



Оптимизация условий культивирования штамма *Lactobacillus acidophilus* для получения молочной кислоты при ферментации мелассы

А.П. Непомнящий✉, И.Н. Зубков, П.Н. Сорокоумов, Н.Ю. Шарова

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок –
филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация. Молочная кислота и ее соли (лактаты) широко применяются в пищевой промышленности в качестве регуляторов кислотности и сырья для синтеза полилактида – биоразлагаемого упаковочного материала. В наши дни большую часть молочной кислоты получают биосинтетическим путем из сахаросодержащего сырья, например из свекловичной мелассы. Целью проведенного исследования являлось изучение процесса биоконверсии мелассы в молочную кислоту анаэробным штаммом *Lactobacillus acidophilus* AT-I. Содержание источников углерода (мелассы) и азота (дрожжевого экстракта) оптимизировалось с помощью эксперимента, поставленного по центральному композиционному плану. Анализ содержания молочной кислоты в культуральной жидкости проводился с использованием капиллярного электрофореза. Построение модели осуществлялось в среде R, а ее адекватность оценивалась с помощью F-критерия Фишера. В ходе работы выяснено, что построенная модель адекватно описывает полученные данные при уровне значимости 0,05 (дисперсия адекватности регрессионного уравнения 0,28, $R^2 = 0,76$, рассчитанное значение F-критерия 3,2 меньше табличного, равного 6,3). Согласно модели, наибольшая конверсия мелассы в лактат (5,6%) должна наблюдаться при концентрации мелассы 63 г/л и дрожжевого экстракта 1,9 г/л. При культивировании *Lactobacillus acidophilus* AT-I в биореакторе наблюдается классическая кинетика расщепления углеводов и накопления молочной кислоты. Содержание молочной кислоты спустя 96 ч культивирования достигает 5,5 г/л.

Ключевые слова: *Lactobacillus acidophilus*, лактат, свекловичная меласса, капиллярный электрофорез, периодическое культивирование

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме FGUS-2022-0003 Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок – филиала Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН (г. Санкт-Петербург, Россия).

Для цитирования: Непомнящий А.П., Зубков И.Н., Сорокоумов П.Н., Шарова Н.Ю. Оптимизация условий культивирования штамма *Lactobacillus acidophilus* для получения молочной кислоты при ферментации мелассы // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2025. Т. 15. N 2. С. 279–285. DOI: 10.21285/achb.999. EDN: HQIHHZ.

BRIEF COMMUNICATION

Optimization of cultivation conditions for *Lactobacillus acidophilus* to produce lactic acid through molasses fermentation

Anatolii P. Nepomniashchii✉, Ilya N. Zubkov, Pavel N. Sorokoumov, Natalya Yu. Sharova

All-Russian Research Institute for Food Additives, Branch of V.M. Gorbатов Federal Research
Center for Food Systems, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russian Federation

Abstract. Lactic acid and its salts (lactates) are used extensively in the food industry as acidity regulators and as raw materials for the synthesis of polylactide, a biodegradable packaging material. Currently, the prevailing

method of producing lactic acid involves the biosynthetic pathway, using sugar-containing raw materials such as beet molasses. This study aims to examine the process of molasses bioconversion into lactic acid using the anaerobic strain *Lactobacillus acidophilus* AT-I. The concentrations of carbon (molasses) and nitrogen (yeast extract) were optimized using a central composite design experiment. The lactic acid content in the culture liquid was analyzed using capillary electrophoresis. The model was constructed in the R environment, and its adequacy was assessed using Fisher's F-test. The findings demonstrated that the model adequately described the experimental data at a significance level of 0.05 (the variance of adequacy of the regression equation of 0.28, $R^2 = 0.76$, the calculated value of the F-criterion (3.2) is less than the tabulated value (6.3)). According to the model, the highest conversion of molasses to lactate (5.6%) should be observed at a molasses concentration of 63 g/L and a yeast extract concentration of 1.9 g/L. The cultivation of *Lactobacillus acidophilus* AT-I in a bioreactor exhibited classical kinetics of carbohydrate breakdown and lactic acid accumulation, with lactic acid content reaching 5.5 g/L after 96 hours.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, lactate, sugar beet molasses, capillary electrophoresis, batch cultivation

Funding. The study was carried out within the framework of the state assignment of the All-Russian Research Institute for Food Additives, Branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems, Russian Academy of Sciences (project no. FGUS-2022-0003).

