

การผลิตและการใช้ไฮโดรไลซ์เวย์

Whey Hydrolysis and Its Use

สมจิต สุรพัฒน์ ศิริศักดิ์ สาระโสภณ และ ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์¹

Somjit Surapat, Sirisak Sarasophon, and Preeya Vibulsresth

ABSTRACT

Temperature control by computer program which was designed to control the relay with water pumping comparing with no water pumping, (av. $37.05 \pm 0.35^{\circ}\text{C}$ and $36.98 \pm 0.25^{\circ}\text{C}$) was better than thermostat control ($35.09 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$) when set at 37°C . It gave more accurate and reliable control system. The hydrolysis of lactose by beta-galactosidase showed that the specific activities of varied enzyme concentrations (0.002, 0.006 and 0.010 mg/ml) at 37°C pH 6.8 were not significantly different. Specific activity of enzyme was higher at 135 min ($28.92 \mu\text{mol/min/mg protein}$) than at 340 min ($17.37 \mu\text{mol/min/mg protein}$) hydrolysis.

Organoleptic tests of fermented whey resulted that the taste panelists preferred products with total solid contents of 15% and 20% to 10% ($p > 0.05$). Moreover, the taste panel preferred the hydrolyzed fermented whey to the unhydrolyzed sample.

Key words : fermented whey, beta-galactosidase, hydrolyzed lactose.

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดลองปรับปรุงกระบวนการผลิตไฮโดรไลซ์เวย์ โดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิอ่างน้ำร้อนด้วยคอมพิวเตอร์ โดยออกแบบและสร้างวงจรควบคุมการทำงานของรีเลย์ และมีปั้มน้ำเปรียบเทียบกับวิธีการธรรมดาซึ่งไม่มีปั้มน้ำ พบว่าให้ผลดีกว่า น่าเชื่อถือกว่าการใช้เทอร์โมสแตท เมื่อตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 37°C ได้อุณหภูมิเฉลี่ยเป็น $37.05 \pm 0.35^{\circ}\text{C}$, $36.98 \pm 0.25^{\circ}\text{C}$ และ $35.09 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ ตามลำดับในการ

ทดลองโดยใช้เอนไซม์บีตาไกลาแล็กโทไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.002, 0.006 และ 0.010 มก/มล. ในการย่อยแล็กโทสในเวย์ที่ 37°C pH 6.8 นั้นผลปรากฏว่า specific activity ของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตาม ที่เวลา 135 นาที ของการไฮโดรไลซ์ เอนไซม์มี specific activity (28.92 ไมโครโมล/นาที/มก.โปรตีน) สูงกว่าที่เวลา 340 นาที (17.37 ไมโครโมล/นาที/มก.โปรตีน)

นำไฮโดรไลซ์เวย์ไปทดลองหมักและทดสอบการยอมรับของผู้ชิมพบว่าผู้ชิมชอบเวย์หมัก ที่มี

¹ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

ปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 15 และ 20% มากกว่า 10% นอกจากนี้เวย์หมักจากเวย์ที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ มีรสชาติและเป็นที่ชอบมากกว่าเวย์หมักไม่ผ่านการไฮโดรไลซ์

