

WPLYW INULINY NA WLAŚCIWOŚCI REOLOGICZNE ROZTWORÓW BIAŁEK SERWATKOWYCH

Paweł Glibowski, Renata Bochyńska

Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowywania, Akademia Rolnicza
ul. Skromna 8, 20-950 Lublin
e-mail: glibowski@wp.pl

Streszczenie. Celem pracy było określenie właściwości reologicznych roztworów białek serwatkowych z dodatkiem inuliny. Wraz ze wzrostem stężenia inuliny obserwowano wzrost naprężenia ścinającego dla roztworów białek serwatkowych. Wszystkie badane układy wykazywały właściwości tiksotropowe. Przy najwyższym z zastosowanych stężeń inuliny powstały słabe żele. Stwierdzono, że głównym składnikiem odpowiedzialnym za wzrost lepkości są białka serwatkowe, chociaż wzrost stężenia inuliny wpływał dodatnio na lepkość roztworów inulinowo-serwatkowych. Wzrost twardości żeli przy najwyższym badanym stężeniu inuliny wynika prawdopodobnie z interakcji z białkami serwatkowymi. Wsunięto trzy hipotezy dotyczące natury powiązań między inuliną i białkami serwatkowymi. Interakcje pomiędzy inuliną i β -laktoglobuliną zachodzą prawdopodobnie w oparciu o strukturę β -laktoglobuliny umożliwiającą wiązanie się ze związkami hydrofobowymi. Druga możliwa teoria to kowalencyjne reakcje Maillarda pomiędzy aminowymi resztami aminokwasowymi w β -laktoglobulinie a redukującymi grupami inuliny. Trzecia teoria mówi, że przy niskich stężeniach inulina utrudnia żelowanie białek serwatkowych z powodu podwyższenia lepkości wodnej fazy. Wyższe stężenie inuliny wspomogły żelowanie białek serwatkowych dzięki zwiększeniu przyciągania się białek na skutek hydratacji inuliny.

Słowa kluczowe: inulina, białka serwatkowe, żelowanie, interakcje

WSTĘP

W ostatnich latach rośnie rynek produktów o obniżonej kaloryczności. Konsumentom skłaniają się ku zdrowej, zróżnicowanej diecie w celu utrzymania właściwej wagi i dobrego stanu zdrowia. Usunięcie nadmiaru tłuszczu z żywności w zależności od możliwości technologicznych polega na zastąpieniu go składnikami dającymi odczucie „tłustości”. Takimi substancjami są hydrokoloidy oraz preparaty białek serwatkowych.

Hydrokoloidy tj. inulina, oligofruktoza, karagen, mączka chleba świętojańskiego itp., stosowane są w przemyśle spożywczym do kształtowania lepkości, regulowania zawartości wody i konsystencji. Mają zdolność emulgowania i formowania żeli [7]. Inulina w ostatnich latach cieszy się dużym zainteresowaniem ze strony producentów żywności. W produktach zastępuje tłuszcz, dzięki czemu stają się one bardziej strawne i przyswajalne przez organizm człowieka, poprawia walory smakowe i zapachowe, wpływa korzystnie na teksturę, daje odczucie sytości, podobnie jak w produkcie wyjściowym. Jest ona również cennym źródłem błonnika pokarmowego, jej dodatek stymuluje rozwój bifidobakterii w okrężnicy. Bifidobakterie wzbogacają organizm człowieka w witaminy B₁, B₂, B₆, kwas foliowy i nikotynowy, korzystnie działają na przyswajalność wapnia [1].

Białka serwatkowe mają bardzo wysoką wartość odżywczą. Preparaty białek serwatkowych mogą pełnić funkcję zarówno substancji wzbogacających w produkcji żywności funkcjonalnej i dietetycznej, jak i substancji wiążących wodę czy emulgujących tłuszcz [9]. Korzystnie wpływają także na system immunologiczny, wzrost tkanki mięśniowej jak również wykazują właściwości przeciwrakowe [8].

Zastosowanie w produkcji żywności dodatków będących mieszaniną białek serwatkowych i inuliny pozwolić może na otrzymanie produktów o nowych właściwościach funkcjonalnych, jak również obniżyć koszty produkcji.

Celem niniejszej pracy było określenie właściwości reologicznych roztworów białek serwatkowych z dodatkiem inuliny.

MATERIAŁ I METODY

Do badań wykorzystano izolat białek serwatkowych (WPI) o zawartości białka 91,8% (DAVISCO, USA) oraz inulinę Frutafit TEX! uzyskaną z korzenia cykorii o DP_n≥23 (Sensus, Holandia).

