

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΜΕ ΠΡΕΒΙΟΤΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΚΑΙΝΟΤΟΜΟΥ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΖΙΔΑΣΗΣ ΣΕ ΟΞΙΝΟ ΚΑΙ ΓΛΥΚΟ ΟΡΟ

Α. Λημναίος^{1,*}, Ε. Τσίκα¹, Ε. Ζαφείρη¹, Μ. Τσεβδού¹, Ε. Τόπακας², Π. Ταούκης¹

¹Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα, Ελλάδα

²Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα, Ελλάδα

(*alimnaios@chemeng.ntua.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο όξινος και ο γλυκός ορός αποτελούν τα δύο κύρια παραπροϊόντα της γαλακτοβιομηχανίας. Ο όξινος ορός αποτελεί το λεπτόρρευστο υγρό που αποβάλλεται κατά την παραγωγή στραγγιστού γιαουρτιού, ενώ ο γλυκός ορός αποτελεί το παραπροϊόν της πήξης του γάλακτος κατά την τυροκόμηση. Και οι δύο τύποι ορού έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε λακτόζη, καθιστώντας τους μια εξαιρετική πρώτη ύλη για την παραγωγή πρεβιοτικών συστατικών, όπως οι γαλακτοολιγοσακχαρίτες (galactooligosaccharides, GOS).

Οι GOS αποτελούν συστατικά με πρεβιοτικές ιδιότητες (prebiotics), παρόμοιες με αυτές των ολιγοσακχαριτών του μητρικού γάλακτος (Human Milk Oligosaccharides, HMOs), καθιστώντας τους σημαντικό συστατικό κυρίως των βρεφικών και παιδικών τροφών. Οι GOS αποτελούν το προϊόν της ενζυμικής κατάλυσης του ολιγομερισμού της λακτόζης, διεργασία η οποία καλείται τρανσγαλακτοζύλιωση και καταλύεται από το ένζυμο της β-γαλακτοζιδάσης.

Στην παρούσα έρευνα πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη της παραγωγής GOS από όξινο και γλυκό ορό, μέσω της καινοτόμου εφαρμογής της β-γαλακτοζιδάσης από τον ζυμομύκητα *Kluyveromyces lactis*. Η παραγωγή GOS και η αριστοποίηση της διαδικασίας μελετήθηκε αναφορικά με διάφορες παραμέτρους, όπως η προέλευση του υποστρώματος λακτόζης (όξινος ή γλυκός ορός), η ενεργότητα του ενζύμου, η θερμοκρασία της ενζυμικής δράσης, καθώς και η τιμή του pH του υποστρώματος. Τα παραγόμενα συστατικά αναλύθηκαν μέσω χρωματογραφικών μεθόδων υψηλής απόδοσης.

Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι στην περίπτωση του μη συμπυκνωμένου ορού, με ενεργότητα ενζύμου ίση με 26 mU/mL επιτυγχάνεται μέγιστος βαθμός απόδοσης σε GOS ίσος με 23,7% στην περίπτωση υποστρώματος όξινου ορού, ενώ στην περίπτωση του γλυκού ορού ο μέγιστος βαθμός απόδοσης είναι αρκετά μικρότερος και ίσος με 7,6%. Αναφορικά με την περίπτωση του συμπυκνωμένου ορού, μέγιστο βαθμό απόδοσης σε GOS παρουσιάζει ο γλυκός ορός (12,3%), με χρήση ενεργότητας ενζύμου ίση με 52 mU/mL, με τους GOS όμως να διασπώνται λόγω της υδρολυτικής δράσης του ενζύμου. Αντίθετα, στην περίπτωση ενεργότητας ίσης με 26 mU/mL ο μέγιστος βαθμός απόδοσης είναι σημαντικά χαμηλότερος (7,6%), όμως οι παραγόμενοι GOS διατηρούνται σχεδόν αμετάβλητοι μέχρι και μετά από 8 h ενζυμικής αντίδρασης.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στη γαλακτοβιομηχανία παράγονται τέσσερις τύποι ορού, με κυριότερους αυτούς του όξινου και του γλυκού ορού^[1]. Ο όξινος ορός προκύπτει από τη ζύμωση του γάλακτος προς γιαούρτι ή νωπά τυριά, όπως τυρί κρέμας, Cottage, Tvorog, το Fromage frais και το τυρί Ricotta, με τιμή pH περίπου ίση με 4,2-5,0, ενώ ο γλυκός ορός ή τυρόγαλα προέρχεται από την παραγωγή σκληρών και ημίσκληρων τυριών, όπως το τυρί Cheddar, με τιμή pH περίπου 6,0-6,5. Οι κύριες διαφορές μεταξύ των δύο τύπων ορού είναι η περιεκτικότητα σε ανόργανες ουσίες, η οξύτητα και το κλάσμα πρωτεϊνών που προέρχεται από τον ορό. Η ιδιαίτερα υψηλή τιμή της οξύτητας του όξινου ορού προκύπτει από την μετατροπή μέρους της λακτόζης σε γαλακτικό οξύ από οξυγαλακτικά βακτήρια, αλλά και από προσθήκη διαφόρων μέσων οξίνισης. Επιπλέον, ο όξινος ορός έχει υψηλή συγκέντρωση γαλακτόζης λόγω της διάσπασης της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη, και παράλληλα έχει και υψηλότερη περιεκτικότητα σε ασβέστιο, λόγω του χαμηλού

