

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СБРАЖИВАНИЯ ЛАКТОЗЫ
И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ, ГЛЮКОЗЫ И ГАЛАКТОЗЫ,
МЕЖШТАММОВЫМИ ГИБРИДАМИ МОЛОЧНЫХ ДРОЖЖЕЙ
Kluyveromyces lactis

© 2023 г. Л. В. Лютова¹, Е. С. Наумова¹, *

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный исследовательский центр
“Курчатовский институт” “Курчатовский комплекс генетических исследований”, Москва, 123098 Россия

*e-mail: lena_naumova@yahoo.com

Поступила в редакцию 23.11.22 г.

После доработки 19.01.23 г.

Принята к публикации 20.01.23 г.

С помощью ферментационного теста и ВЭЖХ анализа изучена динамика ферментации лактозы, глюкозы и галактозы и образования этилового спирта молочными дрожжами *Kluyveromyces marxianus*, *K. lactis* и межштаммовыми гибридами. Наибольшей ферментационной активностью обладали гибриды *K. lactis* Н1-2 (NRRL Y-1118 × NRRL Y-1140) и Н3-1 (NRRL Y-1140 × ВКМ Y-1333) и штамм *K. marxianus* ВКМ Y-1337. Показано, что межштаммовая гибридизация является перспективным методом создания молочных штаммов *Kluyveromyces*, активно ферментирующих лактозу.

Ключевые слова: молочные дрожжи *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus*, межштаммовая гибридизация, ферментация лактозы, глюкозы и галактозы, ВЭЖХ анализ

DOI: 10.56304/S0234275823010064

Молочные дрожжи *Kluyveromyces lactis* и *K. marxianus* являются естественным компонентом различных молочных продуктов: молоко, кефир, простокваша, творог, сметана, варенец, ряженка и др. Содержание лактозы в сыром молоке и молочных продуктах зависит от типа использованного молока (коровье, козье, овечье, кобылье, верблюжье, буйволиное) и конкретного молочного продукта и варьирует от 3 до 6.8% [1–3]. Меньше всего лактозы в верблюжьем (3.3–4.8%), коровьем (3.7–5.1%), козьем и овечьем (3.7–4.8%) молоке, а наибольшее количество в кобыльем (5.5–6.7%) и буйволином (6.8%) [2, 4–6].

У дрожжей *K. lactis* и *K. marxianus* способность ферментировать лактозу контролируется сложным локусом *LAC*, состоящим из двух тесно сцепленных структурных генов *LAC4* (ген β-галактозидазы) и *LAC12* (ген пермеазы – транспортера лактозы), а также регуляторной последовательности [7, 8]. Эти дрожжи продуцируют внутриклеточную β-галактозидазу (лактазу), расщепляя дисахарид лактозу на глюкозу и галактозу. Транспорт молочного сахара в клетку осуществляется с помощью транспортного белка пермеазы лактозы. У молочных штаммов *K. lactis* обнаружено три локуса *LAC* различной хромосомной локализа-

ции: *LAC1* (хр. III), *LAC2* (хр. II) и *LAC3* (хр. IV) [9, 10]. Большинство штаммов обладают только одним из указанных локусов, у единичных штаммов имеется по два локуса: *LAC1/LAC2* и *LAC1/LAC3*.

Фермент β-галактозидаза (КФ 3.2.1.23) широко используется в пищевой промышленности для производства различных молочных продуктов, а также для микробиологической переработки отходов молочного производства (молочной сыворотки) [11–13]. В мире растет популярность молочных продуктов с пониженным содержанием лактозы или ее полным отсутствием. Использование таких продуктов важно для людей с лактазной недостаточностью, при которой усиливается рост и жизнедеятельность вредной микрофлоры, что приводит к кишечным расстройствам и газообразованию [14]. В России частота непереносимости лактозы составляет 16–30% населения [15]. Дрожжи *K. lactis* и *K. marxianus* безопасны для человека и, обладая пробиотическими свойствами, могут применяться для функционального питания. Потребление кисломолочных продуктов, содержащих пробиотические микроорганизмы (бактерии *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и молочные дрожжи *Kluyveromyces*), подавляет развитие патогенной микрофлоры и стимулирует иммунные механизмы

Таблица 1. Происхождение используемых в работе штаммов *Kluyveromyces lactis* и *Kluyveromyces marxianus*
Table 1. *Kluyveromyces lactis* and *Kluyveromyces marxianus* strains used and their origin

Штамм	Источник	Место выделения
<i>Kluyveromyces lactis</i>		
NRRL Y-1118	Сливки	США
NRRL Y-1140	Сливки	США
ВКМ Y-1333	Кислое молоко	Ставропольский край, Россия
ВКМ Y-1339	Сметана	Санкт-Петербург, Россия
<i>Kluyveromyces marxianus</i>		
ВКМ Y-126	Кислое молоко	Россия
ВКМ Y-453	Мацун	Армения
ВКМ Y-459	Творог	Елец, Россия
ВКМ Y-460	Творог	Елец, Россия
ВКМ Y-464	Варенец	Россия
ВКМ Y-1335	Молоко	Карачаево-Черкессия, Россия
ВКМ Y-1337	Простокваша	Пятигорск, Россия
CBS 397	Йогурт	Нидерланды

Примечание. ВКМ – Всероссийская коллекция микроорганизмов, Пушкино, Москва; ВКПМ – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов, Москва, Россия; CBS – The Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Утрехт, Нидерланды; NRRL – USDA-ARS Culture Collection, National Center for Agricultural Utilization Research, Пеория, США.