Roztwory białek serwatkowych otrzymywano przez mieszanie WPI z wodą destylowaną w temperaturze pokojowej przy użyciu mieszadła magnetycznego Heidolph MR 3002 (Schwabach, Niemcy). Inulinę dodawano do gotowych roztworów białek serwatkowych. W obecności elektrody pH-metrycznej ustalano pH próbki na 7,0 za pomocą 1M NaOH.

Tak przygotowane roztwory umieszczano w łaźni wodnej o temperaturze 80°C na czas 30 minut w celu rozfałdowania białek serwatkowych i ekspozycji ich grup tiolowych umożliwiając po późniejszym dodaniu chlorku sodu wzrost lepkości bądź zżelowanie roztworów [2].

Po ochłodzeniu mieszanin dodawano odpowiednio stężony roztwór chlorku sodu tak, aby uzyskać stężenie 0,1 mol·dm⁻³ oraz odpowiednie stężenia białka

(1, 3, 5 i 7%) i inuliny (1, 3, 5, 7, 10 i 15%). Otrzymywane roztwory przetrzymywano w temperaturze 5°C przez 24 godziny.

Krzywe płynięcia wyznaczano przy użyciu reometru RS 300 (Haake, Karlsruhe, Niemcy) w układzie cylindrów współosiowych (rotor Z 41, cylinder Z 43). Wszystkich badań dokonywano w temperaturze 23°C po wcześniejszym umieszczeniu płynnego roztworu w cylindrze pomiarowym aparatu. Obroty rotora, zmieniały się co dwie minuty. Zakres zmian wynosił od 0,1 do 300 obr·min⁻¹. Po zanotowaniu maksymalnych wartości pomiarowych otrzymanych przy 300 obr·min⁻¹, obroty rotora zmieniały się do 0,1 obr·min⁻¹ również co 2 min. Wyniki rejestrowano komputerowo wykorzystując program RheoWin Pro Job Manager.

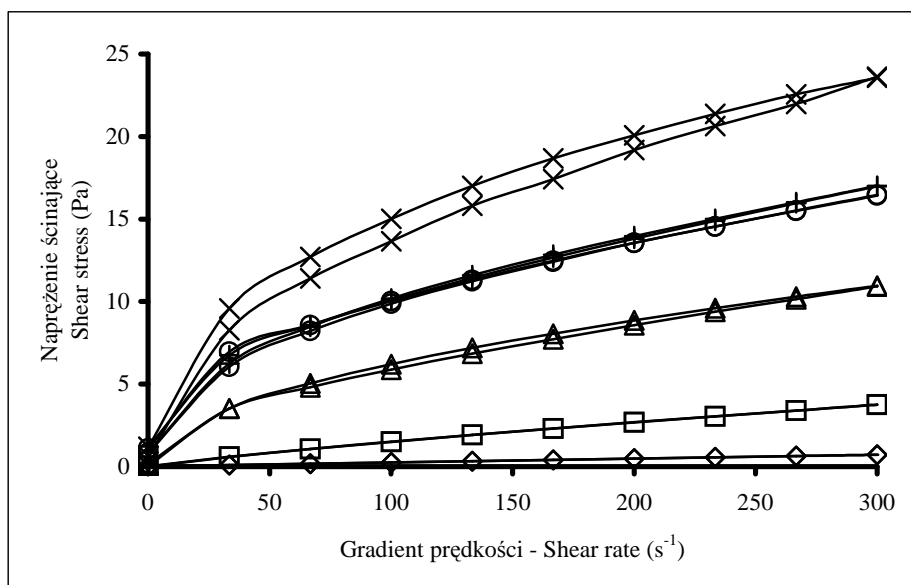
Dla żelowanych próbek badano siłę penetracji przy użyciu analizatora tekstury TA – XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania). Metoda oznaczania polegała na wciskaniu w próbkę głowicy cylindrycznej o średnicy 10 mm i pomiarze siły, jakiej trzeba użyć by przesunąć głowicę o 10 mm. Badana próbka miała 20 mm wysokości i umieszczona była w pojemniku cylindrycznym o średnicy 40 mm. Pomiarów dokonywano przy prędkości przesuwu głowicy 1 mm·s⁻¹.

