure 1 – Dependence of beta-galactosidase activity of *K. lactis* Y-1333 and *St. thermophilus* after their separate and co-cultivation on pH and temperature

Источник: составлено авторами

Source: compiled by authors

Результаты влияния pH и температуры на активность бета-галактозидаз *K. lactis* Y-1333 и *St. thermophilus* B после раздельного и совместного культивирования представлены на диаграммах (рисунок 2).

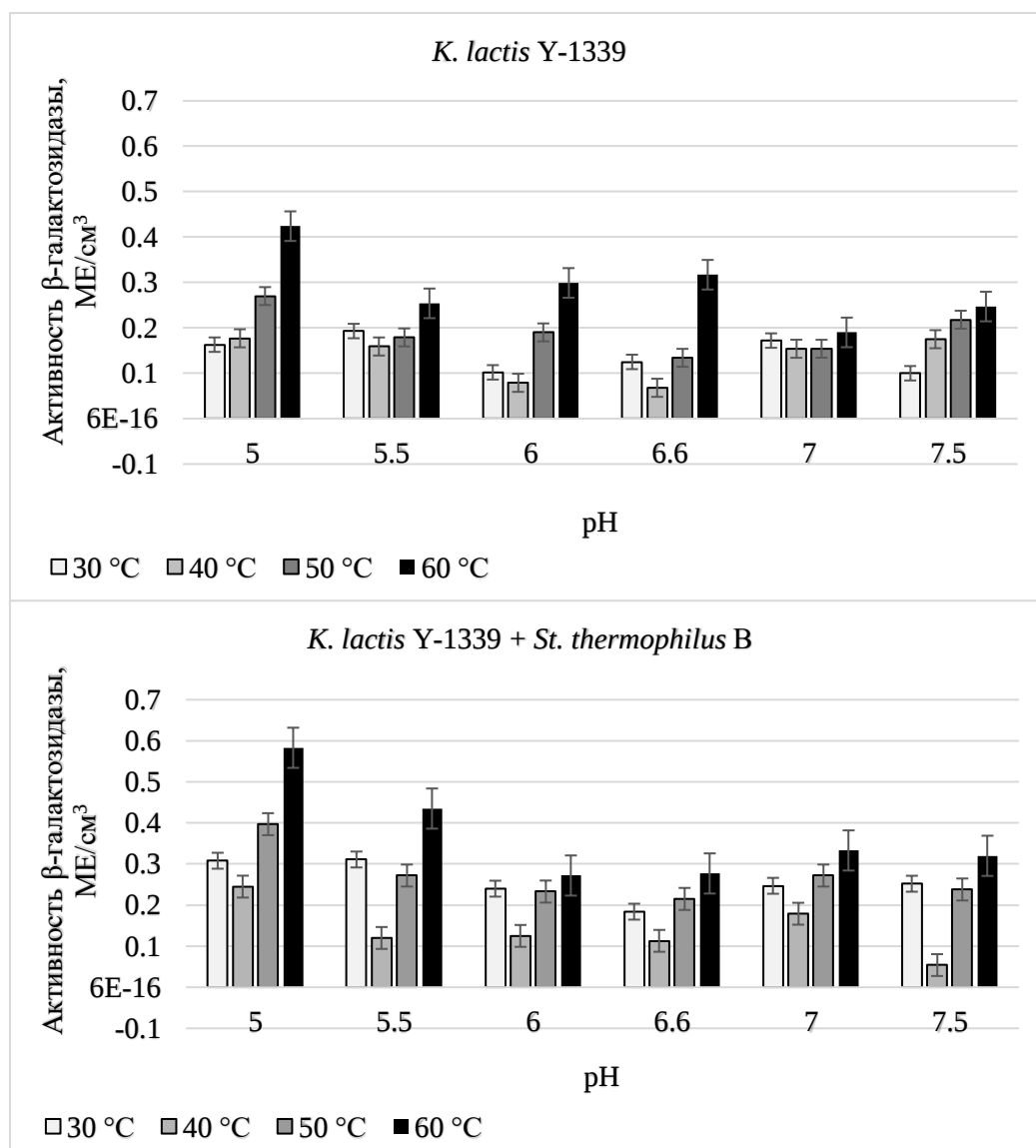


Рисунок 2 – Зависимость активности бета-галактозидаз *K. lactis* Y-1339 и *St. thermophilus* B после их раздельного и совместного культивирования от pH и температуры.

