

Enzimatska hidroliza laktoze (Enzyme Hydrolyzed Lactose)

Mr. Mihailo OSTOJIĆ, Veterinarski i mlekarski institut, Beograd
Mr. Gordana NIKETIĆ, PBK »Imlek« OOUR »Standard«, Beograd
Jasna POPOVIĆ dipl. inž., PKB INI »Agroekonomik«, Zavod za laboratorijska
istraživanja, Beograd

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper

UDK: 637.345

Prispjelo: 15. 9. 1986.

Sažetak

Enzimatskom hidrolizom laktoze omogućena je bolja i raznovrsnija upotreba surutke u prehrambenoj industriji. Dobiveni hidrolizovani rastvor surutke sadržavao je 1,98% laktoze i 1,84% monosaharida u obliku glukoze i galaktoze i imao je poboljšanu slatkoću i rastvorljivost. To praktično znači, da se pri daljoj obradi i preradi surutke u napitke umanjuje potreba dodavanja saharoze za oko 45%.

Summary

Investigations were carried out in order to find possible solution to hydrolyze the lactose in whey to equal quantities of glucose and galactose using the enzyme lactase. The resulting product, lactose hydrolyzed whey, does not have the aformentation disadvantages and can be used as a component of whey-based beverages.

Uvod

Savremeni pravci razvoja u industriji hrane sve više zahtevaju procese koji daju kvalitetnu namirnicu bez gubitaka sekundarnih produkata. Zato se u novije vreme u mlekarskoj industriji sve više razvijaju postupci obrade i prerade sekundarnih sirovina. To su metode koje se mogu industrijski primeniti u tretmanu surutke, permeata i mlaćenice. U te procese ubrajaju se ultrafiltracija, demineralizacija, gel-filtracija, hromatografija i dr. Zajednička karakteristika svih tih procesa je u tome što se prirodni sastojci mleka tretiraju na odgovarajući način.

U novije vreme počeo je da se razvija proces hidrolize laktoze. On može biti hemijski ili enzimatski. Za sada je za ljudsku upotrebu podesna samo enzimatska metoda. Razlaganjem laktoze na glukozu i galaktozu dobiva se sirovina sa značajno izmenjenim svojstvima i proširenim mogućnostima primene u mlekarskoj i općenito prehrambenoj industriji.

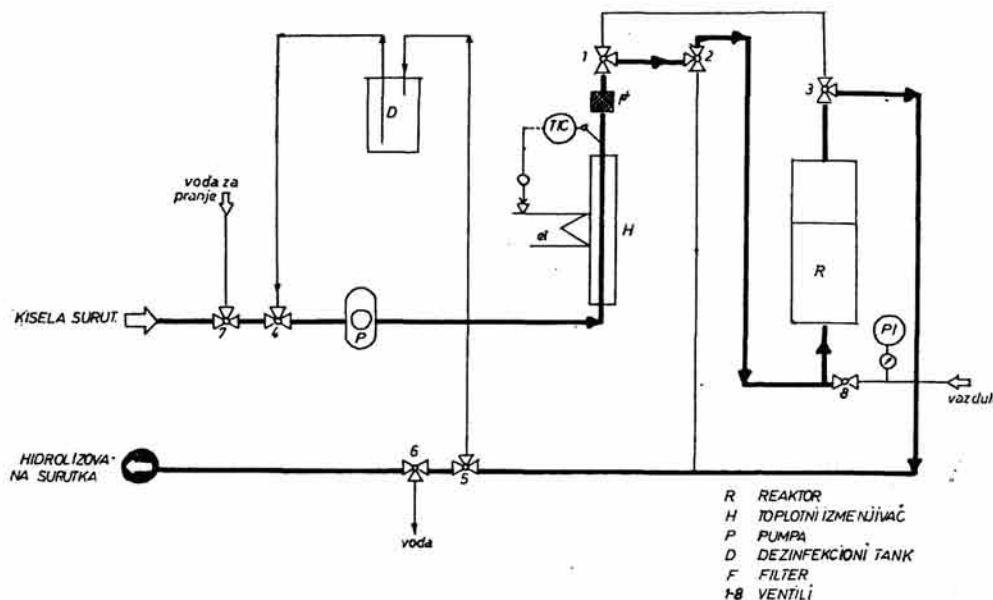
Surutka sa hidrolizovanom laktozom uspešno se može koristiti za:

- bezalkoholne napitke i voćne sokove,
- fermentisane alkoholne napitke,
- stočnu hranu (zamena mleka za telad) i dr.

