

*Н.К. Жабанос<sup>1</sup>, Л.Л. Богданова<sup>1</sup>, Н.Н. Фурик<sup>1</sup>, О.В. Шуляковская<sup>2</sup>*  
*<sup>1</sup>РУП «Институт мясо-молочной промышленности»*  
*<sup>2</sup>ГУ РНПЦ гигиены*

## **РАЗРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ СНИЖЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МОЛОЧНОГО САХАРА ДЛЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ПОНИЖЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЛАКТОЗЫ**

*Рассмотрены аспекты лактазной недостаточности у людей различных возрастных групп и возможность использования в рационах питания специализированных молочных продуктов со сниженным содержанием лактозы. В статье приведены результаты исследований гидролиза лактозы молока с использованием различных ферментных препаратов. Обоснованы параметры проведения процесса гидролиза для получения специализированных молочных продуктов со сниженным содержанием лактозы.*

### **Введение**

Молоко и молочные продукты являются привычной и важной частью питания современного человека. В Республике Беларусь сегодня потребляется около 100 л молока на душу населения. Лактоза является главным углеводом молока, ее содержание колеблется от 4,5 до 5,2 %. Это намного больше той концентрации, которую могут переносить люди, страдающие лактазной недостаточностью.

Под лактазной недостаточностью понимают сниженную активность кишечной лактазы – фермента пристеночного пищеварения, расщепляющего лактозу до глюкозы и галактозы.

В случае отсутствия или недостаточной концентрации лактазы нерасщепленная лактоза, обладая высокой осмотической активностью, задерживает воду в просвете кишечника, увеличивая объем кишечного содержимого. В нижних отделах тонкого и в толстом кишечнике происходит ее сбраживание кишечной микрофлорой с образованием большого количества газообразного водорода и органических кислот, рН кишечного содержимого смещается в кислую сторону, что приводит к значительному усилению перистальтики. Увеличение кишечного содержимого, большой объем газов и усиленная перистальтика вызывают развитие так называемой бродильной диареи, сопровождающейся болями в животе [2, 3]. Непереносимость лактозы до настоящего времени считалась преимущественно заболеванием грудных детей, поэтому ассортимент низколактозных молочных продуктов был в основном представлен низколактозными или безлактозными смесями для детского питания [5].

Большинство людей рождаются с нормальной активностью лактазы. Потом ее активность лактазы снижается в большей или меньшей степени, также она может изменяться с возрастом или из-за болезней, соответственно способность усваивать лактозу уменьшается. Установлено, что способность людей усваивать лактозу определяется генетически и даже в большей степени этнически. Частота лактазной недостаточности в Швеции составляет 3 %, в Англии – 22–30 %, в США среди белых – 6 %, негров – 73 %, в Африке и Средней Азии – до 100 %, в Литве – 37 %. Дефицит лактазы в России встречается в 10–75 % случаев в зависимости от национальности популяции. Распространенность лактазной недостаточности в Республике Беларусь до 18 % [5].

Лечение лактазной недостаточности начинается с диеты. Диетотерапия включает в себя исключение натурального молока и молочных продуктов и употребление низко- и безлактозных. Полноценно заменить молоко другими молочными продуктами (сметаной, творогом) не всегда возможно из-за высокого содержания в них жира и вкусовых пристрастий. Рацион людей с лактазной недостаточностью должен включать продукты, сочетающие в себе полезность и биологическую ценность молока и не содержащие или содержащие лактозу в небольших количествах. В большинстве случаев у больных с вторичной лактазной недостаточностью дефицит лактазы носит характер гиполактазии. Полное исключение лактозы из рациона этих больных нецелесообразно, так как лактоза необходима для стимуляции роста нормальной флоры толстого кишечника, синтеза витаминов группы В и галактозы, которая участвует в формировании галактоцереброзидов головного мозга [5]. Поэтому изменения в диете необходимо начинать с низколактозного молока.

Производителей низколактозных продуктов в мире не так много: финская компания «Valio», которая представляет на рынке широкий спектр продуктов с пониженным содержанием лактозы под торговой маркой «HYLA», германская компания «Breisgau milk». В США выпускается молоко, не содержащее лактозу, «Lactaid 100». Некоторое время занимались низколактозным молоком и сотрудники российской компании «Вимм-Билль-Данн». Поэтому разработанные продукты со сниженным содержанием лактозы будут иметь также экспортный потенциал.

