

## ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑΣ ΣΤΡΑΓΓΙΣΤΟΥ ΓΙΑΟΥΡΤΙΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΥΨΗΛΗΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΑΞΙΑΣ

**Α. Λημναίος<sup>1,\*</sup>, Ε. Τσίκα<sup>1</sup>, Μ. Τσεβδού<sup>1</sup>, Ε. Τόπακας<sup>2</sup>, Π. Ταούκης<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Χημικών Μηχανικών,  
Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα, Ελλάδα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα, Ελλάδα

(\*[alimnaios@chemeng.ntua.gr](mailto:alimnaios@chemeng.ntua.gr))

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διαχείριση του όξινου ορού, του κυριότερου παραπροϊόντος της βιομηχανίας στραγγιστού γιαουρτιού, αποτελεί μεγάλη πρόκληση των βιομηχανιών αυτού του κλάδου, λόγω της ολοένα αυξανόμενης ζήτησης, άρα και παραγωγής, ελληνικού στραγγιστού γιαουρτιού, τόσο στην Ελλάδα, όσο και στο εξωτερικό. Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά αυτού του παραπροϊόντος, όπως η υψηλή τιμή χημικά και βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου (COD & BOD), αλλά και η χαμηλή τιμή του pH του, καθιστά μη εφικτή τη διαχείρισή του σε συμβατικά συστήματα βιολογικού καθαρισμού. Ωστόσο, η υψηλή περιεκτικότητα του ορού σε λακτόζη τον καθιστά πολύτιμη πρώτη ύλη για την παραγωγή συστατικών υψηλής διατροφικής και προστιθέμενης αξίας.

Στην παρούσα έρευνα μελετήθηκε η δυνατότητα δύο βιομηχανικά διαθέσιμων β-γαλακτοζιδασών (από *Aspergillus oryzae* και *Kluyveromyces lactis*) να καταλύσουν την παραγωγή γαλακτοολιγοσακχαριτών (galactooligosaccharides, GOS), μέσω της ενζυμικής διεργασίας ολιγομερισμού της λακτόζης του όξινου ορού. Οι GOS που παράγονται μέσω αυτής της διεργασίας αποτελούν συστατικά με πρεβιοτικές ιδιότητες (prebiotics). Η ενζυμική μετατροπή της λακτόζης του όξινου ορού σε GOS μελετήθηκε και αριστοποιήθηκε, συναρτήσκει παραμέτρων, όπως η ενζυμική ενεργότητα, η περιεκτικότητα του ορού σε λακτόζη, η θερμοκρασία και ο χρόνος αντίδρασης.

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η διαφορετική προέλευση του ενζύμου επηρεάζει τη μετατροπή της λακτόζης του όξινου ορού σε GOS. Η β-γαλακτοζιδάση από *K. lactis* εμφανίζει μεγαλύτερη απόδοση σε GOS, φθάνοντας έως και 37,0% στις βέλτιστες συνθήκες (52 mU/mL, 37°C, pH=7,0, 2 h αντίδρασης), σε σύγκριση με την β-γαλακτοζιδάση από *A. oryzae*, που παρουσιάζει μέγιστη απόδοση σε GOS ίση με 25,4%, στις βέλτιστες συνθήκες (2,4 U/mL, 45°C, pH=4,5, 9 h αντίδρασης). Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι η β-γαλακτοζιδάση από *K. lactis* ευνοεί περισσότερο την αντίδραση υδρόλυσης της λακτόζης έναντι του ολιγομερισμού, αλλά και την υδρόλυση των σχηματιζόμενων GOS, για μεγάλους χρόνους επώασης, σε αντίθεση με το ένζυμο από τον *A. oryzae*, το οποίο δεν εμφανίζει αυτή την τάση.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ελληνικό στραγγιστό γιαούρτι αποτελεί χωρίς αμφιβολία μια από τις μεγαλύτερες επιτυχίες της γαλακτοβιομηχανίας τα τελευταία χρόνια, παρουσιάζοντας σημαντική αύξηση στην παραγωγή του, τόσο σε εθνικό, όσο και σε διεθνές επίπεδο. Χαρακτηριστικά, η παραγωγή στραγγιστού γιαουρτιού στις Η.Π.Α. ανήλθε κατά το έτος 2014 στους 410.000 tn<sup>[1]</sup>, ενώ στην Ελλάδα, σύμφωνα με τα τελευταία στοιχεία της Eurostat, καταγράφηκε αύξηση της τάξης του 80 % στις εξαγωγές στραγγιστού γιαουρτιού, από το 2013 (28.184 tn) μέχρι το 2016 (50.719 tn).

