

JADWIGA KOWALEWSKA-PIONTAS, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI

TECHNOLOGICZNE ORAZ ŻYWIENIOWE ASPEKTY ENZYMATYCZNEJ HYDROLIZY LAKTOZY

Streszczenie

Metabolizm laktozy związany jest z jej enzymatyczną hydrolizą z udziałem β -galaktozydazy. Nieobecność enzymu lub jego słaba aktywność w przewodzie pokarmowym konsumentów jest przyczyną nietolerancji laktozy.

Enzymatyczna hydroliza laktozy sprzyja w łagodzeniu jej nietolerancji i może być stosowana w technologii mleka bezlaktozowego, koncentratów cukrowych z serwatki lub filtratu (z ang. permeat) pozostającego po frakcjonowaniu składników mleka technikami membranowymi.

Wprowadzenie

Laktoza [4-0-(β -galaktozydo(α)-D-glukopiranoza] jest cukrem syntetyzowanym w gruczole mlecznym ssaków. Występuje w dwu odmianach α i β różniących się rozpuszczalnością w wodzie, warunkami krystalizacji i zdolnością słodzenia. W roztworach wodnych postaci α i β pozostają w stanie równowagi dla danej temperatury. Odmiana β jest lepiej rozpuszczalna w wodzie a także bardziej słodka. Konsumpcja laktozy wpływa korzystnie na organizm człowieka od okresu niemowlęcego do dojrzałego. W porównaniu do innych znanych disacharydów jest mniej słodka. Słodkość laktozy jest równa 1/6 słodkości sacharozy [17]. Laktoza jest także słabo rozpuszczalna. W roztworach o koncentracji laktozy powyżej 20% łatwo krystalizuje.

Przyswajanie laktozy wymaga jej hydrolizy przez β -D-galaktozydazę obecną w jelicie cienkim ludzi lub zwierząt. Nieobecność tego enzymu lub słaba jego aktywność jest przyczyną nietolerancji laktozy. Problem ten jest szczególnie ważny w odniesieniu do niemowląt nowonarodzonych dla których mleko jest jedynym pokarmem.

Jedną z możliwości technologicznych poprawy przyswajalności laktozy i umożliwienia konsumpcji mleka ludziom z nietolerancją laktozy jest jej hydroliza enzymatyczna *in vitro*.

W procesie hydrolizy laktozy powstają glukoza i galaktoza, a często również α -galaktozyłowe oligosacharydy [15]. Ich znaczenie żywieniowe do niedawna kontrowersyjne jest obecnie uznane i doceniane.

Wzrastająca produkcja serów, twarogów często z zastosowaniem technik membranowych doprowadza do powstawania dużych objętości serwatki lub filtratu po ultrafiltracji mleka. Znane są zakłady mleczarskie w Polsce, w których powstaje dziennie około 300–500 tys. litrów serwatki lub filtratu. Jednym z kierunków przetwarzania ogromnych ilości laktozy w serwatce jest jej hydroliza enzymatyczna.

W opracowaniu przedstawione będą aspekty żywieniowe i technologiczne hydrolizy laktozy w mleku lub serwatce.

Nietolerancja laktozy

W organizmach dzieci nowonarodzonych za wyjątkiem nielicznych przypadków stwierdza się wysoką aktywność β -D-galaktozydazy (β -gal.). U dzieci w wieku 3–5 lat jej aktywność zmniejsza się o 90–95% [6]. Wynika to z prawidłowej reakcji organizmu na zmiany w składzie pożywienia ponieważ niemowlęta spożywają 15–30-krotnie więcej laktozy niż osoby dorosłe.

Na skutek przebytych chorób układu pokarmowego a także ograniczeń w picu mleka i spożywaniu jego przetworów poziom β -gal ulega znacznemu obniżeniu. Z przyczyn genetycznych zdarza się, że u ludzi nie stwierdza się w ogóle aktywności β -gal. Ludzie z niską aktywnością β -gal. lub z jej brakiem źle trawią laktozę co powoduje przemieszczanie się laktozy do jelita grubego gdzie bakterie ją fermentują. Nadmiar laktozy w okrężnicy, której bakterie nie są w stanie przefermentować, prowadzi do wzdęć, skurczów a nawet biegunki, symptomów znanych jako nietolerancja laktozy [22].