Разработка ассортимента специализированных молочных продуктов с пониженным содержанием лактозы позволит расширить спектр молочных продуктов для людей различных возрастных групп с лактазной недостаточностью различной этиологии.

#### **Объекты исследования**

Объектами исследования являлись режимные параметры процесса ферментного гидролиза молока ферментными препаратами  $\beta$ -галактозидазы, молочные продукты с пониженным содержанием лактозы.

## **Основные методы исследования**

Для качественного и количественного определения сахаров современная аналитическая химия располагает целым рядом методов. Эти методы основаны на химических реакциях углеводов с образованием окрашенных соединений, на физических и физико-химических свойствах углеводов, а также на биохимических реакциях [7]. Для определения углеводов методом ВЭЖХ используют целый ряд детекторов. Но в рутинных анализах продуктов питания наибольшее применение получил рефрактометрический детектор. В качестве подвижной фазы при рефрактометрическом детектировании используют воду, ацетонитрил-водные и спиртоводные смеси.

На основании анализа литературных и научно-технических данных установлено, что наиболее перспективным методом определения углеводов является метод ВЭЖХ с рефрактометрическим детектором. Остаточные количества лактозы по разработанной методике определения лактозы в ферментированном молоке, основанной на экстракции лактозы смесью этанол: вода (1:1) и последующем анализе экстракта с помощью ВЭЖХ.

Отбор проб и подготовка их к анализу – осуществлялись по ГОСТ 9225 и ГОСТ 26809, физико-химические и микробиологические показатели исследованных образцов определялись по стандартным методам и общепринятым методикам.

## **Результаты и их обсуждение**

На основании проведенных патентных исследований и изучения научно-технической информации в области разработок молочных продуктов для питания людей с лактазной недостаточностью определено, что самым легко реализуемым ввиду отсутствия капитальных затрат на приобретение баромембранных установок является предварительное расщепление лактозы с помощью ферментной обработки (внесение дрожжевой или грибной  $\beta$ -галактозидазы в молоко или пахту), проведение гидролиза лактозы до достижения требуемой степени и инактивация фермента путем нагревания, в результате чего получается молочный продукт, в котором сохраняются все питательные вещества исходного молока.

Исходным сырьем для гидролиза может быть обычное цельное, полужирное или обезжиренное молоко. Его можно обогащать витаминами и минеральными веществами до или после гидролиза, а гидролизованный продукт можно пастеризовать и охлаждать или подвергать распылительной сушке [6].

После гидролиза содержание редуцирующих сахаров в молоке повышается, и существует вероятность проявления неферментативного побурения продукта (реакция Майяра) в процессе последующей тепловой обработки.

Реакция Майяра (химическая реакция между аминокислотой и сахаром) приводит к образованию многочисленных продуктов, порой с

довольно сложной и часто еще не исследованной структурой. Известна химическая структура соединения глюкозы с протеином, основанием Шиффа и продуктами Амадори. Исследователям еще предстоит узнать строение большинства конечных продуктов гликозилирования и производных этих продуктов с поперечной межмолекулярной связью, но одно производное с такой связью уже определено: 2-фуранил-4(5)-(2-фуранил)-1 Н-имидазол, или ФФИ (рис. 1).

В процессе этой реакции между восстанавливающей (открытой) формой сахара (глюкоза, фруктоза и др.) и аминокруппами белков (лизина или N-концевой аминокруппы) образуется продукт Амадори, или фруктозамин, который в процессе дальнейших реакций и преобразований превращается в так называемые «поздние продукты гликирования».

Чтобы свести к минимуму вероятность проявления неферментативного побурения продукта в процессе последующей обработки, необходимо выбирать оптимальные режимы высокотемпературной кратковременной пастеризации или ультравысокотемпературной стерилизации. Такая тепловая обработка также обеспечивает инактивацию фермента и улучшает микробиологическое качество молока. Тотчас после тепловой обработки молоко должно быть охлаждено.



