

УДК 637.12.04/.07

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-352-9-42-45>

Краткий обзор/Brief review

**Жижин Н.А.**

ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», 115093, Россия, г. Москва, ул. Люсиновская, д.35

E-mail: zhizhinmoloko@mail.ru

**Ключевые слова:** низколактозное молоко, пептидный профиль, хранимоспособность

**Для цитирования:** Жижин Н.А. Исследование влияния фермента  $\beta$ -галактозидаза на хранимоспособность низколактозного молока. Аграрная наука. 2021; 352 (9): 42–45.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-352-9-48-51>**Конфликт интересов отсутствует****Nikolay A. Zhizhin**

All-Russian Research Institute of the Dairy Industry; 35, Lyusinovskaya str., Moscow, 115093, Russia.  
E-mail: zhizhinmoloko@mail.ru

**Key words:** low-lactose milk, peptide profile, storage capacity

**For citation:** Zhizhin N.A. Investigation of the effect of  $\beta$ -galactosidase enzyme on the storage capacity of low-lactose milk. Agrarian Science. 2021; 352 (9): 42–45. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2021-352-9-42-45>**There is no conflict of interests**

## Исследование влияния фермента $\beta$ -галактозидаза на хранимоспособность низколактозного молока

### РЕЗЮМЕ

В статье рассмотрено влияние фермента  $\beta$ -галактозидаза на хранимоспособность молока с гидролизованной лактозой. Для этой цели были проведены параллельные исследования образца молока стерилизованного и низколактозного молока, произведенного на его основе. В качестве критерия оценки хранимоспособности молока, прошедшего ферментативное разложение лактозы, использовался пептидный профиль. Оценка состояния пептидного профиля в процессе хранения снималась в трех контрольных точках — 30, 60 и 90 дней. Исследования показали, что на второй контрольной точке были выявлены пептиды, характеризующие протеолитическую активность, протекающую в продукте. Исследование третьей контрольной точки выявило наличие низкомолекулярных пептидов, отвечающих за горький вкус в молоке. Параллельные исследования стерилизованного молока без добавления фермента изменений пептидного профиля не выявили. Проведенные исследования указывают на то что, фермент  $\beta$ -галактозидаза обладает остаточной протеолитической активностью, которая негативно сказывается на хранимоспособности низколактозного молока и, как следствие, продукции, произведенной на его основе.

## Investigation of the effect of $\beta$ -galactosidase enzyme on the storage capacity of low-lactose milk

### ABSTRACT

The article discusses the effect of the  $\beta$ -galactosidase enzyme on the storage capacity of milk with hydrolyzed lactose. For this purpose, parallel studies of a sample of sterilized milk and low-lactose milk, produced on its basis, were carried out. The peptide profile was used as a criterion for assessing the storage capacity of milk that underwent enzymatic decomposition of lactose. Assessment of the state of the peptide profile during storage was recorded at three control points — 30, 60 and 90 days. Studies have shown that at the second checkpoint, peptides were identified that characterize the proteolytic activity in the product. The third checkpoint study revealed the presence of low molecular weight peptides responsible for the bitter taste in milk. Parallel studies of sterilized milk without the addition of the enzyme did not reveal any changes in the peptide profile. The studies carried out indicate that the  $\beta$ -galactosidase enzyme has a residual proteolytic activity, which negatively affects the storage capacity of low-lactose milk and, as a consequence, the products, produced on its basis.

Поступила: 19 июля  
После доработки: 29 июля  
Принята к публикации: 11 сентября

Received: 19 July  
Revised: 29 July  
Accepted: 11 September

## Введение

В настоящее время рынок безлактозной молочной продукции значительно увеличился и продолжает нарастать [1]. Это связано с тем, что развитие медицины позволило установить непереносимость лактозы у широких слоев населения [2, 3]. Это, в свою очередь, привело к установлению устойчивого спроса на низколактозные и безлактозные молочные продукты.

Что касается молока, то признание потребителем продукции в первую очередь основывается на сенсорных характеристиках. Следовательно, при изготовлении молока с гидролизованной лактозой наибольший приоритет следует отдавать вкусо-ароматическим качествам [4].

При анализе низколактозного молока отмечается повышенная сладость, не характерная для органолептических показателей обычного молока [5]. Также некоторых работах отмечено усиление горького вкуса в процессе хранения низколактозного молока [6], что может являться следствием усиления протеолитической активности ферментов после проведения процесса гидролиза лактозы.