For citation: Nepomniashchii A.P., Zubkov I.N., Sorokoumov P.N., Sharova N.Yu. Optimization of cultivation conditions for *Lactobacillus acidophilus* to produce lactic acid through molasses fermentation. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2025;15(2):279-285. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.999. EDN: HQIHHZ.

ВВЕДЕНИЕ

Молочная кислота и ее производные широко используются в пищевой промышленности. Помимо применения в качестве регулятора кислотности, молочная кислота служит прекурсором в получении полилактида – ценного биоразлагаемого пластика, который является перспективной заменой многих синтетических материалов [1, 2]. Существует два основных метода синтеза молочной кислоты и ее солей (лактатов): химический [3] и биотехнологический с использованием анаэробных лактобацилл [4–6]. По сравнению с химическими методами синтеза [7] получение лактата путем анаэробной ферментации содержащих углеводы сред обладает рядом преимуществ. В частности, биотехнологический путь синтеза обладает высокой энантиоселективностью [8], не требует использования повышенных температур и токсичных реагентов [7].

На сегодняшний день известен большой круг гомотрофных лактобактерий, которые расщепляют простые углеводы до молочной кислоты [9–11]. Так как что простые углеводы обладают высокой стоимостью [12], неоднократно предпринимались попытки использовать для синтеза лактата полисахариды, например крахмал [11] или целлюлозу [13]. Тем не менее применение полисахаридов в других важных областях промышленности вынуждает использовать для синтеза молочной кислоты вторичные продукты переработки сахаров и крахмала, в первую очередь свекловичную мелассу [14]. В обычной мелассе содержание углеводов достигает 40% и более¹ [15]. Однако новые технологии переработки свекловичной мелассы предполагают удаление из нее большей части углеводов, которые способны усваивать лактобациллы. Содержание углеводов в мелассе, полученной с помощью современных технологических процессов, может быть снижено до 10%². Кроме того, содержание сухих веществ и кислотность обедненной мелассы часто не соответствуют государственным стандартам¹. Возможности приме-

нения такой мелассы в биотехнологических процессах изучаются многими научными группами.

Целью представленной работы являлась оптимизация условий биосинтетического получения молочной кислоты с помощью сред, содержащих обедненную свекловичную мелассу, и продуцента *Lactobacillus acidophilus* AT-I.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- проведение серии экспериментов по центральному композиционному плану с варьированием концентраций мелассы *M* и дрожжевого экстракта *YE*;
- построение зависимости конверсии субстрата в лактат *q* от содержания нутриентов (*M* и *YE*) в среде для культивирования;
- изучение кинетики накопления молочной кислоты в оптимизированных условиях при ферментации мелассы *L. acidophilus* AT-I в биореакторе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовалась культура *L. acidophilus* AT-I из коллекции микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института пищевых добавок – филиала Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН (г. Санкт-Петербург, Россия). Ранее было показано, что бактерии *L. acidophilus* способны сбраживать дисахариды в лактат с высокой степенью конверсии [16].

Среды для культивирования содержали 0,1 г/л $MgSO_4$, 1 г/л K_2HPO_4 и 0,05 г/л $MnSO_4$. В качестве субстрата следует использовать обедненную свекловичную мелассу с массовой долей дисахаридов не менее 30% (в работе применялась меласса с содержанием дисахаридов 35%, не содержащая моносахаридов). Доля сухих веществ и pH, измеренные в соответствии с ГОСТ 30561-2017², составляли 68% и 7,0 соответственно. Содержание мелассы *M* и дрожжевого экстракта *YE* в среде для основного культивирования варьировалось согласно

¹ ГОСТ 30561-2017. Меласса свекловичная. Технические условия. М.: Стандартинформ, 2017. 22 с.

