

УДК 663.15

<https://doi.org/10.21603/-I-IC-120>

ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДРОЖЖЕЙ В ПОДСЫРНОЙ СЫВОРОТКЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗ

С. А. Рябцева, С. Н. Сазанова, М.А. Шпак, Ю. А. Табакова,
А. А. Семченко

ФГАОУ ВО Северо-Кавказский федеральный университет,
г. Ставрополь, Россия

Аннотация

Представлены результаты исследования закономерностей роста дрожжей кефирной закваски, *Kluveromyces marxianus*, *Candida kefir* в подсырной сыворотке при отдельном и совместном с *Lactobacillus acidophilus* культивировании. Максимальный выход биомассы дрожжей получен через 3-7 суток культивирования. *L. acidophilus* подавляет размножение дрожжей.

Ключевые слова: *Kluveromyces marxianus*, *Candida kefir*, *Lactobacillus acidophilus*, культивирование, подсырная сыворотка

Молочная промышленность является активным потребителем гидролитических ферментов. Протеазы и липазы обычно используют для формирования консистенции, вкуса и аромата сыров. Лактазы применяют для гидролиза лактозы в производстве глюкозо-галактозных сиропов, низко- и безлактозных продуктов, а также для предотвращения кристаллизации лактозы в консервах. При этом гидролазы микробного происхождения имеют ряд преимуществ по сравнению с ферментами растительного и животного происхождения [1].

Лактазы (β -галактозидазы) могут катализировать не только гидролиз β -галактозидных связей в олигосахаридах и полисахаридах, но и перенос гликозила на вещества-акцепторы различной природы. Это свойство применяют при получении транс олигосахаридов-пребиотиков, прежде всего галактоолигосахаридов. Растет интерес к применению трансгликозилирующей активности для гликозилирования жизненно важных молекул, которые применяются в пищевой, медицинской и косметической промышленности [2].

Способность β -галактозидаз переносить галактозный остаток на фруктозу можно использовать для биосинтеза лактулозы. При этом обычно применяют высокоочищенные препараты β -галактозидаз из признанных безопасными источников, в т.ч. дрожжей *Kluveromyces lactis* и плесеней *Aspergillus oryzae*. В качестве источника β -галактозидаз можно использовать и другие лактозосбраживающие дрожжи, в т.ч. вида *K. marxianus*, который рассматривается как перспективный объект получения ферментов для пищевой промышленности и биотехнологии, так как некоторые штаммы могут вырабатывать не только эндо-, но и экзоферменты [3]. Важным аспектом с точки зрения обеспечения технологического суверенитета является то, что дрожжи-продуценты лактаз хорошо изучены российскими учеными и продолжают оставаться в центре их внимания [4].

В качестве продуцентов β -галактозидаз могут быть использованы также молочнокислые микроорганизмы, входящие в состав традиционно используемых в молочной промышленности заквасок. Известно, что β -галактозидазы *Lactobacillus acidophilus* можно использовать для синтеза лактулозы и галактоолигосахаридов [5]. Для снижения себестоимости готовой продукции целесообразно применять неочищенные ферментные препараты, а при культивировании продуцентов – молочная сыворотка. При

этом особенности роста различных культур-продуцентов лактаз в молочной сыворотке изучены недостаточно.

Целью работы является исследование закономерностей роста дрожжей в подсырной сыворотке при отдельном и совместном с молочнокислыми бактериями культивировании. 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».

На данном этапе работы объектами исследования были дрожжи кефирной грибковой закваски, *Kluveromyces marxianus* SK, *Candida kefyr* Y – 203 и молочнокислые палочки *Lactobacillus acidophilus* (БК-Углич-АВ). В качестве среды культивирования использовали подсырную молочную сыворотку, предоставленную АО Молочный комбинат «Ставропольский».

Культивирование микроорганизмов проводили при температуре 30°C в течение 10 суток. Количественный учет дрожжей выполняли в соответствии с ГОСТ 33566-2015; определение титруемой кислотности – с ГОСТ 3624-92. Эксперименты проводили в трех повторностях, для обработки результатов использовали стандартные методы статистической обработки.

Результаты определения количества дрожжей представлены на рис. 1.