Note. Acronyms for culture collections are as follows: VKM – All-Russian collection of microorganisms, Pushchino, Moscow; VKPM – All-Russian Collection of Industrial Microorganisms, Moscow; CBS – the Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands; NRRL – USDA-ARS Culture Collection, National Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, USA.

слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [16]. В этой связи актуальным является создание производственных штаммов дрожжей *Kluyveromyces*, способных быстро и наиболее полно ферментировать лактозу.

Ранее мы провели сравнительный анализ скорости сбраживания 2%-ной лактозы у 45 молочных штаммов *Kluyveromyces*, в основном отечественного происхождения [17, 18]. Скорость сбраживания лактозы определяли по количеству выделяемого углекислого газа весовым методом. На основании ферментационных тестов было отобрано 8 штаммов *K. marxianus* и 4 штамма *K. lactis*, которые наиболее активно ферментировали лактозу. С участием штаммов *K. lactis*, было получено 11 гибридов, 6 из которых обладали высокой лактозосбраживающей

активностью [17]. Данная работа является продолжением указанных исследований.

Цель работы – изучение с помощью ВЭЖХ анализа динамики утилизации лактозы, глюкозы и галактозы и образования этилового спирта межштаммовыми гибридами *K. lactis*, родительскими культурами и ранее отобранными штаммами *K. marxianus*.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Штаммы и их культивирование

Изученные штаммы *K. lactis*, *K. marxianus* и межштаммовые гибриды приведены, соответственно, в табл. 1 и 2.

Таблица 2. Происхождение гибридов при скрещивании штаммов *K. lactis* NRRL Y-1118, NRRL Y-1140, ВКМ Y-1333 и ВКМ Y-1339**Table 2.** Origin of hybrids between strains of *K. lactis* NRRL Y-1118, NRRL Y-1140, ВКМ Y-1333 and ВКМ Y-1339

Гибрид	Происхождение гибридов	Генотип
H1-2	Y-1118 × Y-1140	<i>MATα lys HIS LAC1 lac2/MATα LYS his lac1 LAC2</i>
H2-2	Y-1118 × Y-1333	<i>MATα lys MET9 LAC1 lac3/LYS met9 lac1 LAC3</i>
H2-3	Y-1118 × Y-1333	<i>MATα lys MET9 LAC1 lac3/LYS met9 lac1 LAC3</i>
H3-1	Y-1140 × Y-1333	<i>MATα his MET9 LAC2 lac3/HIS met9 lac2 LAC3</i>
H3-3	Y-1140 × Y-1333	<i>MATα his MET9 LAC2 lac3/HIS met9 lac2 LAC3</i>
H4-1	Y-1118 × Y-1339	<i>MATα lys MET5 LAC1 lac3/MATα LYS met5 lac1 LAC3</i>

Получение межштаммовых гибридов *K. lactis* описано в работе [17]. Дрожжи выращивали при 28°C на полной среде YPD (г/л): бакто-агар фирмы Difco (США) – 20; глюкоза фирмы “Реахим” (Россия) – 20; дрожжевой экстракт Difco – 10; бакто-пептон Difco – 20. Состав жидкой среды YP тот же, что и среды YPD, но без агара.

Ферментация лактозы

Скорость сбраживания лактозы устанавливали по количеству выделяемого углекислого газа. Опыты проводили в двух повторах. В пробирки с 5 мл YP среды засевали биомассу дрожжей на кончике микробиологической петли и инкубировали в течение 48 ч при 28°C. Затем инокулят в концентрации 10⁶ клеток/мл засевали в колбы со 100 мл стерильной среды YP, содержащей 10%-ную лактозу. Ферментацию проводили при 28°C в течение 72 ч без встряхивания. Колбы взвешивали через каждые 24 ч и определяли количество выделившегося углекислого газа (CO₂) по изменению веса колб. В качестве контроля использовали колбы со 100 мл YP среды без инокулята.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

Условия культивирования дрожжей были такими же, как в опытах по ферментации 10%-ной лактозы. Для каждого штамма инокулят в концентрации 10⁶ клеток/мл засевали в колбы с 40 мл стерильной среды YP, содержащей 10%-ную лактозу, глюкозу или галактозу. Через 8, 24, 32, 48, 56 и 72 ч отбирали по 500 мкл каждого образца. Центрифугировали при 10000 g 5 мин (Эппендорф, Германия) и надосадочную жидкость переносили

