Charakterystyka technologicznych uwarunkowań zmian cech organoleptycznych mleka bezlaktozowego

Characteristics of technological aspects of changes in sensory experience of lactose-free milk

Włodzimierz Bednarski [1, #]

Zygmunt Zander [2, #]

Natalia Kordala [1]

[1] Katedra Biotechnologii Żywności, Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

[2] Katedra Inżynierii i Aparatury Procesowej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

[#] Członkowie Rady Naukowej, Instytut Innowacji Przemysłu Mleczarskiego Sp. z o.o. w Mrągowie

Streszczenie

Przedstawiono aktualną wiedzę o przyczynach zmian właściwości organoleptycznych mleka bezlaktozowego lub mleka z obniżoną zawartością laktozy. Wskazano na znaczenie arylsulfatazy, enzymu obecnego w preparatach β-galaktozydazy oraz zwrócono uwagę na inne przyczyny zmian smaku i zapachu mleka bezlaktozowego. Podano również przykłady metod eliminacji przyczyn lub łagodzenia skutków niekorzystnego oddziaływania procesu technologicznego na cechy organoleptyczne mleka bezlaktozowego.

Słowa kluczowe: mleko • cechy organoleptyczne • hydroliza laktozy • preparaty enzymatyczne

Summary

The aim of this work was characterization the main causes of changes in sensory properties of low-lactose milk and lactose-free milk. This paper describes the importance of arylsulphatase activity, the enzyme present in the preparation of β-galactosidase, and the other reasons of changes in flavor and smell of lactose-free milk. Also present the methods to eliminate the causes of the negative impact of technological process on the organoleptic characteristics of lactose-free milk.

Key words: : milk • sensory characteristics • lactose hydrolysis • enzyme preparation

Wpłynęło: 23–10-2015

Zaakceptowano: 30-10-2015

Opublikowano on-line: 30-12-2015

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. Włodzimierz Bednarski
Katedra Biotechnologii Żywności,
Wydział Nauki o Żywności,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie,
ul. Heweliusza 1, 10-718 Olsztyn
e-mail:
wlodzimierz.bednarski@uwm.edu.pl

Wstęp

Z dostępnych informacji wiadomo, że zwiększa się populacja osób nietolerujących laktozę [3]. Fakt ten dotyczy zarówno niemowląt, jak również konsumentów dorosłych. Przyczyną wspomnianej nietolerancji pokarmowej jest brak aktywności β-galaktozydazy w przewodzie pokarmowym konsumentów mleka.

Nietolerancja laktozy jest w znacznym zakresie uwarunkowana genetycznie. Wykazano, że jest ona uzależniona etnicznie. Dominuje wśród mieszkańców Azji oraz Indian amerykańskich. Relatywnie dużo osób z nietolerancją laktozy żyje w Afryce – ok. 80%. Najmniej takich osób należy do społeczeństw państw Północnej Europy, od 2 do 15%. W niektórych krajach europejskich populacja osób z obniżoną aktywnością β-galaktozydazy mieści się on w granicach 50-70% [3].

Do przyczyn nietolerancji laktozy zalicza się także: zniszczenie tkanek jelita cienkiego (odpowiedzialnych za wydzielanie β-galaktozydazy) spowodowane stosowaniem niektórych leków lub terapią radiacyjną [3]. Problem nietolerancji laktozy dotyczy również społeczeństwa polskiego, w tym szczególności niemowląt. Uzasadniona jest zatem produkcja mleka bezlaktozowego lub ze zmniejszoną zawartością laktozy [4]. Warto przypomnieć, że jego produkcję rozpoczęto w Polsce ponad trzydzieści lat temu. Wdrożono ją w OSM Maćkowy w Gdańsku. Autorami technologii byli pracownicy Katedry Biotechnologii Żywności Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie. Obecnie mleko bezlaktozowe lub z obniżoną zawartością laktozy produkuje się w Polsce w kilku zakładach mleczarskich.