² Molasses-desugaring process // Beet-sugar handbook / ed. M. Asadi. John Wiley & Sons, 2005. P. 517–546.

центральному композиционному ротатбельному плану эксперимента. Среда для получения инокулята содержала 20 г/л мелассы, 10 г/л дрожжевого экстракта и 1 г/л K_2HPO_4 . pH сред для культивирования доводился до 7,0 перед культивированием с помощью 1N NaOH. В экспериментах по оптимизации состава среды и для получения инокулята культивирование проводилось в колбах Эрленмейера объемом 750 мл (объем среды 100 мл). Объем добавляемого в среду для основного культивирования инокулята составлял 10 мл. Культивирование проводилось в термостате при 37 °C в течение 48 ч.

Определение концентрации молочной кислоты осуществлялось на установке для капиллярного электрофореза Капель-205 («Люмэкс», Россия) в соответствии с рекомендуемой производителем методикой. Образцы бесклеточной культуральной жидкости, разбавленной дистиллированной водой в 100 раз (100 мкл), смешивали с метанолом (300 мкл) и центрифугировали при 6300 g для удаления белков и пептидов. Разделение проводили в капилляре с внутренним диаметром 75 мкм и длиной 60 см при отрицательной полярности подаваемого напряжения. Детекция осуществлялась с помощью фотометрического детектора при длине волны 254 нм. Для количественного определения лактата использовалась калибровочная зависимость.

Содержание моно- и дисахаридов в свекловичной мелассе и культуральных средах контролировалось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с рефрактометрической детекцией. Использовался хроматограф Agilent 1260 Infinity II, снабженный колонкой Hi-Plex Ca 300×7,7 мм (Agilent Technologies, США). Перед разделением образцы мелассы и бесклеточной культуральной жидкости (200 мкл) смешивали с метанолом (400 мкл) для осаждения белков и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 мин. Образцы центрифугировали 5 мин при 15000 g, супернатант (400 мкл) отделяли и смешивали с деионизованной водой (800 мкл). 20 мкл полученного раствора вводили в колонку и проводили элюирование в изократическом режиме (элюент – деионизованная вода, скорость потока 0,6 мл/мл, температура колонки 80 °C). Количественное определение осуществлялось с помощью градуировочной прямой.

Зависимость конверсии мелассы в лактат от содержания источников углерода и азота строили в среде R³. Оценку адекватности полученной зависимости проводили с помощью F-критерия Фишера. Оптимальные условия культивирования *L. acidophilus* AT-I определяли путем дифференцирования полученной зависимости по имеющимся переменным.

Культивирование *L. acidophilus* AT-I в биореакторе (Sartorius Biostat A, Sartorius, Германия) осуществляли в оптимизированных условиях. Объем среды для культивирования составлял 500 мл, объем инокулята – 50 мл. Образцы для оценки содержания лактата и остаточных углеводов отбирали спустя 12, 24, 48, 72 и 96 ч после начала основного культивирования.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе использовался образец обедненной свекловичной мелассы, физико-химические характеристики которого отличались от принятого государственного стандарта¹. Суммарное содержание дисахаридов – сахарозы и мальтозы – в обедненной мелассе (35%) даже ниже, чем требуемое ГОСТ 30561-2017 содержание сахарозы (43%). Доля сухих веществ (68%) также отличается от требуемой государственным стандартом (75%). Содержание моносахаридов (менее 1%) и pH (7,0) находилось в пределах, установленных государственным стандартом. Таким образом, для биосинтетического получения лактата с помощью *L. acidophilus* AT-I может использоваться меласса, обладающая худшими физико-химическими характеристиками, чем предполагает ГОСТ 30561-2017.