в стерильные пробирки. Принимая во внимание высокое содержание лактозы, глюкозы и галактозы в YP среде на первых этапах ферментации (8, 24 и 32 ч), образцы разводили в 40 раз с помощью стерильной дистиллированной воды. Остальные образцы разводили в 20 раз. Для анализа скорости накопления спирта в среде отбирали по 200 мкл надосадочной жидкости без разбавления. Анализ проводили на жидкостном хроматографе HPLC-система Waters Alliance E2695 (США) с использованием колонок YMC-Pack Polyamine II, 12 нм, 5 мкм, 250 × 4.6 мм (для лактозы и галактозы) и ROA-Organic Acid H+ (8%), LC Column 300 × 7.8 mm (для глюкозы и этанола). Последующую обработку результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Объектом исследования служили ранее отобранные нами штаммы *K. marxianus* (ВКМ Y-126, ВКМ Y-453, ВКМ Y-459, ВКМ Y-460, ВКМ Y-464, ВКМ Y-1335, ВКМ Y-1337, CBS 397), *K. lactis* (ВКМ Y-1339, ВКМ Y-1333, NRRL Y-1118, NRRL Y-1140) и межштаммовые гибриды Y-1118 × Y-1140 (H1-2), Y-1118 × Y-1333 (H2-2, H2-3), Y-1140 × Y-1333 (H3-1, H3-3), Y-1118 × Y-1339 (H4-1) [17, 18].

Ферментация 10%-ной лактозы

Процесс утилизации лактозы у дрожжей *Kluyveromyces* начинается с работы фермента пермеазы (LAC12), который осуществляет транспорт дисахарида внутрь клетки. Внутриклеточный фермент β-галактозидаза (LAC4) гидролизует лактозу до моносахаридов глюкозы и галактозы (рис. 1).

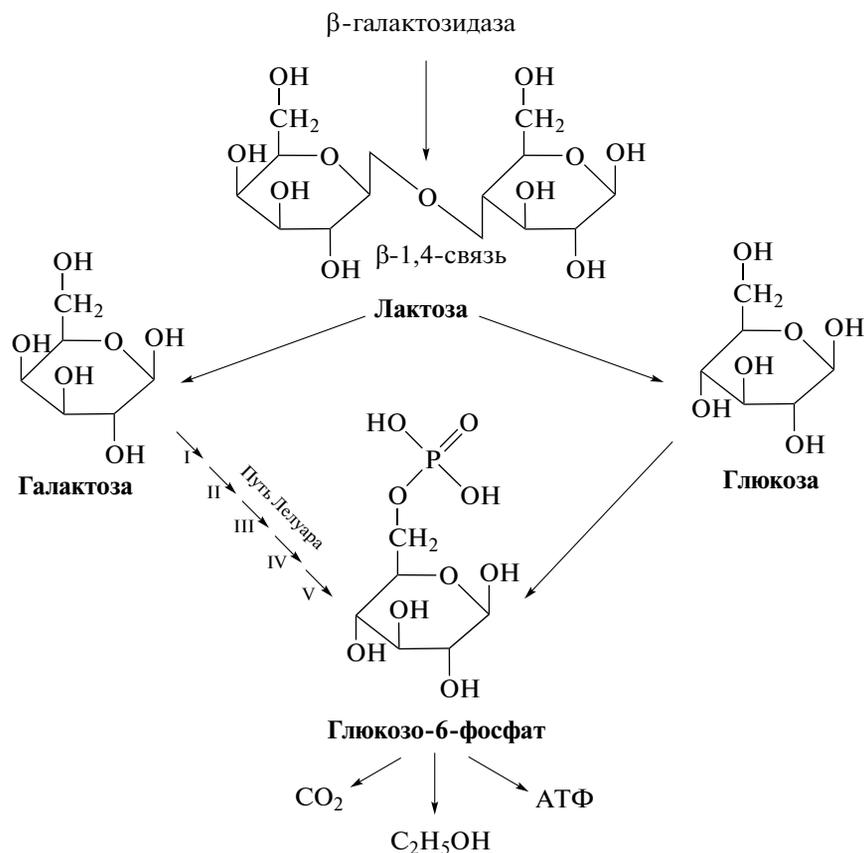


Рис. 1. Схема утилизации дисахарида лактозы дрожжами *Kluyveromyces*. Ферменты метаболического пути Лелуара: I – муторотаза; II – галактокиназа; III – галактозо-1-фосфат уридилтрансфераза; IV – UDP-галактозо-4-эпимераза; V – фосфоглюкомутаза.

Fig. 1. Scheme of lactose disaccharide utilization by *Kluyveromyces* yeasts. Enzymes of the Leloir metabolic pathway: I – mutarotase; II – galactokinase; III – galactose-1-phosphate uridylyltransferase; IV – UDP-galactose-4-epimerase; V – phosphoglucomutase.