Produkowane mleko tzw. bezlaktozowe zawiera około 0,25 g laktozy w 100 ml. Wiadomo, że stopień hydrolizy laktozy w granicach 50 – 80% pozostaje fizjologicznie wystarczający dla większości konsumentów [3]. Produkcja i skład mleka bezlaktozowego są regulowane prawem UE oraz przepisami poszczególnych krajów członkowskich [8]. Dotyczą one między innymi dopuszczalnego poziomu zawartości laktozy w produkcie końcowym oraz problemu galaktozemii, tj. obecności galaktozy w mleku po enzymatycznej hydrolizie laktozy. Spełnianiu wymagań jakościowych w tym zakresie sprzyja postęp w analityce sacharydów w mleku i produktach mleczarskich [8].

W utrwalaniu mleka bezlaktozowego najczęściej stosowane są procesy cieplne, głównie UHT. Oddziaływanie ciepła na składniki mleka po enzymatycznej hydrolizie laktozy sprzyja niekorzystnym zmianom jego barwy, smaku i zapachu. Zmiany te mogą być również wywoływane aktywnością innych enzymów obecnych w preparatach β-galaktozydazy wprowadzonych do mleka. Do tej grupy zalicza się między innymi arylsulfatazę.

W opracowaniu przedstawiono interpretację przyczyn niekorzystnych zmian cech organoleptycznych mleka bezlaktozowego oraz wskazano na technologiczne możliwości ich złagodzenia lub wyeliminowania.

Charakterystyka preparatów β-galaktozydazy [EC.3.2.1.23]

W produkcji mleka bezlaktozowego stosowane są preparaty β-galaktozydazy otrzymywane w procesie biosyntezy mikrobiologicznej. W tym celu wykorzystuje się wyselekcjonowane szczepy bakterii, drożdży lub grzybów strzępkowych. Komercyjnie najpowszechniej stosowane są szczepy drożdży *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis* oraz grzyby *Aspergillus niger*. Syntetyzują one β-galaktozydazę wewnątrzkomórkową, dlatego w procesach jej otrzymywania niezbędna jest dezintegracja ścian komórkowych oraz ekstrakcja i oczyszczanie białek enzymatycznych. W zależności od źródła enzymu wykazuje on różne właściwości biokatalityczne. Między innymi dlatego ważny jest dobór warunków procesu hydrolizy laktozy z uwzględnieniem wiedzy o optimum wartości parametrów decydujących o aktywności enzymu, np. kwasowości, temperatury itp. Właściwości biokatalityczne enzymów uwarunkowane są genetycznie. Decydują one także o ich budowie chemicznej. Wiadomo, że białka preparatów β-galaktozydazy nie są jednorodne. W ich składzie obecne są izoformy różniące się ciężarem cząsteczkowym, jak również aktywnością właściwą (j.a./1 mg białka). W komercyjnie dostępnych preparatach, oprócz β-galaktozydazy, stwierdza się obecność białek o innej aktywności, np. proteaz, a także arylsulfatazy. Najczęściej różnią się one ciężarem cząsteczkowym i dlatego można je oddzielić od białek β-galaktozydazy, otrzymując preparaty wysokooczyszczone. Stosuje się w tym celu techniki membranowe oraz metody chromatograficzne. Stosowanie oczyszczonych (ale oczywiście droższych) preparatów β-galaktozydazy umożliwia wyeliminowanie aktywnych, niepożądanych enzymów, które oddziaływają na cechy organoleptyczne mleka bezlaktozowego. Do nich zalicza się jak podano wcześniej arylsulfatazę.

Charakterystyka arylsulfatazy oraz jej oddziaływanie na smak mleka bezlaktozowego

Arylsulfataza [EC. 3.1.6.1] jest enzymem występującym u ssaków, bakterii, grzybów i mięczaków [6]. Znane są dwa typy tego enzymu różniące się specyficznością substratową i wrażliwością na oddziaływanie inhibitorów. Enzym typu I wykazuje specyficzność wobec p-nitrofenylsiarczanów i p-acetyl-fenylfosforanów (pNPS) oraz jest wrażliwy na działanie cjanków. Enzym typu II jest natomiast aktywny wobec p-nitrokatecholsiarczanów (pNCS) oraz wobec 2-hydroksy-5-nitrofenylsiarczanów i jest hamowany w obecności fosforanów i siarczanów.