του pH, και της διαλυτοποίησης του καλλοειδούς ασβεστίου των μικυλλίων καζεΐνης^[2].

Η ετήσια παραγόμενη ποσότητα τυρογάλακτος ανά την ελληνική επικράτεια ανέρχεται στους 500 ktn με την συντριπτική πλειοψηφία του (90%) να είναι αιγοπρόβειας προέλευσης. Το παραγόμενο τυρόγαλα χρησιμοποιείται για την παραγωγή τυριών (π.χ. μυζήθρα), την παραγωγή βιοκαυσίμων, τη διατροφή παραγωγικών ζώων και την παραγωγή πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων, ενώ μία σημαντική ποσότητα του απορρίπτεται στο περιβάλλον. Παράλληλα, η κατηγορία του «ελληνικού στραγγιστού γιαουρτιού» αναπτύσσεται ταχύτατα τα τελευταία χρόνια σε παγκόσμιο επίπεδο αποτελώντας μία ευκαιρία ανάπτυξης εξαγωγών των ελληνικών γαλακτοβιομηχανιών. Με βάση τα στοιχεία Nielsen, η αγορά των ΗΠΑ το 2015 στην κατηγορία του «ελληνικού στραγγιστού γιαουρτιού» υπολογίστηκε σε 410 ktn, ενώ η αγορά κύριων χωρών της Ευρώπης με δραστηριότητα στην ίδια κατηγορία βάσει στοιχείων IRI (2015, 2016) εκτιμήθηκε σε ποσότητες άνω των 280 ktn. Σε συνδυασμό με τα παραπάνω στοιχεία, αξίζει να σημειωθεί ότι για τις εξαγωγές ελληνικού γιαουρτιού παραγόμενου από τις ελληνικές γαλακτοβιομηχανίες στην Ελλάδα καταγράφηκε αύξηση της τάξεως του 80%, βάσει στοιχείων εξαγωγών της Eurostat από το 2013 (28,2 ktn) μέχρι το 2016 (50,7 ktn).

Λαμβάνοντας υπόψη ότι κατά την τυροκόμηση παράγεται περίπου εννεαπλάσια ποσότητα γλυκού ορού από το παραγόμενο προϊόν και κατά την παραγωγική διαδικασία του στραγγιστού γιαουρτιού η ποσότητα του παραγόμενου ορού είναι διπλάσια του παραγόμενου τελικού προϊόντος, καθίσταται σαφές ότι τα τελευταία χρόνια οι ποσότητες ορού που προκύπτουν από τις παραπάνω διαδικασίες έχουν οδηγήσει σε αδυναμία διαχείρισής τους. Σε συνδυασμό με τους νέους περιβαλλοντικούς κανονισμούς, αυξάνονται ταυτόχρονα οι υπάρχοντες προβληματισμοί ως προς την απόρριψη των εν λόγω παραπροϊόντων στο περιβάλλον.