Koncentrat surutke ili permeata sa hidrolizovanom laktozom može se koristiti za izradu:

- sirupa za kolače ili biskvite,
- čokolade ili karamela,
- sladoleda,
- raznih deserata i dr.

Sve to je omogućeno poboljšanim svojstvima surutke sa hidrolizovanom laktozom. Stoga su enzimatska hidroliza surutke, promene fizičko-hemijskih osobina i mogućnosti dalje upotrebe bili predmet naših istraživanja.



Shema 1. Enzimatska hidroliza laktoze
Schema 1. Enzyme Hydrolyse of Lactose

Pregled literature

Dobivanje enzima sa hidrolitičkim svojstvima razlaganja laktoze i njihovo poreklo opisivao je Obradović (1984). Autor navodi kao osnovni izvor enzima biljke, kvasce, bakterije, gljivice i pojedine životinjske organe.

Ostojić (1983, 1984) se bavio utvrđivanjem mogućnosti primene mleka i surutke sa hidrolizovanom laktozom, kao jednim od načina prevazilaženja netolerantnosti laktoze kod određenih kategorija potrošača.

Brule (1982) konstatuje prednost hidrolizovane laktoze sa prehrambenog, tehnološkog i ekonomskog stanovišta. Kod koncentrisanja surutke ili permeata kristalizacija laktoze ne predstavlja ograničavajući faktor ni pri koncentrisanju suve materije od 70—80%. Autor predlaže hidrolizu laktoze, praćenu demineralizacijom i koncentracijom proteina kao jednim od osnovnih pravaca valorizacije surutke.

Uvođenje hidrolize laktoze posle ultrafiltracije mleka ili surutke i mogućnosti dalje prerade rastvora bili su predmet istraživanja Gavarića (1984).

Dalqvist et al. (1977) su za hidrolizu neutralne surutke koristili enzim *Saccharomyces lactis*. Sterilizovani produkt je korišćen za produženje vremena inkubacije na sobnoj temperaturi. Konstatovali su takođe da se dobiva manja količina slobodne galaktoze nego glukoze, zbog stvaranja drugih oligosaharida.

Kršev (1984) se bavi proučavanjem primene mleka sa hidrolizovanom laktozom za proizvodnju jogurta i konstatuje da napici sa hidrolizovanom laktozom duže zadržavaju svoje organoleptičke osobine.

Hidrolizu laktoze permeata i surutke u membranskom reaktoru vršili su Roger et al. (1978). Oni su sugerisali nekoliko načina za ograničavanje precipitacije soli kalcijuma koje su negativno uticale na propustljivost membrane.

Thiebaut et al. (1978) detaljno opisuju proces hidrolize laktoze i daju uporedne pokazatelje ekonomskih kalkulacija enzimatske i hemijske hidrolize. Prema njihovim pokazateljima najekonomičniji su reaktori sa membranom i sa jonskim izmenjivačima.

Prirodne procese hidrolize u organizmu i uticaj jona natrijuma, kalijuma i ATP-a i AT-a istraživao je Linezovski (1981). Na osnovu svojih saznanja autor obrazlaže mogućnosti primene hidrolize laktoze u prehrambenoj industriji, u cilju izrade novih proizvoda i pridobivanju novih potrošača koji su inače netolerantni na laktozu.

Sprösler, et al. (1983) i Planier (1985) bave se proučavanjem imobilizirane laktoze za hidrolizu laktoze kod kisele surutke. Mann (1981) je u svojim bibliografskim radovima naveo niz proizvoda od mleka i surutke sa hidrolizovanom laktozom u raznim zemljama.

Načine kvantitativnog utvrđivanja laktoze i hidrolizovanih produkata istraživali su Nickerson et al. (1976). Autori su predložili kolorimetrijsku metodu kao vrlo osetljivu, ali istovremeno i podesnu za rutinske analize.

Materijal i metode rada

U predmetnim istraživanjima korišćena je surutka iz proizvodnje kvarka i belog sira. Podešavanje pH izvršeno je dodavanjem odgovarajućih količina organskih kiselina.