Arylsulfataza występuje w mleku krów. Stwierdzono jej aktywność u bakterii takich jak: *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*. Jej aktywność wykazano zarówno w mleku surowym,

jak i pasteryzowanym [6]. Obecność arylsulfatazy wykazano w preparatach chymozyny oraz w preparatach β-galaktozydazy. Efektem jej aktywności są zmiany smaku i zapachu mleka lub serów [6].

Związki chemiczne niekorzystnie oddziaływujące na smak i zapach mleka mogą być uwalniane przez artylsulfatazy z koniugatów alkilofenoli i wielu innych substratów obecnych w mleku, np. koniugatów metabolicznych takich jak siarczany, glukuronidy i fosforany. Wśród koniugatów metabolicznych można wymienić również koniugaty tiofenoli, fenoli i o-krezolu i p-krezolu [5]. Grupy te mogą być uwalniane przez arylsulfatazę obecną w preparatach β-galaktozydazy. Potwierdzeniem tego jest wykazanie obecności p-krezolu w mleku bezlaktozowym UHT [12].

W celu wyeliminowania przyczyn zmian organoleptycznych mleka wskazane jest stosowanie oczyszczonych preparatów β-galaktozydazy. Najczęściej stosuje się w tym celu techniki chromatograficzne. Inną możliwością jest doskonalenie genetyczne szczepów drobnoustrojów produkujących β-galaktozydazę. Skuteczne jest stosowanie technik antysensowych, polegających na ekspresji antysensowego RNA [10]. Inaktywację wyżej wymienionego genu można także uzyskać stosując technikę interferencji RNA [9].

Należy podkreślić, że znane są alternatywne technologie produkcji mleka z obniżoną zawartością laktozy, w których nie stosuje się jej hydrolizy enzymatycznej. Przydatne są w tym celu techniki membranowe. Przykładem może być proces opisany przez Morlocka i współautorów [8]. W pierwszym etapie prowadzona jest ultrafiltracja (UF) mleka. Uzyskany permeat jest poddawany nanofiltracji, a otrzymany filtrat frakcjonowany w procesie odwróconej osmozy (RO). Połączenie retentatów po UF i RO umożliwia otrzymanie mlekopodobnego produktu o obniżonej zawartości laktozy.

Inne przyczyny zmian organoleptycznych mleka bezlaktozowego UHT

O zmianie cech organoleptycznych mleka bezlaktozowego decydują również produkty enzymatycznej hydrolizy laktozy, tj. glukoza i galaktoza, które powodują, że jest ono słodsze od surowca. Niekiedy nie jest to akceptowane przez konsumentów. W celu złagodzenia różnic w słodkości proponuje się stosowanie cytrynianów lub mleczanów potasu w dawce 15 – 45 mmol/l [4]. Można w tym celu stosować również chlorek potasu.

Właściwości organoleptyczne mleka bezlaktozowego są uzależnione od warunków procesu jego utrwalania. Stosowane w tym celu procesy cieplne mogą wywoływać zmiany w kolorze, zapachu i smaku mleka. Związane jest to przede wszystkim ze zwiększoną zawartością cukrów prostych oraz ich interakcją z białkami, zgodnie z reakcją Maillarda. O wyczuwalnych przez konsumentów zmianach smaku mleka bezlaktozowego UHT decyduje również zawartość tłuszczu.

Jako korzystniejsze w smaku oceniono mleko pełne. Z badań Adhikari i współautorów [1] wynika, że w ocenie organoleptycznej próbek mleka bezlaktozowego niektórzy uczestnicy panelu oceniającego zwracali uwagę na posmak kredowy, który nie występował w mleku kontrolnym.