Προκειμένου να παραχθεί ένα προϊόν με υψηλή εμπορική και διατροφική αξία, η λακτόζη του ορού δύναται να μετατραπεί σε γαλακτοολιγοσακχαρίτες (galactooligosaccharides, GOS) μέσω αντιδράσεων ολιγομερισμού της λακτόζης με χρήση του ενζύμου της β-γαλακτοζιδάσης (λακτάσης)^[3]. Τα παραγόμενα προϊόντα αποτελούν συστατικά με πρεβιοτικές ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων της ευεργετικής δράσης έναντι των μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας, της καλύτερης απορρόφησης ασβεστίου και μαγνησίου, της αντιμετώπισης ποικίλων ασθενειών και χρόνιων νοσημάτων, κ.ά.^[4]. Ως πρεβιοτικό συστατικό εμπλουτισμού των βρεφικών γαλάτων και προϊόντων διατροφής, η κατηγορία των GOS επιδεικνύει συνεχώς αυξητική τάση. Σε παγκόσμιο επίπεδο καταγράφεται αύξηση κατά 16% των βρεφικών τροφών εμπλουτισμένων με πρεβιοτικά συστατικά από 45 σε 61% την περίοδο 2012-2016, ενώ από το σύνολο της αγοράς των βρεφικών τροφών που εμφανίστηκαν στο ράφι την περίοδο 2011-2016, το 41% περιείχε GOS έναντι 27% που περιείχε φρουκτοολιγοσακχαρίτες (FOS). Παράλληλα, η αναπτυσσόμενη αγορά της Ασίας λόγω της ανερχόμενης οικονομίας και της κατάργησης του περιορισμού των γεννήσεων σε συνδυασμό με την διατροφική κρίση του 2008 στην κατηγορία των βρεφικών τροφίμων και τη μετέπειτα βελτίωση της πληροφόρησης και εγρήγορσης των νέων μητέρων για τον διατροφικό ρόλο των πρεβιοτικών συστατικών στα βρεφικά τρόφιμα, πολλαπλασίασε σημαντικά τις παραγόμενες ποσότητες βρεφικών προϊόντων από παραγωγούς εκτός Ασίας για την κάλυψη των αναγκών της ασιατικής αγοράς από το 2014 στο 2016 με ρυθμό της τάξεως του 90%, αυξάνοντας συνεχώς τη ζήτηση πρώτων υλών.

Η παραγωγή των GOS, συστατικών που στην αγορά λόγω της αυξανόμενης ζήτησης των τελευταίων χρόνων σε συνδυασμό με την περιορισμένη προσφορά παραγωγών σε παγκόσμιο επίπεδο έχουν τιμή αγοράς άνω των 4,5 €/kg, αποκτά ιδιαίτερο οικονομικό ενδιαφέρον για βιομηχανίες που παράγουν τυρί ή στραγγιστό γιαούρτι, και έχουν διαθέσιμο γλυκό και όξινο ορό προς αξιοποίηση.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε γλυκός ορός αιγοπρόβειας προέλευσης ο οποίος παραλήφθηκε παστεριωμένος από ελληνική βιομηχανία παραγωγής πρωτεϊνικών συμπυκνωμάτων, με αρχική περιεκτικότητα σε λακτόζη ίση με 5,5% w/v και τιμή pH=6,2. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε και όξινο ορός που παραλήφθηκε παστεριωμένος από ελληνική γαλακτοβιομηχανία, με αρχική περιεκτικότητα σε λακτόζη ίση με 3,5% w/v και τιμή pH=4,5. Ακολούθησε συμπύκνωση υπό κενό των δειγμάτων ορού με χρήση περιστροφικού συμπυκνωτήρα (*Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Γερμανία*) σε θερμοκρασία 45°C και περιστροφική συχνότητα 110 rpm, μέχρι την επίτευξη της επιθυμητής περιεκτικότητας σε λακτόζη (10% w/v). Κατόπιν, έγινε ρύθμιση της τιμής του pH των δειγμάτων ορού με χρήση διαλύματος NaOH 4 M (*Sigma-Aldrich, Η.Π.Α.*), για την επίτευξη της βέλτιστης τιμής pH δράσης της β-γαλακτοζιδάσης από τον *K. lactis* (*Kerry Group plc, Ιρλανδία*), στην τιμή pH=7,0^[5].

