

УДК 637.146:579.873

**ВИКОРИСТАННЯ ФЕРМЕНТНО-БАКТЕРІАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ
В БІОТЕХНОЛОГІЇ БЕЗЛАКТОЗНИХ МОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ
НА ОСНОВІ ВТОРИННОЇ МОЛОЧНОЇ СИРОВИНИ****Мінорова А. В.**¹, к.т.н., с.н.с.,
<https://orcid.org/0000-0002-7557-1444>**Рудакова Т. В.**¹, к.т.н., с.н.с.
<https://orcid.org/0000-0002-7017-735X>**Крушельницька Н. Л.**¹, н.с.
<https://orcid.org/0000-0002-3549-320X>**Моїсеєва Л. О.**¹, к.т.н., с.н.с.
<https://orcid.org/0000-0001-8845-1487>**Наріжний С. А.**², к.т.н., доцент,
<https://orcid.org/0000-0001-5478-3221>¹Відділ молочних продуктів та дитячого харчування,
Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна²Кафедра харчових технологій та технології переробки продуктів тваринництва,
Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна<https://doi.org/10.31073/foodresources2023-21-09>

Предмет. Розробка біотехнології молочного продукту з використанням ферментно-бактеріальної композиції передбачає отримання безлактозного кисломолочного продукту із застосуванням ферментативного гідролізу лактози за допомогою β -галактозидази та заквашувальних бакпрепаратів з підвищеною β -галактозидазною активністю. Доцільність наукової розробки полягає у зростанні кількості людей, які мають інтолерантність до лактози, що унеможливує вживання ними молочних продуктів. **Мета.** Розроблення безлактозних кисломолочних продуктів для харчування категорії споживачів, які страждають на лактазну недостатність. **Методи.** Основні фізико-хімічні показники маслянки, молока знежиреного та сумішей визначали за загальноприйнятими стандартизованими методами досліджень. Вміст лактози визначали хроматографічним методом з використанням вискоєфективного рідинного хроматографа LC-20 («Shimadzu»). **Результати.** Для проведення процесу гідролізу лактози використовували ферментні препарати GODO-YNL2 та MAXILACT LGi 5000. Перевірено ефективність ферментативного гідролізу лактози в маслянці, молоці знежиреному та відібраних молочних сумішах – молоко знежирене : маслянка як 1,0:1,0; та 0,5:1,5. Під час ферментації дослідних зразків продукту використовували розроблені бакпрепарати прямого внесення з різним видовим складом. **Висновки.** Досліджено вміст лактози у дослідних зразках після застосування в біотехнології ферментно-бактеріальної композиції. Встановлено, що при використанні бакпрепарату 1 вміст лактози в зразках знаходився на рівні 0,07-0,09%, а при використанні бакпрепарату 2 – на рівні 0,03-0,07%. Тобто при застосуванні в технологічному процесі ферментно-бактеріальної композиції, досягнуто вирішення поставленої задачі: отримано безлактозні продукти з вмістом лактози в кінцевих продуктах не більше 0,1%. **Сфера застосування результатів.** Створення вказаної наукової розробки дозволить раціонально використовувати вторинну молочну сировину, сприятиме зниженню собівартості продуктів та розширенню асортименту безлактозних кисломолочних продуктів для харчування споживачів, які мають проблеми зі здоров'ям, що пов'язані з лактазною недостатністю.

Ключові слова: лактазна недостатність, β -галактозидази дріжджового походження, ферментативний гідроліз лактози, заквашувальні препарати з β -галактозидазною активністю, маслянка, молоко знежирене, модельні молочні суміші, ферментно-бактеріальна композиція, безлактозні кисломолочні продукти.

USE OF ENZYMATIC BACTERIAL COMPOSITION IN THE BIOTECHNOLOGY
OF LACTOSE-FREE DAIRY PRODUCTS
BASED ON SECONDARY DAIRY RAW MATERIALS

Antonina Minorova¹, PhD, Senior Researcher,
<https://orcid.org/0000-0002-7557-1444>

Tetyana Rudakova¹, PhD, Senior Researcher,
<https://orcid.org/0000-0002-7017-735X>

Nataliia Krushelnytska¹, Researcher
<https://orcid.org/0000-0002-3549-320X>

Liudmyla Moiseieva¹, PhD, Senior Researcher
<https://orcid.org/0000-0001-8845-1487>

Sergiy Narizhnyi², PhD, Associate Professor,
<https://orcid.org/0000-0001-5478-3221>

¹Department of Dairy Products and Baby Food Products
Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

²Department of Food Technology and Technology Processing of Animal Products Chair,
Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