คำนำ

ผลิตภัณฑ์นมชนิดต่างๆรวมทั้งนมพร้อมดื่มเป็นที่รู้จักและนิยมเพิ่มมากขึ้น ประกอบกับการที่รัฐบาลส่งเสริมการดื่มนม และเลี้ยงวัวนมเพิ่มขึ้น เปิดโอกาสให้มีการผลิต ผลิตภัณฑ์นมต่าง ๆ เพิ่มขึ้น รวมทั้งเนยแข็งและเคซีน มีส่วนทำให้การนำเข้าของผลิตภัณฑ์นมบางอย่างลดลงได้ การผลิตเนยแข็งหรือเคซีน ทำให้เกิดเวย์เป็นผลพลอยได้ จำนวนมาก เวย์เป็นของเหลวที่มีองค์ประกอบต่าง ๆ อยู่มากได้แก่ โปรตีน ไขมัน แล็กโทส และอื่น ๆ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาผลภาวะได้หากปล่อยทิ้งไป การนำเวย์มาใช้ประโยชน์จึงเป็นสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์การอาหารหลายคนได้ทดลอง เช่น นำมาผลิตแล็กโทส กลูโคส ผลิตภัณฑ์เข้มข้นเวย์ผงการแยกเอาโปรตีนเวย์ออกเป็นต้น ผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีประโยชน์และมีคุณสมบัติที่สามารถนำไปเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดเพื่อให้มีคุณลักษณะและคุณภาพหลายอย่างที่ดีขึ้นเช่นใช้ในผลิตภัณฑ์ ไอศกรีม นมข้น โยเกิร์ต นอกจากนี้การย่อยแล็กโทสยังทำให้เวย์ที่ได้หวานขึ้น เวย์ผงละลายน้ำดีขึ้น นำไปใช้แทนหางนมผงหรือทำเป็นผลิตภัณฑ์หมักและเครื่องดื่มนมจากเวย์ หรือใช้ในขนมปัง (Ogunrinola *et al.*, 1988)

การวิจัยครั้งนี้ เป็นการไฮโดรไลซ์เวย์ โดยใช้โปรแกรมควบคุมอุณหภูมิที่มีผลต่อการ ทำงานของ เอนไซม์บีตาไกลโคซิเดส และหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซ์ แล้วนำไฮโดรไลซ์เวย์ที่ได้ไปทดลองผลิตเป็นเวย์หมัก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สร้างระบบควบคุมอุณหภูมิอ่างน้ำร้อนด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้ทรานซิสเตอร์ ตัวต้านทานไดโอด opto-isolator และรีเลย์ในการออกแบบและสร้างวงจรควบคุมรีเลย์ ซึ่งจะทำงานเมื่อมีสัญญาณ output ออกจากคอมพิวเตอร์ แล้วศึกษาการทำงานและการควบคุมของการ์ด PPI ในส่วนของวงจร Digital Input/Output และวงจร Analog to Digital Converter จึงออกแบบและเขียนโปรแกรมควบคุมอุณหภูมิโดยกำหนดว่าน้ำร้อนต้องมีอุณหภูมิไม่สูงหรือต่ำเกินไปสัปดาห์ 1°ซ

2. ศึกษาการไฮโดรไลซ์แล็กโทสในเวย์

2.1 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อ specific activity ใช้สารละลายเวย์ที่มีความเข้มข้นของแล็กโทส 5.63% ไฮโดรไลซ์ด้วยสารละลายเอนไซม์ บีตาไกลโคซิเดสความเข้มข้น 2, 6 และ 10 ไมโครกรัม/มล. ที่อุณหภูมิ 37°ซ pH 6.8 กวนด้วยใบพัดขนาด 1 ซม.ด้วยความเร็ว 500 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างเวย์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแล็กโทสที่เหลืออยู่หลัง 135 และ 340 นาที แล้วคำนวณค่า specific activity

2.2 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของแล็กโทสในเวย์ต่อค่า specific activity

ใช้สารละลายเวย์ที่มีความเข้มข้นของแล็กโทสเป็น 2.720, 5.444, 7.032, 10.014 และ 14.531% ไฮโดรไลซ์ด้วยสารละลายเอนไซม์เข้มข้น 12,11,12,13 และ 13 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 37°ซ pH 6.8 กวนด้วยความเร็ว 500 รอบต่อนาที วิเคราะห์หาปริมาณแล็กโทสที่เหลืออยู่หลังเวลา 120,240 และ 360 นาที เพื่อศึกษาจลนศาสตร์ของเอนไซม์และ specific activity

(Figure 2)

หลังจากนั้นก็เขียนโปรแกรมโดยใช้ภาษา BASIC ของ MICROSOFT เพื่อควบคุมอุณหภูมิได้อย่างถูกต้องรวดเร็วและสะดวกในการควบคุมเก็บข้อมูล และติดตามผลได้ง่าย ตามผังงานข้างล่างนี้ (Figure 3)