Ο ορός είναι το υγρό που απομένει μετά την πήξη του γάλακτος και την αποστράγγιση του σχηματιζόμενου πήγματος. Ως «όξινος» ορός αναφέρεται το λεπτόρρευστο παραπροϊόν που αποβάλλεται κατά την παραγωγική διαδικασία του στραγγιστού γιαουρτιού ή τυριών τύπου cottage, ενώ ως «γλυκός» ορός ή τυρόγαλα αναφέρεται το παραπροϊόν που αποβάλλεται κατά την τυροκόμηση. Κατά την παραγωγή του στραγγιστού γιαουρτιού, για κάθε Kg γάλακτος που χρησιμοποιείται, μόνο το 1/3 αυτού λαμβάνεται ως τελικό προϊόν, ενώ τα υπόλοιπα 2/3

αποβάλλονται ως όξινοι ορός<sup>[2,3]</sup>.

Τα κύρια συστατικά του όξινου ορού, εκτός του νερού, περιλαμβάνουν τη λακτόζη (2,5-5,0% w/v), τις πρωτεΐνες ορού (0,2-0,6% w/v) και διάφορα ανόργανα συστατικά (1,0-5,0% w/v). Ο όξινος ορός έχει υψηλή περιεκτικότητα σε γαλακτικό οξύ (περίπου 1,0% w/v), η οποία δικαιολογεί την ιδιαίτερη χαμηλή τιμή του pH του, η οποία κυμαίνεται μεταξύ 4,2-4,5<sup>[4]</sup>.

Για πολλά χρόνια, ο όξινος ορός εθεωρείτο ως ένα απόβλητο της γαλακτοβιομηχανίας, το οποίο έχρηζε διαχείρισης και απόρριψης. Κατά το παρελθόν έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι διαχείρισης του όξινου ορού, όπως ο ψεκασμός αυτού σε χωράφια ως λίπασμα, η ξήρανσή του προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ως ζωοτροφή, αλλά και η απόρριψή του σε υδρολογικές λεκάνες ή σε συστήματα βιολογικής διαχείρισης αστικών αποβλήτων. Μολονότι οι δύο πρώτες λύσεις δεν εγείρουν ενστάσεις από περιβαλλοντικής σκοπιάς, η υψηλή περιεκτικότητα σε άλατα και λακτόζη, αλλά και η έντονη οσμή του όξινου ορού, δρουν αποτρεπτικά προς αυτήν την κατεύθυνση<sup>[5]</sup>. Από την άλλη, η υψηλή περιεκτικότητα του ορού σε χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (COD, 60.000-80.000 ppm) και βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο (BOD, 30.000-35.000 ppm)<sup>[6,7]</sup> προκαλεί σημαντικά περιβαλλοντικά προβλήματα, αν ο όξινος ορός απορριφθεί σε υδάτινους αποδέκτες, αλλά και υπερφόρτωση των συμβατικών αστικών συστημάτων βιολογικής διαχείρισης αποβλήτων, καθιστώντας τη διαχείρισή του είτε εξαιρετικά δαπανηρή, είτε και απαγορευτική<sup>[5]</sup>.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, δημιουργούνται σοβαροί προβληματισμοί για τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις, λόγω των ολοένα και αυξανόμενων ποσοτήτων όξινου ορού που απορρίπτονται, αλλά και των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του. Έτσι, το ερευνητικό ενδιαφέρον επικεντρώνεται στην εύρεση εναλλακτικών μεθόδων αξιοποίησης του συγκεκριμένου παραπροϊόντος, προς παραγωγή συστατικών υψηλής διατροφικής και προστιθέμενης αξίας.