За протеолитическую активность в молоке отвечает главным образом плазмин и термостойкие ферменты микробного происхождения. Под влиянием этих ферментов происходит образование пептидов и свободных аминокислот, которые оказывают влияние на образование горечи [7].

Свободные аминокислоты, которые образуются за счет обширного протеолиза посредством экзопептидазы, также становятся частью текущих реакций Майяра за счет образования альдегида Стрекера и способствуют образованию ароматических соединений [8].

Исследования протеолитической активности в стерилизованном молоке с гидролизованной лактозой установили снижение уровня интактного aS1-казеина (aS1-CN) и b-CN [9].

Таким образом, возможно, что применение ферментативного гидролиза лактозы оказывает влияние на хранимоспособность безлактозной молочной продукции посредством проявления протеолитической активности в ходе жизненного цикла выработанной продукции [10,11].

В данной работе было проведено исследование пептидного профиля стерилизованного молока и молока, прошедшего ферментативное разрушение лактозы, в процессе хранения как фактора, влияющего на хранимоспособность низколактозной молочной продукции.

## Методика

В качестве объекта исследования был использован коммерческий образец стерилизованного молока. Данный образец был разделен на две части, одна из которых была обработана ферментом  $\beta$ -галактозидаза. В качестве фермента был использован препарат Colief (Кросска Лтд., Ирландия). Фермент добавлялся в пропорции 180 мг (810 е.а.) на 100 г молока.

Полученные образцы были асептически упакованы и оставлены на хранение в кондиционируемом помещении при температуре 22 °С.

Исследование пептидного профиля контрольного образца молока и молока с введенным ферментом проводили на точках 30, 60 и 90 дней.

Для оценки степени гидролиза лактозы и анализа пептидного профиля использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Анализ был проведен посредством хроматографической системы «Маэстро» (Россия).

Для исследования состава моно- и дисахаридов молока были использованы следующие условия хроматографирования: для углеводов применялась колонка ZORBAX Carbohydrate 4,6×250 мм, 5 микрон. Элюирование проводилось посредством раствора ацетонитрила и воды (65:25) в изократическом режиме со скоростью потока 1 см<sup>3</sup>/мин, при температуре 40 °С.

Анализ пептидного профиля был произведен посредством хроматографической колонки ZORBAX 300SB-C8 4,6×150 мм, 5 микрон. Элюирование проводили в градиентном режиме. Элюент А — вода, 0,1% трифторуксусной кислоты (ТФУ). Элюент Б — ацетонитрил, 0,1% ТФУ. Программирование градиента проводили в прямом режиме, от 5% до 95% элюента Б за 35 мин.

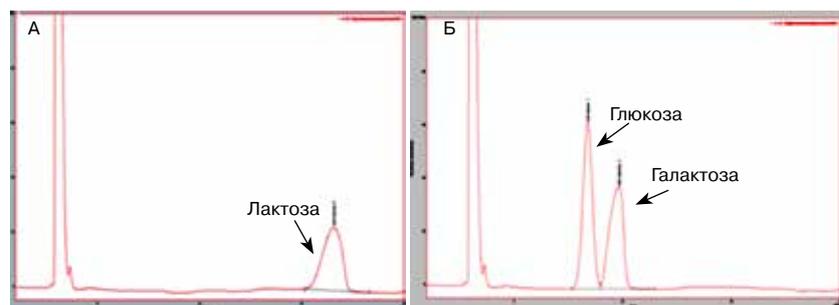
Для обработки результатов хроматографического анализа применялось программное обеспечение Clarity.

## Результаты

Для оценки эффективности применяемого препарата  $\beta$ -галактозидазы был проведен хроматографический анализ состава моно- и дисахаридов контрольного об-

**Рис. 1.** Хроматограмма состава моно- и дисахаридов молока до гидролиза лактозы (А) и после гидролиза (Б)

**Fig. 1.** Chromatogram of the composition of milk mono- and disaccharides before hydrolysis of lactose (A) and after hydrolysis (B)