Рис. 1 – Схема образования 2-фуранил-4(5)-(2-фуранил)-1 Н-имидазола

В зависимости от того, какие требования предъявляет рынок к молочным продуктам, можно вырабатывать с использованием гидролиза: пастеризованное молоко стерилизованное молоко в асептической упаковке сухое молоко (распылительной сушки) кисломолочные напитки, шоколадное и крахмальное молоко, пудинги, мороженое и другие продукты.

В настоящее время осуществляется подбор ферментных препаратов, обеспечивающих оптимальное снижение количества лактозы в конечном продукте.

Среди производителей ферментных препаратов на белорусском рынке наиболее известны фирма «Gist Brocades» (Нидерланды) и фирма «Novozyme». Фирма «Gist Brocades» поставляет фермент под торговой маркой «Максилакт», представляющий собой высококонцентрированную молочнокисло-дрожжевую лактазу, экстрагированную из натуральных дрожжей *Kluveromyces lactis*, используемых при производстве молочных продуктов типа кумыса и кефира. Препарат «Максилакт» не имеет запаха и вкуса и не содержит примеси других ферментов, которые могут влиять на качество и вкус молока.

«Максилакт» – нейтральный лактазный препарат, который предназначен для гидролиза лактозы в молоке и сыворотке на глюкозу и галактозу. Оптимальные условия для (70–75)% гидролиза почти естественные – pH (6,3–6,7) и температура (35–40) °С. Фермент гидролизует лактозу на два моносахарида: глюкозу и галактозу. (Рис. 2).

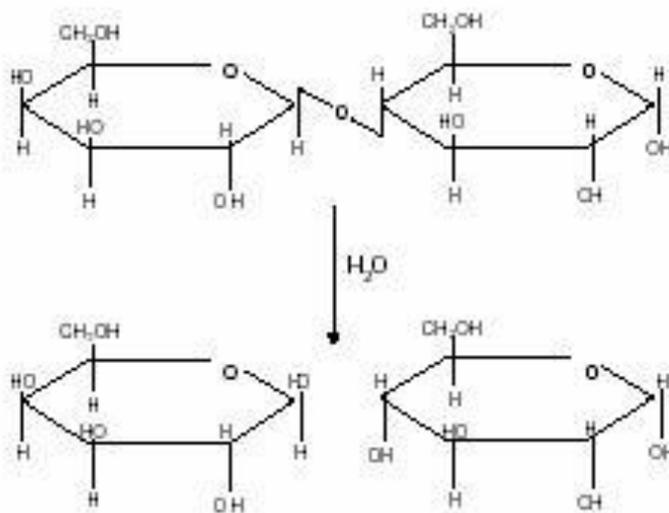


Рис. 2. Гидролиз лактозы под воздействием фермента

Во время реакции одна молекула воды связывает молекулу сахара. Условия реакции, например, температура, кислотность, время реакции, концентрация лактозы и фермента определяют скорость прохождения реакции.

Также заслуживают внимания ферментные препараты Lactozym<sup>®</sup> Pure 3000L Lactozym<sup>®</sup> и Lactozym<sup>®</sup> Pure 6500L фирмы «Novozyme». Lactozym<sup>®</sup> Pure 6500L – нейтральная лактаза с заявленной активностью 6500 LAU/см<sup>3</sup> (LAU – лактазные единицы активности), обеспечивающая регулируемое удаление лактозы из молока и молочных продуктов. Обработанный препаратом молочный продукт и само молоко может быть усвоено, с точки зрения усваиваемости лактозы, без нежелательных последствий для организма. Молоко после обработки ферментом

становится немного слаще.

Дозировка ферментов зависит от требуемой степени гидролиза (СГ) лактозы и технологических условий процесса. Стандартные дозировки для гидролиза лактозы со степенью гидролиза 50 % и выше приведены в таблице 1.

Таблица 1. Расход Lactozym Pure 6500L для проведения гидролиза молока

Дозировка Lactozym Pure, см <sup>3</sup> /дм <sup>3</sup> сырья с концентрацией лактозы 4–5 %	Время реакции, ч	Температура реакции, °С	Степень гидролиза лактозы, %
1,0–1,6	10	5	50
0,5–0,7	24	5	50
2,1–3,1	1	30	50
0,5–0,8	4	30	50
0,9–1,4	1	40	50
0,2–0,47	4	40	50
3,5–5,4	10	5	80
1,5–2,2	24	5	80
6,9–10,4	1	30	80
1,7–2,6	4	30	80
2,9–4,4	1	40	80
0,7–1,1	4	40	80

Посредством регулирования времени, поддержания постоянной температуры и дозировки фермента можно воспроизводить одинаковую степень гидролиза от партии к партии.