ขั้นตอนสุดท้ายคือทดสอบการทำงานของเครื่องควบคุมอุณหภูมิที่ร้อนโดยเปรียบเทียบกับการควบคุมด้วยเทอร์โมสแตต เมื่อตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 37°C ได้ผลดัง Figure 4

จะเห็นว่าการใช้คอมพิวเตอร์ควบคุมอุณหภูมิ

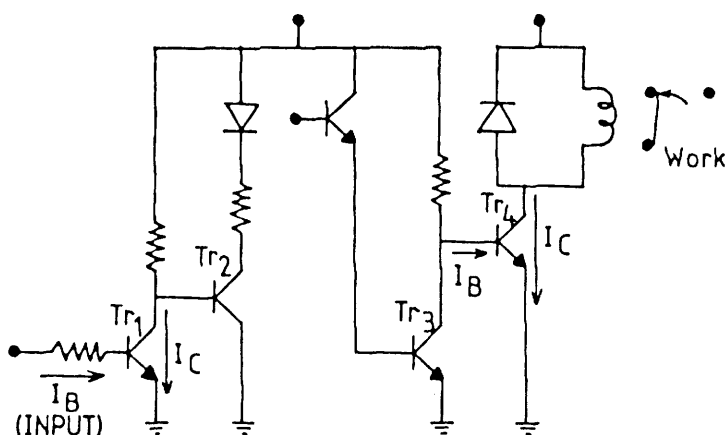


Figure 2 Circuit when current passes through input site.

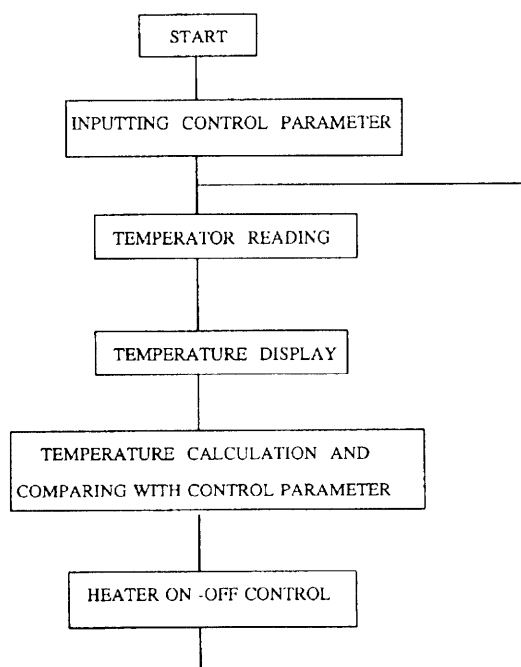


Figure 3 Diagram of program for temperature controlling.

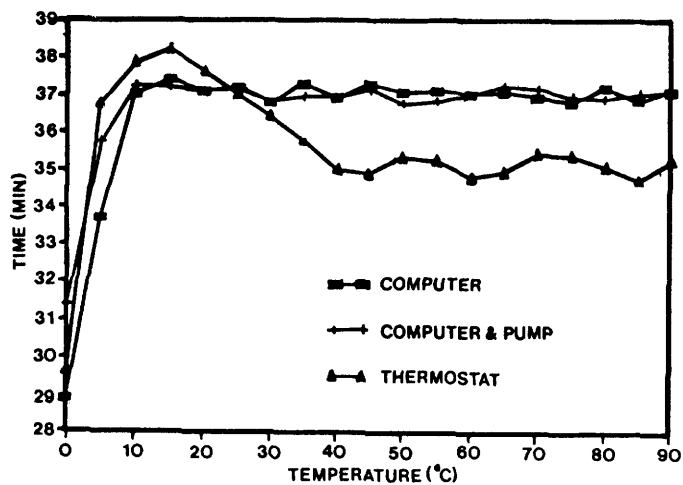


Figure 4 Temperatures of water bath from different types of control.

