

Određivanje optimalnih parametara za hidrolizu laktoze u sirutki

(Determination of Optimal Parameter for Lactose Hydrolysis in Whey)

Prof. dr. Matilda GRÜNER, Nevenka VRAČ, dipl. inž., Gordana DRAGIČEVIĆ, dipl. inž., prof. dr. Mirko FILAJDIĆ, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Stručni rad -- Professional Paper
Prispjelo: 15. 3. 1987.

UDK: 637.345:8

Sažetak

U radu je praćena hidroliza laktoze ugušćene sirutke kod različitih uvjeta: pH, temperature i dodanog enzima »Lactozyme 3000 L«. Optimalna hidroliza od 61,5% postignuta je kod dodatka 1% (v/v) enzima, te pH sirutke 6,02 i temperature od 37°C.

Summary

In article were described a lactose hydrolysis of the evaporated whey at different conditions: pH, temperature and given enzyme »Lactozyme 3000 L«. The optimal hydrolyse of 61,5% were reached with 1% of enzyme (w/w), the pH whey 6,02 and by 37°C of temperature.

Sirutka se dugo vremena smatrala otpadnim proizvodom mljekarske industrije ili se sušila i primjenjivala za ishranu stoke. Danas se tretira kao proizvod s velikom hranjivom vrijednošću i sve je važnija u prehrambenoj industriji.

Laktoza se iz sirutke dobiva na vrlo ekonomičan način: demineralizacijom elektrodijalizom, a proteini i laktoza ultrafiltracijom. Primjena čiste laktoze od ograničene je vrijednosti zbog niske topivosti i slatkoće. Hidrolizom laktoze u glukozu i galaktozu uz pomoć galaktozidaze dobiva se laktozni sirup koji se može primijeniti kao sredstvo za zaslađivanje u prehrambenoj industriji (Gavarić, 1984; Kršev, 1983/84; Novo, 1970; Ostojić, 1984; Poutanen, et al., 1978; Vasilisina et al., 1979). Izomerizacijom glukoze do fruktoze uz pomoć imobilizirane izomeraze (E,C.5.3.1.5.) može se dalje povući slatkoća, što omogućava daljnju primjenu tog sirupa u prehrambenoj industriji (Gavarić, 1984; Kršev, 1983/84; Novo, 1979; Ostojić, 1984; Poutanen, et al., 1978; Vasilisina, et al., 1979).

Svrha ovog rada sastoji se u tome da se nađu parametri koji najpovoljnije utječu na hidrolizu laktoze u sirutki te da se pod laboratorijskim uvjetima utvrdi bolji način dobivanja laktoznog sirupa.

Materijal i metode

U našem radu kao sirovinu primijenili smo ugušćenu slatku sirutku (40% suhe tvari) namijenjenu proizvodnji sirutke u prahu. Sirutka je dobivena iz RO »Zdenka« Veliki Zdenci.

Hidroliza laktoze provedena je uz pomoć enzima komercijalnog naziva »LACTOZYM 3000 L«, proizvođača Novo Industry A/S. Aktivnost enzima deklarirana je sa 3000 LAU/ml.

1 LAU definirana je kao količina enzima koja oslobađa 1 μ mol glukoze u 1 min. iz 4,7 %/t/v/ otopine laktoze kod 37°C i pH 6,5.

Količina laktoze u ugušćenoj slatkoj sirutki, odnosno galaktoze nastale hidrolizom određena je enzimnom metodom (Boehringer, 1983).

Rezultati i rasprava

Rezultati određivanja laktoze i galaktoze u sirovini pokazali su da ugušćena slatka sirutka sadrži 0,61% slobodne galaktoze i 28,73% laktoze.

Ovisnost oslobađanja galaktoze dodavanjem enzima »Lactozym 3000 L« u količinama od 0,3% — 0,6% — 1% o vremenu reakcije izraženom u satima (tab. 1) u ugušćenoj slatkoj sirutki kod temperature od 42°C i pri pH 6,2 mogla se izraziti matematskom funkcijom tipa:

$y = a \cdot x^b$; gdje su

$y =$ % galaktoze

$a =$ koeficijent jednadžbe regresije

$b =$ koeficijent jednadžbe regresije

$x =$ vrijeme reakcije u satima.

Izbor tipa funkcije izvršen je na temelju najveće vrijednosti koeficijenta korelacije (r_i) između slijedeće 4 jednadžbe.

$$Y = a_1 + bx, \quad /1/$$

$$Y = a \cdot e^{bx} \quad /2/$$

$$Y = a_1 + b \ln x \quad /3/$$

$$y = ax^b \quad /4/$$

Numeričke vrijednosti koeficijenta korelacije za navedene 4 jednadžbe izračunate su pomoću džepnog računala TI-59 (Vukadinović, et al., 1985).