Для определения необходимой степени гидролиза и оптимальных технологических параметров проведены исследования гидролиза лактозы ферментами Lactozym<sup>®</sup> Pure 3000 L HP G, «Максиллакт» и лабораторные выработки молочных продуктов с пониженным содержанием лактозы. Исходным сырьем для гидролиза служило цельное пастеризованное молоко. Результаты представлены в таблицах 2, 3.

Как следует из результатов, представленных в таблице 2, при изменении условий ферментативного гидролиза (температуры, времени и расхода фермента) можно получить безлактозный молочный продукт (образцы 3, 7, 8, 10, 12, 14) и низколактозный, где содержание лактозы находится на уровне от 0,06 до 0,4 % (образцы 1, 2, 4, 5, 6, 9, 11).

Кроме того, результаты исследований, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что при расходе фермента 0,2 % и времени гидролиза 4 ч в исследуемом диапазоне температур (30, 40, 50) °С гарантировано получение безлактозного продукта.

Таблица 2. Остаточная концентрация лактозы в зависимости от режимных параметров гидролиза молока.

№ образца	Дозировка Lactozym Pure, см <sup>3</sup> /дм <sup>3</sup>	Время реакции, ч	Температура реакции, °С	Остаточная концентрация лактозы, %
1	2	2	40	0,08
2	2	2	50	0,06
3	2	4	30	0
4	1	4	30	0,09
5	1	2	40	0,4
6	1	4	50	0,15
7	2	4	50	0
8	1	4	40	0
9	2	6	30	0,08
10	1	6	40	0
11	2	2	30	0,08
12	1	6	30	0
контроль	0	6	40	5,02
14	2	4	40	0

Установлено, что при расходе фермента 0,1 %, времени гидролиза 6 ч и температуре гидролиза 30–40 °С возможно получение безлактозного продукта, при концентрации фермента Lactozym® Pure 3000 L HP G 0,1 % за 4 ч обеспечивается степень гидролиза лактозы, равная 97 % (остаточное содержание лактозы в продукте не превышает 0,15 %); при этом отмечено, что температура гидролиза в исследуемом диапазоне не оказывает значимого влияния на остаточное содержание лактозы. В случае двукратного увеличения концентрации фермента время достижения указанной степени гидролиза уменьшается пропорционально (за 2 ч остаточное содержание лактозы в продукте не превышает 0,1 %).

Из результатов, представленных в таблице 2, следует, что за 2 ч под воздействием фермента Lactozym® Pure 3000 L HP G в концентрации 0,1 % гидролизу подвергается порядка 92 % имеющейся в молоке лактозы.

Проведена серия экспериментов, в которых концентрация ферментных препаратов была фиксированной и равнялась 0,1 %, но при этом время гидролиза было значительно сокращено и составило от 0,5 до 2 ч. Кроме того, дополнительно был взят для сравнения фермент под торговой маркой «Максилакт» в концентрации 0,1 %. Результаты по определению концентрации лактозы в полученных продуктах методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе «Agilent» представлены в таблице 3.

Установлено, что при концентрации фермента Lactozym® Pure 3000 L HP G 0,1 % степень гидролиза лактозы, равная 70–80 %, обеспечивается за 0,5 ч (остаточное содержание лактозы в продукте не

превышает 1,3 %); при этом температура гидролиза должна находиться в пределах 30–40 °С, так как, исходя из результатов, представленных в таблице 4, при температуре 50 °С происходит частичная инактивация фермента.

При температуре 30°С и времени гидролиза 0,5 ч, 1 ч и 1,5 ч гидролизуется 84,1, 96,9 и 95,1 % лактозы соответственно, а при 40 °С и том же времени гидролиза – 74,9, 94,3 и 95,1 %, при 50 °С – 73,9, 90,6 и 92,7 %. С увеличением времени гидролиза до 2 часов при 40 °С степень гидролиза лактозы увеличивается до 99 %. Следовательно, оптимальным температурным диапазоном гидролиза является 30–40 °С, а оптимальным его временем для получения низколактозного продукта – не менее 1 ч, для получения безлактозного продукта – не менее 2 ч.