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 β-γαλακτοζιδάση<sup>[8]</sup>. Η β-γαλακτοζιδάση είναι ένα ένζυμο το οποίο καταλύει την υδρόλυση του γλυκοζιδικού δεσμού του μορίου της λακτόζης, με αποτέλεσμα τη διάσπαση αυτής στα συστατικά της μονομερή, δηλαδή στα μόρια γλυκόζης και γαλακτόζης<sup>[9,10]</sup>. Οι β-γαλακτοζιδάσες έχουν χρησιμοποιηθεί επί μακρόν στη γαλακτοβιομηχανία, για την υδρόλυση της περιεχόμενης λακτόζης στα γαλακτοκομικά προϊόντα, προς παραγωγή προϊόντων ελεύθερων λακτόζης (lactose free)<sup>[11]</sup>. Εκτός από την υδρόλυση της λακτόζης, οι β-γαλακτοζιδάσες δύνανται, ακόμα, να καταλύσουν την αντίδραση τρανσγαλακτοζυλίωσης<sup>[2,12]</sup>, προς σχηματισμό ολιγομερών, τους GOS. Τα προϊόντα που παράγονται από την παραπάνω ενζυμική δράση έχουν σημαντική διατροφική αξία, αφού πρόκειται για συστατικά με πρεβιοτικές ιδιότητες (prebiotics), όπως ευεργετική δράση έναντι των μικροοργανισμών της εντερικής μικροχλωρίδας, καλύτερη απορρόφηση ασβεστίου και μαγνησίου και συσχέτιση με την πρόληψη ή αντιμετώπιση ποικίλων ασθενειών<sup>[3]</sup>.

Στο πρόσφατο παρελθόν, πλήθος ερευνών έχει επικεντρωθεί στην αριστοποίηση της μετατροπής της λακτόζης σε GOS, αξιοποιώντας ένζυμα τα οποία ήδη χρησιμοποιούνται στη γαλακτοβιομηχανία για την υδρόλυση της λακτόζης, από διάφορους μικροοργανισμούς, όπως ο μύκητας *Aspergillus oryzae* και η ζύμη *Kluyveromyces lactis*<sup>[13,14,15]</sup>. Όμως, η πλειονότητα των μελετών εστιάζει στη χρήση καθαρής λακτόζης, ως υπόστρωμα της ενζυμικής αντίδρασης. Ωστόσο, μια οικονομικά αποδοτικότερη βιομηχανική διεργασία, στα πλαίσια της κυκλικής οικονομίας, θα μπορούσε να κάνει χρήση του όξινου ορού ως υπόστρωμα λακτόζης, μιας χαμηλού κόστους πρώτης ύλης, για την ενζυμική παραγωγή GOS, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο τον όγκο του ορού που απορρίπτεται. Αυτή η ενζυμική διεργασία αποτέλεσε το αντικείμενο μελέτης της παρούσας έρευνας, κάνοντας χρήση των προαναφερθέντων βιομηχανικών ενζύμων.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ο όξινος ορός, το παραπροϊόν της βιομηχανίας στραγγιστού γιαουρτιού που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη παρελήφθη παστεριωμένος από ελληνική γαλακτοβιομηχανία, με αρχική περιεκτικότητα σε λακτόζη ίση με 3,5% w/v και τιμή pH=4,5. Ακολούθησε συμπύκνωση του ορού με χρήση περιστροφικού συμπυκνωτήρα υπό κενό (*Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Γερμανία*) σε θερμοκρασία 45°C και περιστροφική συχνότητα 110 rpm, μέχρι την επίτευξη της επιθυμητής περιεκτικότητας σε λακτόζη (14% w/v και 18% w/v). Κατόπιν, έγινε ρύθμιση της τιμής του pH του ορού με χρήση διαλύματος NaOH 4 M (*Sigma-Aldrich, Η.Π.Α.*), για την επίτευξη της βέλτιστης τιμής pH δράσης (7,0) της β-γαλακτοζιδάσης από *K. lactis* (*Kerry Group plc, Ιρλανδία*), ενώ για τις αντιδράσεις με β-γαλακτοζιδάση από *A. oryzae* (*Sigma-Aldrich, Η.Π.Α.*) χρησιμοποιήθηκε ως είχε, καθώς αυτό δρα βέλτιστα σε pH=4,5.

