Bulletin PV (Bratislava) Roč. 24 (4), č. 2—3, s. 63—68, 1985

Použití β-galaktozidázy v potravinářském průmyslu

MIROSLAV DĚDEK — MILENA KMÍNKOVÁ — JIŘÍ KUČERA

Souhrn. Enzym β-galaktozidáza štěpí hydrolyticky mléčný cukr laktózu na monosacharidy, glukózu a galaktózu. Hlavní význam β-galaktozidázy spočívá v její schopnosti odstranit laktózu z mléka, neboť značné procento populace, zejména dětí, trpí laktózovou intolerancí. Delaktózuje se i mléko, určené pro přípravu některých mlečných výrobků, např. jogurtu. Výhodou takového výrobku je nejen snížený obsah laktózy, ale i zvýšená sladkost bez zvýšené kalorické hodnoty a zbytkový enzym, který pronikne do zažívacího traktu a podílí se na rozkladu laktózy.

Jiným důležitým využitím β-galaktozidázy je výroba sladivých sirupů ze syrovátky, které se používají v potravinářském průmyslu jako náhrada sacharózy v některých potravinářských výrobách. K hydrolýze laktózy se používá jednak enzym volný, jednak vázaný. VÚPP v Praze se zabývá imobilizací komerční β-galaktozidázy z kvasinky *Kluyveromyces fragilis* za účelem výroby glukózo-galaktózového sirupu hydrolýzou laktózy ze syrovátky, určeného pro výrobu mražených smetanových krémů a pro pokusnou výrobu karamel.

Enzym β-galaktozidáza (laktáza), systematické označení 3.2.1.23, štěpí hydrolyticky mléčný cukr laktózu na monosacharidy glukózu a galaktózu. Vlastnosti β-galaktozidázy závisí do značné míry na jejím původu. V průmyslu se používá β-galaktozidáza izolovaná z mikroorganizmů, převážně plísní *Aspergillus niger* [1, 2], *A. oryzae* [3, 4] a kvasinek *Kluyveromyces lactis* [5, 6] a *K. fragilis* [7, 8]. Dříve se věnovala velká pozornost bakteriálnímu enzymu z *Escherichia coli* [9, 10]. Zájem o tento enzym upadá, protože každý enzym, používaný v potravinářském průmyslu, musí vyhovovat hygienické normě a u *E. coli* jsou obavy z možné toxicity. Přesto je však tento enzym předmětem zkoumání některých laboratoří [11—13]. Hledají se nové bakteriální kmeny k produkci β-galaktozidázy, které by měly velkou stabilitu a vysokou tepelnou

Doc. Ing. Miroslav Dědek, DrSc., Ing. Milena Kmínková, Ing. Jiří Kučera, CSc., Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, Na bělidle 21, 150 38 Praha 5 — Smíchov.

odolnost. Pokusy byly provedeny hlavně v oblasti mléčných bakterií, např. *Lactobacillus bulgaricus* [14], *Streptococcus thermophilus* [15] nebo *L. murinus* [16].

Hlavní význam β-galaktozidázy spočívá v její schopnosti odstranit laktózu z mléka. Laktózovou intolerancí trpí značné procento lidí, kteří nemohou bez obtíží konzumovat mléko a mléčné výrobky, obsahující laktózu. Ve světovém měřítku to představuje asi 2/3 veškeré populace. Týká se to především černochů, obyvatel Asie, Středního východu a Latinské Ameriky, ale do značné míry i ostatních obyvatel např. Evropy, nejvíce Britů (25 %) nebo Švýcarů (18 %). U nás v českých zemích je intolerantních jedinců podle odhadu Ministerstva zdravotnictví 10—15 %. Intolerance k laktóze způsobuje nedostatek nebo úplná absence β-galaktozidázy v zažívacím traktu, tj. v tenkém střevě. Tato vada postihuje všechny věkové kategorie, ale nejhůře se projevuje u kojenců a malých dětí, které mohou být ohroženy na životě, protože jsou odkázány na mléčnou výživu.

Neschopnost zpracovávat laktózu se projevuje i u mláďat hospodářských zvířat a představuje v krmivářství vážný problém.

