

ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΖΥΜΩΜΕΝΩΝ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΜΕΙΩΜΕΝΗΣ ΛΑΚΤΟΖΗΣ

Δ. Αναγνώστου, Τ. Κεκές, Γ. Φρακολάκη, Μ. Κατσούλη, Β. Γιάννου, Κ. Τζιά*

Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα

(*tzia@chemeng.ntua.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το γιαούρτι είναι ζυμωμένο γαλακτοκομικό προϊόν με υψηλή αποδοχή από τους καταναλωτές λόγω των περιεχόμενων θρεπτικών συστατικών του (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λίπος, βιταμίνες και μέταλλα), καθώς και των ευχάριστων οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του. Παρόλα αυτά λόγω της περιεχόμενης λακτόζης, θεωρείται ακατάλληλο για άτομα με δυσανεξία στη λακτόζη.

Κύριος σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της παραγωγής γιαουρτιού μειωμένης λακτόζης και η σύγκριση των χαρακτηριστικών ποιότητας των τελικών προϊόντων με τα αντίστοιχα των συμβατικών γιαουρτιών. Η υδρόλυση της λακτόζης εξετάστηκε σε ημιαποβουτυρωμένο ή πλήρες γάλα με χρήση του ενζύμου λακτάση (Saphera® FMP, Novozymes) σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση (απαιτούμενη ή περίσσεια) και το χρόνο δράσης (30 min, 60 min) του ενζύμου. Τα γάλατα υδρολυμένης λακτόζης υποβλήθηκαν στη συνέχεια σε δύο διαφορετικές θερμικές κατεργασίες (ήπια: 84°C για 20 min ή έντονη: 92°C για 15 min), εμβολιάστηκαν με συμβιοτική γαλακτική καλλιέργεια και ζυμώθηκαν προς παρασκευή γιαουρτιού. Ο επιτυγχανόμενος βαθμός υδρόλυσης της λακτόζης εκτιμήθηκε στο γάλα μετά τη θερμική κατεργασία όπου προκαλείται απενεργοποίηση του ενζύμου, και μελετήθηκε η εξέλιξη της ζύμωσης μέσω της μεταβολής του pH και του ιξώδους του πηγματος, καθώς και ο συνολικός χρόνος ζύμωσης (έως pH=4.6). Τα τελικά γιαούρτια μειωμένης λακτόζης αξιολογήθηκαν ως προς το τελικό ιξώδες τους και τα χαρακτηριστικά της υφής τους.

Εισαγωγή

Το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της καθημερινής διατροφής των ανθρώπων, καθώς είναι σημαντικές πηγές ασβεστίου και περιέχουν πολύτιμα μικρο- και μακρο-θρεπτικά συστατικά. Στο γάλα βρίσκονται κυρίως διεσπαρμένα λιπίδια, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες, με κυριότερο εξ αυτών τη λακτόζη. Η περιεκτικότητα της λακτόζης στο γάλα ανέρχεται σε 4.5-5%, ενώ στα ζυμωμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, το ποσοστό της είναι μειωμένο. Στην ύπαρξη της λακτόζης αποδίδονται διάφορα γαστρεντερικά προβλήματα που προκαλούνται στον άνθρωπο από την κατανάλωση του γάλακτος και των προϊόντων του. Η δυσανεξία στη λακτόζη είναι μία πάθηση που προκαλείται σε μεγάλη μερίδα του πληθυσμού, που φτάνει μέχρι και το 70% παγκοσμίως, από την έλλειψη της β-γαλακτοζιδάσης, ενός ενζύμου που έχει την ικανότητα να υδρολύει τη λακτόζη. Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του γιαουρτιού είναι το είναι γάλα προερχόμενο από οποιοδήποτε γαλακτοφόρο ζώο και η συμβιοτική καλλιέργεια, η οποία αποτελείται από γαλακτικά βακτήρια *Lactobacillus bulgaricus* sp. και *Streptococcus thermophilus* spp. Το γάλα ομογενοποιείται, τυποποιείται ως προς τα επιθυμητά λιπαρά και τα στερεά (με προσθήκη στερεών ενίσχυσης ή σταθεροποιητών) και ακολούθως υποβάλλεται σε θερμική κατεργασία, ψύχεται και εμβολιάζεται με τη γαλακτική καλλιέργεια και ζυμώνεται. Η δράση των βακτηρίων προκαλεί την ζύμωση του γάλακτος, που οδηγεί στο σχηματισμό του πηγματος του γιαουρτιού. Κατά την ζύμωση καταναλώνεται η λακτόζη και παράγονται γαλακτικό οξύ προκαλώντας μείωση του pH. Τα τελευταία χρόνια πραγματοποιούνται μελέτες για τη μείωση της περιεχόμενης λακτόζης στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα, με σκοπό την παραγωγή προϊόντων που θα απευθύνονται σε ομάδες πληθυσμού που έχουν προβλήματα με την αφομοίωση της λακτόζης. Η τεχνολογία για την παραγωγή τέτοιων προϊόντων περιλαμβάνει την ενζυμική υδρόλυση της λακτόζης με προσθήκη του ενζύμου λακτάση στο γάλα στη βέλτιστη θερμοκρασία δράσης και για συγκεκριμένο χρονικό

