

УДК 637.136.5

**Е.В. Топникова, Ю.В. Никитина**

ВНИИМС – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Углич

## **ПОДХОДЫ К ВЫБОРУ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ С РЕДУЦИРОВАННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЛАКТОЗЫ**

*В настоящее время все большее распространение получает производство безлактозных и низколактозных продуктов, в технологический процесс которых интегрирован ферментативный гидролиз лактозы. Эффективность данного процесса существенно зависит от выбранного фермента, его активности и дозы внесения, а также от условий ферментирования (температура и рН среды). Знания о свойствах используемых ферментов позволяют производителям подобной продукции правильно подходить к выбору этих функционально необходимых ингредиентов и обосновывать их рациональную дозу внесения с учетом применяемых условий ферментирования.*

**Ключевые слова:** безлактозные и низколактозные продукты,  $\beta$ -галактозидаза, лактаза, гидролиз лактозы, условия ферментирования молочного сырья

В настоящее время при производстве многих молочных продуктов с целью придания им статуса безлактозных или низколактозных применяют технологическую операцию целенаправленного снижения содержания лактозы. Выбор производителем метода снижения содержания лактозы в продукте обычно основывается на оценке собственных технических возможностей и решается с учетом поставленной задачи по необходимой степени гидролиза лактозы в используемом сырье и планируемого ассортимента продукции. Для этого производители используют различные технологические приемы:

- сбраживание лактозы молочнокислой микрофлорой до молочной и других кислот и иных продуктов с использованием свободных или иммобилизованных клеток микроорганизмов (микробиологический метод);
- мембранную обработку сырья с целью удаления части лактозы из исходного сырья;
- гидролиз (тепловой, химический или ферментативный), который предусматривает расщепление молекул лактозы с одновременным присоединением воды, в результате чего образуются моносахариды – глюкоза и галактоза.

Первый прием позволяет лишь частично снизить содержание лактозы в продукте. Это обусловлено тем, что микробиологический метод в чистом виде имеет ограничения, связанные со свойствами микроорганизмов и влиянием продуктов метаболизма на их развитие и жизнеспособность. Второй прием, требуя применения сложного технологического оборудования, также не полностью позволяет удалить лактозу. Поэтому для производства кисломолочных напитков с редуцированным содержанием лактозы пригодным становится сочетание этих двух процессов, а именно изготовление продукта из молока частично гидролизованного ферментом

$\beta$ -галактозидазой (лактазой). В этом случае ферментацию проводят до расщепления 60–90 % лактозы, а остальная ее часть сбраживается под воздействием молочнокислых микроорганизмов, входящих в состав закваски. Таким же образом метод может работать и при производстве мягких сыров и творога, получаемых кислотнo-сычужным способом на основе безлактозного или низколактозного молока, а также сыра, изготовляемого из безлактозного молока термокислотным способом [1–6].

Тепловому гидролизу лактоза подвергается при длительном нагревании молока свыше 100 °С, что приводит лишь к частичному расщеплению лактозы, поскольку длительность процесса имеет ограничения в связи с высокими энергозатратами и негативным воздействием на иные составные части молока (изменения в структуре белков, разрушение витаминов, термическая деструкция отдельных минеральных веществ). Химический (кислотный) гидролиз лактозы проходит под действием концентрированных растворов минеральных кислот (серной и соляной) в условиях высоких температур. Данный метод не приемлем для использования при производстве молочных продуктов, более всего он подходит для образования целых продуктов (направленное воздействие на чистые растворы лактозы) [7].

Ферментативный гидролиз в сравнении с другими методами обработки исходного сырья является наиболее подходящим для производства молочных продуктов, как ферментированных (кисломолочных), так и неферментированных (несквашенных). Он обеспечивает продукту высокую пищевую ценность за счет сохранения всех компонентов исходного сырья [8, 9] и, кроме того, считается менее затратным, не требующим установки специального оборудования. Именно этот метод гидролиза лактозы в технологии безлактозных и низколактозных молочных продуктов получил наибольшее распространение.

Ферментативный гидролиз применяют при производстве таких безлактозных продуктов, как питьевое молоко, кисломолочные продукты, десерты, сыры, творог и творожные продукты, детские молочные продукты, напитки на основе сыворотки и др. молочные продукты, включая сливочное масло. Он оказывает положительное влияние на процесс кристаллизации лактозы при производстве мороженого и сгущенного молока. Также данный способ деструкции лактозы находит частое применение при производстве вареных сгущенных молочных продуктов с сахаром с целью предотвращения кристаллизации лактозы во время хранения продукта. С его применением известен способ производства глюкозо-галактозного сиропа.