Występowanie nietolerancji laktozy u ludzi dorosłych, jest ściśle związane z pochodzeniem etnicznym. Najczęściej nietolerancja laktozy występuje wśród ludzi rasy czarnej (75%) i żółtej (100%). Ludzie rasy białej znacznie lepiej tolerują laktozę. Niepokojący jest jednak fakt ciągłego wzrostu liczby ludzi z nietolerancją laktozy. W latach 60. stwierdzono występowanie nietolerancji laktozy u około 10% ludzi rasy białej [20]. Pod koniec lat osiemdziesiątych liczne prace donoszą o występowaniu nietolerancji laktozy u ok. 30% ludzi tej rasy [11].

Tolerancja laktozy poprawia się gdy ludzie o obniżonej aktywności β -gal. piją mleko regularnie. Wielu z nich może pić dziennie 1–2 szklanek mleka bez gastrycznych problemów.

Laktoza, spożywana z inną żywnością lub jako część produktu o wysokiej suchej masie, jak np. lody jest lepiej tolerowana niż laktoza spożywana w mleku. Obecność

tłuszczów i wyrobów cukierniczych w diecie najprawdopodobniej poprawiają tolerancję laktozy [22].

Konsumenci o wysokiej nietolerancji laktozy (całkowity zanik aktywności β -gal.) mogą bezpiecznie spożywać mleko o obniżonej zawartości laktozy. W wielu krajach produkowane jest mleko, w którym obniżono do 70 lub 80% zawartość laktozy. W Polsce również od 1997 roku Zakład Mleczarski "Maćkowy" w Gdańsku produkuje mleko o obniżonej zawartości laktozy. Polska norma na mleko UHT o obniżonej zawartości laktozy wymaga co najmniej 80% stopnia hydrolizy laktozy. Technologia produkcji tego mleka została opracowana i wdrożona przy udziale autorów tej publikacji.

Innym sposobem zapobiegania dolegliwościom gastrycznym przy spożywaniu mleka dla ludzi z nietolerancją laktozy jest doustne przyjmowanie preparatów β -gal. [22].

Mechanizm enzymatycznej hydrolizy laktozy

Proces hydrolizy laktozy przeprowadza się z udziałem preparatów β -D-galaktozydazy pochodzącej z różnych źródeł. Enzym ten występuje w owocach niektórych roślin, w warzywach, przewodzie pokarmowym ssaków, ptaków oraz w komórkach drobnoustrojów [5, 10, 24].

W zależności od pochodzenia enzymu optymalne warunki hydrolizy laktozy mieszczą się w granicach: pH 3–7,3, temperatura 35–85°C. W skali przemysłowej produkuje się preparaty β -galaktozydazy syntetyzowane przez *Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Kluyveromyces lactis*, *K. fragilis*, *Candida pseudotropicalis*. Mechanizm enzymatycznej hydrolizy laktozy związany jest z procesem transglikozylacji reszty β -galaktozylowej [15]. W pierwszym etapie od laktozy związanej z centrum aktywnym enzymu uwolniona zostaje cząsteczka glukozy. Następnie związana z enzymem reszta β -galaktozylowa reaguje z grupą hydroksylową, pochodzącą od wody, lub cząsteczki innego cukru. Powstaje cząsteczka galaktozy lub tworzy się oligosacharyd. Na przebieg tworzenia oligosacharydów wpływ wywiera α -galaktoza.

W składzie produktów enzymatycznej hydrolizy laktozy obok glukozy i galaktozy powstają oligosacharydy, najczęściej α i β -galaktozylowe oraz α i β -glukozylowe.

Wydajność tworzenia oligosacharydów, ich skład ilościowy i jakościowy zależą od początkowego stężenia laktozy, pH środowiska, czasu reakcji, źródła i postaci enzymu [15]. Najważniejszym parametrem jest jednak początkowe stężenie laktozy w roztworze w zakresie 10–30%.

Hydroliza enzymatyczna prowadzona w specjalnie dobranych warunkach prowadzi do powstawania laktulozy [2].

Właściwości i znaczenie żywieniowe oligosacharydów β -galaktozylowych

Wyniki badań żywieniowych wskazują że β -galaktozylowe oligosacharydy wykazują właściwości bifidogenne [12, 15]. Wytycza to nowy kierunek przetwarzania laktozy.