Полученные экспериментальные данные о зависимости выхода молочной кислоты (LA) и конверсии мелассы в лактат (q) от содержания в среде питательных веществ (мелассы M и дрожжевого экстракта YE) показаны в таблице. Функция зависимости конверсии q от концентраций питательных веществ (1) оптимизирована с использованием среды R. Графически данная функция представлена на рис. 1.

$$q = 0,063 \times M + 3,73 \times YE - 0,0005 \times M^2 - 0,97 \times YE^2, \quad (1)$$

где q – конверсия мелассы в лактат, %; M – концентрация мелассы в среде для культивирования, г/л; YE – концентрация дрожжевого экстракта в среде для культивирования, г/л.

План эксперимента по оптимизации условий биосинтетического получения молочной кислоты с помощью *Lactobacillus acidophilus* AT-I

Plan of the optimization experiment for lactic acid biosynthetic production by *Lactobacillus acidophilus* AT-I

M, г/л	YE, г/л	LA, г/л	q, %
60 (-1)	1,00 (-1)	3,2	5,4
120 (+1)	1,00 (-1)	3,8	3,2
60 (-1)	3,00 (+1)	2,4	4,0
120 (+1)	3,00 (+1)	3,8	3,2
47,6 (-√2)	2,00 (0)	2,7	5,6
132,4 (+√2)	2,00 (0)	4,0	3,0
90 (0)	0,59 (-√2)	2,8	3,1
90 (0)	3,41 (+√2)	2,9	3,3
		4,3	4,8
		4,7	5,2
90 (0)	2,00 (0)	4,1	4,6
		4,3	4,8
		4,7	5,2

Примечание. В скобках приведены кодированные уровни факторов. M – меласса, YE – дрожжевой экстракт, LA – концентрация молочной кислоты в конце культивирования, q – конверсия мелассы в лактат.

Для расчета значения F-критерия Фишера использовались дисперсии адекватности (0,28) и воспроизводимости (0,083). Табличное значение F-критерия (6,3 при

³ R: a language and environment for statistical computing // R-project.org. Режим доступа: <https://www.r-project.org/> (дата обращения: 27.02.2024).



Рис. 1. Зависимость конверсии мелассы в лактат от концентраций мелассы и дрожжевого экстракта

Fig. 1. Dependence of molasses conversion to lactate on the concentrations of molasses and yeast extract

уровне значимости 0,05, числе степеней свободы 5 и 4) выше, чем рассчитанное (3,2). Таким образом, зависимость (1) адекватно описывает данные, полученные из эксперимента. Рассчитанное значение множественного коэффициента корреляции R^2 равно 0,76. Согласно расчетам, наибольшая конверсия мелассы в лактат ($5,6 \pm 1,8\%$) обеспечивается при содержании в среде для культивирования мелассы 63 г/л и дрожжевого экстракта 1,9 г/л. Для вычисления доверительного интервала (1,8%) использовался критерий Стьюдента и уровень значимости 0,05.

Данные о потреблении дисахаридов и продукции молочной кислоты *L. acidophilus* AT-I в биореакторе в оптимизированных условиях представлены на рис. 2. Усвоение дисахаридов *L. acidophilus* AT-I происходит в течение первых суток культивирования. Известно, что бактерии *Lactobacillus* продуцируют внутриклеточные инвертазы³ [17–20], которые быстро расщепляют дисахариды до простых углеводов. Конверсия углеводов в молочную кислоту после 48 ч культивирования (6,8%) соответствует расчетной ($5,6 \pm 1,8\%$). Однако синтез лактата продолжается значительно дольше и его кон-

центрация становится постоянной лишь после 72 ч культивирования. К моменту окончания ферментации (96 ч) содержание молочной кислоты в культуральной жидкости составляло 5,5 г/л, а конверсия мелассы в лактат – 8,7%. Если учесть, что содержание дисахаридов в мелассе не превышало 35%, можно рассчитать конверсию дисахаридов – она составляет около 25%.