Фермент лактаза способствует распаду до 98 % лактозы в молочном субстрате. При этом образование глюкозы и галактозы влечет за собой усиление выраженности сладкого вкуса молока-сырья и, соответственно, произведенного из него продукта. Аналогичный традиционный продукт, изготовленный из неферментированного молока, будет менее сладким. Это объясняется наибольшей выраженностью сладкого вкуса моносахаридов по сравнению с дисахаридом (лактозой). Так, выраженность сладости лактозы, оцениваемая относительно сладости сахарозы, равна 20 единицам, а сладость глюкозы и галактозы составляет 70 и 30 единиц соответственно.

Способностью к расщеплению лактозы обладают  $\beta$ -галактозидазы (лактазы) растительного, животного и микробного происхождения. Лактазы растительного и животного происхождения нередко непригодны для целевого использования в силу

малой активности и высокой себестоимости, поэтому чаще всего в производстве применяются ферменты микробного происхождения [10].

В качестве промышленных продуцентов лактазы используют дрожжи, плесневые грибы и бактерии. При этом оптимальные условия применения ферментов, полученных из разных видов микроорганизмов, различны, особенно в pH-диапазоне («кислые» и «нейтральные»). Существует условное деление лактаз на внутриклеточные (продуцируют дрожжи, бактерии и плесневые грибы) и внеклеточные (продуцируют плесневые грибы) [11].

«Кислые» лактазы имеют оптимум действия в диапазоне pH 3,0–5,0, продуцируются промышленными штаммами мицелиальных грибов *Aspergillus niger* и *Aspergillus oryzae*. К продуцентам «нейтральных» лактаз, оптимум которых лежит в диапазоне pH 6,0–8,0 относят дрожжи *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, бактериальные культуры *Escherichia coli*, термофильные виды рода *Lactobacillus*, *Leuconostoc citrovorum* [12].

Наибольшее применение в технологии находят ферменты с повышенной лактазной активностью, поиском которых озадачены многие исследователи. Так, например, проводились исследования по изучению в качестве микроорганизмов-продуцентов следующих микроорганизмов:

- микроскопические грибы *Penicillium canescens* F178;
- бактерии *Bacillus subtilis* B2273, *Bacillus coagulans* B4521 и *Streptococcus thermophilus* B5329;
- дрожжи *Kluyveromyces marxianus* Y3240 и *Kluyveromyces lactis* Y3268.

Исследователями установлено, что среди изученных штаммов микроорганизмов наибольшей продуктивностью обладают дрожжи вида *Kluyveromyces marxianus*, наименьшая β-галактозидазная активность отмечается у штамма *Streptococcus thermophilus* [13].

В настоящее время продолжают исследования β-галактозидаз, выделяемых бактериальными клетками [14], а также по получению ферментов с использованием генномодифицированных микроорганизмов [15].

Оптимальный pH действия внеклеточной β-галактозидазы плесеней – 3,6–5,3, при этом она более стабильна, но менее активна, чем внутриклеточная β-галактозидаза дрожжей и бактерий [16]. Примерами таких ферментов являются: препарат «Neolactase», значение оптимума pH которого сдвинуто в «кислую» сторону (pH=4,5) и «Лактоканесцин» (Россия) (pH=4,0–5,0). Имеются сведения об очищенном препарате β-галактозидазы «Lactafree», продуцентом которой являются штаммы плесневых грибов *Aspergillus oryzae* с оптимумом действия при температуре 42 °С и pH среды от 4,0 до 7,5 [17].

Наиболее изученными и широко распространенными на рынке лактазами являются ферменты, выделяемые из дрожжевых клеток, оптимум действия которых лежит в диапазоне температур от 30 до 40 °С [18, 19, 20]. При этом проявлять свою активность данные ферменты способны и в условиях более низких температур (до 5–10 °С), что является особо важным в случае необходимости сдерживания роста спорообразующих бактерий и психротрофных микроорганизмов.