Η ενζυμικές αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας (*Memmert GmbH & CO. KG, Γερμανία*) 37°C, η οποία έχει βρεθεί ότι αποτελεί τη βέλτιστη θερμοκρασία δράσης της β-γαλακτοζιδάσης από τον *K. lactis*^[5]. Στους δοκιμαστικούς σωλήνες μεταφέρονταν για κάθε χρονικό σημείο δειγματοληψίας 1,8 mL ορού επιθυμητής περιεκτικότητας σε λακτόζη και 0,2 mL διαλύματος ενζύμου κατάλληλης αραιώσης, προκειμένου να επιτευχθεί η επιθυμητή ενζυμική ενεργότητα (26 και 52 mU/mL). Δείγματα λαμβάνονταν ανά τακτά χρονικά διαστήματα και ακολουθούσε απενεργοποίηση του ενζύμου με βρασμό για 10 min και στη συνέχεια ψύξη των δειγμάτων σε παγόλουτρο.

Για την ανάλυση των περιεχόμενων σακχάρων στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε ισοκρατικό σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης με στήλη Zorbax Microsorb-MV 100-5 NH₂ και προστήλη Zorbax Polaris 5 NH₂ MetaGuard (*Agilent Technologies, Η.Π.Α.*), και διαλύτη έκλουσης διάλυμα ακετονιτριλίου:νερού σε αναλογία 70:30. Πριν από κάθε ανάλυση, τα δείγματα διέρχονταν από φίλτρο 0,22 μm. Ο βαθμός απόδοσης της ενζυμικής αντίδρασης σε GOS εκφράστηκε ως:

$$Y_{GOS} = \frac{\% \text{ w/v περιεκτικότητα σε GOS}}{\% \text{ w/v αρχική περιεκτικότητα σε λακτόζη}} \cdot 100 \%$$

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αρχικά μελετήθηκε η παραγωγή GOS με εφαρμογή του ενζύμου β-γαλακτοζιδάση από *K. lactis* σε όξινο και γλυκό ορό χωρίς προηγούμενο στάδιο συμπύκνωσής τους. Η αρχική περιεκτικότητα των δειγμάτων ορού σε γαλακτόζη και λακτόζη κατά την παραλαβή τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Οι ενζυμικές ενεργότητες της β-γαλακτοζιδάσης που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν 26 mU/mL και 52 mU/mL.

Πίνακας 1. Αρχική περιεκτικότητα γαλακτόζης και λακτόζης στον μη συμπυκνωμένο όξινο και γλυκό ορό.

| Τύπος ορού | Συγκέντρωση γαλακτόζης (% w/v) | Συγκέντρωση λακτόζης (% w/v) |
|------------|--------------------------------|------------------------------|
| όξινο | 0,53 | 3,5 |
| γλυκός | 0,06 | 3,9 |

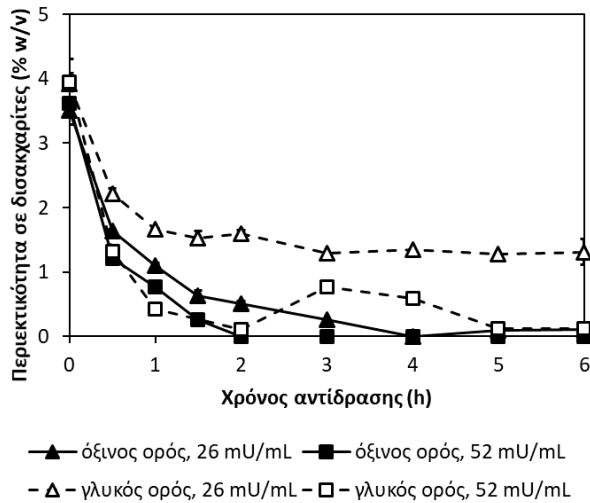
Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι με αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου, οι περιεχόμενοι δισακχαρίτες καταναλώνονται ταχύτερα, τόσο στον όξινο, όσο και στον γλυκό ορό (Σχήμα 1), γεγονός αναμενόμενο, αφού μεγαλύτερη ενεργότητα του ενζύμου συνεπάγεται ταχύτερη κατανάλωση υποστρώματος προς παραγωγή είτε μονοσακχαριτών (υδρόλυση), είτε γαλακτοολιγοσακχαριτών (τρανσγαλακτοζύλιωση). Στην περίπτωση του όξινου ορού, το υπόστρωμα καταναλώνεται πλήρως, καθώς η περιεκτικότητα δισακχαριτών μηδενίζεται μετά από 4 h αντίδρασης με χρήση ενεργότητας ενζύμου ίσης με 26 mU/mL, ενώ το ίδιο συμβαίνει μετά