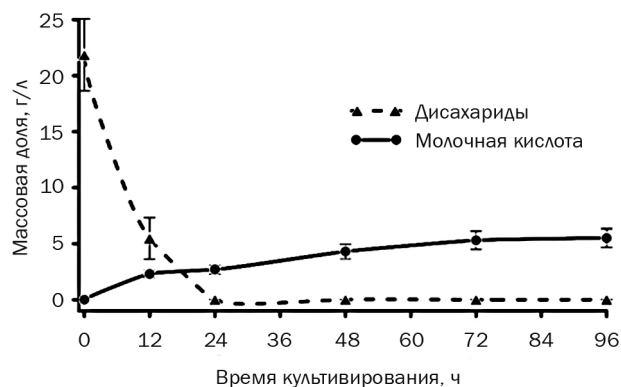


Рис. 2. Зависимость массовых концентраций дисахаридов и молочной кислоты от времени культивирования *Lactobacillus acidophilus* AT-I в условиях биореактора

Fig. 2. Dependence of mass concentrations of disaccharides and lactic acid on the cultivation time of *Lactobacillus acidophilus* AT-I under bioreactor conditions

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в представленной работе показана статистическая значимость зависимости степени конверсии обедненной свекловичной мелассы в молочную кислоту от концентраций субстрата и источника азота при культивировании *L. acidophilus* AT-I. С помощью построенной модели определены оптимальные значения концентраций мелассы *M* и дрожжевого экстракта *YE*. Установлено, что при ферментации обедненной мелассы *L. acidophilus* AT-I в анаэробных условиях в биореакторе образуется 5,5 г/л молочной кислоты (степень конверсии мелассы в лактат 8,7%, а углеводов мелассы в лактат – 25%).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ayivi R.D., Gyawali R., Krastanov A., Aljaloud S.O., Worku M., Tahergorabi R., et al. Lactic acid bacteria: food safety and human health applications // *Dairy*. 2020. Vol. 1, no. 3. P. 202–232. DOI: 10.3390/dairy1030015.
2. Rajeshkumar G., Seshadri S.A., Devnani G.L., Sanjay M.R., Siengchin S., Maran J.P., et al. Environment friendly, renewable and sustainable poly lactic acid (PLA) based natural fiber reinforced composites – a comprehensive review // *Journal of Cleaner Production*. 2021. Vol. 310. P. 127483. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.127483.
3. Juodeikiene G., Vidmantienė D., Basinskiene L., Cernauskas D., Bartkiene E., Cizeikiene D. Green metrics for sustainability of biobased lactic acid from starchy biomass vs chemical synthesis // *Catalysis Today*. 2015. Vol. 239. P. 11–16. DOI: 10.1016/j.cattod.2014.05.039.
4. Korcz E., Varga L. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: techno-functional application in the food industry // *Trends in Food Science & Technology*. 2021. Vol. 110. P. 375–384. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.02.014.
5. Macedo J.V.C., de Barros Ranke F.F., Escaramboni B., Campioni T.S., Fernández Núñez E.G., de Oliva Neto P. Cost-effective lactic acid production by fermentation of agro-industrial residues // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 27. P. 101706. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101706.
6. Tian X., Chen H., Liu H., Chen J. Recent advances in lactic acid production by lactic acid bacteria // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2021. Vol. 193. P. 4151–4171. DOI: 10.1007/s12010-021-03672-z.
7. Bhattacharyya S.K., Palit S.K., Das A.R. Catalytic synthesis of lactic acid from acetaldehyde, carbon monoxide, and water // *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development*. 1970. Vol. 9, no. 1. P. 92–95. DOI: 10.1021/i360033a018.
8. Abdel-Rahman M.A., Tashiro Y., Sonomoto K. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation

processes // *Biotechnology Advances*. 2013. Vol. 31, no. 6. P. 877–902. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.04.002.