Figure 2 – Dependence of beta-galactosidase activity of *K. lactis* Y-1339 and *St. thermophilus* after their separate and co-cultivation on pH and temperature

Источник: составлено авторами

Source: compiled by authors

Для обоих штаммов *K. lactis* Y-1339 и Y-1333 активность бета-галактозидазы находилась в пределах $0,06 \div 0,44$ ME/cm³. В случае *K. lactis* Y-1339, также, как и при использовании *K. lactis* Y-1333, оптимальными условиями для получения максимального её значения ($0,42 \div 0,44$ ME/cm³) стали pH 5,0 и температура 60°C. Следует также отметить, что при значениях pH 5,5÷7,0 и повышении температуры до 40°C, наблюдалось снижение активности бета-галактозидазы, однако дальнейшее увеличение температуры до 50°C приводило к её росту. При pH 5,0 и 7,5 выявлена прямая зависимость: чем выше температура, тем выше ферментативная активность. Так, например, в образцах с pH 5,0 увеличение температуры с 30°C до 40°C способствовало росту активности бета-галактозидазы на 8%, с 30°C до 50°C на 66% и с 30°C до 60°C практически в 3 раза.

Бета-галактозидаза, полученная в результате совместного культивирования *K. lactis* Y-1339 и вязкого *St. thermophilus*, обладала оптимумом действия при pH 5,0÷5,5 и температуре 50°C. Для всего диапазона pH отмечена схожая закономерность: снижение ферментативной активности при 40°C и последующее её увеличение при повышении температуры до 50°C. Сравнивая бета-галактозидазы *K. lactis* Y-1339 + *St. thermophilus* B и

K. lactis Y-1333 + *St. thermophilus* B можно отметить схожие показатели активности и одинаковый оптимум их действия.

Результаты влияния pH и температуры на активность бета-галактозидаз *Lb. acidophilus* B и *K. lactis* Y-1333 после отдельного и совместного культивирования представлены на диаграммах (рисунок 3).