διάστημα. Με τη θερμική κατεργασία που εφαρμόζεται στη συνέχεια στο γάλα επιτυγχάνεται η απενεργοποίηση του ενζύμου, οπότε στη συνέχεια ακολουθεί η κανονική διαδικασία ζύμωσης του γάλακτος για την παραγωγή γιαουρτιού. Με τη διαδικασία αυτή μπορούν να προκύψουν προϊόντα μειωμένης ή ακόμη και ελεύθερα λακτόζης. Στην παρούσα εργασία εξετάζεται η παραγωγή γιαουρτιού από γάλα υδρολυμένης λακτόζης και διερευνάται η εξέλιξη της ζύμωσης όπως και τα χαρακτηριστικά των τελικών προϊόντων γιαουρτιών μειωμένης λακτόζης.

Στόχοι - Μεθοδολογία

Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι η μελέτη της ενζυμικής υδρόλυσης της λακτόζης στο γάλα και η ζύμωση του επεξεργασμένου (υδρολυμένου) γάλακτος προς γιαούρτι, ώστε να προκύψει ένα τελικό προϊόν μειωμένης λακτόζης. Λόγω του ουδέτερου pH του γάλακτος, επιλέχθηκε η λακτάση (Saphera® FMP, Novozymes) του βακτηρίου *Bifidobacterium bifidus*.

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε πλήρες (3.7% λιπαρά) και ημιαποβουτυρωμένο γάλα (1.5% λιπαρά), με προσθήκη του ενζύμου σε διαφορετική ποσότητα (κανονική σύμφωνα με τις προδιαγραφές του προμηθευτή ή σε περίσσεια 4%), με διαφορετική διάρκεια ενζυμικής κατεργασίας (30 ή 60 min) και στη συνέχεια με θερμική κατεργασία του γάλακτος (ήπια: 84°C για 20 min ή έντονη: 92°C για 15 min) που επιτυγχάνει και την απενεργοποίηση του ενζύμου.

Μέθοδοι - Αναλύσεις

Παραγωγή συνεκτικού γιαουρτιού:

Ποσότητα 1000 mL γάλακτος (πλήρες ή ημιαποβουτυρωμένο) θερμαίνεται σε υδατόλουτρο σε θερμοκρασία 40°C, και προστίθεται σε αυτό η κατάλληλη ποσότητα ενζύμου (σύμφωνα με τις προδιαγραφές του προμηθευτή ή 4% περίσσεια) παραμένει υπό ανάδευση για ορισμένο χρόνο (30 ή 60 min). Στη συνέχεια, το γάλα παστεριώνεται (ήπια: 84°C για 20 min ή έντονα: 92°C για 15 min) οπότε απενεργοποιείται το ένζυμο, και ψύχεται στους 45°C. Αφού ληφθεί δείγμα 2-4 mL για τον προσδιορισμό της λακτόζης, προστίθεται σε αυτό η καλλιέργεια εκκίνησης σε αναλογία 2.5 g/1000 mL, ακολουθεί ήπια ανάδευση και το μίγμα μοιράζεται σε πλαστικά κύπελλα τα οποία εισάγονται εντός επωαστήρα για ζύμωση σε σταθερή θερμοκρασία 45°C. Η εξέλιξη της ζύμωσης μελετάται μέσω της καταγραφής του pH, έως ότου αυτό αποκτήσει την τιμή 4,6, όπου και θεωρείται ότι ολοκληρώνεται η ζύμωση και ο χρόνος αυτός ορίζεται ως ολικός χρόνος ζύμωσης. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, ανά τακτά χρονικά διαστήματα, μέχρι το πέρας αυτής γίνεται προσδιορισμός του ιξώδους του σχηματιζόμενου πηγματος. Το τελικό δείγμα συνεκτικού γιαουρτιού αποθηκεύεται στο ψυγείο στους 4°C και την επόμενη ημέρα πραγματοποιείται ανάλυση της υφής του.

Προσδιορισμός pH

Χρησιμοποιούνται ηλεκτρονικά pH-μετρα, τα οποία λαμβάνουν μετρήσεις ανά 5 min σε όλη τη διάρκεια της ζύμωσης.

Προσδιορισμός Ιξώδους

Το ιξώδες προσδιορίζεται (στους 45°C) κατά την εξέλιξη της πήξης του γάλακτος σε 6 διαδοχικές χρονικές στιγμές ανά 30 min, καθώς και στο τέλος της ζύμωσης (στους 45°C), με τη χρήση του περιστροφικού ιξωδόμετρου (Brookfield/DV-II+Pro, USA).

Προσαρμογή δεδομένων pH και ιξώδους στα μοντέλα Gompertz

Τα δεδομένα των τιμών pH και ιξώδους συναρτήσει του χρόνου ζύμωσης προσαρμόζονται στα παρακάτω τροποποιημένα μοντέλα Gompertz με τη βοήθεια του προγράμματος Sigmaplot 10.0.

Το pH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης περιγράφεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$pH = pH_0 + (pH_\infty - pH_0) \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu \cdot e}{(pH_\infty - pH_0)} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

όπου, pH_0 = η αρχική τιμή του pH, pH_∞ = το pH στο τέλος της ζύμωσης, μ = ο μέγιστος ρυθμός μείωσης του pH και λ = ο χρόνος διάρκειας της λανθάνουσας φάσης.

Αντίστοιχα, το ιξώδες του σχηματιζόμενου πηγματοςκατά τη διάρκεια της ζύμωσης περιγράφεται από με την ακόλουθη εξίσωση:

$$\mu = \mu_0 + (\mu_0 - \mu_\infty) \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu \cdot e}{(\mu_0 - \mu_\infty)} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

όπου, μ_0 = η αρχική τιμή του φαινόμενου ιξώδους, μ_∞ = η τιμή του φαινόμενου ιξώδους στο τέλος της ζύμωσης, μ = ο μέγιστος ρυθμός αύξησης του φαινόμενου ιξώδους και λ = ο χρόνος διάρκειας της λανθάνουσας φάσης.

Ανάλυση υφής των τελικών δειγμάτων γιαουρτιού

Η ανάλυση υφής των δειγμάτων γιαουρτιού έγινε με τη συσκευή Texture Analyzer TA-XT2i (Stable Microsystems) με χρήση του κυλινδρικού στελέχους TA3/1000. Οι παράμετροι που εξετάστηκαν είναι: η σκληρότητα, η συνεκτικότητα και η προσκολλησιμότητα.