από 2 h με χρήση ενεργότητας ενζύμου ίσης με 52 mU/mL. Στην περίπτωση του γλυκού ορού, με ενεργότητα ενζύμου ίση με 26 mU/mL, οι περιεχόμενοι δισακχαρίτες δεν καταναλώνονται πλήρως, αλλά φτάνουν σε μία σταθερή ελάχιστη τιμή, ίση με περίπου 1,3% w/v, έπειτα από 3 h ενζυμικής αντίδρασης. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πιθανώς το ένζυμο να επηρεάζεται από συστατικά τα οποία περιέχονται στον γλυκό ορό, όπως πρωτεΐνες ή διάφορα μέταλλα, τα οποία οδηγούν σε σταδιακή απενεργοποίησή του. Επίσης, με χρήση ενεργότητας β-γαλακτοζιδάσης ίσης με 52 mU/mL στον μη συμπυκνωμένο γλυκό ορό, η περιεκτικότητα δισακχαριτών λαμβάνει ένα τοπικό ελάχιστο μετά από 2 h αντίδρασης, ίσο με περίπου 0,1% w/v, κατόπιν αυξάνεται έως τις 3 h σε περίπου 0,7% w/v, και τέλος φθίνει μέχρι τις 5 h και μετά παραμένει σταθερή σε περίπου 0,1% w/v. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να οφείλεται σε αρχική κατανάλωση του υποστρώματος λακτόζης από το ένζυμο, προς την κατεύθυνση είτε της υδρόλυσης, είτε της τρανσγαλακτοζυλίωσης, ενώ στην συνέχεια το ένζυμο χρησιμοποιεί τους σχηματιζόμενους GOS ως υπόστρωμα, υδρολύοντάς τους προς δισακχαρίτες, με τη συγκέντρωση των τελευταίων να αυξάνεται προσωρινά και κατόπιν να καταναλώνονται, γεγονός που συμφωνεί και με προηγούμενες βιβλιογραφικές μελέτες^[6].

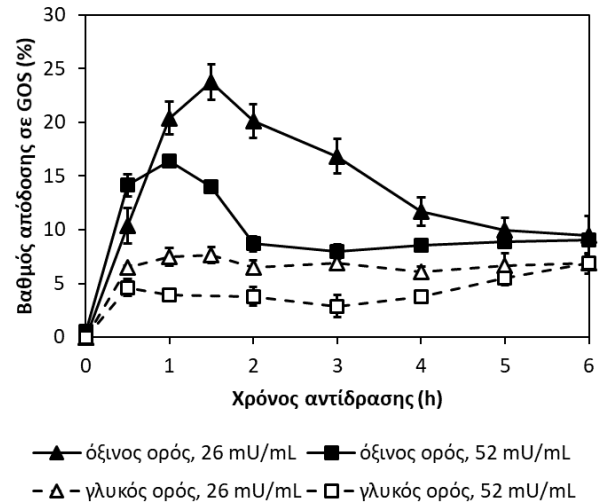
Όσον αφορά στην παραγωγή GOS από μη συμπυκνωμένο όξινο ορό, παρατηρείται ότι το σύστημα παρουσιάζει βέλτιστο βαθμό απόδοσης σε GOS ίσο με 23,7% με χρήση ενεργότητας ενζύμου ίσης με 26 mU/mL και μετά από 1,5 h αντίδρασης (Σχήμα 2), ενώ αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου συνεπάγεται την επίτευξη μικρότερου μέγιστου βαθμού απόδοσης σε GOS, αλλά σε συντομότερο χρόνο αντίδρασης (16,4% μετά από 1 h αντίδρασης). Η ελάττωση του μέγιστου βαθμού απόδοσης σε GOS πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι υψηλότερες ενζυμικές ενεργότητες ευνοούν τις αντιδράσεις υδρόλυσης έναντι της τρανσγαλακτοζυλίωσης, με αποτέλεσμα το υπόστρωμα (δισακχαρίτες) να εξαντλείται ταχύτερα, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, με επακόλουθη μείωση της διαθεσιμότητας υποστρώματος για αντιδράσεις ολιγομερισμού. Επίσης, όπως παρατηρείται από το Σχήμα 2, έπειτα από την επίτευξη του μέγιστου βαθμού απόδοσης σε GOS, οι σχηματιζόμενοι ολιγοσακχαρίτες μειώνονται, καθώς δρουν ως υπόστρωμα για το ένζυμο, με αποτέλεσμα την υδρόλυσή τους.