Hidroliza laktoze izvršena je na enzimatskom reaktoru firme Röhm. To je uređaj poluindustrijskog kapaciteta, ali može da hidrolizuje i do 1 tone surutke na dan. Korišćen je enzim Plexazim LA.1. To je laktaza izolavana iz *Aspergillus oryzae* koji je fiksiran na poroznu podlogu — neutralni nosač u obliku perli od pleksiglasa. Tako imobilisani enzim ima minimalni vek aktivnosti od oko 100 dana. Optimum dejstva je pri pH 4,5 i temperaturi od 30 °C.

Prikaz enzimatske hidrolize dat je u tablici 1.

Tačka mržnjenja surutke sa i bez hidrolizovane laktoze određuje se krioskopskom metodom na bazi prehladivanja i očitavanja na maksimalnoj temperaturi. Ispitivanje je vršeno na aparatu Kryomat.

Sadržaj suve materije određivan je standardnom metodom sušenja na 102—105 °C do konstantne težine.

Sadržaj proteina i laktoze određivan je instrumentalnom metodom na infrared spektrifotometru Milkoscan 104.

Vrednosti pH određivane su potenciometrijski na Iskra pehametru 5702.

Procenat hidrolize laktoze izračunat je na osnovu različitih tačaka mržnjenja početnog rastvora i hidrolizovanog rastvora surutke.

Rezultati istraživanja i diskusija

Tretirana surutka bila je različitog hemijskog sastava i uglavnom iz proizvodnje belog sira i kvarka. Optimalno dejstvo korišćenog enzima bilo je pri pH 4,5, pa se zato korigirala kiselost surutke dodavanjem odgovarajućih količina organskih kiselina.

U sledećoj tablici dat je pregled rezultata sastava surutke pre i posle enzimatske hidrolize.

Prosečan sastav korišćene surutke sadržavao je 5,96% suve materije, 0,79% proteina, 3,82% laktoze i 0,45% mineralnih materija.

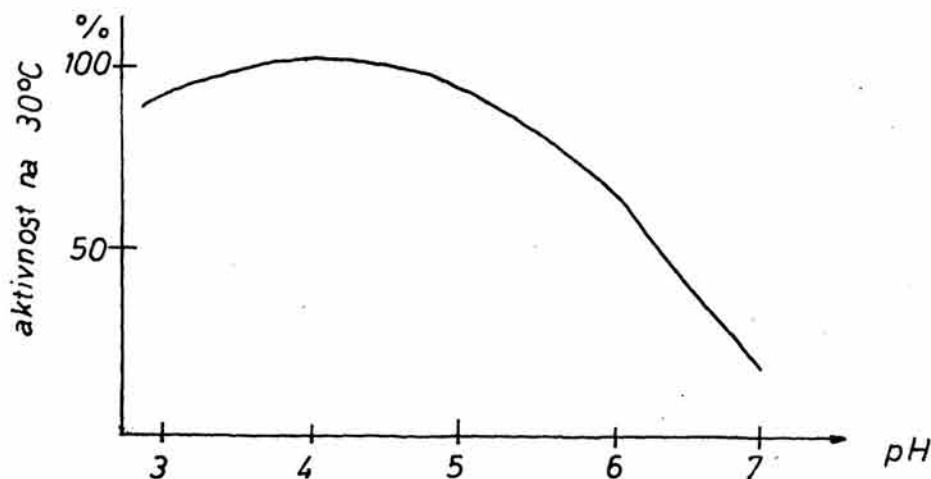
Posle enzimatske hidrolize sastav surutke nije se bitno izmenio, izuzev količine laktoze. Dobiveni hidrolizovani rastvor surutke sadržavao je 1,98% laktoze, i 1,84% šećera u obliku monosaharida galaktoze i glukoze. Ti pokazatelji ukazuju da je izvršena hidroliza laktoze u proseku 48%.

Stepen razgradnje laktoze praćen je preko promene tačke mržnjenja surutke pre i posle hidrolize. Tačka mržnjenja surutke kretala se od —1,135 do —0,0605 °C. Pojedini uzorci imali su povišenu količinu mineralnih elemenata, što je direktno uticalo na sniženje tačke mržnjenja. Konstatovano je takođe da prisustvo natrijumovih soli inhibitorno deluje na rad enzima.