<https://doi.org/10.31073/foodresources2023-21-09>

Subject. The development of dairy product biotechnology using an enzyme-bacterial composition involves obtaining a lactose-free fermented milk product using enzymatic hydrolysis of lactose with the help of β -galactosidase and leavening preparations with increased β -galactosidase activity. The expediency of scientific development is in the increase in the number of people who are lactose intolerant, which makes it impossible for them to consume dairy products. **Purpose.** Development lactose-free fermented milk products for nutrition of the category of consumers suffering from lactase deficiency. **Methods.** The main physical and chemical parameters of buttermilk, skimmed milk and mixtures were determined according to generally accepted standardized research methods. Lactose content was determined by the chromatographic method using a high-performance liquid chromatograph LC-20 (Shimadzu). **Results.** Enzymatic preparations GODO-YNL2 and MAXILACT LGi 5000 were used to carry out the process of lactose hydrolysis. The effectiveness of enzymatic hydrolysis of lactose in buttermilk, skimmed milk and selected milk mixtures was checked – skimmed milk: buttermilk as 1.0:1.0; and 0.5:1.5. During the fermentation of experimental samples of the product, developed tank preparations of direct application with different types of composition were used. The lactose content in the test samples after the use of the enzyme-bacterial composition in biotechnology was investigated. It was established that the lactose content in the samples was at the level of 0.07-0.09% when using the bacterial preparation 1, and at the level of 0.03-0.07% when using the bacterial preparation 2. That is, when using the enzyme-bacterial composition in the technological process, the solution to the problem was achieved: lactose-free products with a lactose content of no more than 0.1% in the final products were obtained. **Scope of results.** The creation of the specified scientific development will allow rational use of secondary dairy raw materials, will help reduce the cost of products and expand the assortment of lactose-free fermented milk products for the nutrition of consumers who have health problems related to lactase deficiency.

Key words: lactase deficiency, β -galactosidase of yeast origin, enzymatic hydrolysis of lactose, leavening preparations with β -galactosidase activity, buttermilk, skimmed milk, model milk mixtures, enzyme-bacterial composition, lactose-free fermented milk products.

У світі, і в тому числі в Україні, є багато людей, які не можуть перетравлювати лактозу, що знаходиться в молочних продуктах [1, 2]. З кожним роком ситуація погіршується і кількість людей з лактазною недостатністю постійно зростає [3].

Кисломолочні продукти відіграють важливу роль в харчуванні людей, особливо тих, хто страждає на лактазну недостатність. Люди з розладом метаболізму лактози уникають вживання молочних продуктів, що значно обмежує їхній раціон харчування. Кисломолочні продукти ними сприймаються краще, оскільки за рахунок розщеплення лактози мікроорганізмами заквашувальних препаратів під час ферментації, вміст лактози в

них дещо нижчий. Але іноді цього буває недостатньо для забезпечення мінімального вмісту лактози в продуктах у порівнянні від її початкового рівня. Вирішення проблеми можливо за рахунок використання в біотехнології кисломолочних продуктів ферментативного гідролізу лактози за допомогою β -галактозидази.

β -галактозидаза, широко відома як лактаза, надзвичайно ефективна в процесі каталізу лактози [4, 5]. Ферментативний гідроліз лактози з використанням β -галактозидази є ключовим промисловим процесом, особливо в харчовій промисловості, який каталізує гідроліз β -глікозидного зв'язку, в результаті чого в якості продуктів реакції із лактози утворюються глюкоза і галактоза [6–8].

Окрім добре відомого застосування β -галактозидаз під час гідролізу лактози для розробки низьколактозних та безлактозних молочних продуктів, відмічено покращення технологічних та сенсорних властивостей молочних продуктів, а також раціональне використання підсирної молочної сироватки, що веде до підвищення економічної ефективності виробництва та вирішення екологічної проблеми навколишнього довкілля [9–11].

β -галактозидази, отримані із *Kluyveromyces lactis* (Kl- β -gal), є одними із найбільш розповсюджених, що зустрічаються в літературних джерелах, завдяки широко-маштабному використанню [12, 13]. Вони володіють гідролітичною та трансгалактозидуючою активністю, що дозволяє використовувати їх в харчовій та біотехнологічній галузях [14, 15].

Дослідження доказали великий ринковий потенціал Kl- β -gal для гідролізу лактози в молочній промисловості із зареєстрованим виходом вище 99,5% [16]. Це дозволило використовувати гідроліз лактози у виробництві молочних продуктів, які рекомендовані для споживачів з інтолерантністю до лактози у всьому світі, а також для перетворення лактози в більш комерційні корисні моноцукри.

Отже, використання β -галактозидази Kl- β -gal при переробці лактози в нові продукти з високою додатковою вартістю стало пріоритетом наукових досліджень [17–19].

Постановка проблеми. Кисломолочні продукти багаті поживними та біологічно активними речовинами, що підвищують їх біологічну цінність та надають їм специфічні пробіотичні властивості за рахунок використання у складі заквашувальних бакпрепаратів пробіотичних молочнокислих бактерій [20].

Більшість потенційно пробіотичних молочнокислих бактерій (LAB) відносяться до типу *Firmicutes*, надзвичайно різноманітної групи бактерій, в яку входять *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus* і *Weissella* родів. Багато вчених вважають рід *Bifidobacterium* членом групи LAB, оскільки він має деякі типові характеристики вказаної групи, такі як утворення під час ферментації молочної кислоти [21].

Роди бактерій *Lactobacillus* та *Bifidobacterium* є найбільш широко розповсюджені пробіотики в комерційних харчових продуктах [22]. Особливо це стосується роду біфідобактерій *Bifido Lactis*, які мають великий потенціал як пробіотика. Вони проявляють значну ферментативну активність, високу аеротолерантність та кислотостійкість та володіють належною стабільністю. Дякуючи своєму високому окисно-відновлювальному потенціалу в екосистемі флори товстого кишківника, *Bifido* дуже стійкий до низького pH середовища, дії харчових ферментів для перетравлювання їжі та жовчних кислот [23].