9. Полянский К.К., Шуваева Г.П., Деменко Н.Д., Яковлев В.Ф. Производство молочной кислоты // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. 1997. N 1. С. 8–14. EDN: QAKEYZ.

10. Василюнец И.М., Гаджиев Э.А., Евелева В.В., Филимонова И.Н., Черпалова Т.М. Использование крахмало-содержащего сырья в производстве пищевой молочной кислоты // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. 1998. N 4. С. 60–62. EDN: QCPDRV.

11. Aso Y., Hashimoto A., Ohara H. Engineering *Lactococcus lactis* for D-lactic acid production from starch // *Current Microbiology*. 2019. Vol. 76, no. 10. P. 1186–1192. DOI: 10.1007/s00284-019-01742-4.

12. Abdel-Rahman M.A., Hassan S.E.-D., Alrefaey H.M.A., El-Belely E.F., Elsakhawy T., Fouda A., et al. Subsequent improvement of lactic acid production from beet molasses by *Enterococcus hirae* ds10 using different fermentation strategies // *Bioresource Technology Reports*. 2021. Vol. 13. P. 100617. DOI: 10.1016/j.biteb.2020.100617.

13. Wang Y., Deng W., Wang B., Zhang Q., Wan X., Tang Z., et al. Chemical synthesis of lactic acid from cellulose catalysed by lead (II) ions in water // *Nature Communications*. 2013. Vol. 4. P. 2141. DOI: 10.1038/ncomms3141.

14. Ahmad A., Banat F., Taher H. A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials: Recent developments and challenges // *Environmental Technology & Innovation*. 2020. Vol. 20. P. 101138. DOI: 10.1016/j.eti.2020.101138.

REFERENCES

1. Ayivi R.D., Gyawali R., Krastanov A., Aljaloud S.O., Worku M., Tahergorabi R., et al. Lactic acid bacteria: food safety and human health applications. *Dairy*. 2020;1(3):202–232. DOI: 10.3390/dairy1030015.

2. Rajeshkumar G., Seshadri S.A., Devnani G.L., Sanjay M.R., Siengchin S., Maran J.P., et al. Environment friendly, renewable and sustainable poly lactic acid (PLA) based natural fiber reinforced composites – a comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*. 2021;310:127483. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.127483.

3. Juodeikiene G., Vidmantienė D., Basinskiene L., Cernauskas D., Bartkiene E., Cizeikiene D. Green metrics for sustainability of biobased lactic acid from starchy biomass vs chemical synthesis. *Catalysis Today*. 2015;239:11–16. DOI: 10.1016/j.cattod.2014.05.039.

4. Korcz E., Varga L. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;110:375–384. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.02.014.

5. Macedo J.V.C., de Barros Ranke F.F., Escaramboni B., Campioni T.S., Fernández Núñez E.G., de Oliva Neto P. Cost-effective lactic acid production by fermentation of agro-industrial residues. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020;27:101706. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101706.

6. Tian X., Chen H., Liu H., Chen J. Recent advances in lactic acid production by lactic acid bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2021;193:4151–4171. DOI: 10.1007/s12010-021-03672-z.

7. Bhattacharyya S.K., Palit S.K., Das A.R. Catalytic synthesis of lactic acid from acetaldehyde, carbon monoxide, and water. *Industrial & Engineering Chemistry*

15. Palmonari A., Cavallini D., Sniffen C.J., Fernandes L., Holder P., Fagioli L., et al. Characterization of molasses chemical composition // *Journal of Dairy Science*. 2020. Vol. 103, no. 7. P. 6244–6249. DOI: 10.3168/jds.2019-17644.

16. Shipovskaya E.A., Eveleva V.V., Cherpalova T.M. Biosynthetic activity study of *Lactobacillus acidophilus* lactic acid bacteria in the lactose fermentation of whey // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2019. T. 9. N 4. С. 635–642. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-635-642. EDN: QJPYTD.