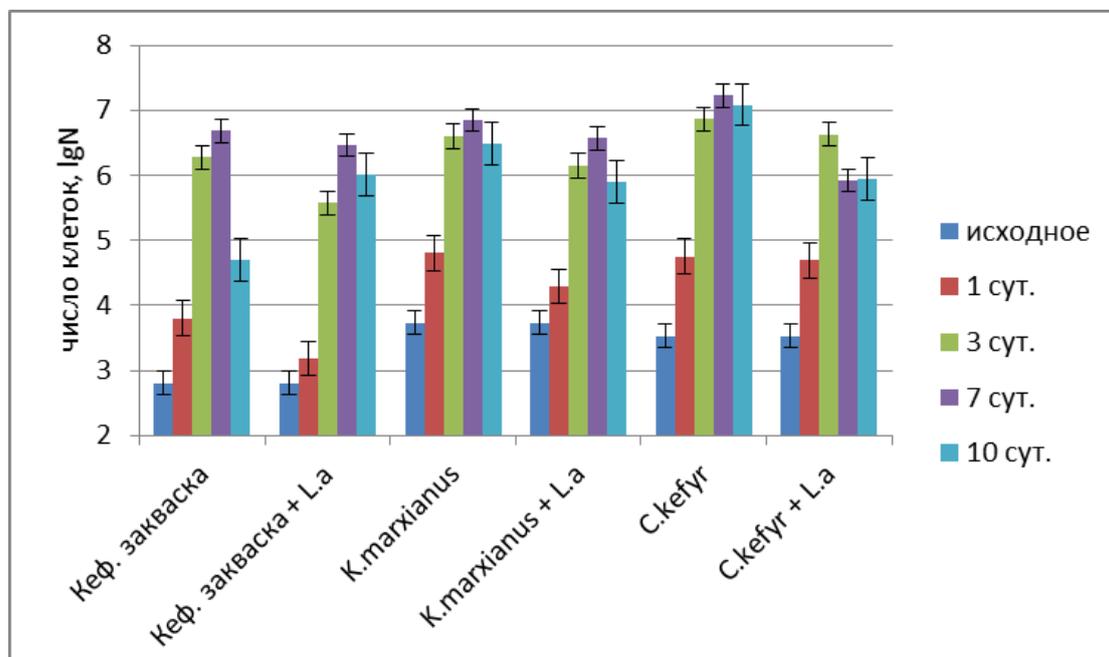


Рис. 1. Зависимость количества дрожжей (N) от времени культивирования в молочной сыворотке (Кеф. – кефирная, L.a - *Lactobacillus acidophilus*)

Анализ полученных данных показал, что закономерности развития всех исследованных дрожжей в подсырной сыворотке похожи. Культуры медленно развивались в течение первых 4-8 ч., что соответствует периоду активизации *lac*-оперона и синтеза ферментов, участвующих в метаболизме лактозы. Количество дрожжей быстро увеличивалось в последующие 3 суток, затем скорость роста снижалась.

В совместных с ацидофильной палочкой культурах дрожжи развивались хуже, чем в чистых культурах: через трое суток культивирования разница в значениях $\lg N$ составила от 0,2 для *C. kefir* до 0,7 для кефирных дрожжей. Это явление может быть следствием конкуренции за доступные источники питания, которая более выражена в симбиотической кефирной закваске, имеющей сложный состав.

Еще одна возможная причина подавления дрожжей в совместных культурах – высокая концентрация молочной кислоты. *K. marxianus* почти не влияют на изменение титруемой кислотности сыворотки, а *C. kefir* вырабатывают органические кислоты, повышая кислотность через 3 суток до 40-50°Т. В образцах с *L. acidophilus* наблюдали выраженный рост кислотности уже с первых суток культивирования, к 7 суткам этот показатель достигал 190 °Т. Высокая кислотность среды может приводить к лизису клеток дрожжей.

Таким образом, подсырная сыворотка может быть успешно использована для культивирования дрожжей кефирного грибка, *K. marxianus* и *C. kefir*. С целью получения максимальной биомассы дрожжей целесообразно проводить первый этап культивирования отдельно с ацидофильной палочкой. Оптимальное время культивирования – 3 суток, для интенсификации процесса можно использовать аэрацию, добавление некоторых солей и источников азотного питания. Скорость сбраживания лактозы зависит от вида применяемых дрожжей, наиболее перспективными в этом плане являются *C. kefir*. Второй этап культивирования может быть проведен с молочнокислыми термобактериями *L. acidophilus* для получения эндоферментов, в частности, бета-галактозидазы.

Список литературы

1. Kocabaş D.S., Lyne J., Ustunol Z. Hydrolytic enzymes in the dairy industry: Applications, market and future perspectives // Trends in Food Science & Technology. – 2022. – V. 119 – P. 467-475.
2. Lu L, Guo L, Wang K, Liu Y, Xiao M. β -Galactosidases: A great tool for synthesizing galactose-containing carbohydrates // Biotechnol Adv. – 2020. – V. 39. – P. 107465.
3. Karim A, Gerliani N, Aider M. *Kluyveromyces marxianus*: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology / A. Karim, N. Gerliani, M. Aider // Int. J. Food Microbiol. – 2020. - № 333. – P. 108818.
4. Лютова, Л.В., Наумов, Г.И., Шнырева, А.В., Наумова, Е.С. Молекулярный полиморфизм генов β -галактозидазы LAC4 у молочных и природных штаммов дрожжей *Kluyveromyces* // Молекулярная биология. - 2021. - Т. 55, № 1. – С.75-85.
5. 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. - V. 11(3). – P. 1–6.

FEATURES OF YEAST CULTIVATION IN CHEESE WHEY FOR BETA-GALACTOSIDASES PRODUCTION

S. A. Ryabtseva, S. N. Sazanova, M. A. Shpak, Yu. A. Tabakova, A. A. Semchenko
North Caucasian Federal University, Stavropol, Russia

Abstract

The results of a study of the growth patterns of kefir yeast, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefir* in cheese whey during separate and joint cultivation with *Lactobacillus acidophilus* are presented. The maximum yield of yeast biomass was obtained after 3-7 days of cultivation. *L. acidophilus* inhibits the reproduction of yeast.

Keywords: *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefir*, *Lactobacillus acidophilus*, cultivation, cheese whey

References

1. Kocabaş D.S., Lyne J., Ustunol Z. Hydrolytic enzymes in the dairy industry: Applications, market and future perspectives // *Trends in Food Science & Technology*. - 2022. - V. 119 - P. 467-475.
2. Lu L, Guo L, Wang K, Liu Y, Xiao M. β -Galactosidases: A great tool for synthesizing galactose-containing carbohydrates // *Biotechnol Adv.* – 2020. – V. 39. – P. 107465.
3. Karim A. Gerliani N. Aïder M. *Kluyveromyces marxianus*: An emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology // *Int. J. Food Microbiol.* - 2020. - No. 333. - P. 108818.
4. Lyutova, L.V., Naumov, G.I., Shnyreva, A.V., Naumova, E.S. Molecular polymorphism of β -galactosidase LAC4 genes in dairy and natural yeast strains *Kluyveromyces* // *Molecular biology*. - 2021. - V. 55, No. 1. - P. 75-85.
5. 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. - V. 11(3). - P. 1–6.