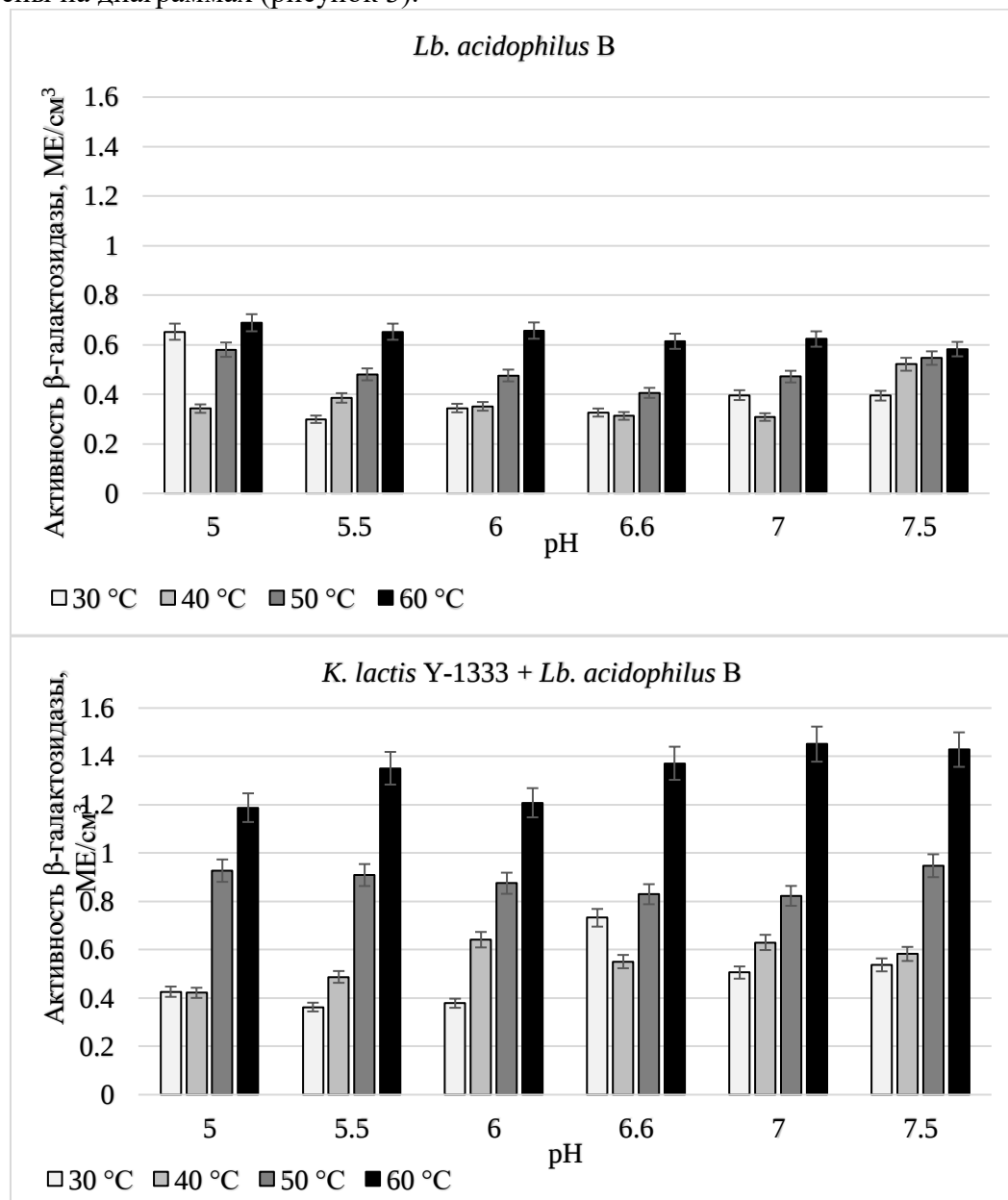


Рисунок 3 – Зависимость активности бета-галактозидаз *K. lactis* Y-1333 и *Lb. acidophilus* B после их отдельного и совместного культивирования от pH и температуры.

Figure 3 – Dependence of beta-galactosidase activity of *K. lactis* Y-1333 and *Lb. acidophilus* B after their separate and co-cultivation on pH and temperature.

Источник: составлено авторами

Source: compiled by authors

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что среди исследованных молочнокислых бактерий наибольшей активностью обладала бета-галактозидаза вязкой ацидофильной палочки. Максимальное её значение ($0,69 \pm 0,02$) ME/cm³ было получено при pH 5,0, температуре 60°C и превышало наибольшую активность фермента вязкого термофильного стрептококка ($0,26 \pm 0,01$) ME/cm³ практически в 3 раза. В случае бета-галактозидазы *Lb. acidophilus* наблюдалась прямая зависимость: чем выше температура, тем больше её активность независимо от значения pH. Исключение составил

лишь опыт со значением pH 5,0 и температурой 30°C, активность фермента была лишь на 5% ниже, чем при 60°C.

Похожая зависимость была обнаружена и в случае бета-галактозидазы, полученной после совместного культивирования *K. lactis* Y-1333 и *Lb. acidophilus* B. Практически во всем диапазоне pH повышение температуры способствовало увеличению активности фермента. Максимальное её значение наблюдалось при pH 7,0 ÷ 7,5 и температуре 60°C. Однако при этой же температуре, но pH 5,0 ÷ 6,6 активность бета-галактозидазы оставалась высокой и была лишь на 18 % ниже максимума. Температура 50°C обеспечила примерно одинаковый уровень активности фермента $0,8 \pm 0,9$ ME/см³, который незначительно зависел от значения pH, расхождение в данных не превышало 13%.

Результаты влияния pH и температуры на активность бета-галактозидаз *K. marxianus* Y-1338 и *Lb. acidophilus* в после их раздельного и совместного культивирования представлены на диаграммах (рисунок 4).

Полученные данные позволяют говорить о том, что среди исследованных штаммов дрожжей наименьшей активностью обладала бета-галактозидаза *K. marxianus* Y-1338, при чем максимальное её значение находилось на уровне $(0,11 \pm 0,01)$ ME/см³ и было получено при нейтральном значении pH 7,0 ÷ 7,5 и температуре 60°C. Минимальная активность наблюдалась в области пониженного pH 5,0 ÷ 6,0, и не превышала $(0,07 \pm 0,01)$ ME/см³. Активность фермента после совместного культивирования *K. marxianus* Y-1338 и *Lb. acidophilus* B была практически в 8 раз выше, чем бета-галактозидазы отдельно дрожжей и продемонстрировала оптимум действия при температуре 60°C и pH 6,0 ÷ 6,6.