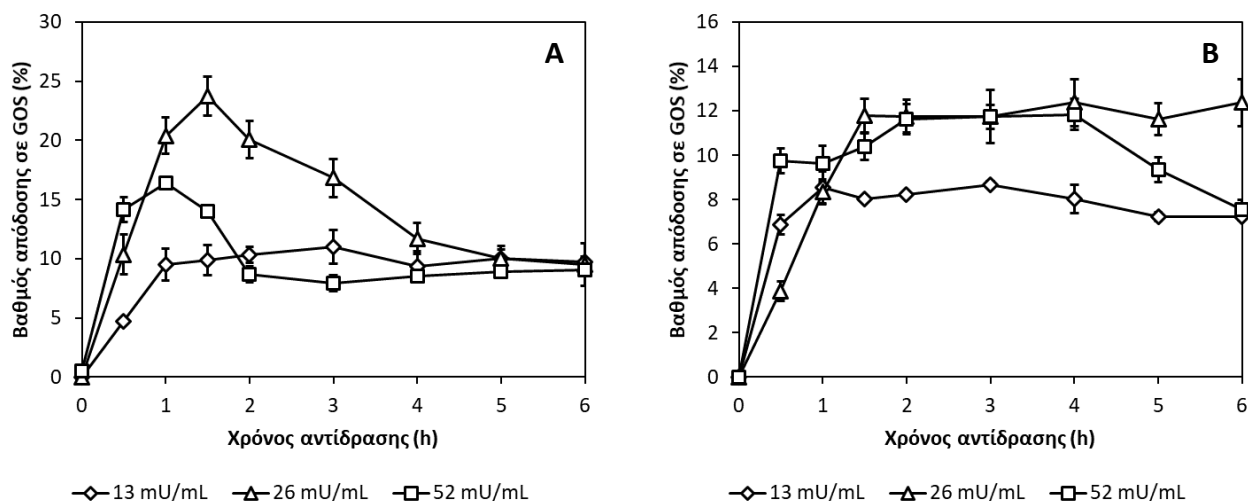
Οι ενζυμικές αντιδράσεις πραγματοποιήθηκαν εντός δοκιμαστικών σωλήνων εμβαπτισμένων σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας (*Memmert GmbH & CO. KG, Γερμανία*), εντός των οποίων μεταφέρονταν για κάθε χρονικό σημείο δειγματοληψίας 1,8 mL όξινου ορού επιθυμητής περιεκτικότητας σε λακτόζη και 0,2 mL διαλύματος ενζύμου, κατάλληλης αραίωσης για την επίτευξη της επιθυμητής ενεργότητας στο διάλυμα της αντίδρασης. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα γινόταν δειγματοληψία και το ένζυμο απενεργοποιείτο με επώαση του δείγματος σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 100°C για 10 min. Μετά την ψύξη των δειγμάτων, αυτά φιλτράρονταν με χρήση φίλτρου 0,22 μm, πριν την περαιτέρω ανάλυσή τους.

Για την ανάλυση των περιεχόμενων σακχάρων στα δείγματα χρησιμοποιήθηκε ισοκρατικό σύστημα Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης με στήλη Zorbax Microsorb-MV 100-5 NH<sub>2</sub>, στην οποία ήταν συνδεδεμένη προστήλη Zorbax Polaris 5 NH<sub>2</sub> MetaGuard (*Agilent Technologies, Η.Π.Α.*), ενώ ο διαλύτης έκλουσης ήταν διάλυμα ακετονιτριλίου σε νερό με αναλογία 70% v/v ακετονιτρίλιο σε νερό. Ο βαθμός απόδοσης της ενζυμικής αντίδρασης σε GOS εκφράσθηκε ως