В нейтральной среде ( $\text{pH} = 6,5 \pm 0,5$ ), соответствующей активной кислотности молока, наибольшую активность проявляют препараты лактазы, полученные из дрожжей рода *Kluyveromyces*. Свою активность они теряют, как и  $\beta$ -галактозидазы грибного происхождения, при температуре выше  $65^\circ\text{C}$  [21].

Основными видами дрожжей-продуцентов  $\beta$ -галактозидаз считаются *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marheanus*, *Kluyveromyces Fragilis* и *Saccharomyces lactis*. Однако именно *Kluyveromyces lactis* на сегодняшний день является одним из самых важных источников  $\beta$ -галактозидазы. Оптимум  $\text{pH}$   $\beta$ -галактозидазы, продуцентом которой является *Kluyveromyces lactis*, составляет  $6,5-7,3$ , температурный оптимум –  $37^\circ\text{C}$ . Популярность этого фермента в пищевой отрасли связана с его распространенностью и высокой гидролизной активностью. Данный фермент выпускается рядом компаний под разными торговыми марками и широко представлен на российском рынке (табл. 1).

Таблица 1

Ассортимент выпускаемых  $\beta$ -галактозидаз (лактаз)

Название	Единицы активности <sup>7</sup>	Производитель
Лактазис 6500К	6500 ед/г	Карпина (Россия)
Astrolact LX2000	2000 NLU/g	Calza Clemente (Италия)
Astrolact LX5000	5000 NLU/g	
Biolactase L20	20000 GU/ml	Kerry Bio-Science (Ирландия)
Lactozym Pure 2600 L	2600 LAU/g	Novozymes A/S (Дания)
Lactozym Pure 6500 L	6500 LAU/g	
GODO-YNL2	5000 NLU/g	Godo Shusei Company Limited (Япония)
Ha-Lactase 2100	2100 NLU/g	Chr. Hansen (Дания)
Ha-Lactase 5200	5200 NLU/g	
Mayalact L 5000	5500 NLU/g	Mayasan A.S (Турция)
Maxilact L/2000	2000 NLU/g	DSM Food Specialties (Нидерланды)
Maxilact LX5000	5000 NLU/g	Sedim Cedex (Франция)

Одним из первых производителей лактазы, выделенной из *Bifidobacterium bifidum*, выступила датская компания Chr. Hansen. Донором для этой  $\beta$ -галактозидазы («NOLA Fit 5500») служит *Bifidobacterium bifidum*, продуцентом – *Bacillus licheniformis*. Изготавливается она путем глубокой ферментации растительного субстрата с использованием отобранного штамма *Bacillus licheniformis*, который в конечном продукте отсутствует. Препарат представляет собой жидкую высокоочищенную лактазу премиум-класса, пригодную для изготовления как безлактозного молока, так и кисломолочных продуктов и сыров;  $\text{pH}$  ее действия колеблется в диапазоне  $5,40-7,00$  [12].

<sup>7</sup> Количество единиц ферментной активности указывается на 1 грамм сухого вещества или миллилитр, которое записывают в единицах Е (единицах), NLU (Neutral Lactase Unit) или других, поскольку для них не существует общепринятого международного стандарта.

Также с использованием *Bifidobacterium bifidum* получают препарат β-галактозидазы «Saphera 2600 L» (компания Novozymes, Дания), оптимум действия рН которого колеблется в диапазоне 5,0–7,0; оптимальная температура действия от 20 до 60 °С.

При этом перечень разрешенных для применения в пищевой промышленности штаммов-продуцентов технологических микроорганизмов согласно ТР ТС 029/2012 (Приложение 26, таблица 2) ограничен микроорганизмами видов *Saccharomyces cerevisiae*, *Penicillium vitale*, *Rhizopus pigmaues*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Kluuveromyces fragilis*, *Kluuveromyces lactis* [22].

Как видно из табл. 1, большинство представленных на рынке лактаз имеет импортное происхождение. В связи с чем имеется острая необходимость в импортозамещении качественных лактаз, что позволило бы упростить логистику и в конечном итоге снизить себестоимость безлактозной продукции.

Процесс ферментативного гидролиза лактозы требует учета активности фермента, начального количества лактозы в исходном сырье, контроля диапазона рабочих температур во время гидролиза и продолжительности воздействия фермента. Как правило, производители фермента предоставляют изготовителю низколактозного и безлактозного молока рекомендации по дозам внесения фермента, которые варьируются в широких диапазонах. Дополнительно может быть представлен так называемый «калькулятор», который позволяет рассчитать необходимую дозу фермента для требуемой степени гидролиза с учетом указанных выше параметров процесса. Для других молочных основ требуется корректировка доз с учетом особенностей их состава и температурно-временных параметров технологического процесса.