Delaktozace mléka je velmi aktuální a zabývají se jí mnohé výzkumné laboratoře na světě. Např. pro podvyživené obyvatelstvo rozvojových zemí vypracovala švédská firma Tetra Pak postup výroby trvanlivého mléka s enzymem β-galaktozidázou, které vydrží 4—6 měsíců bez chlazení. Laktóza je v tomto mléce odstraněna po 10 dnech skladování. Mléko se testovalo ve školách v Indonesii a Malajsii s výborným výsledkem [17]. Pro obyvatelstvo rozvojových zemí by mohl tento příspěvek k výživě znamenat podstatné zlepšení těžké situace.

Delaktozuje se mléko i pro přípravu některých mléčných výrobků, např. jogurtu. Přirozená jogurtová kultura obsahuje sice enzym β-galaktozidázu, ale jen v malém množství. Enzym se přidává do jogurtové směsi, nejlépe při inokulaci nebo krátce po ní. Výhodou hotového výrobku je snížený obsah laktózy, je lépe stravitelný a vhodný i pro intolerantní jedince. Má zvýšenou sladkost bez zvýšené kalorické hodnoty a zbytkový enzym, který pronikne do zažívacího traktu, se může podílet na rozkladu laktózy. Výhodou je i úspora sacharózy [3].

Druhým neméně důležitým využitím β-galaktozidázy je výroba sladivých sirupů ze syrovátky. Mléko obsahuje 4,5—5 % laktózy, která při zpracování mléka na sýry, tvaroh a kazeín přechází do syrovátky.

Ze syrovátky se laktóza získává většinou ultrafiltrací na vhodných membránách, nebo krystalizací po zahuštění syrovátky. Po zpracování laktózy enzymem β-galaktozidázou se vzniklý produkt, obsahující glukózu a galaktózu, zahustí na 65—75 % sušiny [18]. Sladivý sirup se pak používá v mnoha oborech potravinářského průmyslu.

U nás v českých zemích se největší procento syrovátky (asi 96 %) zužitkovává ke krmení hospodářských zvířat. Jen malá část se využívá v lidské výživě, a to k výrobě laktózy, v pekárenském průmyslu ke zlepšení chuťových vlastností chleba a ve farmaceutickém průmyslu přímo jako čistá laktóza. Způsob využití syrovátky závisí na celkové hospodářské situaci v jednotlivých zemích, na potřebách potravinářského a krmivářského průmyslu a v neposlední řadě i na cenách a dostupnosti používaných sladidel. Glukózo-galaktózový sladivý sirup se v mnoha případech používá právě k náhradě sacharózy, např. při výrobě mražených smetanových krémů nebo v různých nealkoholických nápojích. Sladivé sirupy slouží např. v USA k částečné náhradě sladu při výrobě piva. Výsledné monosacharidy v sirupech mají každý asi dvakrát větší sladivost než laktóza. Při této aplikaci se sladivý sirup musí před zahuštěním demineralizovat, aby slaná chuť nebyla na závadu ve finálních výrobcích.

V mražených pudincích nebo mražených jogurtových dezertech zlepšují chuťové vlastnosti a zamezují pískovité struktuře, vznikající při krystalizaci laktózy.

V čokoládovnách a cukrovinkářském průmyslu zastupuje odsolený sladivý sirup slazené kondenzované mléko v karamelách, ve fondánových výrobcích zvýrazňuje mléčnou chuť bonbonů. Může být použit i do čokoládových polev na mražené smetanové krémy jako náhražka sušeného mléka. Výrobek je méně viskózní a lépe se nanáší.

Sladivé sirupy mají vynikající emulzifikační vlastnosti a dobrou pěnící schopnost (našlehatelnost). Proto se používají do těst na různé sušenky a koláče, kde nahrazují nejen sacharózu a mléko, ale i vejce.

Při výrobě chleba se neodsolené sladivé sirupy přidávají do těsta. Při pečení se příznivě uplatňují vytvářením hnědé kůrky, protože probíhající Mailardova reakce glukózy a galaktózy je čtyřikrát rychlejší než laktózy.

Hydrolyzuje-li se syrovátka, ze které nebyly odstraněny bílkoviny, pak tyto přecházejí do sladivých sirupů, kterých se využívá k přípravě různých salátových omáček nebo pomazánek.

β-galaktozidáza může být vázána společně s buňkami *Saccharomyces cerevisiae* na vhodném nosiči a tento systém je vhodný k výrobě etanolu. Substrátem pro enzym je syrovátkový permeát, ve kterém je laktóza přeměněna na monosacharidy. Glukóza a částečně i galaktóza jsou pak fermentovány kvasinkou na etanol [19].