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

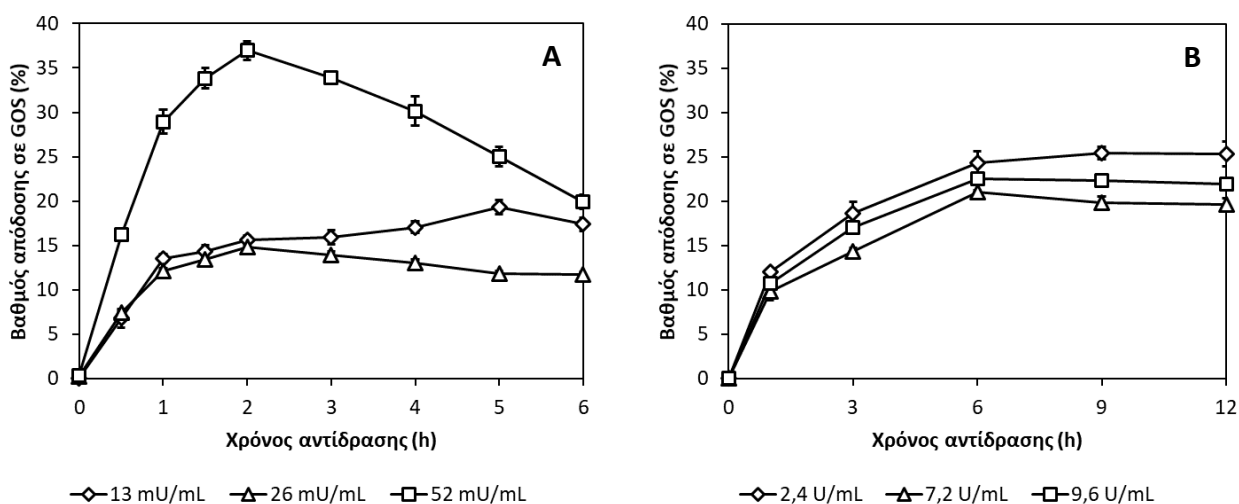
## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αρχικά μελετήθηκε η παραγωγή GOS από β-γαλακτοζιδάση από *K. lactis* για 3 διαφορετικές ενεργότητες ενζύμου (13 mU/mL, 26 mU/mL και 52 mU/mL) και 3 διαφορετικές περιεκτικότητες όξινου ορού σε λακτόζη (3,5% w/v, 14% w/v και 18% w/v). Από τα διαγράμματα 1A, 1B και 2A παρατηρείται ότι βέλτιστη απόδοση σε GOS, ίση με 37,0%, παρουσιάζει το υπόστρωμα όξινου ορού περιεκτικότητας 14% w/v σε λακτόζη, με τη μέγιστη ενεργότητα ενζύμου που μελετήθηκε (52 mU/mL), έπειτα από 2 h αντίδρασης. Επίσης παρατηρείται ότι για χαμηλή συγκέντρωση λακτόζης (3,5% w/v), η αύξηση της ενεργότητας της β-γαλακτοζιδάσης από 13 mU/mL σε 26 mU/mL προκαλεί αύξηση του μέγιστου βαθμού απόδοσης σε GOS από 11,0% σε 23,7%, με ταυτόχρονη μείωση του χρόνου επίτευξης αυτού, από 3 h σε 90 min. Ωστόσο, περαιτέρω αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου προκαλεί μείωση του μέγιστου βαθμού απόδοσης σε GOS σε 16,4% έπειτα από 1 h επώασης, πιθανώς λόγω της τάσης να ευνοούνται οι αντιδράσεις υδρόλυσης έναντι αυτών της τρανσγαλακτοζυλίωσης. Επιπλέον, παρατηρείται ότι για μεγάλους χρόνους επώασης υπάρχει η τάση το ένζυμο να υδρολύει τα σχηματιζόμενα προϊόντα, έπειτα από την επίτευξη μιας μέγιστης συγκέντρωσης, φαινόμενο το οποίο εντείνεται με την αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου. Στην περίπτωση περιεκτικότητας υποστρώματος σε λακτόζη ίσης με 18% w/v το φαινόμενο υδρόλυσης των σχηματιζόμενων GOS είναι λιγότερο έντονο, αλλά η μέγιστη απόδοση σε GOS είναι μικρότερη από αυτή που επιτυγχάνεται στην περίπτωση περιεκτικότητας υποστρώματος σε λακτόζη ίσης με 14% w/v (11,8% έναντι 37,0% αντίστοιχα, για ενεργότητα ενζύμου ίση με 52 mU/mL), λόγω πιθανής παρεμπόδισης της δράσης του ενζύμου από άλλα συστατικά του ορού, των οποίων η συγκέντρωση έχει επίσης αυξηθεί μαζί με αυτή της λακτόζης, λόγω της συμπύκνωσης του ορού.