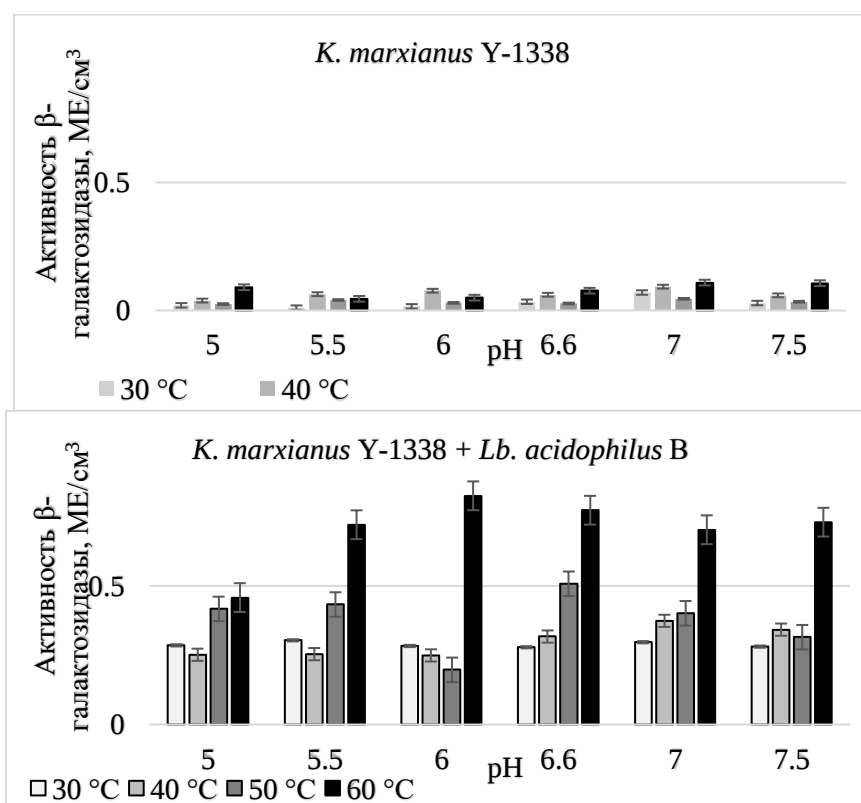


Рисунок 4 – Зависимость активности бета-галактозидаз *K. marxianus* Y-1338 и *Lb. acidophilus* B после их раздельного и совместного культивирования от pH и температуры.

Figure 4 – Dependence of beta-galactosidase activity of *K. marxianus* Y-1338 and *Lb. acidophilus* B after their separate and co-cultivation on pH and temperature.

Источник: составлено авторами

Source: compiled by authors

Заключение. Таким образом, полученные результаты подтверждают имеющуюся в литературных источниках информацию о том, что на активность и стабильность бета-галактозидазы оказывают влияние: её продуцент, активная кислотность и температура.

Установлено, что фермент *Lb. acidophilus* В проявлял максимальную активность при температуре 60°C и pH 5,0, а бета-галактозидаза *St. thermophilus* В при 40°C и pH 5,0. Активность лактазы вязкой ацидофильной палочки в 2 раза превышала активность фермента вязкого термофильного стрептококка, обладала большей устойчивостью к действию температур и сохраняла стабильность практически во всем диапазоне pH. Среди дрожжевых ферментов лучшие результаты показал вид *K. lactis*, активность бета-галактозидазы которого в 4 раза превышала показатель *K. marxianus*. Для ферментов штаммов *K. lactis* Y-1333 и *K. lactis* Y-1339 были выявлены схожие результаты и оптимум действия при pH 5,0 и температуре 60°C.