Uticaj temperature i pH na aktivnost enzima dat je u dijagramu 1 i 2. Korišćeni enzimi imaju optimum dejstva u kiseloj sredini na nižim temperaturama, dok su u neutralnoj sredini stabilni pri temperaturi od 55 °C. S obzirom da je u tim istraživanjima korišćena kisela surutka, temperatura je regulisana na 30 °C i pH na 4,55.

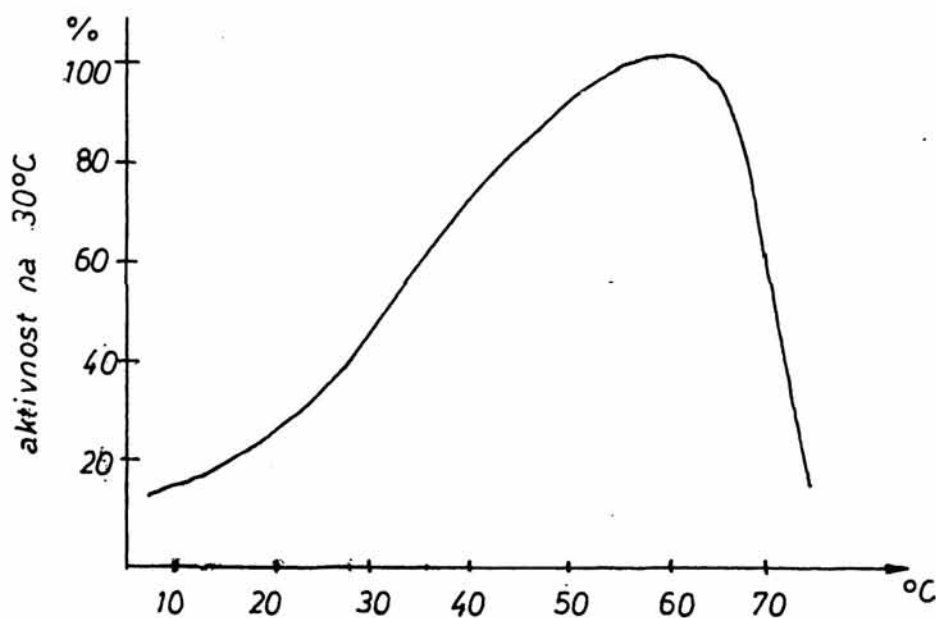
Tablica 1. Hemijski sastav i fizičke osobine surutke
 Table 1. Chemical Composition and Physical Characteristic of Whey

Red. br. No	pH	Suva mat. TS % (g/g)	Laktoza Lactose % (g/g)	Tačka mržnjenja Freezing Point		Galaktozo- glukozni rastvor Glucose- galactose Solution % (g/g)	% hidrol. Degree of Hydro- lysis
				Pre Before	Posle After Hidrolize Hydrolysis °C.		
1.	4,57	5,75	3,76	-0,683	-1,035	2,48	66
2.	4,47	6,20	4,07	-0,556	-1,135	2,00	49
3.	4,90	5,72	4,26	-0,290	-0,605	2,05	48
4.	4,34	6,15	3,92	-0,328	-0,730	1,76	45
5.	4,38	6,12	3,86	-0,255	-0,730	1,35	35
6.	4,32	5,90	3,84	-0,281	-0,685	1,58	41
7.	4,43	6,30	4,24	-0,273	-0,700	2,59	61
8.	4,50	6,12	4,10	-0,324	-0,720	2,25	55
9.	4,55	5,52	3,46	-0,410	-0,705	1,45	42
10.	4,60	5,83	2,65	-0,422	-0,620	0,85	32



Dijagram 1. pH optimum

Figure 1. pH Optimum



Dijagram 2. Aktivnost enzima u zavisnosti od temperature

Figure 2. Activity of Enzyme Depending on Temperature

Tako hidrolizovan rastvor surutke poboljšao je slatkoću i rastvorljivost za oko tri puta. To je značilo da se u daljoj obradi i preradi surutke u napitke umanjuje potreba dodavanja saharoze. U istraživanjima izrade napitaka od surutke, koja su nastavak ovih istraživanja, konstatovano je da se može dodati oko 45% manje saharoze nego napicima od surutke sa nehidrolizovanom laktozom. Tako dobiveni rastvor lakše se meša sa odgovarajućim dodacima i nema znakova kristalizacije pri njegovom koncentrisanju. Nije uočena ni Millard-ova reakcija tamnjenja.