Właściwości bifidogenne tj. zdolność stymulowania rozwoju bakterii *Bifidobacterium* i niektórych szczepów *Lactobacillus* wykazuje wiele substancji np. aminocukry mleka, oligo i polisacharydy, laktuloza [15]. Bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus acidophilus* są pożądaną florą bakteryjną przewodu pokarmowego a zwłaszcza jelita grubego. Korzystne oddziaływanie tej mikroflory polega na hamowaniu rozwoju bakterii szkodliwych np. *E. Coli* i *Salmonella*.

Potwierdzone terapeutyczne właściwości bakterii mlekowych, a zwłaszcza pałeczek *L. acidophilus* są przyczyną zwiększonego zainteresowania się produkcją i konsumpcją nowego typu napojów mlecznych fermentowanych jak mleko acidofilne, biojogurty.

Stymulujące oddziaływanie oligosacharydów β -galaktozylowych (powstających w enzymatycznej hydrolizie laktozy) na rozwój *Bifidobacterium* uwzględniono we wdrożonej przy naszym udziale technologii produkcji mleka, w którym przeprowadza się enzymatyczną hydrolizę laktozy, a następnie po utrwaleniu metodą UHT do mleka dodaje się biomasę *Bifidobacterium*.

Mleko w ten sposób otrzymane jest przykładem żywności przydatnej w odżywianiu dzieci i dorosłych z nietolerancją laktozy a także z przewlekłymi chorobami przewodu pokarmowego.

Hydroliza laktozy w produktach ubocznych

W przemyśle mleczarskim powstają duże ilości produktów ubocznych. W produkcji serów i twarogów otrzymuje się serwatkę. Zastosowanie ultrafiltracji w koncentracji białek mleka lub ich odzysku z serwatki prowadzi do uzyskania filtratu. Podczas produkcji 1 kg sera otrzymuje się ok. 8 litrów serwatki lub filtratu, w których laktoza stanowi 80–85% s.s. odpowiednio. Z serwatki i filtratu można produkować laktozę ale zapotrzebowanie na nią jest ograniczone i stałe, a ogromne ilości serwatki lub filtratu konieczne przy produkcji laktozy wymagają specjalnej lokalizacji fabryki ponieważ drobnoustroje rozwijają się w nich burzliwie, powodując szybkie obniżenie zawartości laktozy i stwarzając problem ich dalszego wykorzystania [3, 8].

Ogólnoświatowa presja na bardziej kompleksowe wykorzystanie składników serwatki i filtratu ciągle rośnie jako sposób na zmniejszenie zanieczyszczenia środowiska. Równie ważny jest problem znalezienia ekonomicznego sposobu wykorzystania ogromnych ilości laktozy pochodzącej ze stale rosnącej produkcji sera i twarogów [10].

Laktoza jako cukier o niskiej słodkości i rozpuszczalności jest nieatrakcyjna dla przemysłu spożywczego [7]. Zarówno słodkość jak i rozpuszczalność produktów z serwatki i filtratu można podnieść poprzez enzymatyczną hydrolizę laktozy do glukozy i galaktozy przez β -D-galaktozydazę. Hydroliza laktozy w serwatce lub filtracie, a następnie zagęszczenie znacznie podnosi ciśnienie osmotyczne w produkcie zabezpieczając go przed rozwojem drobnoustrojów. Fox [5] uważa możliwość wykorzystania serwatki i filtratu (permeat) do produkcji syropów glukozowo-galaktozowych za najważniejsze osiągnięcie ostatnich lat w przemyśle mleczarskim. W Polsce prowadzono badania zarówno nad hydrolizą laktozy w mleku, [3, 23] jak i w serwatce [14, 19]. W Anglii hydrolizowana serwatka jest uznana za produkt naturalny, który może być stosowany w żywności bez zastrzeżeń [3].

Syrop zawierający 60% s.s., w którym laktoza jest zhydrolizowana w 90% jest tak słodki jak roztwór zawierający 40% sacharozy [7]. Zagęszczenie nawet do 70% s.s. nie powoduje w syropach krystalizacji cukrów. Trwałość syropów wynosi kilka miesięcy [9].

Skład syropu z serwatki o zawartości 72% s.s. jest następujący: 24% glukozy, 22% galaktozy, 11,5% laktozy, 9,5% białka, 1% tłuszczu i 4% popiołu [3].

Zastosowanie syropów glukozowo-galaktozowych jest bardzo szerokie.