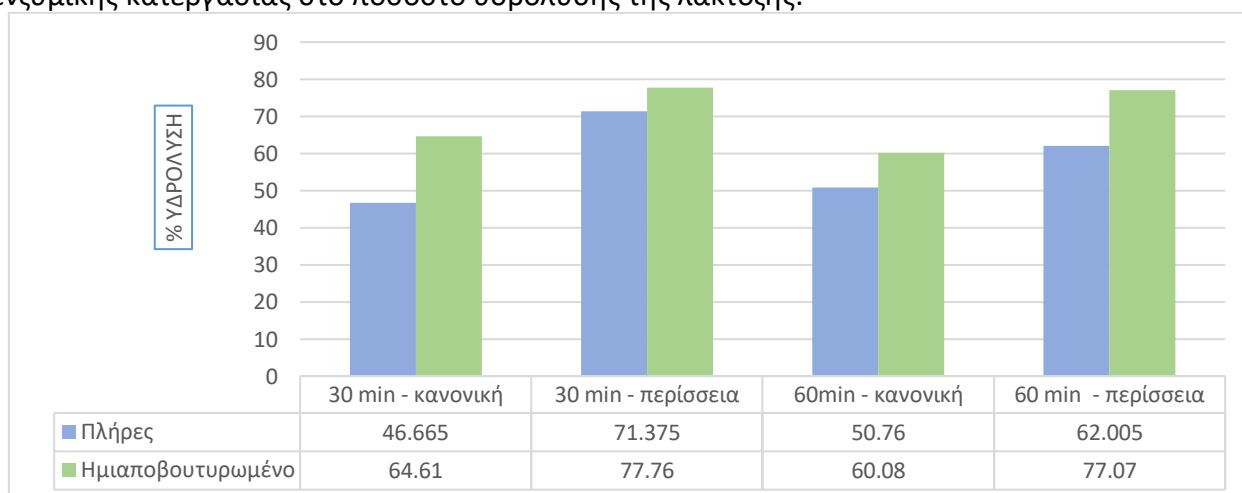
Προσδιορισμός λακτόζης

Για τον υπολογισμό της λακτόζης εφαρμόστηκε η μέθοδος του Montgomery (1961)^[3]. Ποσότητα 2 mL γάλακτος αραιώνεται κατάλληλα με νερό, και μετά προστίθενται 0.1 mL υδατικό διάλυμα φαινόλης 80% w/v, και 5 mL πυκνού θειϊκού οξέος. Το διάλυμα αναδεύεται καλά, αφήνεται για 30 min σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και φωτομετρείται στα 489 nm. Η συγκεκριμένη μέτρηση πραγματοποιείται στο αρχικό γάλα και στο υδρολυμένο μετά την αδρανοποίηση του ενζύμου.