ของน้ำร้อนมีค่าใกล้เคียง 37°C มาก (เฉลี่ย 37.05°C) มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิทุก ๆ 8 นาที โดยมีพิสัยของการเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 0.7°C เมื่อใช้ปั้มน้ำช่วยในการหมุนเวียนน้ำ มีอุณหภูมิโดยเฉลี่ยเป็น 36.98°C ไม่มีรอบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและพิสัยของอุณหภูมิคือ 0.5°C ในขณะที่การใช้เทอร์โมสแตทควบคุมมีค่าเฉลี่ยของน้ำเป็น 35.09°C มีความถูกต้องน้อยกว่าการใช้คอมพิวเตอร์ คือมีพิสัยของอุณหภูมิเป็น 1.2°C และมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิทุก 20 นาที การควบคุมอุณหภูมิโดยใช้คอมพิวเตอร์นี้มีความถูกต้องและแม่นยำกว่ามีความเชื่อถือได้สมรรถนะที่ดีและมีความยืดหยุ่นกว่าการใช้เทอร์โมสแตทจึงเหมาะกับการใช้ควบคุมอุณหภูมิของการทำงานของเอนไซม์ Peterson et al. (1989) พบว่าการใช้คอมพิวเตอร์ควบคุมอุณหภูมิอ่างน้ำร้อน ให้อุณหภูมิสูงกว่า 37°C เพียง 0.5°C ซึ่งทำให้การเสื่อมสภาพของเอนไซม์ที่ใช้อ่อนนุ่มกว่าการควบคุมด้วยเทอร์โมสแตทซึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่า 37°C ถึง 2°C ซึ่งทำให้เอนไซม์เสื่อมสภาพและสูญเสียปฏิกิริยามากกว่า

2. ผลการไฮโดรไลซ์แล็กโทสในเวย์

2.1 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อ

specific activity

จากการทดลองโดยใช้เอนไซม์บีตากาแล็กโทไซเดสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ไฮโดรไลซ์แล็กโทสในเวย์เป็นเวลา 135 นาที พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจาก 2, 6 และ 10 ไมโครกรัม/มล. ความเร็วของการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้นจาก 2×10^{-5} , 5.9×10^{-5} และ 9.9×10^{-5} กรัมของแล็กโทส/นาที ในทำนองเดียวกันกับการไฮโดรไลซ์ที่ 340 นาที เมื่อใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์และแล็กโทสในเวย์เท่ากัน คือ เพิ่มขึ้นจาก 1.2×10^{-5} , 3.6×10^{-5} และ 6.1×10^{-5} กรัมของแล็กโทส/นาที แต่ด้วยความเร็วที่ต่ำกว่าที่ 135 นาที ทั้งนี้เนื่องจากกาแล็กโทสที่ถูกสร้างขึ้นยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์

เมื่อคำนวณหาค่า specific activity ของเอนไซม์ที่เวลาในการไฮโดรไลซ์เดียวกัน พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่ทำให้ค่า specific activity แตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากในปฏิกิริยามีปริมาณของแล็กโทสเริ่มต้นอยู่มากเกินพอเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของเอนไซม์ (Table 1) อย่างไรก็ตาม เมื่อศึกษาถึงปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ช่วงเวลาต่างๆ กัน (120, 240 และ 360 นาที) พบว่าลักษณะของการ

ไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์เป็นไปตาม Michaelis-Menten Plot ในระยะแรกและจะค่อย ๆ เป็นแบบ sigmoidal เมื่อไฮโดรไลซ์นานขึ้น (240 และ 360 นาที) (Figure 5)

2.2 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของแล็กโทสในเวทย์ต่อค่า specific activity จากผลการทดลองในรูปของน้ำหนักของแล็กโทสที่ถูกไฮโดรไลซ์ไป เมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของแล็กโทสและเวลาต่างกัน ดังแสดงใน Table 2