K hydrolýze laktózy v mléce nebo syrovátce či syrovátkových permeátech se používá enzym β-galaktozidáza jednak v rozpustné, jednak ve vázané formě. Obecné důvody k použití vázaného nebo rozpustného enzymu závisejí hlavně na jeho ceně a dostupnosti, na nákladnosti imobilizačního procesu, na ceně nosiče a na druhu procesu, pro který chceme vázaný nebo rozpustný enzym použít. U β-galaktozidázy se musí přihlížet ještě k velkým obtížím při imobiliza-

ci, zvláště u kvasinkových enzymů, které jsou citlivé k chemikáliím, používaným při imobilizaci. Také stabilita vázané β-galaktozidázy bývá nízká.

Rozpustný enzym se používá zvláště při delaktozaci mléka v obalech. Při zpracování laktózy ze syrovátky je využíván hlavně imobilizovaný enzym, nejčastěji z *Asp. niger* nebo *Asp. oryzae*. Nejvíce se osvědčily vazby na porézní skleněné kuličky [2], keramické bosiče [20], nebo jiné inertní nosiče, jako jsou např. kuličky z umělé hmoty, podobné plexisklu [4].

Výzkumná pozornost je věnována však všem typům vazeb a mnoha druhům nosičů, jak přírodních jako celulóza [21], chitin [22], chitosan [26], kolagen [23], tak syntetických, např. různé pryskyřice [24], polyizokyanát [25] atd.

Naše pracoviště se zabývá imobilizací komerční β-galaktozidázy LAKTOZYM 3000 z kvasinky *Kluyveromyces fragilis* za účelem výroby glukózo-galaktózového sladivého sirupu hydrolýzou laktózy ze syrovátky. Imobilizaci jsme zatím provedli na 11 různých nosičích různými způsoby vazby. Nejúspěšnější byla vazba na DEAHP perlovou celulózu. Navázaná aktivita byla v průměru 16,25 μkat/g nosiče a navázané bílkoviny 9,6 mg/g nosiče.

Mikrobiologický ústav ČSAV v Krči zařadil do svého výzkumného plánu šlechtění a genovou manipulaci s kvasinkou, která by produkovala dostatečné množství β-galaktozidázy potřebné stability. Naše výsledky bychom pak aplikovali na tento nový kvasinkový kmen. Svou další práci chceme zaměřit na hledání dalšího vhodného nosiče a způsobu vazby, které by vyhovovaly nejen po stránce účinnosti vazby, ale zaručovaly i dostatečně dlohou operační stabilitu pro imobilizovaný enzym.

Laboratorní postup výroby sladivých sirupů, který je cílem letošní výzkumné etapy, bude předán k použití mlékárenskému průmyslu, který se sladivými sirupy počítá do mražených smetanových krémů jako s částečnou náhradou sacharózy a čokoládovnám pro pokusnou výrobu karamel.

Literatúra

1. PRENOSIL, J. E. — PETER, J. — BOURNE, J. R.: Enzyme Eng., *5*, 1980, s. 317.
2. PITCHER, W. H., Jr.: Enzyme Eng., *4*, 1978, s. 67.
3. HILGENDORF, M. J.: Cultured Dairy Prod. J., *16*, 1981, s. 167.
4. SPRÖSSLER, B. — PLAINER, H.: Food Technol., *37*, 1983, č. 10, s. 93.
5. GUY, E. J. — BINGHAM, E. W.: J. Dairy Sci., *61*, 1978, s. 147.
6. GIEC, A. — KOSIKOWSKI, F. V.: J. Dairy Sci., *66*, 1983, s. 396.
7. GIEC, A. — KOSIKOWSKI, F. V.: J. Food Sci., *47*, 1982, s. 1892.
8. HERNANDEZ, R. — ASENJO, J. A.: J. Food Sci., *47*, 1982, s. 1895.
9. REGAN, D. L. — DUNNILL, P. — LILLY, M. D.: Biotechnol. Bioeng., *16*, 1974, s. 333.
10. WONDOLOWSKI, M. W. — WOYCHIK, J. H.: Biotechnol. Bioeng., *16*, 1974, s.1633.