WYNIKI

Rysunek 1 przedstawia krzywe płynięcia dla 7% roztworów białek serwatkowych wzbogaconych różnym dodatkiem inuliny. Wraz ze wzrostem stężenia inuliny obserwowano wzrost naprężenia ścinającego. Zależności takie stwierdzano również dla 1, 3, 5% stężeń białka (dane nie załączone), chociaż różnice pomiędzy poszczególnymi stężeniami inuliny były znaczenie mniejsze. We wszystkich przypadkach stwierdzono również charakterystyczne pętle histerezy, największą z nich dla roztworu zawierającego 7% białek serwatkowych i 10% inuliny (rys. 1). Wszystkie badane układy wykazywały właściwości tiksotropowe.

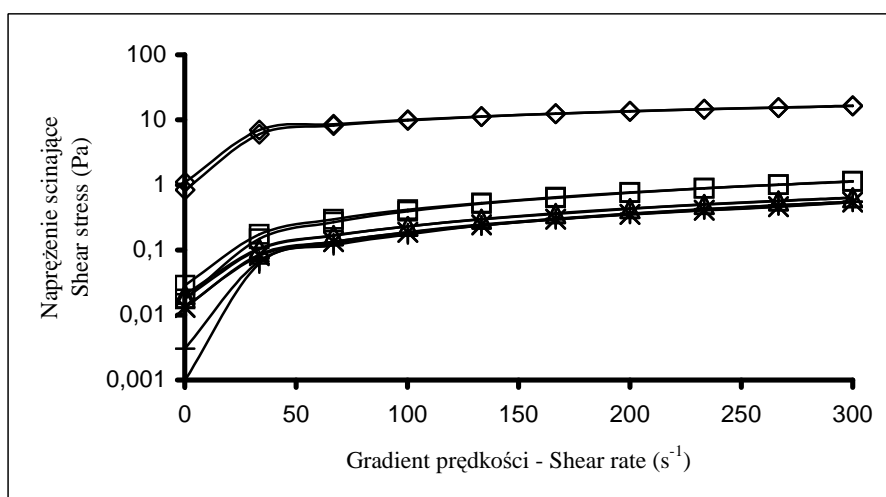
Porównanie krzywych płynięcia dla 7% roztworów inuliny zawierających różne stężenia białka (rys. 2) pokazuje, że najwyższe wartości naprężenia ścinającego dotyczą roztworu wzbogaconego 7% dodatkiem białek serwatkowych. Mniejsze dodatki białek serwatkowych niewiele różnicowały krzywe płynięcia.

W roztworach o niższych stężeniach białka (1 i 3%) dodatek inuliny niejednoznacznie wpływa na zachowanie reologiczne mieszanin (rys. 3). Krzywe płynięcia 1% roztworu białek serwatkowych, inuliny i ich mieszaniny mają bardzo podobny przebieg (rys. 3A). 3% dodatek inuliny do 3% roztworu białek serwatkowych powoduje obniżenie wartości naprężenia ścinającego w stosunku do roztworu zawierającego tylko białka serwatkowe (rys. 3B). Natomiast w roztworach zawierających 5% białka dodatek inuliny powoduje wzrost lepkości (rys. 3C), podobnie jak w roztworach 7% (rys. 1).