17. Manoochehri H., Fayazi N., Saidijam M., Taheri M., Rezaee H., Nouri F. A review on invertase: its potentials and applications // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 25. P. 101599. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101599.

18. De Ginés S.C., Maldonado M.C., de Valdez G.F. Purification and characterization of invertase from *Lactobacillus reuteri* CRL 1100 // *Current Microbiology*. 2000. Vol. 40, no. 3. P. 181–184. DOI: 10.1007/s002849910036.

19. Awad G.E., Amer H., El-Gammal E.W., Helmy W.A., Esawy M.A., Elnashar M.M. Production optimization of invertase by *Lactobacillus brevis* Mm-6 and its immobilization on alginate beads // *Carbohydrate Polymers*. 2013 Vol. 93, no 2. P. 740–746. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.12.039.

20. Liu J., Cheng J., Huang M., Shen C., Xu K., Xiao Y., et al. Identification of an invertase with high specific activity for raffinose hydrolysis and its application in soymilk treatment // *Frontiers in Microbiology*. 2021. Vol. 12. P. 646801. DOI: 10.3389/fmicb.2021.646801.

Product Research and Development. 1970;9(1):92–95. DOI: 10.1021/i360033a018.

8. Abdel-Rahman M.A., Tashiro Y., Sonomoto K. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology Advances*. 2013;31(6):877–902. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2013.04.002.

9. Polyanskii K.K., Shuvaeva G.P., Demenko N.D., Yakovlev V.F. Lactic acid production. *Izvestiya vyzov. Food Technology*. 1997;1:8–14. (In Russian). EDN: QAKEYZ.

10. Vasilinets I.M., Gadzhiev E.H.A., Eveleva V.V., Filimonova I.N., Cherpalova T.M. Use of starch-containing raw materials in the production of food lactic acid. *Izvestiya vyzov. Food Technology*. 1998;4:60–62. (In Russian). EDN: QAKEYZ.

11. Aso Y., Hashimoto A., Ohara H. Engineering *Lactococcus lactis* for D-lactic acid production from starch. *Current Microbiology*. 2019;76(10):1186–1192. DOI: 10.1007/s00284-019-01742-4.

12. Abdel-Rahman M.A., Hassan S.E.-D., Alrefaey H.M.A., El-Belely E.F., Elsakhawy T., Fouda A., et al. Subsequent improvement of lactic acid production from beet molasses by *Enterococcus hirae* ds10 using different fermentation strategies. *Bioresource Technology Reports*. 2021;13:100617. DOI: 10.1016/j.biteb.2020.100617.

13. Wang Y., Deng W., Wang B., Zhang Q., Wan X., Tang Z., et al. Chemical synthesis of lactic acid from cellulose catalysed by lead (II) ions in water. *Nature Communications*. 2013. Vol. 4. P. 2141. DOI: 10.1038/ncomms3141.

14. Ahmad A., Banat F., Taher H. A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials: Recent developments and challenges. *Environmental*

Technology & Innovation. 2020;20:101138. DOI: 10.1016/j.eti.2020.101138.

15. Palmonari A., Cavallini D., Sniffen C.J., Fernandes L., Holder P., Fagioli L., et al. Characterization of molasses chemical composition. *Journal of Dairy Science*. 2020;103(7):6244-6249. DOI: 10.3168/jds.2019-17644.

16. Shipovskaya E.A., Eveleva V.V., Cherpilova T.M. Biosynthetic activity study of *Lactobacillus acidophilus* lactic acid bacteria in the lactose fermentation of whey. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2019;9(4):635-642. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-4-635-642. EDN: QJPYTD.

17. Manoochehri H., Fayazi N., Saidijam M., Taheri M., Rezaee H., Nouri F. A review on invertase: its potentials and applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.

2020;25:101599. DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101599.