Враховуючи користь від вживання кисломолочних продуктів для всіх категорій споживачів, а особливо для людей з інтолерантністю до лактози, розробка продуктів з пробіотичними властивостями, є актуальною [24].

Додатково знизити вміст лактози і тим самим посилити корисні властивості від споживання кисломолочних продуктів, а це насамперед стосується людей з лактазною недостатністю, можна за рахунок використання в біотехнології виробництва ферментно-бактеріальної композиції.

Дослідженнями ферментативного гідролізу лактози з використанням β -галактозидаз та розробленням заквашувальних культур, які використовуються в технологіях кисломолочних продуктів, займалися закордонні та вітчизняні вчені: Horner T. W., Juers D. H., Geiger B., Oliveira C., Husain Q., Vera C., Cheng M., Hill D., Yao M., Jungersen M., Kandyli P., Кігель Н.Ф., Даниленко С.Г., Дідух Н. А. та інші [5,8,9-11,14,17,20, 22-26]. Але в контексті вказаних досліджень не всі питання були повністю розкриті.

Отже, подальші дослідження в даному напрямі є перспективними та нагальними, оскільки кисломолочні безлактозні продукти не тільки володіють пробіотичними властивостями, але й можуть задовольнити потреби категорії споживачів, які страждають лактазною недостатністю.

Метою роботи було провести дослідження щодо використання в біотехнології виробництва безлактозних кисломолочних продуктів ферментно-бактеріальної композиції та перевірити ефективність її застосування на модельних молочних сумішах на основі маслянки і знежиреного молока.

Матеріали та методи. Предметом досліджень були: маслянка, молоко знежирене, модельні молочні суміші на основі вторинної молочної сировини у співвідношеннях молоко знежирене : маслянка як 1,0:1,0 та 0,5:1,5, бакпрепарат 1 (*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *Streptococcus thermophilus*), бакпрепарат 2 (*B. bifidum*, *B. longum*, *Streptococcus thermophilus*, *Acetobacter aceti*). Молочні суміші готували наступним чином. Проводили окремо пастеризацію молока знежиреного та маслянки. Потім змішували пастеризовану сировину у співвідношеннях як 1,0:1,0 та 0,5:1,5 частин відповідно.

Визначення вмісту лактози проводили методом високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі LC-5 (Shimadzu) згідно з ДСТУ ISO 11868:2004 [27], рівень утилізації лактози визначали розрахунковим методом за різницею вмісту початкової лактози та після ферментації модельних молочних сумішей, ефективність гідролізу лактози визначали згідно з формулою [28]:

$$E = \left[\frac{C_p - C_k}{C_p} \right] \cdot 100\% \quad (1)$$

де, E – ефективність гідролізу лактози, %;

C_p – початкова концентрація лактози в сировині до гідролізу г/100г;

C_k – концентрація лактози в гідролізаті молочної сировини г/100г.

Результати та обговорення. На основі проведених раніше досліджень було удосконалено технологію двох заквашувальних препаратів з різним видовим складом та розроблено Зміну №8 до ТУ У 15.5-00419880-100:2010 «Культури заквашувальні сухі та рідкі. Технічні умови». Було встановлено, що використання розроблених заквашувальних препаратів з β -галактозидазною активністю, дає можливість отримати молочні продукти зі зниженим вмістом лактози. Рівень утилізації лактози (різниця вмісту лактози до та після сквашування, %), показав, що зменшення лактози у вказаних дослідних зразках після ферментації бакпрепаратом 1 становив 26,7–29,0%, бакпрепаратом 2 – 25,6–27,6%. Відмічено, що рівень утилізації лактози вищий у маслянці та у сумішах зі співвідношенням молоко знежирене : маслянка 1,0:1,0 та 0,5:1,5 [29].

Для отримання безлактозних кисломолочних продуктів, необхідно було використати в біотехнології виробництва ферментативний гідроліз лактози за допомогою β -галактозидази. Рекомендовані виробником характеристики ферментів дріжджового походження наступні: дози внесення для GODO-YNL2 (виробництво Японія) – 0,1%, для MAXILACT LGi 5000 (виробництво Нідерланди) – 0,08%, температура гідролізу $40 \pm 1^\circ\text{C}$ та $37 \pm 1^\circ\text{C}$ відповідно. Тривалість проведення гідролізу лактози 3,5–4,0 години, оптимальна кислотність середовища – 6,0–7,0 од. рН.

Як відомо [12, 13], β -галактозидази, отримані із *Kluyveromyces lactis* (Kl- β -gal) є одними із найбільш розповсюджених. Окрім цього, Kl- β -gal виробляється мікроорганізмом загальноновизнаним як безпечний (GRAS). Він представляє великий

потенціал для використання в харчовій промисловості та викликає значний інтерес, дякуючи своїй здатності каталізувати реакцію гідролізу лактози, а також продукувати галактоолігосахариди (ГОС) [30].

Для досліджень нами було використано ферментні препарати GODO-YNL2 та MAXILACT LGi 5000, які отримані із *Kluyveromyces lactis* (Kl- β -gal) та належать до безпечних β -галактозидаз.