จะเห็นว่าที่ความเข้มข้นเดียวกันเมื่อไฮโดรไลซ์นานขึ้น แล็กโทสถูกไฮโดรไลซ์ได้มาก

ขึ้นแต่อัตราการเปลี่ยนแปลงลดลงโดยสังเกตจากความชันของกราฟลดลง โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงขึ้น อัตราการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างคงที่และน้อยกว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงในช่วง 0-120 นาที เมื่อเขียนกราฟของความเข้มข้นเริ่มต้นของแล็กโทสกับความเร็วของปฏิกิริยาตามแบบของ Line Weaver-Burk Plot ได้ผลดัง Figure 6

จาก Figure 6 จะเห็นว่าค่า K_m และ V_{max} ลดลง เมื่อไฮโดรไลซ์นานขึ้น (240 และ 360 นาที) เนื่องจากการแล็กโทสที่ได้จากการไฮโดรไลซ์แล็กโทส

Table 1 Specific activity at different enzyme concentrations and times. Time Specific Activity (mole lactose/min/mg. protein) (min) enzyme conc. (g/ml)

Time (min)	Specific activity (μ mole lactose/min/mg protein)		
	enzyme conc. (g/ml)		
	2	6	10
135	29.479 ^a	28.418 ^a	28.857 ^a
340	16.915 ^a	17.438 ^a	17.757 ^a

a Values with similar letters are not significantly different at $p < 0.05$.

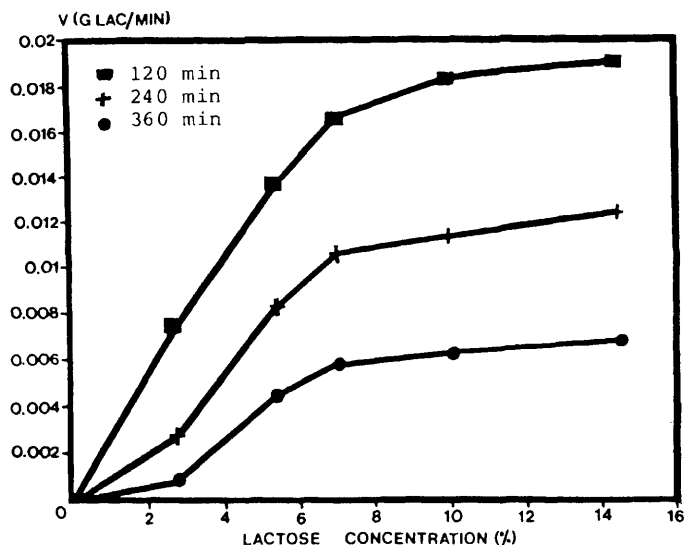


Figure 5 Enzyme kinetics at different hydrolysing time, 120 min (■), 240 min (+) and 360 (●).

สามารถยับยั้งปฏิกิริยาบางส่วนของเอนไซม์ นอกจากนั้นกาแล็กโทสยังเกิด mutarotation ระหว่างรูปแบบแอลฟาและบีตา (Flaschel *et al.*, 1982 ; Yang and Okos, 1989) รูปแบบแอลฟาที่เกิดภายหลังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาถึง 12 เท่าของรูปแบบบีตา นอกจากนี้การไฮโดรไลซ์ที่เวลานานขึ้นผลิตภัณฑ์ที่ได้คือกลูโคสกับกาแล็กโทสและเกิดน้ำตาล

โมเลกุลสูงขึ้นด้วยการคำนวณพบว่า specific activity ของเอนไซม์ลดลงเมื่อไฮโดรไลซ์นานขึ้นแต่เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแล็กโทสเริ่มต้นสูงขึ้น อัตราการเพิ่มของ specific activity ที่ความเข้มข้นของแล็กโทสสูงน้อยกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ อาจเนื่องจากการยับยั้งปฏิกิริยาโดยกาแล็กโทสที่เกิดขึ้น และการย้ายกาแล็กโทสไปให้ตัวรับอื่นๆ

Table 2 Weight of hydrolysed lactose at different initial lactose concentrations and times.