Безусловно, для правильного применения фермента изготовитель молочной продукции должен внимательно изучить спецификацию фермента и рекомендации изготовителя, оценив, насколько принятые в технологическом процессе режимы могут повлиять на эффективность проявления его свойств. На практике встречаются случаи использования производителями лактаз «универсального применения» как для получения кисломолочных продуктов, так и продуктов, вырабатываемых без применения закваски. Однако подходы при выборе фермента для производства того или иного продукта должны быть различны:

- при производстве неферментируемых (несквашенных) продуктов на основе молока или сливок, как правило, процесс гидролиза осуществляют при более низких температурах, чем оптимальная температура действия данного фермента, но применяют более длительную выдержку. Эту выдержку часто совмещают с процессом промежуточного хранения сырья до переработки при низких плюсовых температурах во избежание развития микробиологических процессов порчи. При этом для достижения необходимой степени гидролиза требуется более высокая доза внесения фермента;

- при выборе фермента для ферментируемых (кисломолочных) продуктов важным является то, каким образом планируется проведение технологического процесса (предварительный гидролиз сырья или совмещение процесса гидролиза со сквашиванием).

При проведении предварительного гидролиза выбирают фермент, активно действующий в нейтральной среде, применяя указанные выше подходы к выбору температурно-временных режимов ферментирования (гидролиза лактозы).

Так, например, нами установлено, что в случае необходимости достижения максимальной степени гидролиза лактозы в сливках средней жирности, применяемых для производства безлактозного сливочного масла, оптимальными параметрами процесса должны быть: выдержка сливок при температуре 5–10 °С в течение 4–24 часов. Доза фермента активностью 20000 GU/ml, продуцентом которого является *Kluveromyces lactis* варьируется в диапазоне от 0,05 до 0,16 % и снижается по мере увеличения выдержки и повышения температуры ферментирования [23].

В случае совмещения процесса гидролиза со сквашиванием в зарубежной практике встречается применение комбинации ферментов, имеющих близкий температурный оптимум действия, совпадающий с температурой сквашивания, но работающих в разных рН среды (нейтральной и кислой) [24, 25]. Из рис. 1 и 2 видно, что фермент на основе *Kluveromyces lactis* проявляет активное действие на начальном этапе процесса и во время лаг-фазы развития заквасочной микрофлоры. При уровне рН=5,5 и ниже его активность существенно снижена, а при рН=4,0 происходит его инактивация. В свою очередь, фермент на основе *Bacillus licheniformis* подключается к процессу гидролиза лактозы в момент приобретения системой пониженного уровня рН и продолжает действовать до уровня рН=4,5, проявляя свои свойства и при более низком уровне, в отличие от фермента, полученного из *Kluveromyces lactis*.

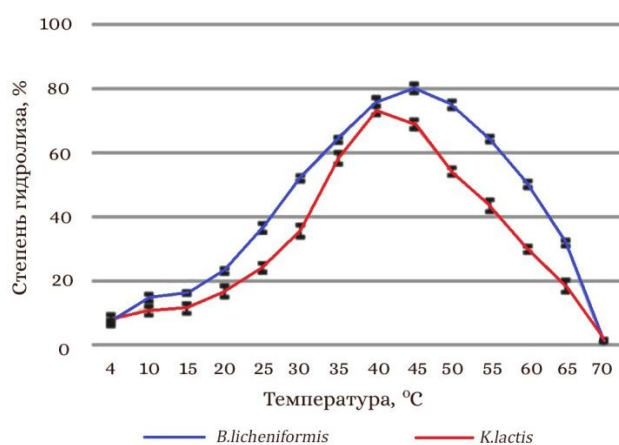


Рисунок 1. Зависимость степени гидролиза лактозы в молоке при использовании ферментов разного происхождения в температурном диапазоне от 4 до 70 °С [24]