W Anglii syrop z serwatki stosowany jest jako substytut mleka skondensowanego. W Finlandii stosuje się syrop z serwatki w piekarnictwie i w produkcji aromatyzowanych napojów serwatkowych. W Szwecji stosowany jest również w produkcji napojów, w produkcji lodów zastępując mleko chude oraz 50% cukru bez obniżania jakości lodów [9, 25].

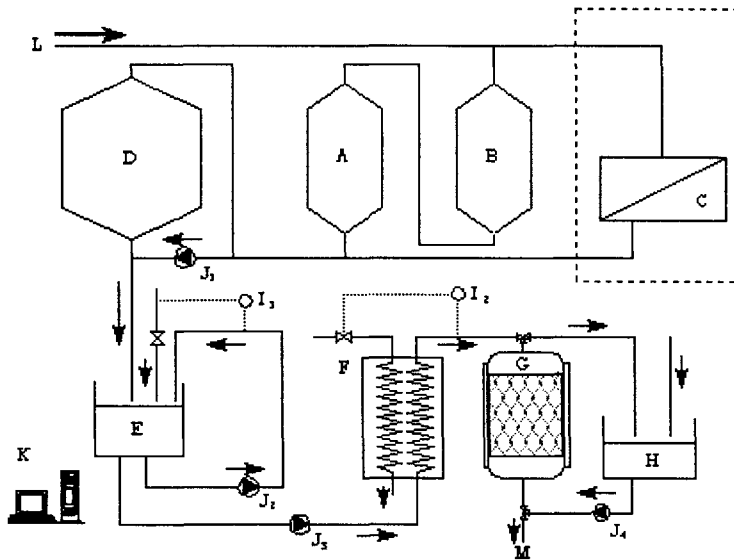
Syropy z filtratu znalazły zastosowanie jako główne nowe źródło cukrów fermentacyjnych wykorzystywanych w przemyśle winiarskim [8, 21], ale również w produkcji lodów, deserów mrożonych i jogurtu [1].

Właściwości pianotwórcze i żółty kolor syropów pozwalają na substytucję jajek w produktach piekarniczych [18].

Hydroliza laktozy wg M. Harju [9] i produkcja syropów jest procesem tańszym niż rozpyłowe suszenie serwatki. Szerokie możliwości wykorzystania syropów w przemyśle spożywczym i perspektywa na obniżenie kosztów hydrolizy przez zastosowanie immobilizowanych preparatów β -gal. dają podstawę aby sądzić, że w naszym kraju również będą one produkowane w niedalekiej przyszłości. Technologie ich produkcji opracowano i sprawdzono w skali przemysłowej w kilku zakładach mleczarskich w Polsce.

Postęp w procesie enzymatycznej hydrolizy laktozy

Ostatnio obserwuje się wzrastające znaczenie enzymatycznej hydrolizy laktozy w mleku oraz w produktach ubocznych, głównie w filtracie pozostającym po koncentracji białek mleka metodą ultrafiltracji lub odwróconej osmozy.



Rys. 1. Schemat procesu hydrolizy laktozy z zastosowaniem immobilizowanej β -galaktozydazy opracowany przez firmę Corning. [16].

Fig. 1. Flow diagram of lactose hydrolysis with the use of immobilized β -galactosidase, developed by Corning Company [16].

A - kolumna z anionitem

B - kolumna z kationitem

C - demineralizacja permeatu

D - zbiornik do przechowywania odmineralizowanego permeatu

E - zbiornik (z substratem)

F - wymiennik ciepła

G - bioreaktor z immobilizowaną β -galaktozydazą

H - zbiorniki z roztworem do mycia i dezynfekcji bioreaktora

I₁ - kontrola i regulacji pH

I₂ - kontrola i regulacja temperatury.

J₁, J₂, J₃ i J₄ - zawory regulujące przepływ

K - automatyka systemu

L - permeat serwatkowy

M - syrop cukrowy po hydrolizie laktozy w filtracie

Filtrat jest wykorzystywany do produkcji laktozy krystalicznej lub hydrolizowanych względnie izomeryzowanych syropów cukrowych [1, 16].

W celu poprawy atrakcyjności ekonomicznej produkcji syropów cukrowych z laktozy do jej hydrolizy prowadzonej w różnej skali stosuje się β -galaktozydazę w postaci immobilizowanej.