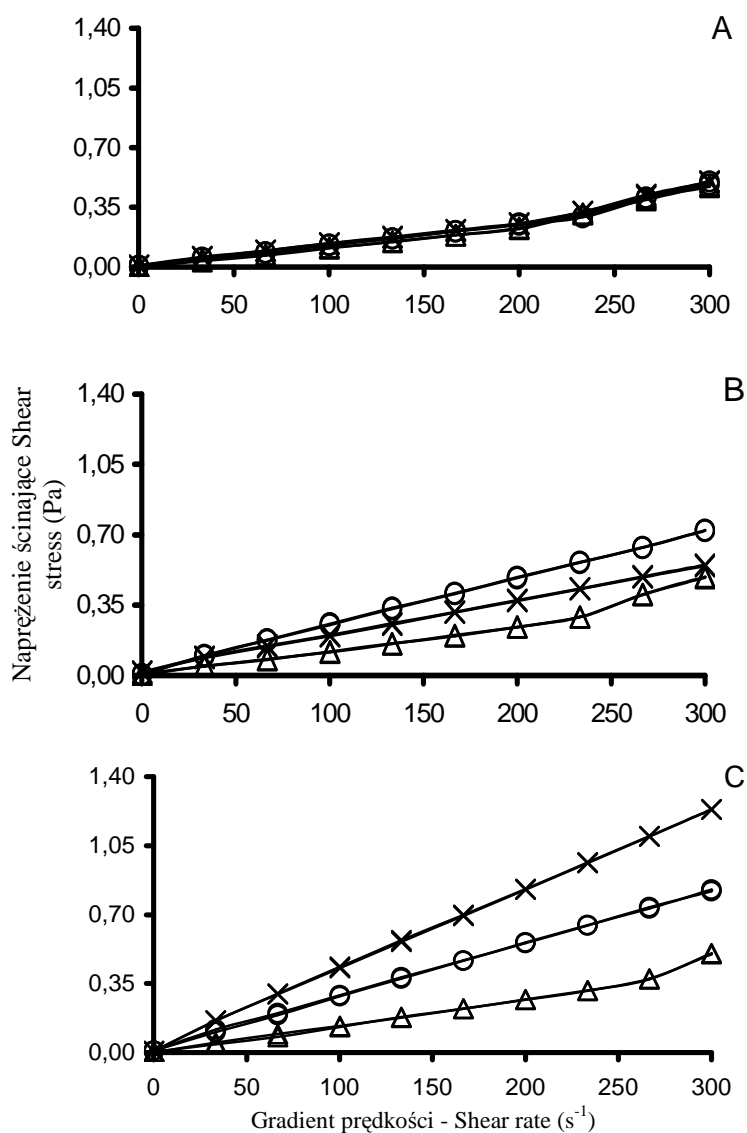
Rys. 1. Zmiany naprężenia ścinającego w funkcji gradientu prędkości dla 7% roztworów białek serwatkowych przy różnym stężeniu inuliny; -◇- 0%, -□- 1%, -△- 3%, -○- 5%, -+- 7%, -x- 10%

Fig. 1. Shear stress vs. shear rate behaviour of 7% whey protein solutions with different inulin concentration; -◇- 0%, -□- 1%, -△- 3%, -○- 5%, -+- 7%, -x- 10%



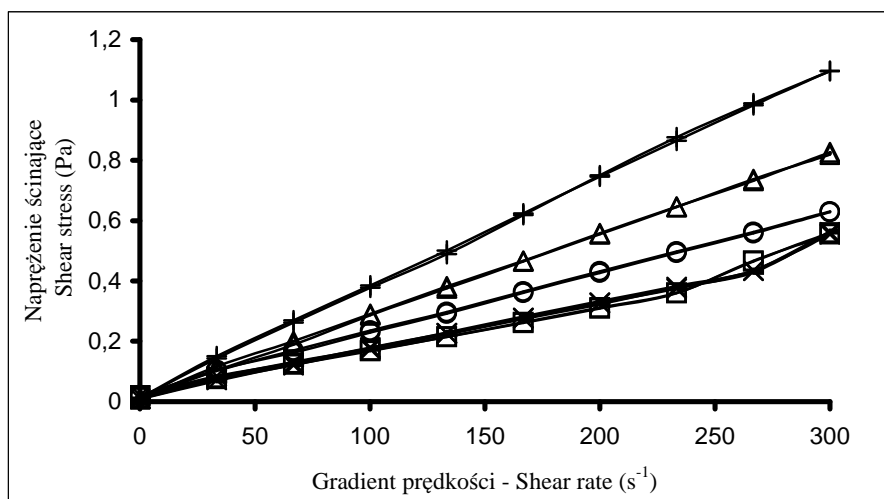
Rys. 2. Zmiany naprężenia ścinającego w funkcji gradientu prędkości dla 7% roztworów inuliny przy różnym stężeniu białek serwatkowych; +- 0%, -x- 1%, -△- 3%, -□- 5%, -◇- 7%

Fig. 2. Shear stress vs. shear rate behaviour of 7% inulin solutions with different whey protein concentration; +- 0%, -x- 1%, -△- 3%, -□- 5%, -◇- 7%



Rys. 3. Krzywe płynięcia dla roztworów zawierających inulinę (Δ), białka serwatkowe (O) i ich mieszaninę (sumę stężeń inuliny i białek serwatkowych) (x) w różnych stężeniach A – 1%, B – 3%, C – 5%

Fig. 3. Flow curves for inulin (Δ), whey proteins (O) and mixture (the sum of inulin and whey protein concentration) (x) solutions at different concentrations A – 1%, B – 3%, C – 5%