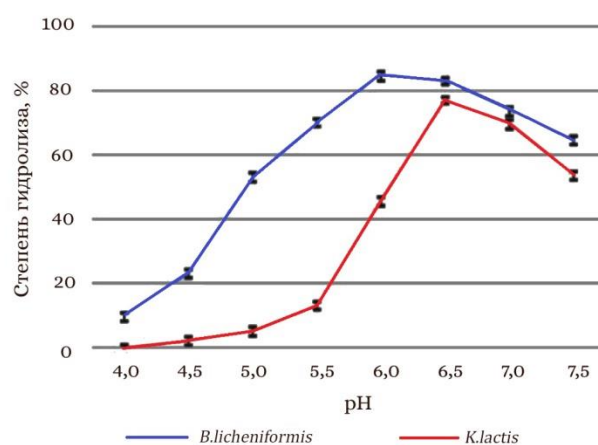


Рисунок 2. Зависимость степени гидролиза лактозы в молоке при использовании ферментов разного происхождения в диапазоне pH от 4,0 до 7,5 [24]

Подобный прием может быть применим как при изготовлении кисломолочных напитков, так и при производстве творога, мягкого сыра и сметаны. Он позволяет обеспечить максимальную степень гидролиза лактозы, снижая риски получения продукта, несоответствующего требованиям критериям «безлактозности».

Таким образом, выбор фермента и параметры ферментативного гидролиза, проводимого с целью снижения содержания лактозы в молочных продуктах, должны быть обоснованы с учетом знаний об источнике используемого фермента, его свойствах и области эффективного действия. Это позволит производителю грамотно интегрировать процесс ферментирования (гидролиза) лактозы в базовый процесс производимого продукта, обеспечив его высокое качество и соответствие требованиям ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочных продуктов» в части соответствия требованиям, установленным для безлактозных продуктов.

**Список использованной литературы:**

1. **Пономарев, А.Н.** Способ производства безлактозного творога / А.Н. Пономарев, А.А. Мерзликина, А.Н. Лосев, Н.В. Пономарева, В.Е. Мерзликин // Патент на изобретение RU 2698064 С1, 21.08.2019.
2. **Пономарев, А.Н.** Способ производства безлактозного творога из топленого молока / А.Н. Пономарев, А.А. Мерзликина, А.Н. Лосев, Н.В. Пономарева, В.Е. Мерзликин, В.Н. Самойлова, О.В. Еремина, К.К. Полянский // Патент на изобретение RU 2698066 С1, 21.08.2019.
3. **Пономарев, А.Н.** Способ производства безлактозного кефира / А.Н. Пономарев, А.А. Мерзликина, А.Н. Лосев, Н.В. Пономарева, В.Е. Мерзликин // Патент на изобретение RU 2698070 С1, 21.08.2019.
4. **Пономарев, А.Н.** Способ производства безлактозной ряженки / А.Н. Пономарев, А.А. Мерзликина, А.Н. Лосев, Н.В. Пономарева, В.Е. Мерзликин // Патент на изобретение RU 2698076 С1, 21.08.2019.
5. **Пономарев, А.Н.** Способ производства безлактозного йогурта / А.Н. Пономарев, А.А. Мерзликина, А.Н. Лосев, Н.В. Пономарева, В.Е. Мерзликин // Патент на изобретение RU 2698079 С1, 21.08.2019.
6. **Пономарев, А.Н.** Производство безлактозного творога кислотным способом / А.Н. Пономарев, А.А. Мерзликина, А.Н. Лосев, Н.В. Пономарева, В.Е. Мерзликин // Патент на изобретение RU 2698128 С1, 22.08.2019.
7. **Никитина, Ю.В.** Современные тренды в создании низколактозных и безлактозных продуктов / Ю.В. Никитина, Е.В. Топникова // Молочная промышленность. 2024. № 4. С. 41–49. <https://doi.org/10.21603/1019-8946-2024-4-8>
8. **Ivory, R.** Determination of Lactose Concentration in Low-Lactose and Lactose-Free Milk, Milk Products, and Products Containing Dairy Ingredients, Enzymatic Method: Single-Laboratory Validation First Action Method 2020.08 / R. Ivory, E. Delaney, D. Mangan, B.V. McCleary // Journal of AOAC International. 2021. 104(5). P. 1308–1322. <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsab032>
9. **Гаврилов, В.Г.** Разработка и исследование технологии производства безлактозного молока: автореферат дисс....канд. техн. наук. – Кемерово, 2014. – 19 с.
10. **Суфьянова, Л.М.** Некоторые аспекты производства низколактозных продуктов / Л.М. Суфьянова // Студенческая наука и XXI век. 2020. Т. 17. № 1(19). Ч. 1. С. 207–209.
11. **Рябцева, С.А.** Современные методы получения  $\beta$ -галактозидаз / С.А. Рябцева, А.А. Скрипнюк // Наука. Инновации. Технологии. 2014. № 3. С. 197–204.
12. **Богданова, Л.Л.** Анализ современного рынка ферментных препаратов лактазы / Л.Л. Богданова, В.В. Ковалева // Сборник научных трудов «Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья». – 2023. – № 17. Технология молочных продуктов. С. 226–234.
13. **Петров, А.Н.** Исследование штаммов микроорганизмов, обладающих  $\beta$ -галактозидазной активностью, и их анализ / А.Н. Петров, А.С. Матвеев, М.Н. Стрижко // Техника и технология пищевых производств. 2013. № 1. С. 16–20.
14. **Хазраткулова, М.И.** Источники  $\beta$ -галактозидаз и перспектива их использования / М.И. Хазраткулова, Т.Дж. Каражанова // International Scientific Journal Science and Innovation. 2023. Т. 2. № 8. С. 1234 – 1240. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8372545>