W nowoczesnych rozwiązaniach technicznych stosuje się enzymatyczne reaktory, w których enzym jest unieruchomiony na różnych nośnikach np. na powierzchni półprzepuszczalnych membran lub żelach, żywicach itp.

Schemat produkcji odmineralizowanych syropów cukrowych z filtratu, w którym laktoza jest hydrolizowana przez immobilizowaną na żywicy fenoloformaldehydowej β -galaktozydazę z *A. niger* przedstawiono na rys. 1. Proces prowadzony jest w skali przemysłowej w Finlandii. Na uwagę zasługuje zastosowanie wymiany jonowej w demineralizacji filtratu co pozwala otrzymać słodkie syropy cukrowe o zmniejszonej zawartości związków mineralnych. Ich właściwości są porównywalne z syropami otrzymanymi ze skrobi.

W niektórych propozycjach technologicznych wskazuje się na możliwości dalszej biokonwersji glukozy obecnej w hydrolizatach laktozy. W tym celu stosuje się immobilizowane preparaty izomerazy glukozy. Produktem są bardzo słodkie syropy wzbogacone w fruktozę [1].

Podsumowanie

W artykule przedstawiono ważniejsze zagadnienia związane z enzymatyczną hydrolizą laktozy. Zwrócono uwagę na aspekty żywieniowe: problem nietolerancji laktozy oraz stymulujące oddziaływanie α -galaktozylowych oligosacharydów na rozwój *Bifidobacterium* w produktach mleczarskich.

Oddzielnie przedstawiono znaczenie hydrolizy laktozy w przetwórstwie serwatki lub filtratu pozostającego po koncentracji białek mleka metodą ultrafiltracji lub odwrotnej osmozy.

LITERATURA

- [1] Arndt E.A., Wehling R.L.: Development of Hydrolyzed and Hydrolyzed-Isomerized Syrups from Cheese Whey Ultrafiltration Permeate and Their Utilization in Ice Cream. *J. Food. Sci.*, **54**, 1989, 880.
- [2] Bednarski W., Kowalewska-Piontas J., Marek J.: Technologiczne i żywieniowe aspekty występowania laktulozy w mleku i w produktach mleczarskich. *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, **XV**, 1988, 226.
- [3] Cumming W.A.W., Whitehead P.D.: Hydrolyzed Whey Syrup in Sugar Confectionery Manufacture and Marketing, **26**, 1986, 28.