При использовании фермента «Максилакт» (образец 15\*) степень гидролиза – лактозы 84,1 %, что на 10,2 % ниже, чем при аналогичных условиях с ферментом Lactozym® Pure 3000 L HP G.

В обобщенном виде влияние температуры гидролиза на скорость реакции показано на рисунке 3.

Таблица 3. Концентрация лактозы в образцах молочных продуктов

№ образца	Время реакции, ч	Температура реакции, °С	Остаточная концентрация лактозы, %	Степень гидролиза лактозы, %
8	контроль	40	4,9	0
1	0,5	50	1,28	73,9
2	0,5	40	1,23	74,9
3	0,5	30	0,78	84,1
4	1	40	0,28	94,3
5	1	30	0,15	96,9
6	1	50	0,46	90,6
7	2	40	0,05	99,0
9	1,5	50	0,36	92,7
10	1,5	40	0,24	95,1
11	1,5	30	0,22	95,5
12	контроль	40	4,52	0
13*	2	40	0,14	96,9
15*	1	40	0,72	84,1

Примечание: \* - гидролиз ферментным препаратом «Максилакт»

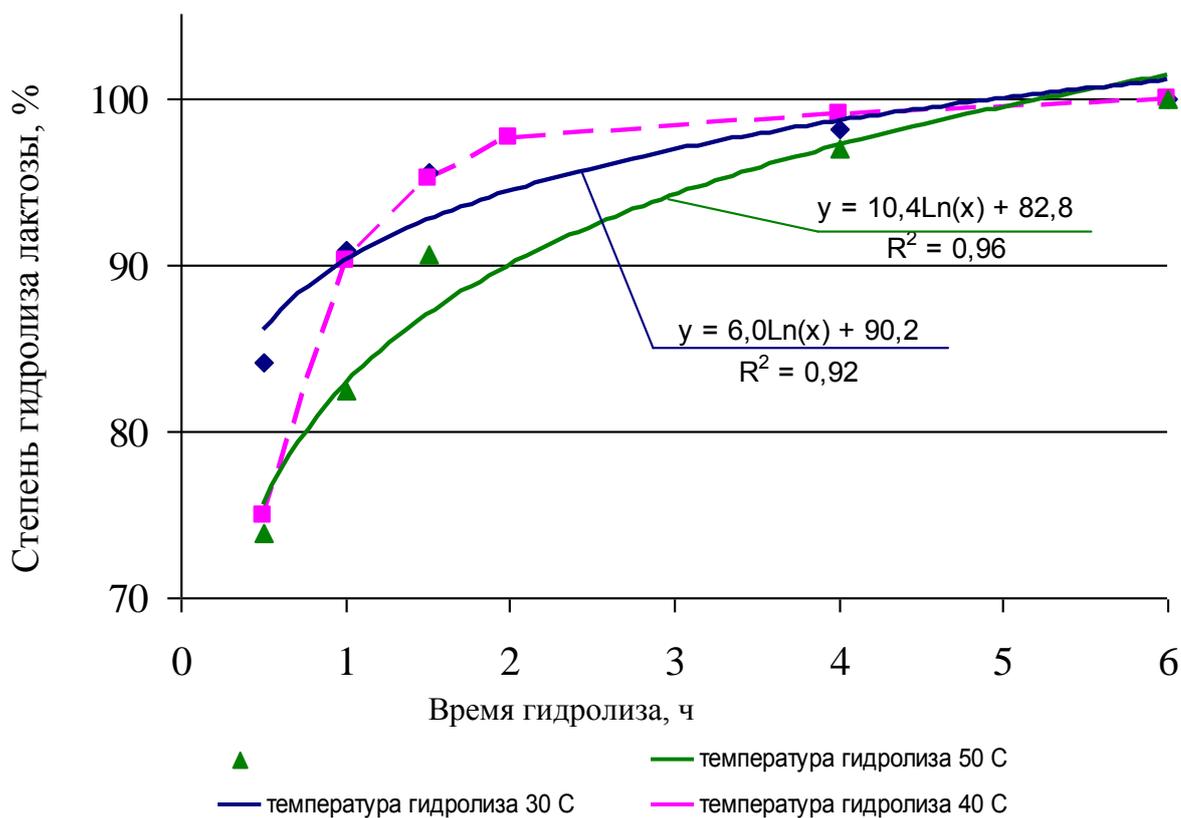


Рис. 3. Зависимость степени гидролиза лактозы от режимных параметров процесса

Из анализа графических зависимостей, представленных на рис. 3, следует, что требуемая степень гидролиза (85–100 %) может быть достигнута посредством варьирования времени и температуры реакции. При увеличении дозировки фермента время достижения нужной степени гидролиза пропорционально сокращается.

Таким образом, на основании проведенных исследований ферментированного молока, полученного при разных режимах гидролиза, установлено, что:

- для получения безлактозного молочного продукта ферментацию необходимо проводить при температуре 30–40 °С и времени гидролиза 2–4 ч при расходе 0,2 % фермента Lactozym® Pure 3000 L HP G или при 30–40 °С и времени гидролиза 4 ч при расходе 0,1 % фермента;
- для получения низколактозного продукта целесообразно ферментацию проводить при 30–40 °С, расходе фермента Lactozym® Pure 3000 L HP G 0,1 % и времени гидролиза 1–2 ч или при 40 °С, расходе фермента «Максиллакт» 0,1 % и времени гидролиза 1–2 ч.

Результаты исследований положены в основу разработанного ТНПА: «Продукты специализированные молочные с пониженным содержанием лактозы «МиниЛакт». Технические условия ТУ ВУ 100098867.285».