Установлено также, что активность комбинированных ферментных препаратов дрожжей и молочнокислых микроорганизмов существенно превышала активность бета-галактозидазы после их отдельного культивирования, что может быть следствием влияния продуктов метаболизма (этилового спирта и молочной кислоты), накопленных в ходе двухэтапного процесса культивирования. В случае бета-галактозидазы, полученной в результате совместного культивирования дрожжей и молочнокислых микроорганизмов, оптимальными условиями можно считать pH 5,0 и 60°C в случае *K. lactis* Y-1333 + *St. thermophilus* В и *K. lactis* Y-1339 + *St. thermophilus* В, pH 7,0÷7,5 и 60°C для *K. lactis* Y-1333 + *Lb. acidophilus* В, pH 6,0÷6,6 и 60°C при использовании фермента *K. marxianus* Y-1338 + *Lb. acidophilus* В.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ramirez S. R., Flores R. J. Properties of β -Galactosidases derived from Lactobacillaceae species and its capacity for galacto-oligosaccharides production. J Dairy Sci. 2023. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23392>
2. Bhalla T. C., Devi A., Angmo K. et al. β -Galactosidase from Lactobacillus brevis PLA28: Purification, Characterization and Synthesis of Galacto-oligosaccharides. Journal of Food & Industrial Microbiology. 2015. Vol. 1. Issue 1. P. 1000104.
3. Lee Y. J., Kim C. S., Oh D. K. Lactulose production by beta-galactosidase in permeabilized cells of Kluyveromyces lactis // Appl Microbiol Biot. 2004. Vol. 64. P. 787–793.
4. Song Y. S., Shin H. Y., Lee J. Y. et al. b-galactosidaseimmobilised microreactor fabricated using a novel technique for enzyme immobilisation and its application for continuous synthesis of lactulose // Food Chem. 2012. Vol. 133(3). P. 611–617.
5. Guerrero C., Vera C., Plou F. et al. Influence of reaction conditions on the selectivity of the synthesis of lactulose with microbial b-galactosidases // J Mol Catal B Enzym. 2011. Vol. 72(3–4). P. 206–212.
6. Guerrero C., Vera C., Conejeros R. et al. Transgalactosylation and hydrolytic activities of commercial preparations of β -galactosidase for the synthesis of prebiotic carbohydrates // Enzyme Microb Technol. 2015. Vol. 70. P. 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.12.006>
7. Hasem A., Ismail S., Helmy W. et al. Factors affecting the production of lactulose by Lactobacillus acidophilus NRRL 4495 b-galactosidase and its biological activity. Malays J Microbiol. 2013. Vol. 11(3). P. 1–6.
8. Патент RU 2622078 C1, МПК C12N 9/14. Способ получения комбинированного ферментного препарата бета-галактозидаз / Рябцева С. А., Скрипнюк А. А., Котова А. А., Храпцов А. Г., Родная А. Б., Лодыгин А. Д., Мартак А. А. // приор. 12.01.2016, опубл. 9.06.2017, бюл. № 16.
9. Inchaurredo V. A., Yantorno O. M., Voget C. E. Yeast growth and beta-galactosidase production during aerobic batch cultures in lactose-limited synthetic medium. Process biochemistry. 1994. Vol. 29. Issue 1. P. 47–54. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(94\)80058-8](https://doi.org/10.1016/0032-9592(94)80058-8)
10. Muñoz R., Viveros N., Bevilacqua A., Pérez M.S., Arévalo-Villena M. Effects of ultrasound treatment son wine microorganisms // Ultrasonics Sonochemistry. 2021. Vol. 79. P. 1057–1075. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105775>

REFERENCES

1. Ramirez SR, Flores RJ. Properties of β -Galactosidases derived from Lactobacillaceae species and its capacity for galacto-oligosaccharides production. J Dairy Sci. 2023. <https://10.3168/jds.2023-23392>
2. Bhalla TC, Devi A, Angmo K et al. β -Galactosidase from Lactobacillus brevis PLA28: Purification, Characterization and Synthesis of Galacto-oligosaccharides. Journal of Food & Industrial Microbiology. 2015;1(1):1000104.
3. Lee YJ, Kim CS, Oh DK. Lactulose production by beta-galactosidase in permeabilized cells of Kluyveromyces lactis. Appl Microbiol Biot. 2004;64:787-793.
4. Song YS, Shin HY, Lee JY et al. b-galactosidaseimmobilised microreactor fabricated using a novel technique for enzyme immobilisation and its application for continuous synthesis of lactulose. Food Chem. 2012;133(3):611-617.
5. Guerrero C, Vera C, Plou F et al. Influence of reaction conditions on the selectivity of the synthesis of lactulose with microbial b-galactosidases. J Mol Catal B Enzym. 2011;72(3-4):206-212.