Перевірено ефективність гідролізу лактози з використанням вищезазначених ферментних препаратів, використовуючи вторинну молочну сировину: маслянку, знежирене молоко та модельні суміші на основі вказаної сировини.

Модельні молочні суміші були складені з урахуванням проведених раніше досліджень [29], а саме: співвідношення молоко знежирене : маслянка як 1,0:1,0 (суміш 1) та 0,5:1,5 (суміш 2). Контролем слугували маслянка та молоко знежирене.

Умови проведення ферментативного гідролізу лактози були науково обґрунтовані [31] і відкориговані та становили для GODO-YNL2 та MAXILACT LGi 5000: доза ферменту – 0,05% та 0,04%; тривалість проведення гідролізу лактози – 3 год. та 2,5 год.; температура – $43 \pm 2^\circ\text{C}$ та $38 \pm 1^\circ\text{C}$ відповідно. Встановлено, що ступінь гідролізу лактози у разі використанні ферменту GODO-YNL2 знаходилась на рівні 98,5–99,0%, у разі використання ферменту MAXILACT LGi 5000 – на рівні 96,3–98,3%.

Далі отримані зразки заквашували розробленими вищезазначеними бакпрепаратами прямого внесення Дози внесення заквашувальних препаратів та умови заквашування були для препаратів однакові. Для порівняння проводили заквашування цими препаратами молока знежиреного та маслянки.

Отримані результати досліджень представлено на рис.1 та 2.

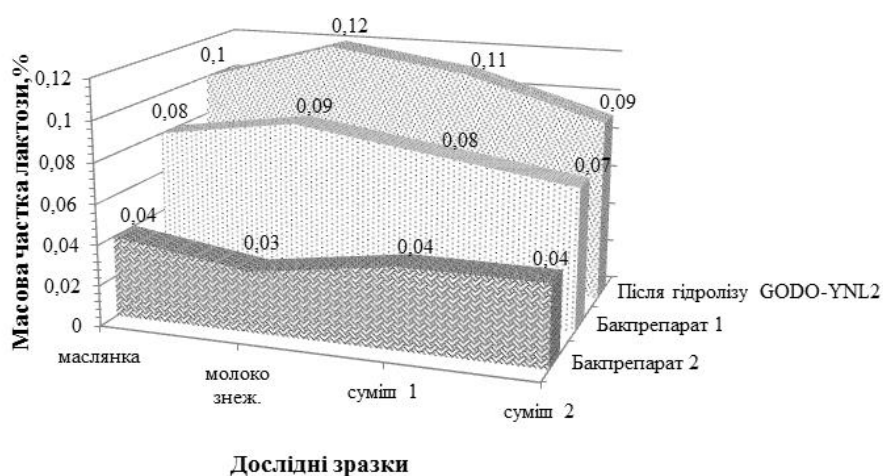


Рис. 1. Масова частка лактози після гідролізу ферментом GODO-YNL2 та ферментації розробленими бакпрепаратами

Встановлено, що при використанні бакпрепарату 1 вміст лактози в зразках знаходився на рівні 0,07–0,09%, а при використанні бакпрепарату 2 – на рівні 0,03–0,07%.

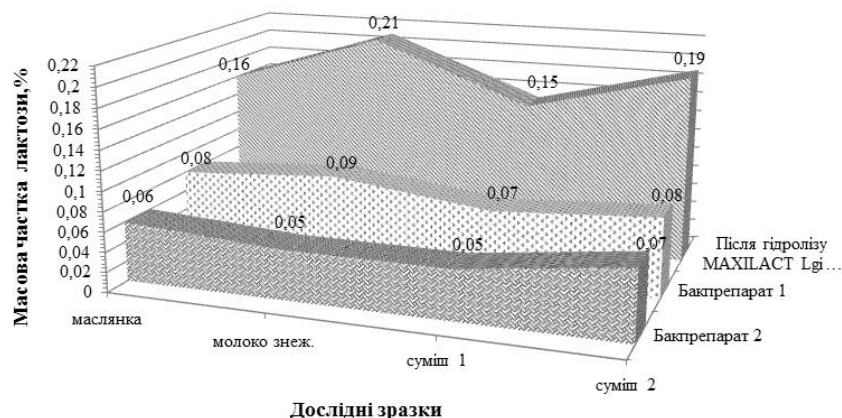


Рис. 2. Масова частка лактози після гідролізу ферментом MAXILACT LGi 5000 та ферментації розробленими бакпрепаратами

Паралельно проводили дослідження показників активної, титрованої кислотності та органолептичних характеристик. Отримані експериментальні дані наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Органолептичні характеристики та кислотність дослідних зразків

Зразки	Співвідношення молоко знежирене: маслянка		Органолептична оцінка дослідних зразків	Бакпрепарат 1		Бакпрепарат 2	
				од. pH	$^{\circ}\text{T}$	од. pH	$^{\circ}\text{T}$
маслянка	-	1,0	Смак приємний кисломолочний з солодким присмаком, консистенція в міру в'язка	4,51± 0,02	79,0±0,1	4,38±0,02	86,0±0,1
молоко знежирене	1,0	-	Смак приємний кисломолочний з ледь відчутним солодкуватим присмаком, консистенція рідка	4,14±0,02	90,0±0,1	4,08±0,02	95,0±0,1
суміш 1	1,0	1,0	Смак приємний кисломолочний з легким солодким присмаком, консистенція середньої в'язкості	4,14±0,02	90,0±0,1	4,01±0,02	100,0±0,1
суміш 2	0,5	1,5	Смак приємний кисломолочний з солодким присмаком, консистенція в міру в'язка	4,39±0,02	89,0±0,1	4,07±0,02	98,0±0,1