11. HANIBAL-FRIEDRICH, O. — CHUN, M. — SERNETZ, M.: Biotechnol. Bioeng., *22*, 1980, s. 157.
12. CASHION, P. — LENTINI, V. — HARRISON, D. — JAVED, A.: Biotechnol. Bioeng., *24*, 1982, s. 1221.
13. BEDDOWS, C. G. — GILL, M. H. — GUTTRIE, J. T.: Biotechnol. Bioeng., *24*, 1982, s. 1371.
14. MAKKAR, H. P. S. — SHARMA, O. P. — NEGI, S. S.: J. Biosci., *3*, 1981, č. 1, s. 7.
15. GREENBERG, N. A. — MAHONEY, R. R.: J. Food Sci., *47*, 1982, s. 1824.
16. MACRIS, M. E. N. — NADRA, M. E. M. a kol.: Current Microbiol., *9*, 1983, s. 99.
17. Anon.: Amer. Dairy Rev., *43*, 1981, č. 4, s. 46.
18. de BOER, R. — ROMIJU, D. J. — STRAALSMA, J.: Neth. Milk Dairy J., *36*, 1982, s. 317.
19. HÄGERDAL, B.: Acta chem. scand., *B34*, 1980, s. 611.
20. WIERZBICKI, L. E. — EDMARS, V. H. — KOSIKOWSKI, V. H.: Biotechnol. Bioeng., *16*, 1974, s. 397.
21. BUTLER, L. G.: Arch. Biochem. Biophys., *171*, 1975, s. 645.
22. STENLEY, W. L. a kol.: Biotechnol. Bioeng., *17*, 1975, s. 315.
23. JAKUBOWSKI, J. a kol.: J. Food Sci., *40*, 1975, s. 467.
24. VISKARI, J. R.: Kemi-Kemi, *5*, 1978, č. 12, s. 627.
25. HUSTAD, G. O. — RICHARDSON, T. — OLSON, F. N.: J. Dairy Sci., *56*, 1973, č. 9, s. 1111.
26. LEUBA, J. L. — WIDMER, F. — MAGNOLATO, D.: Enzyme Eng., 4, 1978, s. 57.

Применение β-галактозидазы в пищевой промышленности

Резюме

Фермент β-галактозидаза гидролитически расщепляет молочный сахар — лактозу на моносахариды глюкозу и лагактозу. Главное значение β-галактозидазы состоит в ее способности устранять лактозу из молока, поскольку значительный процент населения, главным образом дети, страдает непереносимостью лактозы. Удаляется лактоза и из молока, предназначенного для приготовления некоторых молочных продуктов, например, йогурта. Преимуществом такого продукта является не только сниженное содержание лактозы, но и повышенная сладкость без повышения калорийности, а также остаточный фермент, который попадает в пищеварительный тракт и участвует в расщеплении лактозы.

Другим важным применением β-галактозидазы является производство сладких сиропов из сыворотки, которые используются в пищевой промышленности в качестве заменителя сахарозы в некоторых видах производства пищевых продуктов. Для гидролиза лактозы используется как свободный фермент, так и связанный. ВУПП в Праге занимается проблемой иммобилизации коммерческой β-галактозидазы из дрожжевого грибка *Kluyveromyces fragilis* с целью производства глюкозо- галактозового сиропа путем гидролиза лактозы из сыворотки; сироп предназначен для приготовления мороженых сливочных кремов и для экспериментального производства карамели.

The use of β-galactosidase in food industry

Summary

The enzyme β-galactosidase decomposes hydrolytically the milk sugar, lactose, into monosaccharides, glucose and galactose. The main importance of β-galactosidase is its ability to remove lactose from milk, since there are many people, especially children, suffering from intolerance to lactose. β-Galactosidase is also used to separate lactose from milk out of which several dairy products, such as yogurt, are prepared. Such products are advantageous not only for their small content of lactose, but also for their sweetness that has been improved without increasing their caloric value, as well as for the residual enzyme that penetrates into the digestive system and participates in lactose decomposition.

Besides, this β-galactosidase is used in the manufacture of sweetening syrups from whey that are used as substitution for sucrose in food industry. Both the free and bound enzyme is suitable for the hydrolysis of lactose. In order to produce glucose-galactose syrup by the hydrolysis of lactose from whey, to be used for the production of frozen cheese cream and experimental production of caramels, the Research Institute of Food Industry in Prague has been dealing with the immobilization of commercially prepared β-galactosidase from the yeast *Kluyveromyces fragilis*.