

УДК 579.222:663.15

**КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА
ЛАКТОЗОСБРАЖИВАЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭТАНОЛА
ИЗ СЫВОРОТОЧНОГО ПЕРМЕАТА**

В.В. Соловей, 3 курс

Научные руководители – **Н.В. Водчиц**, заведующий отраслевой лабораторией «ДНК и клеточных технологий в растениеводстве и животноводстве»

Полесский государственный университет;

А.В. Сидоренко, к.б.н., доцент,
заведующий отраслевой лабораторией «Коллекция микроорганизмов»

Институт микробиологии НАН Беларуси

Сывороточный пермеат является многотоннажным побочным продуктом молочной промышленности, содержащим до 85 % лактозы в пересчете на сухое вещество. Его биоконверсия в этанол представляет интерес как с экологической, так и с экономической точки зрения. Ключевым условием данного процесса является наличие у дрожжей β -галактозидазы – фермента, катализирующего расщепление лактозы до глюкозы и галактозы, пригодных для последующего брожения [1].

Цель исследования – комплексная оценка биотехнологического потенциала лактозосбраживающих дрожжей из Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов для получения этанола из сывороточного пермеата.

Объектами исследования служили пять штаммов из Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов: *Kluyveromyces marxianus* БИМ Y-186, Y-193, Y-200, *Kluyveromyces lactis* БИМ Y-194 и *Debaryomyces sp.* БИМ Y-187 [2]. Температурный диапазон роста определяли на сусл-агаре при +6,5; +18; +24; +28; +30 и +37 °C в течение 48 ч. β -Галактозидазную активность выявляли на среде LYP с хромогенным субстратом X-Gal (20 мкг/мл, +27 °C, 48 ч): синее окрашивание колоний указывало на наличие фермента [3]. Бродильную активность оценивали при глубинном культивировании на среде из сывороточного пермеата (14 % углеводов) в аэрируемых (180 об/мин) и статических условиях. Ростовые характеристики изучали в 96-луночных планшетах на среде LYP с концентрациями лактозы 2–45 % с помощью планшетного спектрофотометра SPECTROstar Nano. Молекулярно-генетическую идентификацию проводили методом ПЦР с использованием специфичных праймеров NS1/NS4 к гену 18SpPHK, визуализировали результаты в 1,5 % агарозном геле.

Все исследованные штаммы оказались мезофилами: при +6,5 °C рост отсутствовал, при +18 °C был слабым, максимальная интенсивность наблюдалась при 28–30 °C, при +37 °C значительно снижалась. Данный температурный профиль соответствует условиям промышленного этанольного брожения.

β -Галактозидазная активность выявлена у четырех штаммов – *K. marxianus* Y-186, Y-193, Y-200 и *K. lactis* Y-194, о чем свидетельствовало синее окрашивание колоний на среде с X-Gal. Штамм *Debaryomyces sp.* Y-187 данной активностью не обладал, что указывает на его неспособность самостоятельно гидролизовать лактозу.

Исследование ростовых характеристик на среде с различной концентрацией лактозы (2–45 %) выявило штаммоспецифичность: *K. marxianus* Y-200, *K. lactis* Y-194 и *Debaryomyces sp.* Y-187 проявляли максимальный рост при 2 % лактозы, тогда как *K. marxianus* Y-186 – при 5–15 %, а *K. marxianus* Y-193 – при 2–10 %. Это указывает на различную адаптационную способность штаммов к высоким концентрациям субстрата.

В аэрируемых условиях штаммы *K. marxianus* Y-186, Y-193, Y-200 и *K. lactis* Y-194 обеспечивали снижение содержания углеводов с 14 до 9–11 % и накопление до 7 % этанола. Штамм *Debaryomyces sp.* Y-187 не проявлял бродильной активности. В статических условиях эффективность брожения снижалась: стабильный результат (6 % этанола, снижение углеводов до 12 %) сохранялся лишь у Y-200 и Y-194, что указывает на предпочтительность аэрируемого культивирования для данного процесса.

В ходе сравнения аэрируемого и статического режимов культивирования установлено, что эффективность брожения в статических условиях значительно снижается: стабильный результат (6 % этанола, снижение углеводов с 14 до 12 %) сохранялся лишь у штаммов Y-200 и Y-194.

Для установления родственных групп была проведена молекулярно-генетическая идентификация дрожжевых культур. В ходе ПЦР-амплификации с использованием универсальных праймеров NS1 и NS4 для штаммов *K. marxianus* Y-193, Y-200 и *K. lactis* Y-194 были получены ПЦР-ампликоны размером ~1200 п.н., что соответствовало целевому продукту – полной последовательности гена 18SpPHK и подтверждало их родовую принадлежность. Сравнение амплифицированных фрагментов с референсными последовательностями в дальнейшем позволит уточнить таксономическую принадлежность изученных штаммов.

Комплексная оценка показала, что совокупностью необходимых свойств – β -галактозидазной активностью, мезофильным оптимумом роста и выраженной бродильной активностью на пермеате – обладают штаммы *K. marxianus* БИМ Y-186, Y-193, Y-200 и *K. lactis* БИМ Y-194. С помощью ПЦР-метода удалось подтвердить родовую принадлежность штаммов Y-193, Y-200 и Y-194. Использование выявленных критериев в качестве системы отбора позволяет эффективно идентифицировать перспективных продуцентов этанола из молочносывороточного сырья.

Список использованных источников

1. Guimarães, P. M. R. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey / P. M. R. Guimarães, J. A. Teixeira, L. Domingues // *Biotechnology Advances* [Электронный ресурс]. – 2010. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.02.002>. – Дата доступа: 15.02.2026.
2. Белорусская коллекция непатогенных микроорганизмов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://mbio.bas-net.by/bim/ru/all_media. – Дата доступа: 12.07.2025.
3. Trimborn, L. A Simple quantitative assay for measuring β -galactosidase activity using X-Gal in yeast-based interaction analyses / L. Trimborn, K. Sparber, J. S. Hartig // *Current Protocols* [Электронный ресурс]. – 2022. – Режим доступа: <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpz1.421>. – Дата доступа: 15.02.2026.
4. Pozo-Valdivia, A. I. Evaluation of *Kluyveromyces* spp. for conversion of lactose in different types of whey from dairy processing waste into ethanol / A. I. Pozo-Valdivia [et al.] // *Frontiers in Microbiology* [Электронный ресурс]. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1208284. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1208284>. – Дата доступа: 15.03.2026.