Встановлено, що у свіжевироблених продуктах титрована кислотність має більш високі показники при використанні бакпрепарату 2. Значення активної кислотності корелюють при цьому зі значеннями титрованої кислотності. Тобто бакпрепарат 2 має вищу межу кислотоутворення. Загалом отримані дослідні зразки мали показники

кислотності, які відповідали вимогам до кисломолочних продуктів та задовільні смакові характеристики (табл. 1).

Висновки. Перевірено ефективність використання в біотехнології безлактозних кисломолочних продуктів ферментно-бактеріальної композиції, а саме ферментативного гідролізу лактози за допомогою ферментних препаратів GODO-YNL2 та MAXILACT LGi 5000 та ферментації дослідних зразків розробленими бакпрепаратами прямого внесення з різним видовим складом. Визначено вміст лактози у дослідних зразках на основі вторинної молочної сировини: в маслянці, молоці знежиреному та відібраних варіантах молочних сумішей – молоко знежирене : маслянка як 1,0:1,0 та 0,5:1,5. Встановлено, що у разі використання бакпрепарату 1 вміст лактози знаходився на рівні 0,07-0,09 %, а у разі використання бакпрепарату 2 – на рівні 0,03-0,07%, що відповідало заданим вимогам до безлактозних кисломолочних продуктів, а саме вміст лактози в готових продуктах становив менше 0,1%. У подальшому передбачено використання розроблених бакпрепаратів у виробництві кисломолочних безлактозних продуктів для харчування людей з лактазною недостатністю.

Бібліографія

1. Anguita-Ruiz A., Aguilera C.M., Gil Á. Genetics of Lactose Intolerance: An Updated Review and Online Interactive World Maps of Phenotype and Genotype Frequencies. *Nutrients*. 2020. Vol. 12 (9). P. 2689. <https://doi.org/10.3390/nu12092689>.
2. Шадрін О. Г., Гайдучик Г. А., Ковальчук, А. А., Дюкарева С. В., Бондаренко Н. Ю. Оптимізація лікування гастроінтестинальної харчової алергії в дітей раннього віку. *Перинатологія і педіатрія*. 2015. № 3. С. 84–88. http://nbuv.gov.ua/UJRN/perynatology_2015_3_19.
3. Argenta A. B., Nogueira A., Scheer A.de P. Hydrolysis of whey lactose: *Kluyveromyces lactis* β -galactosidase immobilisation and integrated process hydrolysis-ultrafiltration. *Int. Dairy J.* 2021. Vol. 117. 105007. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105007>.
4. Kittibunchakul S., Pham, A. M., Nguyen Tran. β -Galactosidase from *Lactobacillus helveticus* DSM 20075: Biochemical characterization and recombinant expression for applications in dairy industry. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20. P. 947. <https://doi.org/10.3390/ijms20040947>.
5. Horner T. W., Dunn, D. L., Eggett D. L., Ogden L. V. β -Galactosidase activity of commercial lactase samples in raw and pasteurized milk at refrigerated temperatures. *J. Dairy Sci.* 2010. Vol. 94. P. 3242–3249. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3742>.
6. Basso A., Serban A. Industrial applications of immobilized enzymes – a review. *Mol. Catal.* 2019. Vol. 479. 110607. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2019.110607>.
7. Andrade B. C., Timmers L. F. S. M. De, Renard, G., Volpato C. F. V. D. De Souza. Microbial β -galactosidases of industrial importance: computational studies on the effects of point mutations on the lactose hydrolysis reaction. *Biotechnol.* 2020. Vol. 36. P. 2982. <https://doi.org/10.1002/btpr.2982>.
8. Juers D. H., Matthews B. W., Huber R. E. β -galactosidase: Structure and function of an enzyme of historical and molecular biological importance. *Protein Sci.* 2012. Vol. 21. P.1792–1807. <https://doi.org/10.1002/pro.2165>.
9. Geiger B., Nguyen H. M., Wenig S., Nguyen H. A., Lorenz C., Kittl, R., Mathiesen G., Eijssink V. G. H., Haltrich D., Nguyen T. H. From by-product to valuable components: efficient enzymatic conversion of lactose in whey using β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *Biochem. Eng. J.* 2016. Vol.116. P. 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.04.003>.
10. Oliveira C., Guimarães P. M. R., Domingues L. Recombinant microbial systems for improved β -galactosidase production and biotechnological applications. *Biotechnol. Adv.* 2011. Vol. 29 (6). P. 600–609. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.03.008>.
11. Husain Q. β -galactosidases and their potential applications: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2010. Vol. 30 (1). P.41-62. <https://doi.org/10.3109/07388550903330497>.
12. Pereira-Rodríguez A., Fernández-Leiro R., González Siso M. I., Cerdán M. E., Becerra M., Sanz-Aparicio J. Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*, *Acta Crystallogr.* 2010. Vol. 66. P. 297–300. <https://doi.org/10.1107/S1744309109054931>.