Za eksperimentalne podatke unesene u tablici 1. koeficijenti korelacije 4 jednadžbe regresije iznosili su:

$$r_{1.1.1.} = 0,9763$$

$$r_{1.2.1.} = 0,9876$$

$$r_{1.3.1.} = 0,9725$$

$$r_{1.1.2.} = 0,9912$$

$$r_{1.2.2.} = 0,9866$$

$$r_{1.3.2.} = 0,9287$$

$$r_{1.1.3.} = 0,9516$$

$$r_{1.2.3.} = 0,9821$$

$$r_{1.3.3.} = 0,9920$$

$$r_{1.1.4.} = 0,9946$$

$$r_{1.2.4.} = 0,9990$$

$$r_{1.3.4.} = 0,9953$$

Prvi broj označava tabelu, drugi broj varijablu, treći tip jednadžbe. Prema tome, dobiven je model jednadžbe $4/y = a \cdot x^b$ kao najpovoljniji za objašnjenje stohastičke ovisnosti eksperimentalnih podataka unesenih u tablicu 1.

Vrijednosti koeficijenta iznosile su:

Za 0,3% dodavanog enzima »Lactozym 3000 L«

$$\hat{y} = 2,2352 \cdot x^{0,61859} \quad /1,1/$$

Za 0,6% dodavanog enzima

$$\hat{y} = 3,1174 \cdot x^{0,5119} \quad /1,2/$$

Za 1% dodavanog enzima

$$\hat{y} = 3,05106 \cdot x^{0,6750} \quad /1,3/$$

Razlike kvadrata izračunatih vrijednosti iz navedenih jednadžbi regresije 1,1 i 1,2, odnosno 1,3 i eksperimentalnih rezultata % galaktoze (tablica 1) nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$).

Tablica 1. Rezultati određivanja galaktoze u ugušćenoj slatkoj sirutki uz dodatak 0,3, 0,6 i 1% v/v »Lactozyma 3000 L« kod temperature od 42°C i pH 6,2

sati	galaktoza		
	0,3%	0,6%	1%
0	0,61	0,61	0,61
1	2,20	3,16	2,86
2	3,44	4,36	5,37
3	4,52	5,43	6,79
4	5,53	6,33	7,27
5	5,70	7,21	8,83

Tablica 2. Rezultati određivanja galaktoze u ugušćenoj sirutki kod pH sirutke 5,68, 6,02, 7,03, temperature 42°C i uz dodatak 1% v/v »Lactozym 3000 LAU«

sati	galaktoza			
	pH	5,68	6,02	7,03
0		0,61	0,61	0,61
1		3,88	4,98	3,68
2		6,10	7,06	5,10
3		6,35	8,52	6,45
4		8,11	9,34	7,39
5		8,25	9,38	7,85

Ovisnost količine galaktoze oslobođene dodatkom enzima »Lactozym 3000 L« u iznosu od 1% pri temperaturi od 42°C uz istovremeno mijenjanje pH 5,68 — 6,02 — 7,03, o vremenu reakcije izražavanog u satima (tablica 2) u ugušćenoj sirutki mogla se također izraziti istim tipom jednadžbe $y = ax^b$, jer su koeficijenti korelacije iznosili:

$r_{2.1.1.} = 0,9541$

$r_{2.2.1.} = 0,9408$

$r_{2.3.1.} = 0,9825$

$r_{2.1.2.} = 0,9770$

$r_{2.2.2.} = 0,9803$

$r_{2.3.2.} = 0,9946$

$r_{2.1.3.} = 0,9293$

$r_{2.2.3.} = 0,9179$

$r_{2.3.3.} = 0,9623$

$r_{2.1.4.} = 0,9782$

$r_{2.2.4.} = 0,9845$

$r_{2.3.4.} = 0,9974$

Prema tome jednadžba regresije za dane uvjete podataka iz tablice 2. glasi:

Kod pH = 5,68:

$$\hat{Y} = 4,0309 \cdot x^{0,4691}$$

2.1, sa $r^2 = 0,954$

Kod pH = 6,02:

$$\hat{Y} = 5,1569 \cdot x^{0,4112}$$

2.2, sa $r^2 = 0,968$

Kod pH = 7,03:

$$\hat{Y} = 3,6900 \cdot x^{0,4864}$$

2.2. sa $r^2 = 0,955$

Razlika kvadrata izračunatih vrijednosti iz navedenih jednadžbi 2,1 — 2,2 — 2,3 i eksperimentalnih rezultata % galaktoze (iz tablice 2) nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$), što znači da su opisane jednadžbe zadovoljavajuće.

Ovisnost oslobađanja galaktoze dodavanjem enzima »Lactozym 3000 L« u iznosu od 1% i pH = 6,2, uz istovremeno mijenjanje temperature kod 21° — 37° i 42°C o vremenu reakcije izvršenom u satima (tablica 3) u ugušćenoj sirutki mogla se izraziti nešto drugačijim tipom jednadžbi regresije od onih za podatke iz tablice 1. i 2.