Time (min)	Wt. of hydrolysed lactose (g)				
	Initial lactose concentration(%)				
	2.7200	5.4440	7.0320	10.0140	14.5310
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
120	0.8946	1.6400	1.9921	2.2110	2.2721
240	1.2178	2.6354	3.2644	3.5730	3.7601
360	1.3076	3.1744	3.9604	4.3278	4.5761

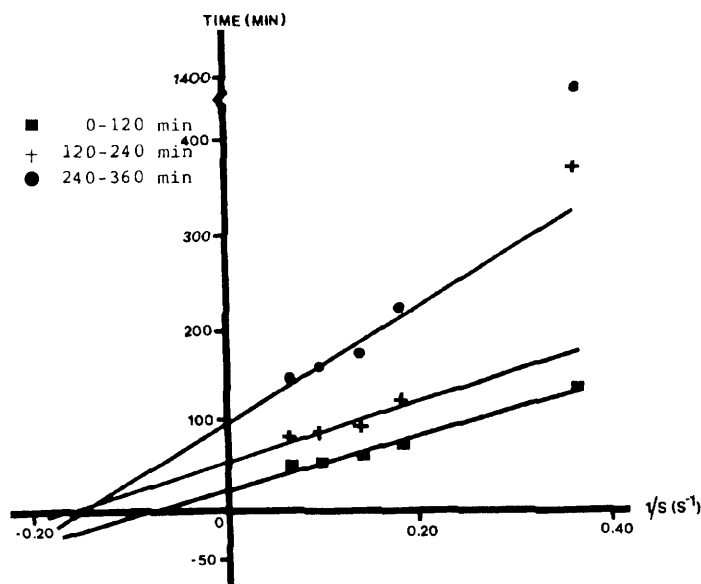


Figure 6 Line Weaver-Burk plot of galactosidase at different times.

3.1 ผลของการผลิตผลิตภัณฑ์เวย์หมัก

ไฮโดรไลซ์เวย์ที่ผลิตได้ มีลักษณะปรากฏเหมือนเวย์ก่อนไฮโดรไลซ์ มีความหวานเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเนื่องจากแล็กโทสมีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลทรายมาก วัตถุประสงค์ในการผลิตไฮโดรไลซ์เวย์เพื่อนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตเวย์หมัก จากการทดลองผลิตเวย์หมักเบื้องต้น พบว่าต้องใช้สารละลายเวย์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดมากกว่า 10% ขึ้นไปเพื่อไฮโดรไลซ์แล้วทำเป็นเวย์หมัก จึงจะได้เครื่องดื่มที่ผู้ชิมชอบ การทดลองใช้สารละลายเวย์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 10, 15 และ 20% พบว่าอัตราการเกิดกรดเพิ่มขึ้นตามเวลาการหมักและเป็นไปในลักษณะเดียวกันเมื่อบ่มจนครบ 6 ชม. มีความเป็นกรดเป็น 0.81, 1.03 และ 1.17% ตามลำดับ เมื่อทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยใช้วิธีการให้คะแนนแบบ Hedonic แล้วพบว่าผู้ชิมส่วนใหญ่ชอบผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็น 15 และ 20% มากกว่า 10% ทั้งในคุณภาพของกลิ่นรส เนื้อสัมผัส ความเปรี้ยวและ body อย่างไรก็ตามเวย์หมักชนิด 15 และ 20% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและเมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดกับปริมาณ แล็กโทสที่ลดลงไปไม่มากแล้ว ถ้าหากมีการไฮโดรไลซ์แล็กโทสก่อนหมัก จะได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีกว่าคือมีความหวานเพิ่มขึ้นรสชาติดีขึ้น เกิดการระหว่งการหมักง่ายขึ้น ลดเวลาของการหมัก (Thompson et al. 1974; Whalen, et al, 1988)