Στην περίπτωση του γλυκού ορού παρατηρούνται αρκετά χαμηλότεροι βαθμοί απόδοσης σε GOS, με τις μέγιστες τιμές να ανέρχονται σε 7,6% έπειτα από 1,5 h και 6,9% έπειτα από 6 h, για ενεργότητα β-γαλακτοζιδάσης 26 mU/mL και 52 mU/mL, αντίστοιχα. Η αυξημένη απόδοση σε GOS στην περίπτωση του όξινου ορού σε σύγκριση με τον γλυκό ορό, οφείλεται σε πιθανή αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου, λόγω της προσθήκης μεγαλύτερης ποσότητας NaOH για τη ρύθμιση του pH του όξινου ορού από την αρχική τιμή του (4,5) συγκριτικά με τον γλυκό ορό (6,2). Βιβλιογραφικές πηγές αναφέρουν ότι η παρουσία διαφόρων κατιόντων, μεταξύ των οποίων και αυτά του Na⁺, δύναται να αυξήσει τη δραστικότητα του ενζύμου^[7]. Έτσι, η χρήση μεγαλύτερης ποσότητας NaOH στον όξινο ορό οδηγεί σε υψηλότερη περιεκτικότητα Na⁺ στο σύστημα, με αποτέλεσμα την ενισχυμένη δράση του ενζύμου προς παραγωγή GOS.

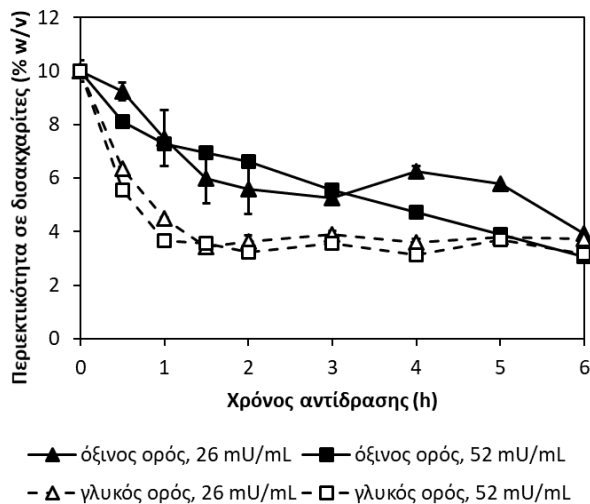
Στη συνέχεια, παρόμοια πειράματα πραγματοποιήθηκαν και σε δείγματα συμπυκνωμένου γλυκού και όξινου ορού, με περιεκτικότητα σε λακτόζη 10% w/v, χρησιμοποιώντας ενζυμικές ενεργότητες 26 mU/mL και 52 mU/mL, όπως και παραπάνω. Από το Σχήμα 3 φαίνεται ότι με αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου δεν παρατηρείται μεταβολή στον ρυθμό κατανάλωσης των δισακχαριτών, τόσο για τον όξινο όσο και για τον γλυκό ορό. Ωστόσο, συγκρίνοντας τους δύο τύπους ορού, ο ρυθμός κατανάλωσης των δισακχαριτών είναι αρκετά μεγαλύτερος στην περίπτωση του γλυκού ορού, καθώς μετά από 1 h ενζυμικής αντίδρασης η περιεκτικότητα δισακχαριτών στο γλυκό ορό έχει μειωθεί κατά 54,9% και 63,4% έναντι 25,1% και 27,1% για την περίπτωση του όξινου ορού, για ενζυμική ενεργότητα 26 mU/mL και 52 mU/mL αντίστοιχα και για τις δύο περιπτώσεις. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι το ένζυμο δρα ταχύτερα στην περίπτωση του υποστρώματος γλυκού ορού, καταναλώνοντας τους περιεχόμενους δισακχαρίτες είτε προς την κατεύθυνση της υδρόλυσης, είτε προς αυτή της τρανσγαλακτοζυλίωσης.