**Σχήμα 1.** Παραγωγή GOS με β-γαλακτοζιδάση από *Kluyveromyces lactis* σε θερμοκρασία 37 °C και pH=7 με όξινο ορό περιεκτικότητας 3,5 % w/v (A) και 18 % w/v (B) σε λακτόζη.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η παραγωγή GOS από β-γαλακτοζιδάση από *A. oryzae* για 3 διαφορετικές ενεργότητες ενζύμου (2,4 U/mL, 7,2 U/mL και 9,6 U/mL) στη βέλτιστη περιεκτικότητα ορού σε λακτόζη που παρατηρήθηκε στην περίπτωση μελέτης της β-γαλακτοζιδάσης από *K. lactis* (14 % w/v, Σχήμα 2B). Στην περίπτωση αυτή, βέλτιστο βαθμό απόδοσης σε GOS παρουσίασε το ένζυμο από *A. oryzae* σε ενεργότητα 2,4 U/mL, ίσο με 25,4%. Για μεγαλύτερες ενεργότητες ενζύμου παρατηρήθηκε ελαφρώς μειωμένη απόδοση σε GOS. Η μειωμένη απόδοση της β-γαλακτοζιδάσης από *A. oryzae* στον όξινο ορό αποδίδεται την έντονη παρεμπόδιση της δράσης του από διάφορα κατιόντα που περιέχονται στον όξινο ορό, όπως έχει επισημανθεί και από άλλους ερευνητές<sup>[4]</sup>. Συγκρίνοντας τα δύο ένζυμα (από *K. lactis* και *A. oryzae*, Σχήματα 2A και 2B) παρατηρείται ότι με χρήση του ενζύμου από *K. lactis* στη βέλτιστη ενεργότητα (52 mU/mL) επιτυγχάνεται μεγαλύτερος μέγιστος βαθμός απόδοσης σε GOS απ' ότι με χρήση ενζύμου από *A. oryzae*, στις βέλτιστες συνθήκες (37,0% έναντι 25,4%, αντίστοιχα).