18. De Ginés S.C., Maldonado M.C., de Valdez G.F. Purification and characterization of invertase from *Lactobacillus reuteri* CRL 1100. *Current Microbiology*. 2000;40(3):181-184. DOI: 10.1007/s002849910036.

19. Awad G.E., Amer H., El-Gammal E.W., Helmy W.A., Esawy M.A., Elnashar M.M. Production optimization of invertase by *Lactobacillus brevis* Mm-6 and its immobilization on alginate beads. *Carbohydrate Polymers*. 2013;93(2):740-746. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.12.039.

20. Liu J., Cheng J., Huang M., Shen C., Xu K., Xiao Y., et al. Identification of an invertase with high specific activity for raffinose hydrolysis and its application in soymilk treatment. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:646801. DOI: 10.3389/fmicb.2021.646801.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Непомнящий Анатолий Павлович,

аспирант, младший научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55,
Российская Федерация,
✉ Nepomnyashiy.95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0088-2704>

Зубков Илья Николаевич,

лаборант-исследователь,
Всероссийский научно-исследовательский
институт пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55,
Российская Федерация,
zub-i@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6533-8139>

Сорокоумов Павел Николаевич,

аспирант, научный сотрудник,
Всероссийский научно-исследовательский
институт пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55,
Российская Федерация,
sorokoumov_pavel@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8767-3720>

Шарова Наталья Юрьевна,

д.т.н., профессор РАН,
заместитель директора по научной работе,
Всероссийский научно-исследовательский
институт пищевых добавок – филиал
Федерального научного центра пищевых
систем им. В.М. Горбатова РАН,
191014, г. Санкт-Петербург, Литейный пр., 55,
Российская Федерация,
natalya_sharova1@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4208-9299>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anatolii P. Nepomniashchii,

Postgraduate Student, Junior Researcher,
All-Russian Research Institute for Food Additives,
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center
for Food Systems, Russian Academy of Sciences,
55, Liteyny Ave., Saint Petersburg, 191014,
Russian Federation,
✉ Nepomnyashiy.95@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0088-2704>

Ilya N. Zubkov,

Laboratory Assistant,
All-Russian Research Institute for Food Additives,
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center
for Food Systems, Russian Academy of Sciences,
55, Liteyny Ave., Saint Petersburg, 191014,
Russian Federation,
zub-i@bk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6533-8139>

Pavel N. Sorokoumov,

Postgraduate Student, Researcher,
All-Russian Research Institute for Food Additives,
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center
for Food Systems, Russian Academy of Sciences,
55, Liteyny Ave., Saint Petersburg, 191014,
Russian Federation,
sorokoumov_pavel@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8767-3720>

Natalya Yu. Sharova,

Dr. Sci. (Engineering), Professor of the Russian
Academy of Sciences, Deputy Director for Research,
All-Russian Research Institute for Food Additives,
Branch of V.M. Gorbato Federal Research Center
for Food Systems, Russian Academy of Sciences,
55, Liteyny Ave., Saint Petersburg, 191014,
Russian Federation,
natalya_sharova1@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4208-9299>

Вклад авторов

А.П. Непомнящий – проведение исследования, написание черновика рукописи.
И.Н. Зубков – формальный анализ, редактирование рукописи.
П.Н. Сорокоумов – проведение исследования.
Н.Ю. Шарова – разработка концепции, научное руководство.

Contribution of the authors

Anatolii P. Nepomniashchii – investigation, writing – original draft.
Ilya N. Zubkov – formal analysis, editing.
Pavel N. Sorokoumov – investigation.
Natalya Yu. Sharova – conceptualization, supervision.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Информация о статье

Поступила в редакцию 03.04.2024.
Одобрена после рецензирования 15.06.2024.
Принята к публикации 31.05.2025.

Information about the article

The article was submitted 03.04.2024.
Approved after reviewing 15.06.2024.
Accepted for publication 31.05.2025.