13. Katrolia P., Min Z., Qiaojuan Y., Zhengqiang J., Chunlei S., Lite L. Characterisation of a thermostable family 42 β -galactosidase (BgalC) family from *Thermotoga maritima* showing efficient lactose hydrolysis. *Food Chem.* 2010. Vol. 125. P. 614–621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.075>.
14. Vera C., Guerrero C., Aburto C., Cordova A., Illanes A. Conventional and non-conventional applications of β -galactosidases. *Biochim and Biophys Acta Proteins Proteom.* 2020. Vol.1868 (1). P.140271. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.140271>.
15. Vera C., Guerrero C., Illanes A. Determination of the transgalactosylation activity of *Aspergillus oryzae* β -galactosidase: effect of pH, temperature, and galactose and glucose concentrations. 2011. Vol. 346(6). P.745-752. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.01.030>.
16. Erich S., Kuschel B., Schwarz T., Ewert J., Böhmer N., Niehaus F., Eck J., Lutz- Wahl S., Stressler T., Fischer L. Novel high-performance metagenome β -galactosidases for lactose hydrolysis in the dairy industry. *J. Biotechnol.* 2015. Vol. 210. P. 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.411>.
17. Cheng S., Hummel M., Dahal B., Gu Z., Kharel P., Martínez-Monteaudo S.I. A two-step process for the synthesis of sweetening syrup from aqueous lactose. *LWT Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 117. P. 108659. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108659>.
18. Cheng S., Metzger L.E., Martínez-Monteaudo S.I. One-pot synthesis of sweetening syrup from lactose. *Sci. Rep.* 2020. Vol.10. P. 2730. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59704-x>.
19. Jayamuthunagai J., Srisowmeya G., Chakravarthy M., Gautam P. D-tagatose production by permeabilized and immobilized *Lactobacillus plantarum* using whey permeate, *Bioresour. Technol.* 2017. Vol. 235. P. 250–255. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.123>.
20. Hill D., Ross R. P., Arendt E. Microbiology of yogurt and bio-yogurts containing probiotics and prebiotics. In: Shah NP, ed. *Yogurt in Health and Disease Prevention*. Elsevier, London: Academic Press. 2017. Vol.17. P. 69–85. ISBN: 978-0-12-805134-4.
21. Lahtinen S., Ouwehand A. C., Salminen S., Wright Atte. *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects.* Food Science & Technology. 2012. 798 p. ISBN 9780429151453. <https://doi.org/10.1201/b11503>.
22. Yao M., Xie J., Du H., McClements D. J., Xiao H., & Li L. Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2020. Vol.19(2). P. 857–874. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12532>.
23. Jungersen M., Wind A., Johansen E., Christensen J., Stuer-Lauridsen B., & Eskesen D. The science behind the probiotic strain *bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12®. *Microorganisms.* 2014. Vol. 2(2). P. 92–110. <https://doi.org/10.3390/microorganisms2020092>
24. Kandyli P., Pissaridi K., Bekatorou A., Kanellaki M., & Koutinas A. A. Dairy and non-dairy probiotic beverages. *Current Opinion in Food Science*, 2016. Vol. 7. P. 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.11.012>.
25. Потемська О. І., Кігель Н. Ф., Даниленко С. Г., Копилова К. В. β - галактозидазна активність бактерій як критерій відбору штамів до складу бактеріальних препаратів. *Харчова наука і технологія*. 2017. № 11(3). С. 35-40. <https://doi.org/10.15673/fst.v11i3.604>.
26. Дідух Н. А. Наукові основи розробки технологій молочних продуктів функціонального призначення: дис. д-ра техн. наук: 05.18.16. Одеська національна академія харчових технологій МОН України, Одеса, 2008.
27. ДСТУ ISO 11868:2004 Молоко термічно оброблене. Визначання вмісту лактулози методом високоефективної рідинної хроматографії (ISO 11868:1997, IDT) [Чинний від 2006-04-01]. Вид. офіц. Київ. Держспоживстандарт України, 2006. 7 с.
28. Букуру Л. К., Скворцов Е. В., Багаева Т. В., Канарская З. А. Эффективность применения β – галактозидазы для получения низколактозного напитка на основе молочной сыворотки. *Вестник Казанского технологического университета*. 2017. № 13. С. 117–119.
29. Мінорова А. В., Романчук І. О., Даниленко С. Г., Рудакова Т. В., Крушельницька Н. Л., Потемська О. П., Наріжний С. А. Підбір та дослідження ефективності заквашувальних препаратів з підвищеною β -галактозидажною активністю. *Продовольчі ресурси*. 2022. Т. 10. № 19. С. 88–98 <https://doi.org/10.31073/foodresources2022-19-10>.
30. Albuquerque T. L., Sousa M., Gomes N. C., Chaves C. A., Barros Gonçalves L. R., Fernandez-Lafuente R., Ponte Rocha M. V. β -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2021. Vol. 191. P. 881–898. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>.

31. Романчук І. О., Юдіна Т. І., Мінорова А. В., Моїсєєва Л. О., Серенко А. А., Бабко Д. Є. Ефективність гідролізу лактози у вторинній молочній сировині. Продовольчі ресурси. 2021. Т. 9. № 1 7. С. 129–136. <https://doi.org/10.31073/foodresources2021-17-13>.