- [4] Dahlguist A., Asp N-G., Burvall A., Ransing H.: Hydrolysis of Lactose in Milk and Whey with Minute Amounts of Lactase. *J. Dairy Research*, **44**, 1977, 54.
- [5] Fox P. F.: Enzymes other than Rennets in Dairy Technology. *J. Soc. Dairy Techn.*, **33**, 1980, 118.
- [6] Gilat T., Russo S., Gelman-Malachi E., Aldor T.A.: Lactose in man: A non - adaptable enzyme. *Gastroenterology*, **62**, 1972, 1125.
- [7] Greenberg N.A., Mahoney R.R.: Rapid Purification of β -galactosidase (*Aspergillus niger*) from a Commercial Preparation. *J. Food Sci.*, **46**, 1981, 684.
- [8] Guy E. J.: Purification of Sirups from Hydrolyzed Lactose in Sweet Whey Permeate. *J. Dairy Sci.*, **62**, 1979, 384.
- [9] Harju M.: Lactose Hydrolysis International Whey Conference, Chicago, 1986.
- [10] Holsinger V.H.: Lactose - Modified Milk and Whey. *Food Technol.*, **32** (3) 1978, 35.
- [11] Houts S.S.: Lactose Intolerance. *Food Technology*, **42**, 1988, 110.
- [12] Jiang T., Mustapha A., Savaiano D. D.: Improvement of Lactose Digestion in Humans by Ingestion of Unfermented Milk Containing *Bifidobacterium longum*. *J. Dairy Sci.*, **79**, 1996, 750.
- [13] Kiswa J., Świtka J., Kruk A., Surażyński A.: Essai d'utilisation de la bêta -D- galactosidase pour la fabrication du lait condense sucre. *Le Lait*, **53** (527), 1973, 430.
- [14] Kowalewska J., Poznański S., Bednarski W., Sulima K.: The application of membrane techniques in enzymatic hydrolysis of lactose and repeated use of β -galactosidase. *Nordeuropeisk mejeri - tidsskrift*, **44** (1), 1978, 20.
- [15] Król B.W.: Technologiczne aspekty konwersji laktozy do soli kwasów aldowych i β -galaktozylowych oligosacharydów. *Zesz. Naukowe Politechnika Łódzka w Łodzi*, 1992, nr 675.
- [16] Marwaha S.S., Kennedy J.F.: Review: Whey - Pollution Problem and Potential Utilization. *J. Food Sci. Technol.*, **23**, 1988, 323.
- [17] Nickerson T.A.: Use of Milk Derivative Lactose in Other Foods. *J. Dairy Sci*, **59**, 1976, 581.
- [18] Nijpels H.H.: Maxilact - Lactase in the Dairy Industry Cz. III. *Nordenropeisk Mejeri - Tidsskrift*, **42**, 1976, 382.
- [19] Poznański S., Mieczkowski M., Bednarski W., Kowalewska J., Leman J., Chrzanowska A.: Technologia produkcji odmineralizowanych syropów glukozowo - galaktozowych. *Przemysł Spożywczy*, **31** (2), 1977, 62.
- [20] Reddy V.: Lactose Intolerance - Nutritional Implications. *Neth. Milk Dairy J.*, **27**, 1973, 355.
- [21] Roland J. F., Alm W. L.: Wine Fermentation Using Membrane Processed Hydrolyzed Whey. *Bio-tech. Bioeng*, **XVII**, 1975, 1443.
- [22] Suarez F.L. Savaiano D.A.: Diet, Genetics and Lactose Intolerance. *Food Technology*, **51**, 1997, 74.
- [23] Surażyński A., Poznański S., Chojnowski W., Mrozek Z., Rogala L.: Otrzymywanie i zastosowanie β -D-galaktozydazy do hydrolizy laktozy w mleku. *Zesz. Nauk. ART Olsztyn*, **31**, 1975, 77.
- [24] Woychik J.H., Holsinger V. H.: Use of Lactase in the Manufacture of Dairy Products. *ACS Symposium series No 47. Enzymes in Food and Beverage Processing*, Copyright, 1977.
- [25] Young C.K., Stull J. W., Taylor R.R., Angus R.C., Daniel T.C.: Acceptability of Frozen Desserts Made with Naturalized, Hydrolized, Fluid Cottage Cheese Whey. *J. Food Sci.*, **45**, 1980, 805.

**TECHNOLOGICAL AND NUTRITIONAL ASPECTS OF ENZYMATIC
HYDROLYSIS OF LACTOSE****S u m m a r y**

The absorption of lactose requires its enzymatic hydrolysis by β -galactosidase.

The lack of this enzyme or its low intestinal activity lead to lactose malabsorption in humans. Enzymatic hydrolysis of lactose diminish symptoms of lactose intolerance. This process can be used in production of low lactose content milk and concentrated lactose syrups from whey or milk permeate. ☒

KOMUNIKAT

Informujemy, że powstaje Sekcja Technologii Węglowodanów Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności afiliowana przy Wrocławskim Oddziale PTTŻ. W skład Tymczasowego Zarządu Sekcji wchodzi pracownicy Akademii Rolniczych we Wrocławiu i Krakowie oraz Politechniki Łódzkiej.

Sekcja zajmować się będzie problematyką otrzymywania, własności, oceny jakości i przetwarzania węglowodanów. Odpowiada to zagadnieniom technologii i chemii przemysłu krochmalniczego i przetwórstwa skrobi, przemysłu cukrowniczego i cukierniczego, a także zgodnie z tradycją problematyce ziemniaka i jego przetwarzania.

Formami działalności Sekcji będzie m.in.:

- spotkania tematyczne z określoną problematyką,
- cykliczne konferencje naukowe dotyczące produkcji, jakości i przetwarzania ziemniaka.

Do udziału w pracach Sekcji zaprasza się wszystkie osoby zainteresowane przedstawioną tematyką, zarówno pracowników placówek naukowych, jak i zakładów produkcyjnych.

Tymczasowym Zarządem Sekcji kieruje prof. dr hab. Waclaw Leszczyński.

Informacje dodatkowe:

Katedra Technologii Rolnej i Przetwórstwa

Akademia Rolnicza we Wrocławiu

50-375 Wrocław, ul. Norwida 25

tel. 32-05-221; 32-05-487