Затем глюкоза в цепи последовательных ферментативных реакций преобразуется в этиловый спирт, с высвобождением CO₂ и АТФ. В процессе брожения галактоза сначала преобразуется в глюкозо-6-фосфат через метаболический путь Лелуара, проходя пять последовательных этапов ферментативных преобразований (рис. 1).

Как отмечалось выше, содержание лактозы в молочных продуктах в значительной степени зависит от типа молока и конкретного молочного продукта и варьирует от 3 до 6,8%. Принимая это во внимание, сначала мы сравнили изученные штаммы по интенсивности сбраживания 10%-ной лактозы (рис. 2).

Через 72 ч наиболее интенсивное брожение отмечено у гибридов Н1-2, Н3-1, Н3-3 и Н4-1, которые по этому показателю значительно превосходили родительские штаммы *K. lactis* (рис. 2a). Из 8 изученных штаммов *K. marxianus* наиболее интенсивно сбраживали 10%-ную лактозу ВКМ Y-1337, ВКМ Y-1335, ВКМ Y-460, ВКМ Y-126 и CBS 397 (рис. 2b). Указанные штаммы *K. marxianus* и гибриды были отобраны для ВЭЖХ анализа. В анализ были также включены родительские штаммы *K. lactis*.

Динамика сбраживания лактозы и образования этилового спирта

На рис. 3 представлена рассчитанная на основании данных ВЭЖХ анализа динамика сбражи-

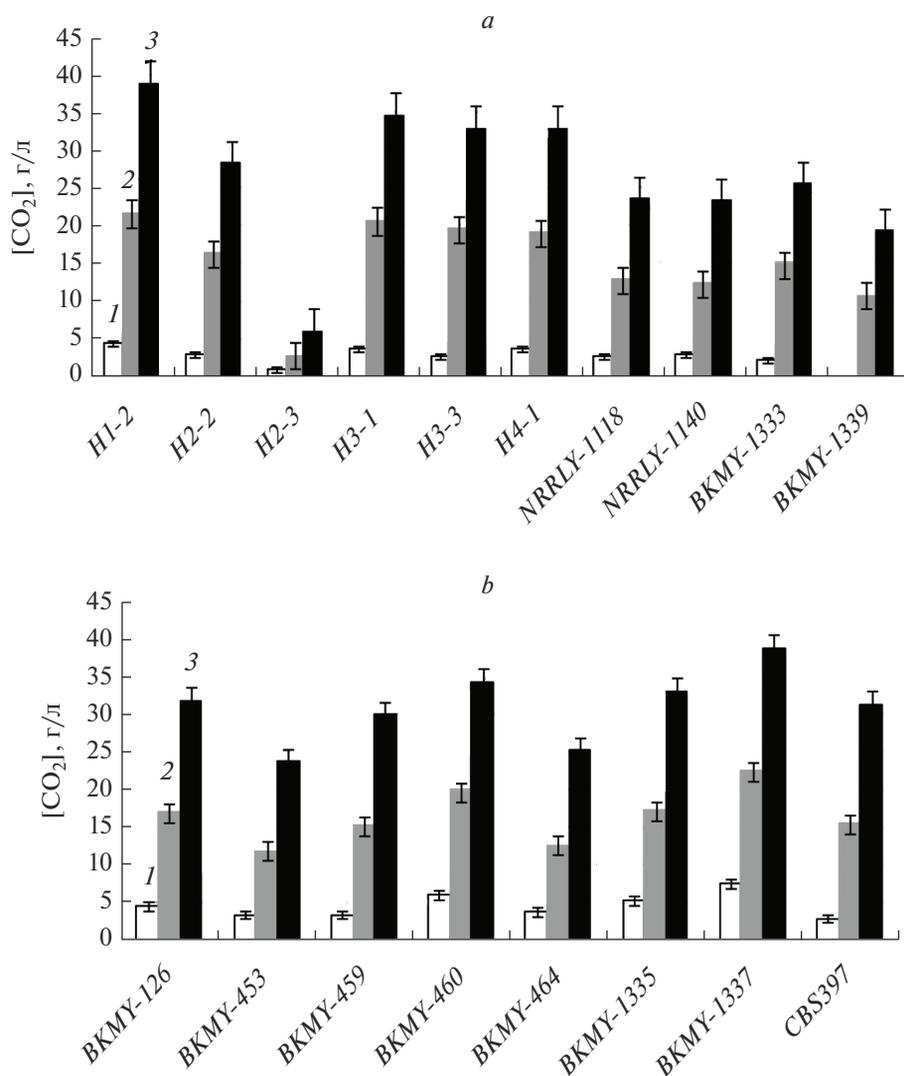


Рис. 2. Эффективность ферментации лактозы штаммами *K. lactis*, межштаммовыми гибридами (а) и дрожжами *K. marxianus* (b). Скорость сбраживания 10%-ного раствора лактозы определяли по количеству углекислого газа, выделяемого через 24 (1), 48 (2) и 72 (3) ч весовым методом.