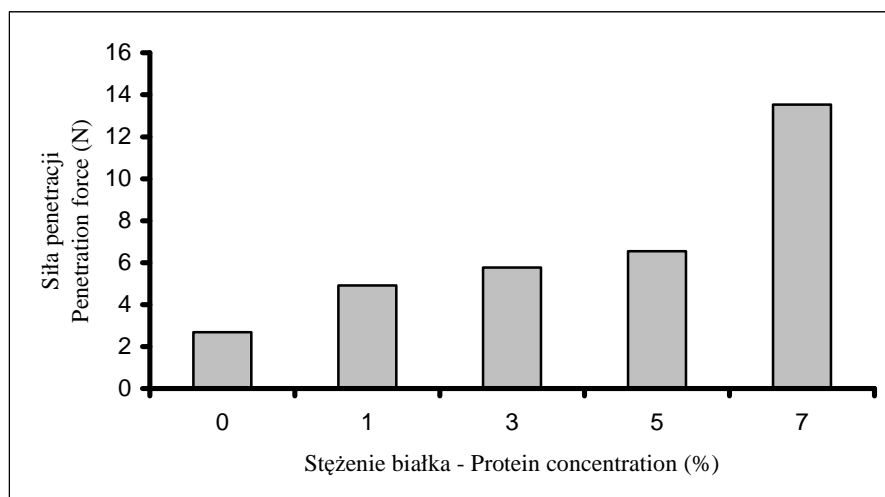


Rys. 4. Krzywe płynięcia dla roztworów zawierających 1% inuliny i 3% białka (-), 1% inuliny i 5% białka (Δ), 3% inuliny i 1% białka (\square), 3% inuliny i 5% białka (+), 5% inuliny i 1% białka (x), 5% inuliny i 3% białka (O)

Fig. 4. Flow curves for solutions containing 1% inulin and 3% protein (-), 1% inulin and 5% protein (Δ), 3% inulin and 1% protein (\square), 3% inulin and 5% protein (+), 5% inulin and 1% protein (x), 5% inulin and 3% protein (O)

W celu ustalenia co jest głównym czynnikiem odpowiadającym za lepkość mieszanin białek serwatkowych i inuliny porównano krzywe płynięcia dotyczące mieszanin zawierających 4, 6 i 8% suchej masy (odpowiednio 1% inuliny + 3% białka i 3% inuliny + 1% białka, 1% inuliny + 5% białka i 5% inuliny + 1% białka, 3% inuliny + 5% białka i 5% inuliny + 3% białka) (rys. 4). Stwierdzono, że im wyższa zawartość dodatków tym wyraźniejsze różnice pomiędzy naprężeniem ścinającym poszczególnych mieszanin. Głównym czynnikiem odpowiedzialnym za wzrost lepkości mieszanin są białka serwatkowe. Najwyraźniej to widać w przypadku roztworów o zawartości 8% suchej masy, roztwór zawierający 5% białek serwatkowych i 3% inuliny wykazywał wyższą lepkość niż roztwór o składzie 3% białek serwatkowych i 5% inuliny.

Analizując wyniki które obrazuje rysunek 5 można stwierdzić, że inulina wchodzi w interakcje z białkami serwatkowymi. Roztwory zawierające 15% inuliny tworzą słabe żele. Dodatek białek serwatkowych spowodował znaczny wzrost ich twardości od 182% przy 1% dodatku do 505% przy 7% dodatku. Białka serwatkowe w takim przedziale stężeń w obecności 0,1 M NaCl nie tworzą żeli.



Rys. 5. Siła penetracji dla żeli zawierających 15% inuliny i różne stężenia białek serwatkowych
Fig. 5. Penetration force for 15% inulin gels with different whey protein concentration

DYSKUSJA

Wzajemne oddziaływania pomiędzy białkami serwatkowymi i inuliną nie są zbyt dobrze poznane. Schaller-Povolny i Smith [13] badając interakcje pomiędzy głównymi białkami mleka takimi jak α -, β - i κ -kazeina oraz α -laktoalbumina i β -laktoglobulina a inuliną stwierdzili, że tylko α -laktoalbumina nie łączy się z inuliną. Największy udział wśród białek serwatkowych (około 55%) stanowi β -laktoglobulina [11] i to ona przede wszystkim odpowiada za żelowanie roztworów białek serwatkowych [6]. Chociaż α -laktoalbumina z 20% udziałem w składzie białek serwatkowych nie oddziałuje z inuliną [13] jednak wspomaga proces żelowania zarówno β -laktoglobuliny jak i BSA, trzeciego co do udziału białka serwatkowego [12].