**Рис. 2.** Хроматограмма пептидного профиля ферментированного молока на начале срока хранения

**Fig. 2.** Chromatogram of the peptide profile of fermented milk at the beginning of the shelf life

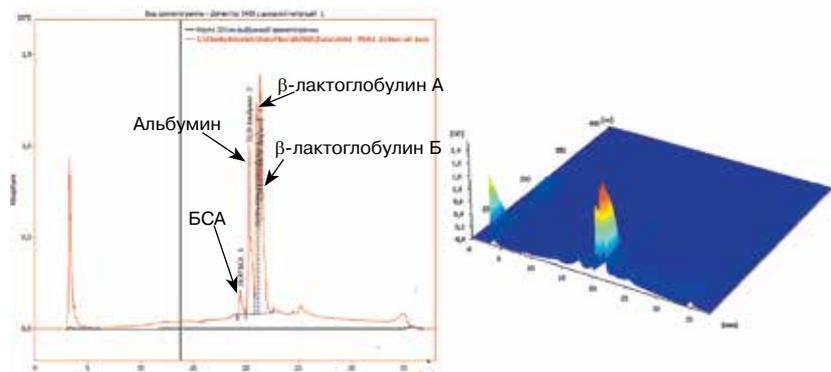


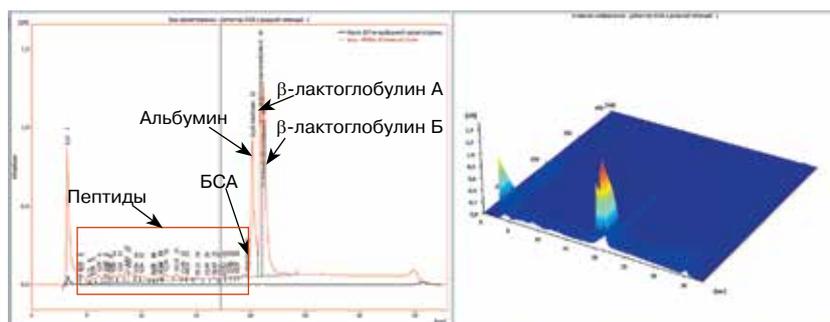
Таблица 1. Молекулярно-массовое распределение пептидов молока, прошедшего ферментативный гидролиз лактозы

Table 1. Molecular weight distribution of peptides in milk that underwent enzymatic hydrolysis of lactose

Срок хранения	Пептиды массой до 3,5 кДа, %	Пептиды массой 3,5–5,0 кДа, %	Пептиды массой 5,0–10,0 кДа, %	Пептиды массой более 10 кДа, %
30 дней	–	–	–	100
60 дней	–	1,72	–	98,28
90 дней	3,15	4,38	2,46	90,01

Рис. 3. Хроматограмма пептидного профиля ферментированного молока на сроке хранения 90 дней

Fig. 3. Chromatogram of the peptide profile of fermented milk at a shelf life of 90 days



разца и образца с применением ферментного препарата (рисунок 1).

Согласно полученным данным применение ферментного препарата позволило провести полный гидролиз лактозы.

Далее было проведено исследование пептидного состава контрольного образца стерилизованного молока и молока, прошедшего ферментацию (рисунок 2).

Показано, что на начальном этапе хранения оба образца содержат характерные для молока сывороточные белки, а низкомолекулярные пептиды не обнаруживаются.

В процессе заложенного срока хранения были проанализированы еще три контрольные точки. Данные, полученные в ходе исследования, приведены в таблице 1.

Согласно полученным данным, на контрольной точке 60 дней хранения в ферментированном молоке было обнаружено наличие пептидов массой от 3,5 до 5,0

кДа, что свидетельствует о протекании протеолитического процесса. Анализ третьей контрольной точки подтвердил полученные данные. На сроке 90 дней хранения были выявлены низкомолекулярные пептиды массой до 3,5 кДа, что то позволяет сделать вывод о том, что процесс протеолиза продолжает развиваться (рисунок 3).

Параллельный анализ контрольного образца стерилизованного молока на протяжении установленного срока изменений в профиле пептидов не установил. Молекулярно-массовое распределение осталось на том же уровне, что и в контрольной точке измерения.

### Выводы

В ходе проведения исследования установлено, что применение фермента β-галактозидаза для получения низколактозного молока оказывает влияние на протекание протеолиза в течение жизненного цикла выработанной продукции.