Αποτελέσματα - Συζήτηση

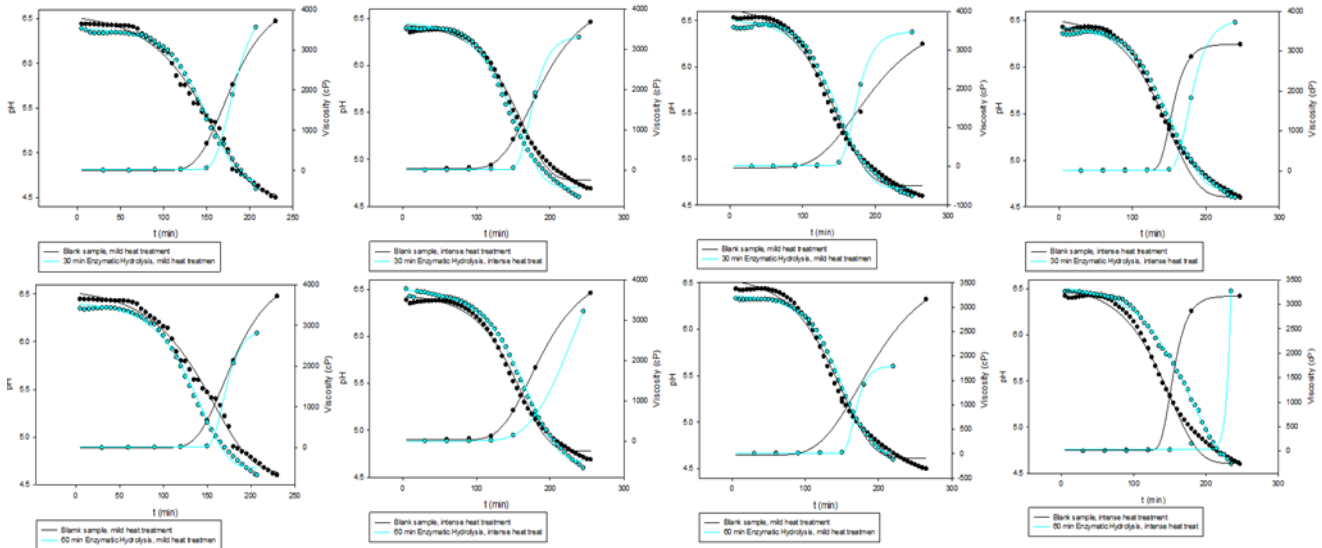
Το αρχικό ποσοστό λακτόζης στο πλήρες γάλα υπολογίστηκε ίσο με 4.57%, και επομένως απαιτούνται 0.1316 g_{ενζύμου} για την υδρόλυσή της. Στο ημιαποβουτυρωμένο γάλα το αρχικό ποσοστό λακτόζης υπολογίστηκε ίσο με 4.72% και για την υδρόλυσή της απαιτούνται 0.1360 g_{ενζύμου}. Στα πειράματα με περίσσεια ενζύμου, προστέθηκε 4% επιπλέον ένζυμο.

Στο Σχήμα 1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της υδρόλυσης της λακτόζης. Από τα αποτελέσματα παρατηρείται πως το ποσοστό υδρόλυσης της λακτόζης που επιτυγχάνεται στο ημιαποβουτυρωμένο γάλα είναι υψηλότερο (70% κατά μέσο όρο) σε σχέση με το αντίστοιχο στο πλήρες γάλα (58% κατά μέσο όρο). Αυτό ενδεχομένως οφείλεται στην παρεμποδιστική δράση των λιπαρών στο ένζυμο. Η ποσότητα του ενζύμου επηρεάζει σημαντικά το ποσοστό υδρόλυσης, συγκεκριμένα με προσθήκη περίσσειας ενζύμου επιτυγχάνεται μεγαλύτερο ποσοστό υδρόλυσης της λακτόζης (72% κατά μέσο όρο) σε σχέση με την προσθήκη της συνιστώμενης ποσότητας (56% κατά μέσο όρο). Από τα αποτελέσματα δεν παρατηρείται κάποια επίδραση του χρόνου της ενζυμικής κατεργασίας στο ποσοστό υδρόλυσης της λακτόζης.



Σχήμα 1: Αποτελέσματα του ποσοστού υδρόλυσης λακτόζης σε πλήρες και ημιαποβουτυρωμένο γάλα, σε σχέση με το χρόνο ενζυμικής κατεργασίας και την ποσότητα του ενζύμου

Στο Σχήμα 2 παρουσιάζονται ενδεικτικά διαγράμματα μεταβολής του pH και του ιξώδους πλήρους και ημιαποβουτυρωμένου γάλακτος με ή χωρίς ενζυμική υδρόλυση της λακτόζης.



Σχήμα 2: Διαγράμματα μεταβολής του pH και του ιξώδους πλήρους και ημιαποβουτυρωμένου γάλακτος με ή χωρίς ενζυμική υδρόλυση της λακτόζης.

Στον Πίνακα 1, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ζύμωσης του ενζυμικά επεξεργασμένου γάλακτος.