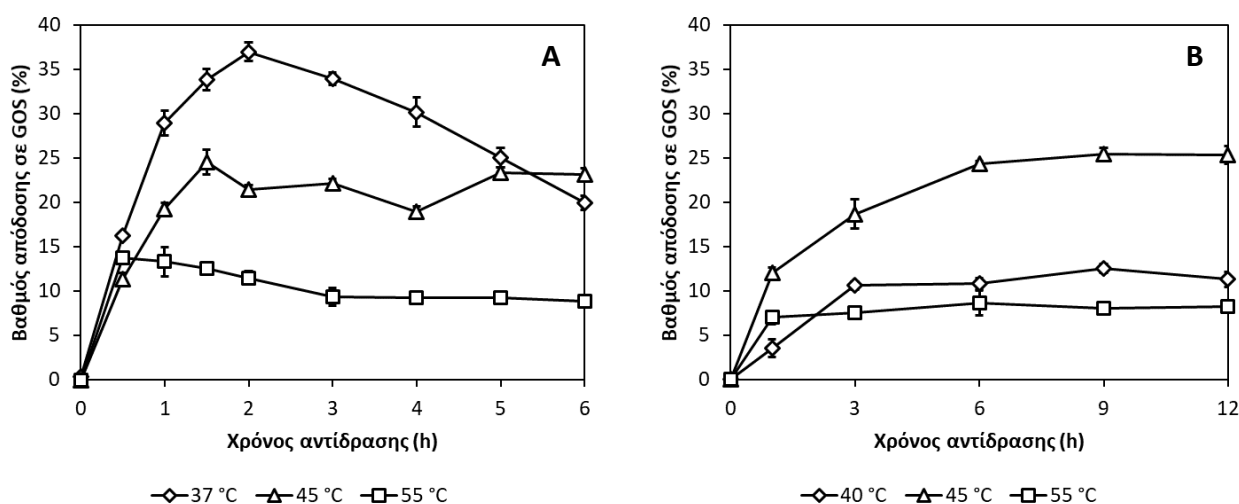


**Σχήμα 2.** Παραγωγή GOS με β-γαλακτοζιδάση από *Kluyveromyces lactis* (A) και *Aspergillus oryzae* (B) στις βέλτιστες συνθήκες δράσης των ενζύμων (37 °C & pH=7 και 45 °C & pH=4,5 αντίστοιχα) με όξινο ορό περιεκτικότητας 14 % w/v σε λακτόζη.

Ωστόσο, παρατηρείται ότι η χρήση β-γαλακτοζιδάσης από *K. lactis* οδηγεί σε υδρόλυση των σχηματιζόμενων προϊόντων της αντίδρασης, για μεγάλους χρόνους επώασης. Αυτό δεν παρατηρείται όταν χρησιμοποιείται ένζυμο από *A. oryzae*, καθώς έχει παρατηρηθεί από άλλους

ερευνητές ότι το ένζυμο σταδιακά απενεργοποιείται, κατά τη διάρκεια της επώασης<sup>[4]</sup>.

Τέλος, όσον αφορά στην επίδραση της θερμοκρασίας στην απόδοση της ενζυμικής αντίδρασης, βέλτιστη θερμοκρασία για τις β-γαλακτοζιδάσες από *K. lactis* και *A. oryzae* είναι οι 37°C και 45°C, σε συμφωνία και με σχετικές βιβλιογραφικές αναφορές<sup>[13,16]</sup>. Στις βέλτιστες θερμοκρασίες σημειώνεται μέγιστος βαθμός απόδοσης σε GOS ίσος με 37,0% και 23,6% για τα ένζυμα από *K. lactis* (52 mU/mL & pH=7,0) και *A. oryzae* (2,4 U/mL & pH=4,5) αντίστοιχα. Ακόμα, παρατηρείται ότι σε υψηλότερες θερμοκρασίες η απόδοση της αντίδρασης σε GOS φθίνει, πιθανώς λόγω της ταχύτερης απενεργοποίησης του ενζύμου με την πάροδο του χρόνου επώασης, όπως αναμενόταν.



**Σχήμα 3.** Εξάρτηση της παραγωγή GOS με β-γαλακτοζιδάση από *Kluyveromyces lactis* (A) και *Aspergillus oryzae* (B) από τη θερμοκρασία, στις βέλτιστες τιμές ενεργότητας και pH των ενζύμων (52 mU/mL & pH=7,0 και 2,4 U/mL & pH=4,5 αντίστοιχα) με όξινο ορό περιεκτικότητας 14 % w/v λακτόζη.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, από τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι ο όξινος ορός δύναται ν' αξιοποιηθεί για την παραγωγή συστατικών υψηλής αξίας, μέσω της ενζυμικής μετατροπής της περιεχόμενης σε αυτόν λακτόζης σε γαλακτοολιγοσακχαρίτες. Από τα δύο βιομηχανικά ένζυμα που μελετήθηκαν, υψηλότερη απόδοση σε GOS παρουσίασε η β-γαλακτοζιδάση από *K. lactis*, επιτυγχάνοντας μέγιστο βαθμό απόδοσης σε GOS ίσο με 37,0%, στις βέλτιστες συνθήκες. Από την άλλη, η χρήση β-γαλακτοζιδάσης από *A. oryzae* οδήγησε σε χαμηλότερη απόδοση σε GOS, επιτυγχάνοντας μέγιστο βαθμό απόδοσης σε GOS ίσο με 25,4%, στις βέλτιστες συνθήκες.

Ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι η χρήση του ενζύμου από *K. lactis*, αν και επιτυγχάνει υψηλότερους βαθμούς απόδοσης σε GOS, οδηγεί σε υδρόλυση των σχηματιζόμενων προϊόντων, για μεγάλους χρόνους ενζυμικής αντίδρασης, μετά την επίτευξη μιας μέγιστης συγκέντρωσης. Από την άλλη, η β-γαλακτοζιδάση από *A. oryzae*, αν και φαίνεται να παρεμποδίζεται από διάφορα συστατικά περιεχόμενα στον όξινο ορό, όπως μερικά κατιόντα, οδηγώντας σε χαμηλότερους βαθμούς απόδοσης σε GOS, δεν τείνει να υδρολύει τους σχηματιζόμενους GOS, ενώ πλεονεκτεί και στην τιμή του pH στην οποία δρα βέλτιστα (4,5), η οποία ισούται με την τιμή του pH του όξινου ορού, καθιστώντας δυνατή την χρήση του απευθείας στον ορό, δίχως να προηγηθεί ρύθμιση της τιμής του pH του.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- [1] Nielsen, 2015.
- [2] Fischer C. and Kleinschmidt T. (2018). Synthesis of Galactooligosaccharides in Milk and Whey: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17: 678-697.
- [3] 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.
- [4] Fischer C., Kleinschmidt T. (2015). Synthesis of galactooligosaccharides using sweet and acid whey as a substrate. *International Dairy Journal* 48: 15-22.
- [5] Smithers G. W. (2008). Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal* 18: 695-704.
- [6] Córdova A., Astudillo C., Vera C., Guerrero C., Illanes A. (2016). Performance of an ultrafiltration membrane bioreactor (UF-MBR) as a processing strategy for the synthesis of galacto-oligosaccharides at high substrate concentrations. *Journal of Biotechnology* 223: 26-35.
- [7] Smithers G. W. (2015). Whey-ing up the options - Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal* 48: 2-14.
- [8] 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.
- [9] Ansari S. A., Satar R., Chibber S., Khan M. J. (2013). Enhanced stability of *Kluyveromyces lactis* galactosidase immobilized on glutaraldehyde modified multiwalled carbon nanotubes. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 97: 258-263.
- [10] Torres D. P. M., Gonçalves M. d. P. F., Teixeira J. A., and Rodrigues L. R. (2010). Galacto-Oligosaccharides: Production, Properties, Applications, and Significance as Prebiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9: 438-454.
- [11] Erich S., Kuschel B., Schwarz T., Ewert J., Böhmer N., Niehaus F., Eck J., Lutz-Wahl S., Stressler T., Fischer L. (2015). Novel high-performance metagenome-galactosidases for lactose hydrolysis in the dairy industry. *Journal of Biotechnology* 210: 27-37.
- [12] Gosling A., Stevens G. W., Barber A. R., Kentish S. E., Gras S. L. (2010). Recent advances refining galactooligosaccharide production from lactose. *Food Chemistry* 121: 307-318.
- [13] Urrutia P., Rodriguez-Colinas B., Fernandez-Arrojo L., Ballesteros A. O., Wilson L., Illanes A., and Plou F. J. (2013). Detailed Analysis of Galactooligosaccharides Synthesis with  $\beta$  Galactosidase from *Aspergillus oryzae*. *J. Agric. Food Chem* 61: 1081-1087.
- [14] González-Delgado I., López-Muñoz M.-J., Morales G., Segura Y. (2016). Optimisation of the synthesis of high galacto-oligosaccharides (GOS) from lactose with b-galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *International Dairy Journal* 61: 211-219.
- [15] Warmerdam A., Zisopoulos F. K., Boom R. M., and E. M. Janssen A. E. M. (2013). Kinetic Characterization of Galacto-Oligosaccharide (GOS) Synthesis by Three Commercially Important b-Galactosidases. *Biotechnol. Prog.* 30(1): 38-47.
- [16] Fujimura Y., Rokushika S., Ohnishi M. (2003). Purification and molecular characterization of  $\beta$ -galactosidase from yeast *Kluyveromyces lactis*. *International Journal of Biological Macromolecules* 3(3): 97-103.