Показано, что изменение белкового профиля происходит уже на 60-й день хранения молока, прошедшего ферментацию. А на 90-й день хранения выявляются низкомолекулярные пептиды массой до 3,5 кДа, которые, согласно исследованиям, отвечают за горький вкус молока.

Исследования контрольного образца стерилизованного молока на тех же сроках хранения подобных пороков не выявили, что также подтверждает факт участия в протекании протеолитических процессов белковой фракции молока фермента β-галактозидаза.

На основании полученных данных можно сделать вывод о снижении хранимоспособности молока, прошедшего процесс ферментативного гидролиза лактозы, и, как следствие, молочной продукции, выработанной на его основе.

Устранение остаточной протеолитической активности может представлять интерес для увеличения сроков годности молока и молочной продукции с гидролизованной лактозой и требует дальнейшего изучения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. «Milknews» - новости молочного рынка. Электронный ресурс [https://milknews.ru/interviu\\_i\\_blogi/bezlaktoznoe\\_molokovku\\_svill.html](https://milknews.ru/interviu_i_blogi/bezlaktoznoe_molokovku_svill.html) [28 февраль, 2021].
2. Абатуров, Е.А., Никулина А.А., Петенко Л.Л. Лактазная недостаточность у детей. *Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии*. 2015; Т 7. С. 51-63.
3. Мухина, Ю.Г., Шумилов П.В., Дубровская М.И. Лактазная недостаточность у детей: опыт применения фермента лактаза. *Вопросы практической педиатрии*. 2010; Т.5. (№5):77-84.
4. Adhikari, K., Dooley, L. M., Chambers, E., & Bhumiratana, N. Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. *LWT-Food Science and Technology*. 2010; 43:113-118.
5. Chapman, K. W., Lawless, H. T., & Boor, K. J. Quantitative descriptive analysis and principal component analysis for sensory characterization of ultrapasteurized milk. *Journal of Dairy Science*. 2001; 84:12-20.
6. Jensen, S., Jansson, T., Eggers, N., Clausen, M. R., Larsen,

L. B., Jensen, H. B., et al. Storage-induced changes in the sensory characteristics and volatiles of conventional and lactose-hydrolyzed UHT processed milk. *European Food Research and Technology*. 2015; 240:1247-1257.

7. Rauh, V. M., Johansen, L. B., Ipsen, R., Paulsson, M., Larsen, L. B., & Hammershøj, M. (2014). Plasmin activity in UHT milk: Relationship between proteolysis, age gelation, and bitterness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014; 62:6852-6860. DOI:10.1021/jf502088u

8. Colahan-Sederstrom, P. M., & Peterson, D. G. Inhibition of key aroma compound generated during ultrahigh-temperature processing of bovine milk via epicatechin addition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53: 398-402.

9. Jansson, T., Jensen, H. B., Sundekilde, U. K., Clausen, M. R., Eggers, N., Larsen, L. B., et al. Chemical and proteolysis-derived changes during long-term storage of lactose-hydrolyzed ultrahigh-temperature (UHT) milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014;62:11270-11278.

10. Юрова, Е.А., Фильчакова С.А. Оценка качества и храни-

мособности молочной продукции функциональной направленности. *Переработка молока*. 2019; №10:6-11.

11. Юрова, Е.А., Фильчакова С.А. Разработка ускорен-

ных методов определения срока годности продуктов функциональной направленности. *Молочная промышленность*. 2021; №7:33-36.

## REFERENCES

1. Milknews " - news of the dairy market. Electronic resource [https://milknews.ru/interviu\\_i\\_blogi/bezlaktoznoe\\_moloko\\_vkusvill.html](https://milknews.ru/interviu_i_blogi/bezlaktoznoe_moloko_vkusvill.html) [Accessed 28 February, 2021].
2. Abaturov, E.A. Lactase deficiency in children. *International Journal of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology*. 2015; T.7.51-63. (In Russ.)
3. Mukhina, Yu.G. Lactase deficiency in children: experience of using the enzyme lactase. *Questions of practical pediatrics*. 2010; T. 5 (№5): 77-84 (In Russ.).
4. Adhikari, K., Dooley, L. M., Chambers, E., & Bhumiratana, N. Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. *LWT-Food Science and Technology*. 2010; 43:113-118.
5. Chapman, K. W., Lawless, H. T., & Boor, K. J. Quantitative descriptive analysis and principal component analysis for sensory characterization of ultrapasteurized milk. *Journal of Dairy Science*. 2001; 84:12-20.
6. Jensen, S., Jansson, T., Eggert, N., Clausen, M. R., Larsen, L. B., Jensen, H. B., et al. Storage-induced changes in the sensory characteristics and volatiles of conventional and lactose-

hydrolyzed UHT processed milk. *European Food Research and Technology*. 2015; 240:1247-1257.