Fig. 2. The efficiency of lactose fermentation of *K. lactis*, inter-strain hybrids (a) and *K. marxianus* (b). The rate of fermentation of 10% solution of lactose was determined by carbon dioxide released after 24 (1), 48 (2) and 72 (3) h by weight method.

вания лактозы отобранными штаммами, включая 4 гибрида и родительские штаммы *K. lactis*. Штаммы ВКМ Y-1333, ВКМ Y-1339, NRRL Y-1118 и NRRL Y-1140 быстрее утилизировали лактозу, чем гибриды (рис. 3a). По истечении 72 ч штаммы NRRL Y-1118 и ВКМ Y-1333 полностью гидролизировали лактозу. Среди гибридов наиболее быстро утилизировал лактозу штамм H1-2, который также наиболее интенсивно сбраживал 10%-ную лактозу

в колбах (рис. 2a и 3a). Изученные дрожжи *K. marxianus* утилизировали молочный сахар значительно быстрее, чем штаммы *K. lactis*: через 72 ч все штаммы *K. marxianus* полностью гидролизировали всю лактозу в среде (рис. 3c). Следует отметить, что штаммы ВКМ Y-460, ВКМ Y-1337 и CBS 397 полностью сбродили лактозу уже через 56 ч.

Согласно ВЭЖХ анализу, изученные штаммы существенно различаются по динамике образова-

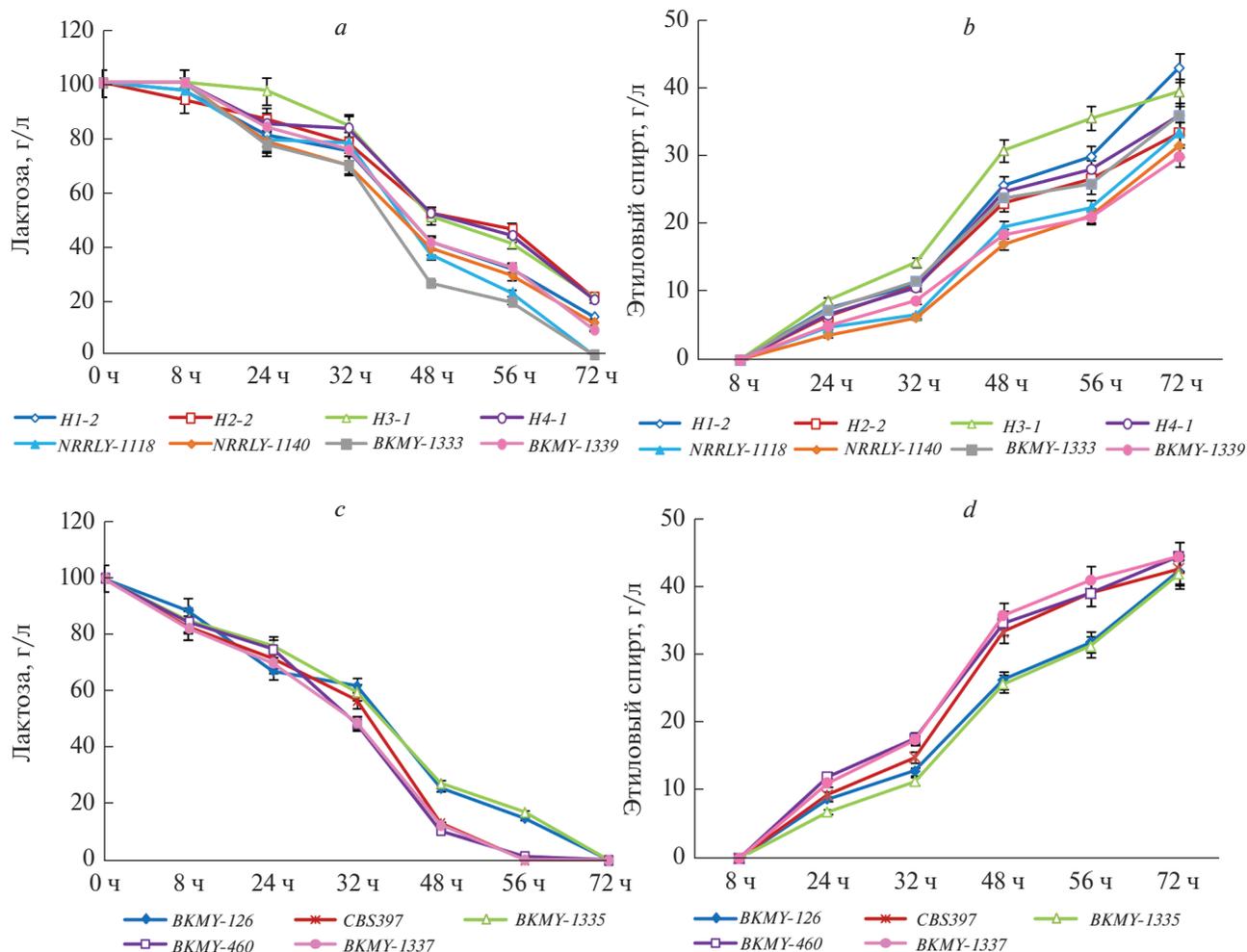


Рис. 3. Рассчитанная на основании данных ВЭЖХ динамика сбраживания 10%-ного раствора лактозы и образования этилового спирта штаммами *K. lactis*, межштаммовыми гибридами (a, b) и дрожжами *K. marxianus* (c, d) через 8, 24, 32, 48, 56 и 72 ч.