References

1. Anguita-Ruiz, A., Aguilera, C. M., Gil, Á. (2020). Genetics of Lactose Intolerance: An Updated Review and Online Interactive World Maps of Phenotype and Genotype Frequencies. *Nutrients*. Vol. 12 (9). P. 2689. <https://doi.org/10.3390/nu12092689>.
2. Shadrin, O. H., Haiduchyk, H. A., Kovalchuk, A. A., Diukareva, S. V., Bondarenko, N. Iu. (2015). Optymizatsiia likuvannia hastrointestynalnoi kharchovoi alerhii v ditei rannoho viku. [Optimization of treatment of gastrointestinal food allergy in young children]. *Perynatolohyia y pedyatryia*. [Perinatology and pediatrics]. № 3. P. 84–88. http://nbuv.gov.ua/UJRN/perynatology_2015_3_19. [in Ukrainian].
3. Argenta, A. B., Nogueira, A., Scheer, A. de P. (2021). Hydrolysis of whey lactose: *Kluyveromyces lactis* β -galactosidase immobilisation and integrated process hydrolysis-ultrafiltration. *Int. Dairy J.* Vol. 117. 105007. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105007>.
4. Kittibunchakul, S., Pham, A. M., Nguyen, Tran. (2019). β -Galactosidase from *Lactobacillus helveticus* DSM 20075: Biochemical characterization and recombinant expression for applications in dairy industry. *Int. J. Mol. Sci.* Vol. 20. P. 947. <https://doi.org/10.3390/ijms20040947>.
5. Horner, T. W., Dunn, D. L., Eggett, D. L., Ogden, L. V. (2010). β -Galactosidase activity of commercial lactase samples in raw and pasteurized milk at refrigerated temperatures. *J. Dairy Sci.* Vol. 94. P. 3242–3249. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3742>.
6. Basso, A., Serban, A. (2019). Industrial applications of immobilized enzymes – a review. *Mol. Catal.* Vol. 479. 110607. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2019.110607>.
7. Andrade, B. C., Timmers, L. F. S. M. De, Renard, G., Volpato, C. F. V. D. De Souza. (2020). Microbial β -galactosidases of industrial importance: computational studies on the effects of point mutations on the lactose hydrolysis reaction. *Biotechnol.* Vol. 36. P. 2982. <https://doi.org/10.1002/btpr.2982>.
8. Juers, D. H., Matthews, B. W., Huber, R. E. (2012). β -galactosidase: Structure and function of an enzyme of historical and molecular biological importance. *Protein Sci.* Vol. 21. P.1792–1807. <https://doi.org/10.1002/pro.2165>.
9. Geiger, B., Nguyen, H. M., Wenig, S., Nguyen, H. A., Lorenz, C., Kittl, R., Mathiesen, G., Eijsink, V. G. H., Haltrich, D., Nguyen, T.H. (2016). From by-product to valuable components: efficient enzymatic conversion of lactose in whey using β -galactosidase from *Streptococcus thermophilus*. *Biochem. Eng. J.* Vol. 116. P. 45-53. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.04.003>.
10. Oliveira, C., Guimarães, P. M. R., Domingues, L. (2011). Recombinant microbial systems for improved β -galactosidase production and biotechnological applications. *Biotechnol. Adv.* Vol. 29 (6). P. 600-609. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.03.008>.
11. Husain, Q. β -galactosidases and their potential applications: a review. (2010). *Crit. Rev. Biotechnol.* Vol. 30 (1). P.41-62. <https://doi.org/10.3109/07388550903330497>.
12. Pereira-Rodríguez, A., Fernández-Leiro, R., González Siso, M.I., Cerdán, M.E., Becerra, M., Sanz-Aparicio, J. (2010). Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *Acta Crystallogr.* Vol. 66. P. 297–300. <https://doi.org/10.1107/S1744309109054931>.
13. Katrolia, P., Min, Z., Qiaojuan, Y., Zhengqiang, J., Chunlei, S., Lite, L. (2010). Characterisation of a thermostable family 42 β -galactosidase (BgalC) family from *Thermotoga maritima* showing efficient lactose hydrolysis. *Food Chem.* Vol. 125. P. 614–621. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.075>.
14. Vera, C., Guerrero, C., Aburto, C., Cordova, A., Illanes, A. (2020). Conventional and non-conventional applications of β -galactosidases. *Biochim and Biophys Acta Proteins Proteom.* Vol. 1868 (1). P.140271. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.140271>.
15. Vera, C., Guerrero, C., Illanes, A. (2011). Determination of the transgalactosylation activity of *Aspergillus oryzae* β -galactosidase: effect of pH, temperature, and galactose and glucose concentrations. *Vol. 346(6)*. P.745–752. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.01.030>.
16. Erich, S., Kuschel, B., Schwarz, T., Ewert, J., Böhmer, N., Niehaus, F., Eck, J., Lutz-Wahl, S., Stressler, T., Fische, L. (2015). Novel high-performance metagenome β -galactosidases for lactose

hydrolysis in the dairy industry. J. Biotechnol. Vol. 210. P. 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.06.411>.

17. Cheng, S., Hummel, M., Dahal, B., Gu, Z., Kharel, P., Martínez-Monteaudo, S. I. (2020). A two-step process for the synthesis of sweetening syrup from aqueous lactose. LWT Food Sci. Technol. Vol. 117. P. 108659. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108659>.