7. Rauh, V. M., Johansen, L. B., Ipsen, R., Paulsson, M., Larsen, L. B., & Hammershoj, M. (2014). Plasmin activity in UHT milk: Relationship between proteolysis, age gelation, and bitterness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014; 62:6852-6860. DOI: 10.1021/jf502088u
8. Colahan-Sederstrom, P. M., & Peterson, D. G. Inhibition of key aroma compound generated during ultrahigh-temperature processing of bovine milk via epicatechin addition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53: 398-402.
9. Jansson, T., Jensen, H. B., Sundekilde, U. K., Clausen, M. R., Eggert, N., Larsen, L. B., et al. Chemical and proteolysis-derived changes during long-term storage of lactose-hydrolyzed ultrahigh-temperature (UHT) milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014; 62:11270-11278.
10. Yurova, E.A., Filchakova S. A. Assessment of the quality and storage capacity of functional dairy products. *Processing of milk*. 2019; №10:6-11 (In Russ.).
11. Yurova, E.A., Filchakova S. A. Development of accelerated methods for determining the shelf life of functional products. *Dairy industry*. 2021; №7:33-36 (In Russ.).

## ОБ АВТОРЕ:

**Жижин Николай Анатольевич**, кандидат технических наук, научный сотрудник

## ABOUT THE AUTHORS:

**Zhizhin Nikolaj Anatolevich**, Candidate of Technical Sciences, Researcher

# НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ • НОВОСТИ •

## В РФ средний надой молока от одной коровы за сутки составил 17,89 кг

По оперативным данным Минсельхоза России, по состоянию на 13 сентября суточный объем реализации молока сельскохозяйственными организациями составил 49,965 тыс. т, что на 2,7% (1,332 тыс. т) больше показателя за аналогичный период прошлого года. Об этом сообщила пресс-служба ведомства.

Максимальные объемы реализации достигнуты в Республике Татарстан, Краснодарском крае, Удмуртской Республике, Воронежской, Кировской, Свердловской, Ленинградской, Белгородской, Московской и Новосибирской областях.

Средний надой молока от одной коровы за сутки составил 17,89 кг, что на 0,78 кг больше показателей 2020 года. Лидерами среди российских регионов являются Ленинградская, Калининградская, Пензенская, Липецкая, Тульская, Владимирская, Кировская, Калужская, Белгородская, Вологодская, Воронежская, Рязанская, Московская, Свердловская области. А также – Краснодарский край, республики Крым и Карелия. В этих регионах получено более 20 кг молока в расчете на 1 корову.

## Импорт молочной продукции в РФ в текущем году составил 573,8 тыс. тонн

Экспорт молока и молочной продукции из России с начала текущего года вырос на 59%, по сравнению с аналогичным прошлогодним периодом, и составил 122,5 тыс. т, сообщила Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору.

Среди основных покупателей данной категории товаров – Украина (31,6 тыс. т), Казахстан (28,8 тыс. т), Азербайджан (15,7 тыс. т), Белоруссия (10,9 тыс. т) и Узбекистан (3,8 тыс. т). Импорт молочной продукции в РФ с начала нынешнего года составил 573,8 тыс. т, что на 9% меньше, по сравнению с аналогичным периодом 2020 года (633,7 тыс. т).

По данным Россельхознадзора, за указанный период Российская Федерация сократила на 31% закупки молока и негущенных сливок (с 179,8 тыс. т до 123,6 тыс. т). Уменьшились на 21% поставки в страну молочной сыворотки (с 36,1 тыс. т до 28,4 тыс. т). Импорт масла снизился на 3% (с 81,3 тыс. т до 78,9 тыс. т).

Ведомство также сообщило о резком росте экспорта отечественной сельхозпродукции: с начала 2021 года данные показатели достигли отметки в 18,645 млрд долл. Наибольший прирост (+40%) показал вывоз масложировой отрасли, его объемы в денежном выражении составили 4,218 млрд долларов.