6. Guerrero C, Vera C, Conejeros R et al. Transgalactosylation and hydrolytic activities of commercial preparations of β -galactosidase for the synthesis of prebiotic carbohydrates. *Enzyme Microb Technol.* 2015;70:9-17. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2014.12.006>
7. Hasem A, Ismail S, Helmy W et al. Factors affecting the production of lactulose by *Lactobacillus acidophilus* NRRL 4495 β -galactosidase and its biological activity. *Malays J Microbiol.* 2013;11(3):1-6.
8. Patent RU 2622078 C1, IPC C12N 9/14. Method for producing a combined enzyme preparation of beta-galactosidases / Ryabtseva S. A., Skripnyuk A. A., Kotova A. A., Khramtsov A. G., Rodnaya A. B., Lodygin A. D., Martak A. A. // prior. 12.01.2016, published 9.06.2017, bulletin No. 16. (In Russ.).
9. Inchaurredo VA, Yantorno OM, Voget CE. Yeast growth and beta-galactosidase production during aerobic batch cultures in lactose-limited synthetic medium. *Process biochemistry.* 1994;29(1):47-54. [https://doi.org/10.1016/0032-9592\(94\)80058-8](https://doi.org/10.1016/0032-9592(94)80058-8)
10. Muñoz R, Viveros N, Bevilacqua A, Pérez MS, Arévalo-Villena M. Effects of ultrasound treatment on wine microorganisms. *Ultrasonics Sonochemistry.* 2021;79:1057-1075. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105775>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Мария Александровна Шпак – доцент кафедры технологии машиностроения и техносферной безопасности, инженерный институт, Северо-Кавказский федеральный университет, Scopus ID: 57222360209, <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>, 1maria.bratsikhina@yandex.ru

Светлана Андреевна Рябцева – доктор технических наук, профессор, профессор кафедры прикладной биотехнологии, факультет пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова, Северо-Кавказский федеральный университет, Scopus ID: 57201977346

Алексей Дмитриевич Лодыгин – доктор технических наук, доцент, заведующий кафедрой прикладной биотехнологии факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова, Северо-Кавказский федеральный университета, Scopus ID: 57021535400

Полина Ивановна Корниенко – студент кафедры прикладной биотехнологии, факультет пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова, Северо-Кавказский федеральный университет

Полина Сергеевна Колядина – студент кафедры прикладной биотехнологии, факультет пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова, Северо-Кавказский федеральный университет

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maria A. Shpak – Associate Professor of the Department of Engineering Technology and Technosphere Safety, Engineering Institute, North-Caucasus Federal University, Scopus ID: 57222360209, <https://orcid.org/0000-0002-0119-9061>, 1maria.bratsikhina@yandex.ru

Svetlana A. Ryabtseva – Dr. Sci. (Techn.), Professor, Professor of the Department of Applied Biotechnology, Faculty of Food Engineering and Biotechnology named after Academician A.G. Khramtsov, North-Caucasus Federal University, Scopus ID: 57201977346

Aleksey D. Lodygin – Head of Applied Biotechnology Department, Faculty of Food Engineering and Biotechnology named after Academician A.G. Khramtsov, North-Caucasus Federal University, Dr. Sc. (Techn.), Associate Professor; Scopus ID: 57021535400

Polina I. Kornienko – Student of Applied Biotechnology Department, Faculty of Food Engineering and Biotechnology named after Academician A.G. Khramtsov, North-Caucasus Federal University

Polina S. Kolyadina – Student of Applied Biotechnology Department, Faculty of Food Engineering and Biotechnology named after Academician A.G. Khramtsov, North-Caucasus Federal University

Вклад авторов: все авторы внесли равный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Conflict of interest: the authors declare no conflicts of interests.

*Статья поступила в редакцию: 13.03.2024;
одобрена после рецензирования: 19.04.2024;
принята к публикации: 12.06.2024.*

*The article was submitted: 13.03.2024;
approved after reviewing: 19.04.2024;
accepted for publication: 12.06.2024.*