Tablica 3. Rezultati određivanja galaktoze u ugušćenoj sirutki kod temperature od 21°C, 37°C i 42°C, pH 6,2 i uz dodatak 1% v/v »Lactozym 3000 L«

sati	galaktoza %		
	21°C	37°C	42°C
0	0,61	0,61	0,61
1	4,00	5,87	4,98
2	4,29	6,75	7,06
3	5,51	8,14	8,52
4	6,16	9,35	9,34
5	7,25	9,90	9,38

Odgovarajući koeficijent korelacije za uvjete kod temperaturc:

21°C	37°C	42°C
$r_{3.1.1.} = 0,9867$	$r_{3.2.1.} = 0,9818$	$r_{3.3.1.} = 0,9408$
$r_{3.1.2.} = 0,9312$	$r_{3.2.2.} = 0,9870$	$r_{3.3.2.} = 0,9903$
$r_{3.1.3.} = 0,9887$	$r_{3.2.3.} = 0,9739$	$r_{3.3.3.} = 0,9179$
$r_{3.1.4.} = 0,9508$	$r_{3.2.4.} = 0,9842$	$r_{3.3.4.} = 0,9837$

Na temelju izračunatih koeficijenata korelacije proizlazi da bi najpovoljniji oblici jednadžbi bili:

Za uvjete temperature kod 21°C.

$$\hat{Y} = a_1 + b \cdot \ln x$$

$$\hat{Y} = 3,5564 + 1,9693 \ln x \quad /3.1/$$

sa $r^2 = 0,871$

Za uvjete temperature od 37°C.

$$\hat{Y} = a \cdot e^{bx}$$

$$\hat{Y} = 5,2042 \cdot e^{0,1371 \cdot x} \quad /3.2./$$

sa $r^2 = 0,9744$

Za uvjete temperature od 42°C.

$$\hat{Y} = a \cdot e^{b \cdot x}$$

$$\hat{Y} = 4,8124 \cdot e^{0,1546 \cdot x} \quad /3.3./$$

sa $r^2 = 0,643$.

Razlike kvadrata izračunatih vrijednosti iz navedene jednadžbe regresije 3,1 — 3,2 — 3,3 i eksperimentalnih rezultata % galaktoze (tablica 3) nisu bile statistički značajne ($p < 0,05$), a koeficijenti determinacije (r^2) bili su statistički značajni ($p < 0,01$).

Zaključak

Zahvaljujući praćenju hidrolize laktoze ugušćene slatke sirutke kod različitih uvjeta: pH, temperature i količine dodanog »Lactozyma 3000 L« može se zaključiti:

Za hidrolizu laktoze u ugušćenoj slatkoj sirutki, s 28,7% laktoze potrebno je dodati 1% v/v enzima Lactozym 3000 L«.

Optimalna hidroliza postiže se kada je pH supstrata tj. sirutke podešen na 6,02, a temperatura inkubacije je 37°C.

Kod navedenih uvjeta postiže se hidroliza od 61,5% laktoze, što je najbolje iskorištenje.

Literatura

- BOEHRINGER MANNHEIM: Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik mit Est — Combinationen, 37—39, 1983.
- GAVARIĆ, D.: Značaj laktoze u tehnologiji prerade mleka membranskim procesima, Savjetovanje o laktozi, Beograd, 1984.
- KRŠEV, L.J.: Organoleptičke i fizikalno-kemijske osobine jogurta od laktoza-hidroli-ziranog mlijeka, Savjetovanje o laktozi, Beograd, 1984.
- KRŠEV, L.J.: Poznavanje i tehnologija mlijeka i mlječnih proizvoda, Interna skripta, 20—22, 169—174, 1983.
- NOVO Enzymes Division A 5489, Application of Yeast Lactases—a Review, 7—8, 1979.
- OSTOJIC, M.: Značaj laktoze u ishrani i tehnologiji prerade mleka, Savjetovanje o laktozi, Beograd, 1984.
- POUTANEN, K., LINKO, Y., LINKO, P. (1978): Treatment of Hydrolyzed Whey Lactose Syrup With Immobilized Glucose Isomerase For Increased Sweetness, *Milchwissenschaft*, 33 (7), 435—438.
- VASILISINA, V. V., HRAMCOV, A. G., ČEBOTAREVA, N. G., KUZNECOV, E. S., TIHOMIROVA, A. S. (1979): Hidroliz laktozy v tvoroznoj syvorotke, *Moločnaja Promishlennost*, 11, 19—21.
- VUKADINOVIC, V., RADOŠ, A. (1985): Primjena regresije pri kalibraciji indirektnih metoda analiza, *Kemija u industriji* 34, (sv. 10) 631—634.