## Литература

1. Коровина, Н.А. Лактазная недостаточность у детей / Н.А. Коровина, И.Н. Захарова, Н.Е. Малова // Вопросы современной педиатрии. – 2002. – Т. 1, № 4. – С. 57–61.
2. Крупин, А.В. Основные аспекты применения ферментных препаратов, гидролизующих лактозу в молочной сыворотке, в связи с созданием продуктов функционального назначения / А.В. Крупин // Инновационные технологии в пищевой промышленности: материалы VII Междунар. науч.-практ. конф. – 2009. – С. 409–415.
3. Кунижев, С.М. Оптимизация процесса ферментативного гидролиза лактозы / С.М. Кунижев, Е.В. Денисова, В.А. Шуваев, П.А. Омелянчук // Материалы 2-ой Всероссийской научно-технической конференции «Современные достижения биотехнологии». - Ставрополь: СКГТУ, 2002. – С.94-95.
4. Непереносимость лактозы у детей. и взрослых / С.М. Бельмер [и др.] // Вопросы детской диетологии. – 2004. – № 2 (1). – С. 101.
5. Самаль, Т.Н. Современные подходы к терапии лактазной недостаточности у детей / Т.Н. Самаль, С.Е. Украинцев // Медицинская панорама. – 2004. – № 2. – С. 13–15.
6. Сравнительный анализ методов определения углеводов при исследовании процесса биосинтеза лактулозы / В.К. Топалов [и др.] // Вузовская наука – Северо–Кавказскому региону: материалы XII Регион. науч.-техн. конф. – Ставрополь, 2008. – Т. 1. – 298 с.
7. Храмцов, А.Г. Современные технологии продуктов на основе гидролиза лактозы молочного сырья / А.Г. Храмцов, А.Д. Лодыгин, А.Г. Варданян // Сб. науч. тр. СевКавГТУ. Сер. Продовольствие. – 2006. – № 2.– С. 10–12

*N. Zhabanos , L. Bogdanova, N. Furik, O. Shulyakovskaya*

### **DESIGN PARAMETERS OF REDUCING LACTOSA IN MILK FOR SPECIALIZED DAIRY FOODS WITH LOW CONTENT LACTOSE**

#### **Summary**

Considered aspects of lactase deficiency in humans of different age group and the ability to use in diets the specialized of dairy products with reduced content lactose. Studies of the hydrolysis of milk with the various enzyme preparations. Justification settings of hydrolysis process parameters to produce specialized dairy products with reduced lactose content.