Fig. 3. The dynamics of fermentation of 10% solution of lactose and the formation of ethyl alcohol by *K. lactis* strains, inter-strain hybrids (a, b), and *K. marxianus* (c, d), calculated on the basis of HPLC analysis data after 8, 24, 32, 48, 56 and 72 h.

ния этанола при ферментации лактозы (рис. 3b и 3d). Все 4 гибрида образовали больше спирта, чем родительские штаммы *K. lactis* (рис. 3b). Наиболее высокие показатели выявлены у гибридов H1-2 и H3-1: 43.2 и 39.6 г/л спирта через 72 ч ферментации лактозы. За это же время, родительские штаммы образовывали менее 37 г/л. В целом, штаммы *K. marxianus* характеризовались более высокими показателями выхода спирта: >40 г/л (рис. 3d). Наиболее интенсивно образовывали спирт штаммы CBS 397, ВКМ Y-1337 и ВКМ Y-460: 42.18, 43.89 и 43.95 г/л через 72 ч ферментации.

Динамика сбраживания глюкозы и галактозы

Для ВЭЖХ анализа были отобраны штаммы, которые наиболее интенсивно сбраживали лактозу и образовывали наибольшее количество спирта: *K. marxianus* (ВКМ Y-1337, CBS 397), гибриды H1-2 и H3-1, а также родительские штаммы *K. lactis* (NRRL Y-1118, NRRL Y-1140, ВКМ Y-1333). Через 72 ч полностью ферментировали глюкозу *K. marxianus* ВКМ Y-1337, *K. lactis* NRRL Y-1118 и оба гибрида (рис. 4a). Наилучшая динамика расщепления глюкозы отмечена у гибрида H3-1. При сбраживании глюкозы наибольший выход спирта зафик-