3.2 ผลของการนำเวย์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 15% ไปไฮโดรไลซ์จนได้เปอร์เซ็นต์ไฮโดรไลซิสเฉลี่ยเท่ากับ 58% แล้วนำไปหมัก และทดสอบความชอบเปรียบเทียบกับเวย์หมักที่ไม่ได้ผ่านการไฮโดรไลซ์ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH และความเป็นกรดเป็นไปในลักษณะคล้ายกัน จากการทดสอบความชอบพบว่าผู้ชิมชอบเวย์หมักที่ผลิตจากไฮโดรไลซ์เวย์มากกว่าเนื่องจากมีความหวานเพิ่มขึ้น

ทำให้รสชาติของเวย์หมักที่ดีมีรสชาติดีกว่า

สรุป

1. การใช้คอมพิวเตอร์ควบคุมอุณหภูมิอย่างนำร่องได้ผลที่แม่นยำและถูกต้องกว่ามีความแปรปรวนของอุณหภูมิน้อยกว่าการใช้เทอร์โมสแตท คือได้อุณหภูมิโดยเฉลี่ยเป็น 37.05°C, 36.98°C และ 35.09°C เมื่อใช้คอมพิวเตอร์อย่างเดียว มีปั๊มน้ำและใช้เทอร์โมสแตทตามลำดับ พิสัยของการเปลี่ยนแปลงโดยใช้คอมพิวเตอร์ (0.5-0.7°C) ต่ำกว่าการใช้เทอร์โมสแตท (1.2°C)

2. เอนไซม์บีตาแล็กโทไซด์สามารถไฮโดรไลซ์แล็กโทสโดยมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงกับความเข้มข้นของเอนไซม์ ในช่วง 2 ถึง 10 ไมโครกรัม/มล. และความเร็วลดลงเมื่อเวลานานขึ้น อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของเอนไซม์ไม่ทำให้ specific activity แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

3. ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของแล็กโทสเท่ากัน specific activity ของเอนไซม์ลดลงเมื่อไฮโดรไลซ์นานขึ้น แต่อัตราเพิ่มลดลงเมื่อความเข้มข้นของแล็กโทสสูงขึ้น การไฮโดรไลซ์นานขึ้นยังมีผลทำให้ค่า Km และ Vmax ลดลง

4. เวย์หมักที่เตรียมจากเวย์ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 15 และ 20% ได้รับความชอบมากกว่า 10% และผู้บริโภคริชอบเวย์ที่ผ่านการไฮโดรไลซ์แล้วหมักมากกว่าเนื่องจากมีรสชาติที่ดีกว่าเวย์ไม่ไฮโดรไลซ์

เอกสารอ้างอิง

- Flaschel, E., E. Raetz, and A. Renken. 1982. The kinetics of lactose hydrolysis for the beta-galactosidase from *Aspergillus niger*. *Biotechnol. and Bioeng.* 24 : 2499-2518.

- Ogunrinola, O.A., I.J.Jeon, and J.G.Ponte,Jr. 1988. Functional properties of hydrolyzed whey permeate syrups in bread formulations. *J. Food Sci.* 53 : 215-217.
- Peterson, R.S.,C.G. Hill, Jr., and C.H. Amundson. 1989. Effect of temperature on the hydrolysis of lactose by immobilized beta-galactosidase in a capillary bed reactor. *Biotechnol. and Bioeng.* 34 : 429-437.
- Thompson, M.P.and D.M. Gyuricsek. 1974. Manufacture of yogurt, buttermilk, and cottage cheese from hydrolyzed lactose milk. *J. Dairy Sci.* 57 : 584.
- Whalen, C.A., T.M. Gilmore, K.R. Spurgeon, and J.G. Parsons. 1988. Yogurt manufactured from whey-caseinate blends and hydrolyzed lactose. *J. Dairy Sci.* 71 : 299-305.
- Yang,S.T. and M.R. Okos. 1989. A new graphical method for determining parameters in Michaelis-Menten-type kinetics for enzymatic lactose hydrolysis. *Biotechnol. and Bioeng.* 34 : 763-773.