Πίνακας 1: Αποτελέσματα μελέτης ζύμωσης γιαουρτιού από πλήρες και αποβουτυρωμένο γάλα υδρολυμένης λακτόζης - Επίδραση της ποσότητας του ενζύμου, του χρόνου της ενζυμικής κατεργασίας και της θερμικής κατεργασίας του γάλακτος. Η περίσσεια του ενζύμου είναι 4%. Παρουσιάζονται και τα αποτελέσματα της συμβατικής ζύμωσης.

Γάλα	Ποσότητα Ενζύμου (g)	Χρόνος Ενζυμικής Κατεργασίας (min)	Θερμική Κατεργασία	μ _{pH}	λ _{pH} (min)	Μιξώδους	λ _{ιξώδους} (min)	Χρόνος Ζύμωσης (min)
Πλήρες	-	-	Ήπια: 84°C για 20 min	-0.017	201.452	51.478	138.427	230
	Κανονική	30		-0.021	185.993	89.357	159.066	207
	Περίσσεια			-0.020	186.017	64.073	154.017	225
	Κανονική	60		-0.021	174.426	92.789	156.163	207
	Περίσσεια			-0.020	175.509	83.942	145.041	210
	-	-	Έντονη: 92°C για 15 min	-0.018	198.759	37.454	132.084	255
	Κανονική	30		-0.019	190.468	84.007	157.098	239
	Περίσσεια			-0.017	198.455	90.022	157.832	242
	Κανονική	60		-0.018	211.080	46.343	175.601	245
	Περίσσεια			-0.017	205.403	92.998	158.528	248
Ημιαποβουτυρωμένο	-	-	Ήπια: 84°C για 20 min	-0.017	191.676	25.819	118.853	265
	Κανονική	30		-0.019	193.588	84.567	154.526	251
	Περίσσεια			-0.018	186.124	58.650	154.649	230
	Κανονική	60		-0.020	186.916	65.147	155.447	220
	Περίσσεια			-0.019	180.006	61.428	157.801	215
	-	-	Έντονη: 92°C για 15 min	-0.017	190.712	88.855	137.328	247
	Κανονική	30		-0.018	195.202	89.574	159.655	240
	Περίσσεια			-0.015	213.570	30.055	157.045	242
	Κανονική	60		-0.017	224.446	12318.639	266.762	235
	Περίσσεια			-0.019	195.909	92.708	160.040	242

Όσον αφορά τη μεταβολή του pH, ο μέγιστος ρυθμός μείωσης αυτού (μ_{pH}), η διάρκεια λανθάνουσας φάσης (λ_{pH}) και ο ολικός χρόνος ζύμωσης, επηρεάζονται σημαντικά από την ένταση της θερμικής κατεργασίας στην οποία υποβάλλεται το ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα. Τα δείγματα που έχουν υποστεί έντονη θερμική κατεργασία εμφανίζουν μειωμένο ρυθμό μείωσης του pH, αυξημένη διάρκεια της λανθάνουσας φάσης και επιμήκυνση του χρόνου ζύμωσης κατά 20 min, σε σχέση με τα δείγματα που έχουν υποστεί ήπια θερμική κατεργασία. Όσον αφορά τη μεταβολή του ιξώδους, ο ρυθμός αύξησης αυτού είναι μεγαλύτερος και η διάρκεια της λανθάνουσας φάσης αντίστοιχα μικρότερη για τα ενζυμικά επεξεργασμένα δείγματα σε σχέση με τα αντίστοιχα που δεν έχουν υποστεί ενζυμική κατεργασία.

Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται οι τιμές για το ιξώδες στους 45°C (μετά το τέλος της ζύμωσης) και τα χαρακτηριστικά υφής των τελικών ζυμωμένων προϊόντων (μετά από 24ωρη ψύξη). Το τελικό ιξώδες στους 45°C επηρεάζεται σημαντικά από το είδος της θερμικής κατεργασίας, και ειδικά στην ήπια θερμική κατεργασία εμφανίζεται χαμηλότερο. Η σκληρότητα, η συνεκτικότητα και η προσκολλησιμότητα επηρεάζονται σημαντικά από το είδος του γάλακτος. Η σκληρότητα εμφανίζει υψηλότερες τιμές στο πήγμα του πλήρους γάλακτος (0.770 N), η συνεκτικότητα είναι μεγαλύτερη στο πήγμα του ημιαποβουτυρωμένου γάλακτος (0.543), ενώ η προσκολλησιμότητα είναι μεγαλύτερη στο πήγμα του πλήρους γάλακτος (59,029 N*s).