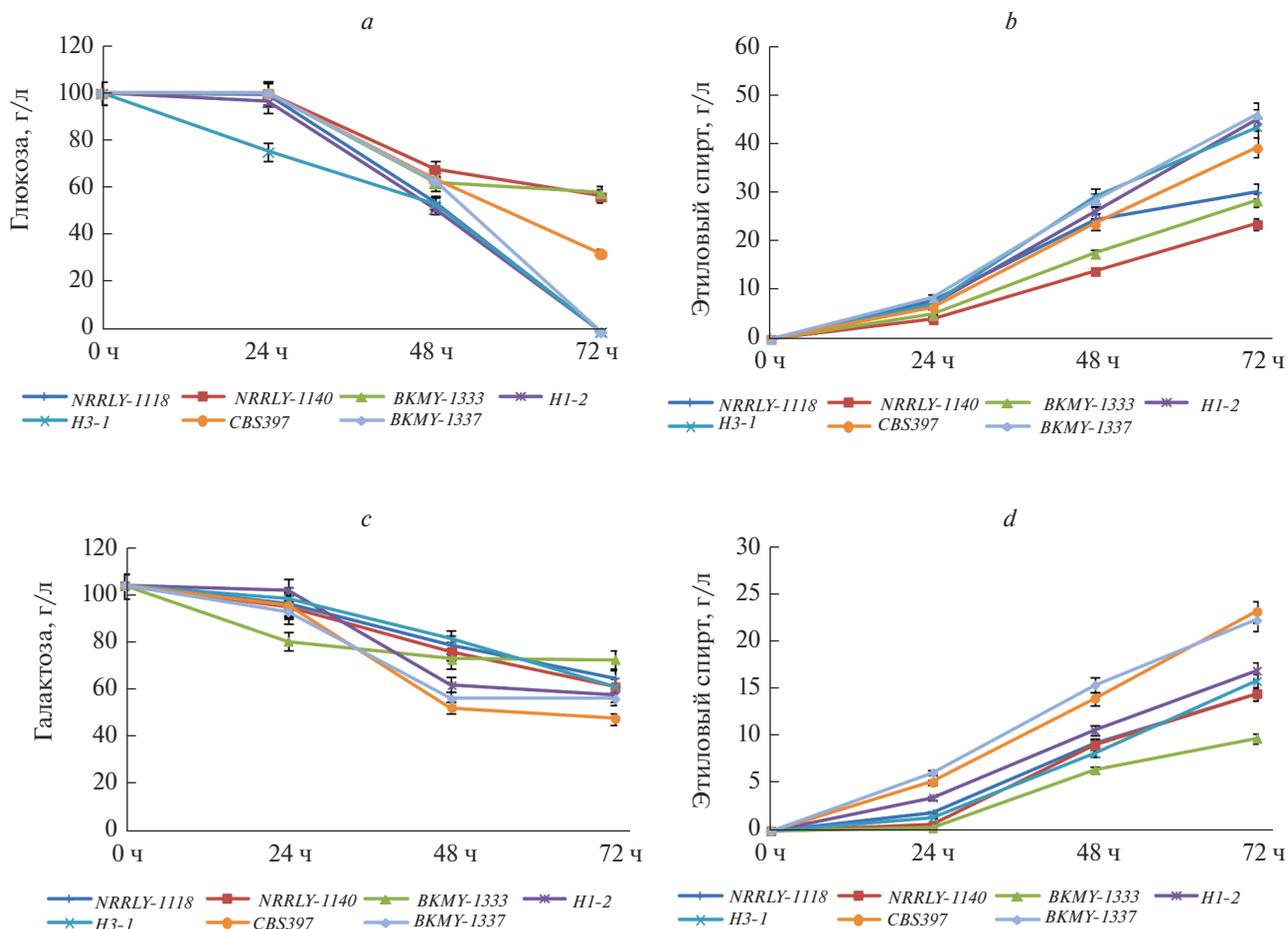


Рис. 4. Рассчитанная на основании данных ВЭЖХ анализа динамика сбраживания 10%-ных растворов глюкозы и галактозы (a и c), а также образования этилового спирта (b, d) штаммами *K. lactis*, межштаммовыми гибридами и дрожжами *K. marxianus* через 8, 24, 32, 48, 56 и 72 ч.

Fig. 4. The dynamics of fermentation of 10% solutions of glucose and galactose (a and c), as well as the formation of ethyl alcohol (b, d) by *K. lactis* strains, inter-strain hybrids, and *K. marxianus*, calculated on the basis of HPLC analysis data after 8, 24, 32, 48, 56 and 72 h.

сирован у гибридов Н1-2 (44.8 г/л), Н3-1 (43.4 г/л) и *K. marxianus* ВКМ Y-1337 (46 г/л) (рис. 4b).

Несколько другая картина наблюдалась при сбраживании галактозы (рис. 4c и 4d). Изученные штаммы характеризовались достаточно низкой скоростью процесса и через 72 ч утилизировали не более 50% сахара в ферментационной среде. Дрожжи *Kluyveromyces* могут утилизировать галактозу в качестве единственного источника углерода, однако, как и большинство микроорганизмов, предпочитают глюкозу как наиболее энергоэффективный сахар [19]. Наиболее эффективно сбраживал галактозу штамм *K. marxianus* CBS 397,

который также характеризовался наибольшим выходом спирта: 23 г/л. Остальные штаммы образовывали менее 22.1 г/л спирта (рис. 4d). Следует отметить, что гибриды Н1-2 и Н3-1 сбраживали галактозу и образовывали спирт более эффективно, чем родительские штаммы NRRL Y-1118, NRRL Y-1140 и ВКМ Y-1333.

В целом, изученные штаммы *K. marxianus* превосходили *K. lactis* по скорости ферментации 10%-ных растворов лактозы, глюкозы и галактозы и динамике накопления спирта. В то же время, два межштаммовых гибрида, Н1-2 (NRRL Y-1118 × NRRL Y-1140) и Н3-1 (NRRL Y-1140 × ВКМ