18. Cheng, S., Metzger, L.E., Martínez-Monteaudo, S.I. (2020). One-pot synthesis of sweetening syrup from lactose. Sci. Rep. Vol. 10. P. 2730. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59704-x>.

19. Jayamuthunagai, J., Srisowmeya, G., Chakravarthy, M., Gautam P. (2017). D-tagatose production by permeabilized and immobilized *Lactobacillus plantarum* using whey permeate, Bioresour. Technol. Vol. 235. P. 250–255. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.123>.

20. Hill, D., Ross, R. P., Arendt, E. (2017). Microbiology of yogurt and bio-yogurts containing probiotics and prebiotics. In: Shah NP, ed. Yogurt in Health and Disease Prevention. Elsevier, London: Academic Press. Vol. 17. P. 69–85. ISBN: 978-0-12-805134-4.

21. Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., Wright, A. (2012). Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects. Food Science & Technology. p. 798. ISBN 9780429151453. <https://doi.org/10.1201/b11503>.

22. Yao, M., Xie, J., Du, H., McClements, D. J., Xiao, H., & Li, L. (2020). Progress in microencapsulation of probiotics: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 19(2). P. 857–874. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12532>.

23. Jungersen, M., Wind, A., Johansen, E., Christensen, J., Stuer-Lauridsen, B., & Eskesen, D. (2014). The science behind the probiotic strain *bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12®. Microorganisms. Vol. 2(2). P. 92–110. <https://doi.org/10.3390/microorganisms2020092>.

24. Kandyli, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M., & Koutinas, A. A. (2016). Dairy and non-dairy probiotic beverages. Current Opinion in Food Science, 2016. Vol. 7. P. 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.11.012>.

25. Potemka, O. I., Kihel, N. F., Danylenko, S. H., Kopylova, K. V. (2017). β -galaktozydazna aktyvnist bakterii yak kryterii vidboru shtamiv do skladu bakterialnykh preparativ. [β -galactosidase activity of bacteria as a criterion for selection of strains for the composition of bacterial preparations]. Kharchova nauka i tekhnolohiia. [Food science and technology]. № 11 (3). P. 35–40. <https://doi.org/10.15673/fst.v11i3.604> [in Ukrainian].

26. Didukh, N. A. Naukovi osnovy rozrobky tekhnolohii molochnykh produktiv funktsionalnoho pryznachennia: dys. d-ra tekhn. nauk: 05.18.16. Odeska natsionalna akademiia kharchovykh tekhnolohii MON Ukrainy, Odesa, 2008. [in Ukrainian].

27. DSTU ISO 11868:2004 Moloko termichno obroblyne. Vyznachannia vmistu laktulozy metodom vysokoefektyvnoi ridynnoi khromatohrafii (ISO 11868:1997, IDT) [DSTU ISO 11868:2004 Heat-treated milk. Determination of lactulose content by high-performance liquid chromatography (ISO 11868:1997, IDT)]. [Chynnyi vid 2006-04-01]. Vyd. ofits. Kyiv. Derzhspozhyvstandart Ukrainy [Derzhspozhyvstandart of Ukraine], 2006. 7 p. [in Ukrainian].

28. Bukuru, L., Skvortsov, E., Bagayeva, T., Kanarskaya, Z. (2017). Effektivnost primeneniya β – galaktozidazy dlya polucheniya nizkolaktoznogo napitka na osnove molochnoy syvorotki. [Efficiency of β -galactosidase application for obtaining a low-lactose drink based on milk whey]. Vesnyk Kazanskoho tekhnolohyicheskoho unyversyteta [Kazan Technological University Bulletin] 13. P. 117–119 [in russian].

29. Minorova, A. V., Romanchuk, I. O., Danylenko, S. H., Rudakova, T. V., Krushelnyska, N. L., Potemka, O. P., Narizhnyi, S. A. (2022). Pidbir ta doslidzhennia efektyvnosti zakvashuvalnykh preparativ z pidvyshchenoiu β -halaktozydaznoi aktyvnistiu. [Selection and study of the effectiveness of leavening preparations with increased β -galactosidase activity] Prodovolchi resursy. [Food resources]. T. 10. № 19. P. 88–98 <https://doi.org/10.31073/foodresources2022-19-10>. [in Ukrainian].

30. Albuquerque, T. L., Sousa, M., Gomes, N. C., Chaves, C. A., Barros Gonçalves, L. R., Fernandez-Lafuente, R., Ponte Rocha, M. V. (2021). β -Galactosidase from *Kluyveromyces lactis*: Characterization, production, immobilization and applications – A review. International Journal of Biological Macromolecules. Vol. 191. P. 881–898. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.133>

31. Romanchuk, I. O., Yudina, T. I., Minorova, A. V., Moiseieva, L. O., Serenko, A. A., Babko, D. Ie. (2021). Yefektyvnist hidrolizu laktozy u vtorynnii molochnii syrovyni. [Efficiency of lactose hydrolysis in secondary dairy raw materials]. Prodovolchi resursy. [Food Resources]. № 17. P. 129–136. <https://doi.org/10.31073/foodresources2021-17-13>. [in Ukrainian].