Πίνακας 2: Χαρακτηριστικά τελικού ιξώδους και υφής γιαουρτιού από πλήρες και αποβουτυρωμένο γάλα υδρολυμένης λακτόζης - Επίδραση της ποσότητας του ενζύμου, του χρόνου της ενζυμικής κατεργασίας και της θερμικής κατεργασίας του γάλακτος. Η περίσσεια του ενζύμου είναι 4%. Παρουσιάζονται και τα αποτελέσματα της συμβατικής ζύμωσης.

Γάλα	Ποσότητα Ενζύμου (g)	Χρόνος Ενζυμικής Κατεργασίας (min)	Θερμική Κατεργασία	Τελικό ιξώδες στους 45°C (cP)	Σκληρότητα (N)	Συνεκτικότητα	Προσκολλησιμότητα (N*s)
Πλήρες	-	-	Ήπια: 84°C για 20 min	3714	0.711	0.443	50.248
	Κανονική	30		3558	0.449	0.449	30.966
	Περίσσεια			2310	0.974	0.402	36.488
	Κανονική	60		2804	0.792	0.399	49.912
	Περίσσεια		2432	0.779	0.471	35.363	
	-	-	Έντονη: 92°C για 15 min	3673	0.941	0.414	59.029
	Κανονική	30		3299	0.767	0.549	39.326
	Περίσσεια			3408	0.916	0.442	47.345
	Κανονική	60		3221	0.666	0.425	38.134
	Περίσσεια		3554	0.843	0.444	45.156	
Ημιαποβουτυρωμένο	-	-	Ήπια: 84°C για 20 min	3161	0.599	0.492	28.608
	Κανονική	30		3464	0.609	0.504	28.510
	Περίσσεια			2328	0.485	0.505	25.443
	Κανονική	60		1788	0.375	0.503	20.886
	Περίσσεια		2036	0.434	0.639	21.687	
	-	-	Έντονη: 92°C για 15 min	3168	0.589	0.493	35.290
	Κανονική	30		3715	0.381	0.567	24.208
	Περίσσεια			2287	0.370	0.557	26.004
	Κανονική	60		3269	0.383	0.589	18.570
	Περίσσεια		3502	0.524	0.480	29.626	

Συμπεράσματα

Καταλήγοντας, μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι με αύξηση της διάρκειας της ενζυμικής κατεργασίας επιτυγχάνεται μεγαλύτερο ποσοστό υδρόλυσης της λακτόζης. Παράλληλα, τόσο το πλήρες όσο και το ημιαποβουτυρωμένο γάλα που έχει υποστεί ενζυμική υδρόλυση της λακτόζης ζυμώνεται ταχύτερα σε σχέση με μη ενζυμικά επεξεργασμένο γάλα. Τέλος, όλα τα δείγματα που υποβλήθηκαν σε ενζυμική υδρόλυση εμφάνισαν πιο ασθενές πήγμα σε σχέση με τα συμβατικά.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Dugdill, B., Bennett A., Phelan J. & Scholten, B. (2013). Milk and dairy products in human nutrition Dairy-Industry Development Programmes: Their Role in Food and Nutrition Security and Poverty Reduction. Rome: Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations
- [2] Wolf, M., Belfiore, L. A., Tambourgi, E. B. & Paulino, A. T. (2018). Production of low-dosage lactose milk using lactase immobilised in hydrogel. International Dairy Journal, In Press. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.12.004>.
- [3] Montgomery, R. (1961). Further studies of the phenolsulfuric acid reagent for carbohydrates. Biochimica et Biophysica Acta, 48, 591-593.