У-1333), практически не уступали дрожжам *K. marxianus* по большинству показателей, а по динамике сбраживания глюкозы превосходили их. Таким образом, межштаммовая гибридизация является перспективным методом создания молочных штаммов *Kluyveromyces*, активно ферментирующих лактозу.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Тематического плана НИЦ “Курчатовский институт”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Malacarne M., Martuzzi F., Summer A., Mariani P.* Protein and fat composition of mare's milk: Some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *Int. Dairy J.*, 2002, 12(11), 869–877. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00120-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00120-6)
2. *Al Haj O.A., Al Kanhal H.A.* Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *Int. Dairy J.*, 2010, 20(12), 811–821. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.04.003>
3. *Оноприйко А.В., Оноприйко В.А., Маслий Е.А.* Молочная лестница. *Пищевая промышленность*, 2011, 3, 8–9.
4. *Scrimshaw N.S., Murray E.B.* Lactose content of milk and milk products. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998, 48, 1099–1104.
5. *Iannotti L., Muehlhoff E., McMahon D.* Review of milk and dairy programmes affecting nutrition. *J. Dev. Effect.*, 2013, 5(1), 82–115. <https://doi.org/10.1080/19439342.2012.758165>
6. *Kula J.T., Tegegne D.* Chemical composition and medicinal values of camel milk. *Int. J. Res. Stud. Biosci.*, 2016, 4(4), 13–25. <https://doi.org/10.20431/2349-0365.0404002>
7. *Dickson R.C., Riley M.I.* The lactose-galactose regulon of *Kluyveromyces lactis*. In: *Yeast Genetic Engineering*. Eds *Barr P.J., Brake A.J., Valenzuela P.* Boston: Butterworth Publ., 1989, 19–40.
8. *Varela J.A., Puricelli M., Ortiz-Merino R.A., Giacomono R., Braun-Galleani S., Wolfe K.H., Morrissey J.P.* Origin of lactose fermentation in *Kluyveromyces lactis* by interspecies transfer of a neofunctionalized gene cluster during domestication. *Curr. Biol.*, 2019, 29, 4284–4290. <https://doi.org/10.2139/ssrn.3441908>
9. *Наумов Г.И., Наумова Е.С.* Полимерные гены ферментации лактозы у дрожжей *Kluyveromyces lactis*: новый локус *LAC3*. *ДАН*, 2014, 455(3), 363–365. <https://doi.org/10.7868/S0869565214090291>
10. *Лютлова Л.В., Наумов Г.И., Шнырева А.В., Наумова Е.С.* Молекулярный полиморфизм β -галактозидазных генов *LAC4* у молочных и природных штаммов дрожжей *Kluyveromyces*. *Молекулярная биология*, 2021, 55(1), 75–85. <https://doi.org/10.31857/S0026898421010109>
11. *Husain Q.* β Galactosidases and their potential applications: a review. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2010, 30(1), 41–62. <https://doi.org/10.3109/07388550903330497>
12. *Anisha G.S.* β -Galactosidases. In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Eds *A. Pandey, N. Negi, C.R. Soccol.* Amsterdam: Elsevier, 2017, 395–421. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63662-1.00017-8>
13. *Pendón M.D., Madeira J.V.Jr., Romanin D.E., Rumbo M., Gombert A.K., Garrote G.L.* A biorefinery concept for the production of fuel ethanol, probiotic yeast, and whey protein from a by-product of the cheese industry. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2021, 105(9), 3859–3871. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11278-y>
14. *Bayless T.M., Brown E., Paige D.M.* Lactase Non-persistence and Lactose Intolerance. *Curr. Gastroenterol. Rep.*, 2017, 19(5), 23. <https://doi.org/10.1007/s11894-017-0558-9>
15. *Khabarova Y., Torniaainen S., Nurmi H., Järvelä I., Isokoski M., Mattila K.* Prevalence of lactase persistent/non-persistent genotypes and milk consumption in a young population in north-west Russia. *World J. Gastroenterol.*, 2009, 15(15), 1849–1853. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.1849>
16. *Romanin D.E., Llopis S., Genovés S., Martorell P., Ramón V.D., Garrote G.L., Rumbo M.I.* Probiotic yeast *Kluyveromyces marxianus* CIDCA 8154 shows anti-inflammatory and anti-oxidative stress properties in vivo models. *Benef. Microbes*. 2016, 7(4), 83–93. <https://doi.org/10.3920/BM2015.0066>
17. *Лютлова Л.В., Наумова Е.С.* Межштаммовая гибридизация дрожжей *Kluyveromyces lactis* для создания штаммов, активно сбраживающих лактозу. *Биотехнология*, 2021, 37(4), 41–48. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2021-37-4-43-50>
18. *Наумова Е.С., Садыкова А.Ж., Михайлова Ю.В., Наумов Г.И.* Полиморфизм лактозных генов молочных дрожжей *Kluyveromyces marxianus*, потенциальных пробиотических микроорганизмов. *Микробиология*. 2017, 86(3), 335–343. <https://doi.org/10.7868/S0026365617030144>
19. *Vinuselvi P., Kim M.K., Lee S.K., Ghim C.M.* Rewiring carbon catabolite repression for microbial cell factory. *BMB Rep.*, 2012, 45(2), 59–70. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2012.45.2.59>

Comparative Analysis of Fermentation of Lactose and Its Components, Glucose and Galactose, by Interstrain Hybrids of Dairy Yeast *Kluyveromyces lactis*

L. V. Lyutova^a, and E. S. Naumova^{a, #}

^a*Kurchatov Complex for Genetic Research, Kurchatov Institute National Research Center, Moscow, 123098 Russia*

[#]*e-mail: lena_naumova@yahoo.com*

Abstract—Using the fermentation and HPLC methods, we have studied the dynamics of lactose, glucose, and galactose fermentation and the formation of ethyl alcohol by dairy yeasts *Kluyveromyces marxianus*, *K. lactis* and interstrain hybrids. Hybrids of *K. lactis* H1-2 (NRRL Y-1118 × NRRL Y-1140) and H3-1 (NRRL Y-1140 × VKM Y-1333), as well as *K. marxianus* VKM Y-1337 showed the highest fermentation activity. Interstrain hybridization was proven to be a promising method for creating dairy strains of *Kluyveromyces* that actively ferment lactose.

Keywords: *Kluyveromyces lactis* dairy yeasts, *K. marxianus*, inter-strain hybridization, fermentation of lactose, glucose and galactose, HPLC