Korišćeni enzimatski reaktor ima poluindustrijske kapacitete sa mogućnostima tretiranja surutke od 50 do 70 tona na dan. Značajno je istaknuti i troškove rada hidrolize laktoze. S obzirom da takvih reaktora nema na našem tržištu i da su oni novost u mlekerskoj industriji, korišćeni su podaci firme Röhm. Troškovi su određeni u srazmernim odnosima zbog nestabilnosti naše novčane jedinice prema konvertibilnim valutama.

Tablica 2. Troškovi enzimatske hidrolize laktoze
Table 2. Full Cost Calculation for Enzyme Hydrolyzed Lactose

Elementi troškova Elements of Calculation	Tretman surutke u % Treatment of Whey in %
1. Amortizacija reaktora Amortisation of Reactor	5,21
2. Energija Energy	8,85
3. Rad Personal Costs	13,02
4. Dezinfekcija/higijena Desinfection/Cleaning	5,21
5. Analize Analyses	2,61
6. Enzim Enzyme	65,10
Ukupno Total	100,00

Raspodela troškova enzimatske hidrolize laktoze izvršena je na bazi tretiranja 100 l surutke na dan i rada od 250 dana godišnje.

Zaključak

Na osnovu pregleda literature i rezultata naših istraživanja može se konstatovati sledeće:

- enzimatska hidroliza laktoze je proces koji omogućuje bolju i raznovrsniju upotrebu surutke u prehrambenoj industriji,
- prednost tih procesa je u kontinuitetu, konstantnosti kvaliteta i maksimalnom korišćenju reaktora,
- stepen hidrolizovanosti laktoze može se uspešno određivati i pratiti preko promene tačke mržnjenja surutke,
- najveći troškovi rada iskazani su kroz početne investicije i vrednost enzima,
- dobiveni hidrolizovani rastvor laktoze može se koristiti za izradu raznih napitaka uz uštedu utroška saharoze do 50%.

Dalja istraživanja trebalo bi usmeriti ka proizvodnji koncentrovanih, fermentisanih i drugih napitaka i mogućnostima proizvodnje u industrijskim razmerama.

Literatura

- BRULE, G. — L'hydrolase du lactose: Procèdes et Applications, Bulletin INRA — Rennes, 1982.
- DANLQVIST, A. N. — G. Asp., BURVILL, A. and RAUSING, H. (1977): **Journal of Dairy Res.** **44**, 541—548.
- GAVARIĆ, D.: Značaj laktoze u tehnologiji prerade mleka membranskim procesima, Seminar Inst. za mlekarstvo, 1984.
- KRSEV, L.J.: Organoleptičke i fizičko-kemijske osobine jogurta od laktozo-hidrolizovanog mleka, Seminar Inst. za mlekarstvo, 1984.
- LINEZOWSKI, Y. (1981): **Le Technicien du lait**, **3**, 13—17.
- MANN, E. (1981): **Revue laitière Française**, 403.
- NICKERSON, T. A. and VUJIČIĆ, I. F. (1976): **Journal of Dairy Sci**, **3**, 386—390.
- OBRADOVIĆ, D.: Značaj i primena beta-galaktozidaze u industriji mleka i mlečnih proizvoda, Seminar Inst. za mlekarstvo, 1984.
- OSTOJIC, M.: Magistarski rad, Novi Sad, 1983.
- OSTOJIC, M.: Značaj laktoze u ishrani i tehnologiji prerade mleka, Seminar Inst. za mlekarstvo, 1984.
- PLAINER, H. (1985): **La technique laitière**, **1003**, 49—51.
- ROGER, L., MAUBOIS, J. L., THAPOH, J. L. et BRULE, G. (1978): **Ann. Nutr. Alim.** **32**, 657—669.
- SPÖSSLER, B. and PLAINER, H. (1983): **Food Technology**, **10**, 93—95.
- THELWALL, L. A. W. (1982): **Journal of Dairy Res.** **49**, 713—724.
- THIEBAUT, G. et EVETTE, J. L. (1978): **Revue Laitière Française**, 370.
- VASIĆ, J.: Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Sarajevo, 1971.
- WAGNER, D., NORMAN, B. E., SEVERINSEN, S. G. and NIELSEN, H. (1977): **Nord Eropen Dairy Journal**, 5—6, 129—136.