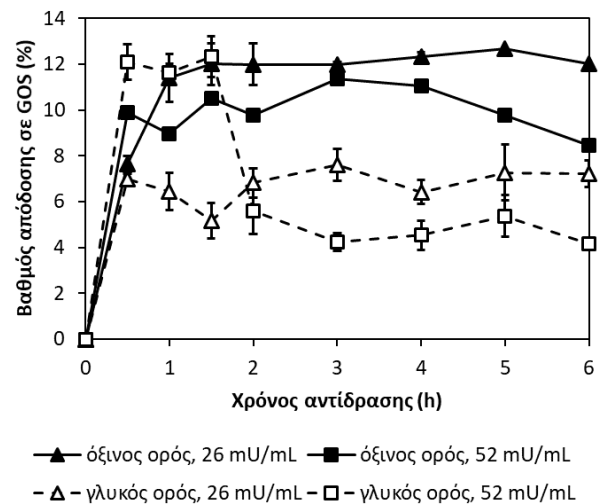
Σχήμα 1. Μεταβολή της περιεκτικότητας του ορού σε διασχαριτές συναρτήσει του χρόνου αντίδρασης, για μη συμπυκνωμένο όξινο και γλυκό ορό.



Σχήμα 2. Βαθμός απόδοσης σε GOS συναρτήσει του χρόνου αντίδρασης, για μη συμπυκνωμένο όξινο και γλυκό ορό.



Σχήμα 3. Μεταβολή της περιεκτικότητας του ορού σε διασχαριτές συναρτήσει του χρόνου αντίδρασης, για συμπυκνωμένο όξινο και γλυκό ορό.



Σχήμα 4. Βαθμός απόδοσης σε GOS συναρτήσει του χρόνου αντίδρασης, για συμπυκνωμένο όξινο και γλυκό ορό.

Όσον αφορά στην παραγωγή GOS από συμπυκνωμένο όξινο ορό, η αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου οδηγεί σε ελάττωση της απόδοσης της ενζυμικής αντίδρασης σε GOS (Σχήμα 4). Ο μέγιστος βαθμός απόδοσης σε GOS φάνηκε να επιτυγχάνεται για ενεργότητα ενζύμου ίση με 26 mU/mL έπειτα από 5 h αντίδρασης (12,7%), ενώ για ενεργότητα ενζύμου ίση με 52 mU/mL επιτεύχθηκε μετά από 3 h αντίδρασης (11,3%).