Warto zaznaczyć, że procesy cieplne stosowane w utrwalaniu mleka bezlaktozowego mogą doprowadzić do zmian w składzie sacharydów mleka. Wskazano na nie w opracowaniu Messia i współautorów [7]. Cytowani badacze wykazali, że w procesie termicznego utrwalania mleka powstają takie cukry jak: laktuloza, fruktoza i furizina. Ich obecność nie jest obojętna dla smaku i zapachu mleka [11]. Szczegółową charakterystykę sacharydów mleka, zarówno rodzimych jak i tych powstających w procesie produkcji mleka bezlaktozowego przedstawiono w naszej pracy [2].

Podsumowanie

Wzrastająca liczba osób z nietolerancją niektórych składników mleka, w tym laktozy, zmusza do opracowania metod jej złagodzenia lub wyeliminowania. Znane są technologie produkcji mleka i produktów mleczarskich bezlaktozowych lub z obniżoną zawartością laktozy. Najczęściej stosowana jest w tym celu jej hydroliza enzymatyczna. Stosowane w tym procesie preparaty enzymatyczne zawierają inne enzymy, np. arylsulfatazę, której aktywność powoduje niekorzystne zmiany właściwości organoleptycznych gotowych produktów.

W opracowaniu przedstawiono mechanizm tych zmian, wskazano także na inne przyczyny powstawania nieakceptowanego przez konsumentów smaku i zapachu mleka bezlaktozowego. Opisano przykłady procedur technologicznych stosowanych w celu poprawy cech organoleptycznych mleka bezlaktozowego.

Wskazane jest ich zastosowanie przez producentów mleka bezlaktozowego w Polsce co sprzyjać będzie poprawie jego jakości i zwiększonej akceptacji konsumentów na rynku krajowym i zagranicznym.

Literatura:

1. Adhikari K., Dooley L.M., Chambers IV E., Bhumiratana N. Sensory characteristics of commercial lactose-free milks manufactured in the United States. LWT-Food Sci. Technol., 2010, 43, 113-118.
2. Bednarski W., Kordala N. Charakterystyka sacharydów mleka oraz możliwości ich enzymatycznej modyfikacji – aspekty technologiczne i żywieniowe. Innowacyjne Mleczarstwo, 2015 (w druku).
3. Brown-Esters O., Mc Namara P., Savaiano D. Dietary and biological factors influencing lactose intolerance. Int. Dairy J., 2012, 22, 98-103.
4. Harju M., Kallioinen H., Tossavainen O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. Int. Dairy J., 2012, 22, 104-109.
5. Kilic M., Lindsay R.C. Distribution of conjugates of alkylphenols in milk from different ruminant species. J. Dairy Sci., 2005, 88, 7-12.

6. Kilic M., Lindsay R.C. Arylsulphatase activity in milk and rennet from different sources. Int. Dairy J., 2006, 16, 88-91.

7. Messia M.C., Candigliota T., Marconi E. Assessment of quality and technological characterization of lactose-hydrolyzed milk. Food Chem., 2007, 104, 910-917.

8. Morlock G.E., Morlock L.P., Lemo C. Streamlined analysis of lactose-free dairy products. J. Chromatogr. A, 2014, 1324, 215-223.

9. Mouyna I., Henry C., Doering T.L., Latgé J.P. Gene silencing with RNA interference in the human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. FEMS Microbiol. Lett., 2004, 237, 317-324.

10. Pieczyński M., Bielewicz D., Dolata J., Szweykowska-Kulińska Z. Zastosowanie cząsteczek RNA w modelowaniu ekspresji wybranych genów. Biotechnologia, 2010, 3, 7-28.

11. Ruiz-Matute A.I., Corzo-Martínez M., Montilla A., Olano A., Copoví P., Corzo N. Presence of mono-, di- and galactooligo saccharides in commercial lactose-free UHT dairy products. J. Food Compos. Anal., 2012, 28, 164-169.

12. Valero E., Villamiel M., Miralles B., Sanz J., Martínez-Castro I. Changes in flavour and volatile components during storage of whole and skimmed UHT milk. Food Chem., 2001, 72, 51-58.