15. **Czyzewska, K.** Encapsulated NOLA Fit 5500 Lactase – An Economically Beneficial Way to Obtain Lactose-Free Milk at Low Temperature / K. Czyzewska, A. Trusek // *Catalysts*. 2021. 11(5). С. 527. <https://doi.org/10.3390/catal11050527>
16. **Seyis, I.** Production of lactase by *Trichoderma* sp. / I. Seyis, N Aksoz. // *Food technol biotechnol*. 2004. V. 42. P. 121–124.
17. **Трушина, Ю.В.** Применение фермента «Lactofree» при получении низколактозных продуктов / Ю.В. Трушина // *Молочная промышленность*. 2014. № 11. С. 31–32.
18. **Крысанова, Ю.И.** Фермент β-галактозидаза, выделяемая из дрожжей вида *Kluveromyces lactis*, для гидролиза лактозы в молоке / Ю.И. Крысанова // *Молочная река*. 2021. № 4 (84). С. 54–55.
19. **Петрова, Е.Н.** Изучение процессов ферментативного гидролиза лактозы. НПК «Наука молодых» 18.06.2021 г. – С. 250–254.
20. **Бессонова, О.В.** Исследование гидролиза лактозы в молоке с использованием фермента «Maxilact» / О.В. Бессонова, Д.С. Рябкова // *Вестник омского государственного аграрного университета*. 2011. Т.1. № 1. С. 81–84.
21. **Калинина, Е.Д.** Исследование и установление технологических параметров проведения гидролиза лактозы молока / Е.Д. Калинина, А.В. Коваленко // *Технологии и оборудование пищевых производств*. 2014. № 1/10 (67). С. 26–31.
22. **Гаврилова, Н.Б.** Исследование процесса гидролиза лактозы обезжиренного молока-сырья для производства сырного продукта / Н.Б. Гаврилова, Д.С. Рябкова // *Техника и технология пищевых производств*. 2011. №4(23). С. 11-13.
23. **Топникова, Е.В.** Исследование закономерностей гидролиза лактозы в сливках-сырье для производства безлактозных и низколактозных продуктов маслodelия / Е.В. Топникова, Ю.В. Никитина, Е.Г. Овчинникова, И.Т. Смыков // *Пищевая промышленность*. 2025. №4. С. 135–139. <https://doi.org/10.52653/PPI.2025.4.4.025>
24. **Popescu, L.** Effect of Temperature, pH and Amount of Enzyme Used in the Lactose Hydrolysis of Milk / L. Popescu, V. Bulgaru, R. Siminiuc // *Food and Nutrition Sciences*. 2021. №12, P. 1243-1254. <https://doi.org/10.4236/fns.2021.1212091>
25. **Popescu, L.** Effects of lactose hydrolysis and milk type on the quality of lactose-free yoghurt / L. Popescu, V. Bulgaru, R. Siminiuc // *Journal of Engineering Science*. 2023. 29(4). P. 164-175. [https://doi.org/10.52326/jes.utm.2022.29\(4\).13](https://doi.org/10.52326/jes.utm.2022.29(4).13)