Στην περίπτωση του γλυκού ορού παρατηρείται αντίθετη τάση: αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου οδηγεί σε αύξηση του μέγιστου βαθμού απόδοσης σε GOS. Συγκεκριμένα, για ενζυμική ενεργότητα 52 mU/mL επιτυγχάνεται μέγιστος βαθμός απόδοσης σε GOS ίσος με 12,3%, έπειτα από 1,5 h αντίδρασης, ενώ για ενζυμική ενεργότητα 26 mU/mL επιτυγχάνεται μέγιστος βαθμός απόδοσης σε GOS ίσος με 7,6%, έπειτα από 3 h αντίδρασης. Ωστόσο, στην περίπτωση του γλυκού ορού παρατηρείται αυξημένη υδρόλυση των παραγόμενων GOS, καθώς μετά από 3 h επώασης ο βαθμός απόδοσης σε GOS έχει μειωθεί στο 4,2% στην περίπτωση ενεργότητας ενζύμου ίσης με 52 mU/mL, ενώ για ενεργότητα ενζύμου ίση με 26 mU/mL δεν παρατηρείται ιδιαίτερη μεταβολή των παραγόμενων GOS, μέχρι και τις 8 h ενζυμικής αντίδρασης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι στην περίπτωση του μη συμπυκνωμένου ορού, χρησιμοποιώντας ενεργότητα ενζύμου ίση με 26 mU/mL για χρόνο ενζυμικής αντίδρασης 1,5 h, επιτυγχάνεται μέγιστος βαθμός απόδοσης σε GOS ίσος με 23,7% στην περίπτωση υποστρώματος όξινου ορού, ενώ στην περίπτωση υποστρώματος γλυκού ορού ο μέγιστος βαθμός απόδοσης είναι αρκετά μικρότερος και ίσος με 7,6%. Η απόκλιση στην απόδοση σε GOS πιθανώς να οφείλεται στην υψηλότερη συγκέντρωση Na⁺ στον όξινο ορό, λόγω της ρύθμισης της τιμής του pH αυτού, η οποία ενισχύει την δραστικότητα του ενζύμου. Αναφορικά με την περίπτωση του συμπυκνωμένου ορού, μέγιστο βαθμό απόδοσης σε GOS παρουσιάζει ο γλυκός ορός (12,3 % - 1,5 h αντίδρασης), με χρήση ενεργότητας ενζύμου ίση με 52 mU/mL, με τους GOS όμως να διασπώνται λόγω της υδρολυτικής δράσης του ενζύμου. Αντίθετα, στην περίπτωση ενεργότητας ίσης με 26 mU/mL παράγονται αφενός λιγότεροι GOS (7,6% - 3 h αντίδρασης), αλλά διατηρούνται σχεδόν αμετάβλητοι μέχρι και μετά από 8 h ενζυμικής αντίδρασης.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη υλοποιήθηκε στα πλαίσια του ερευνητικού έργου «**Καινοτόμες προσεγγίσεις αξιοποίησης και συγκριτικά πλεονεκτήματα του τυρογάλακτος αιγοπρόβειας προέλευσης της περιφέρειας Ηπείρου**» το οποίο εντάσσεται στη Δράση «**Ενίσχυση επιχειρήσεων για ερευνητικά έργα στους τομείς αγροδιατροφής, δημιουργικής βιομηχανίας, ΤΠΕ, υγείας και βιοτεχνολογίας**» του Επιχειρησιακού Προγράμματος «**ΗΠΕΙΡΟΣ 2014-2020**» και συγχρηματοδοτείται από τα Ευρωπαϊκά Διαρθρωτικά και Επενδυτικά Ταμεία.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Nishanthi M., Vasiljevic T., Chandrapala J. (2017). Properties of whey proteins obtained from different whey streams. *International Dairy Journal* 66: 76-83.
- [2] Jelen P., WHEY PROCESSING | Utilization and Products. In Fuquay J. W., Fox P. F. and Mc Sweeney P. L. H.. *Encyclopaedia of Dairy Sciences*; 2011, pp. 731-737.
- [3] Pal P., Nayak J. (2016). Development and analysis of a sustainable technology in manufacturing acetic acid and whey protein from waste cheese whey. *Journal of Cleaner Production* 112: 59-70.
- [4] Božanić R., Barukčić I., Lisak K., Tratnik J. and L. (2014). Possibilities of Whey Utilisation. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences* 2(7): 1036.
- [5] Fujimura Y., Rokushika S., Ohnishi M. (2003). Purification and molecular characterization of β -galactosidase from yeast *Kluyveromyces lactis*. *International Journal of Biological Macromolecules* 3(3): 97-103.
- [6] Fischer C., Kleinschmidt T. (2015). Synthesis of galactooligosaccharides using sweet and acid whey as a substrate. *International Dairy Journal* 48: 15-22.
- [7] Saqib, S., Akram, A., Halim, S., & Tassaduq, R. (2017). Sources of β -galactosidase and its applications in food industry. *3 Biotech* 7: 79.