Analizując wyniki badań i konfrontując je z wcześniejszymi doniesieniami można wysunąć trzy hipotezy dotyczące natury powiązań między inuliną i białkami serwatkowymi. Interakcje pomiędzy inuliną i β -laktoglobuliną zachodzą prawdopodobnie w oparciu o oddziaływania hydrofobowe, ponieważ w białku tym występuje wiele obszarów wykazujących powinowactwo do związków hydrofobowych bądź obszarów hydrofobowych innych cząsteczek [13]. Druga możliwa teoria to kowalencyjne reakcje Maillarda pomiędzy aminowymi resztami aminokwasowymi w β -laktoglobulinie a redukującymi grupami inuliny. Podobną hipotezę tylko dotyczącą dekstranów i β -laktoglobuliny wysunęli Dickinson i Galazka [4]. Trzecia teoria pozwalająca wytłumaczyć dodatkowo obniżenie lepkości mieszanin o niskich stężeniach inuliny i białek serwatkowych i znaczny wzrost twardości żeli wzbogaconych

białkami serwatkowymi przy 15% stężeniu inuliny opiera się o wyniki badań dotyczących wpływu cukrów prostych i dwucukrów na właściwości reologiczne białek serwatkowych [10]. Stwierdzano tam, że w niskich stężeniach cukry, szczególnie sacharoza, opóźniają żelowanie białek serwatkowych z powodu podwyższenia lepkości wodnej fazy. Wyższe stężenia cukrów przyspieszały żelowanie białek serwatkowych dzięki zwiększeniu przyciągania się białek na skutek związania wody przez cukry.

Na tym etapie nie można jednoznacznie wykluczyć żadnej z tych hipotez, być może wszystkie opisane oddziaływania mają miejsce. Jednak w celu ostatecznego rozstrzygnięcia niezbędne jest przeprowadzenie dalszych badań.

WNIOSKI

1. Głównym składnikiem odpowiedzialnym za wzrost lepkości roztworów białek serwatkowych i inuliny są białka serwatkowe.
2. Wzrost stężenia inuliny wpływał dodatnio na lepkość roztworów inulinowo-serwatkowych.
3. Wzrost twardości żeli przy wyższych stężeniach inuliny (15%) wynika prawdopodobnie z interakcji z białkami serwatkowymi.

PIŚMIENNICTWO

1. **Amarowicz R.:** Znaczenie żywieniowe oligosacharydów. *Roczn. PZH.*, 1, 89-95, 1999.
2. **Bryant C.M., McClements D.J.:** Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. *Trends in Food Sc. Tech.*, 9, 143-151, 1998.
3. **Bryant M.C., McClements D.J.:** Influence of sucrose on NaCl-induced gelation of heat denatured Whey protein solutions. *Food Res. Int.*, 33, 649-653, 2000.
4. **Dickinson E., Galazka V.B.:** Emulsion stabilization by ionic and covalent complexes of beta-lactoglobulin with polysaccharides. *Food Hydrocol.*, 5, 281-296, 1991.
5. **Garret I.M., Stairs R.A., Annett R.G.:** Thermal denaturation and coagulation of whey proteins effect of sugars. *J. Dairy Sci.*, 71, 10-16, 1988.
6. **Glibowski P., Mleko S., Gustaw W.:** Żelowanie zdenaturowanych białek serwatkowych pod wpływem dodatku soli mineralnych. *Przemysł Spożywczy*, 5, 48-50, 2002.
7. **Gustaw W., Achremowicz B., Mazurkiewicz J.:** Właściwości reologiczne żeli κ -karagenu z dodatkiem galaktomannanów. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 1, 25-37, 2003.
8. **Hoch G.J.:** Whey to go. *Food Processing*, 3, 51-52, 1997.
9. **Huffmann L.M.:** Processing whey protein for use as a food ingredient. *Food Technol.*, 2, 49-52, 1996.
10. **Kulmyrzaev A., Cancelliere C., McClements D.J.:** Influence of sucrose on cold gelation of heat-denatured whey protein isolate. *J. Sci. Food Agric.*, 80, 1314-1318, 2000.
11. **Leman J.:** Białka serwatkowe jako czynnik alergii pokarmowej u ludzi. *Przegląd Mleczarski*, 2, 82-85, 2001.

12. **Matsudomi N., Oshita T., Sasaki E., Kunihiro K.:** Enhanced heat-induced gelation of β -lactoglobulin by α -lactoglobulin. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 56, 1697-1700, 1992.
13. **Schaller-Povolny L.A., Smith D.E.:** Interaction of milk proteins with inulin. *Milchwissenschaft*, 57, 494-497, 2002.

EFFECT OF INULIN ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF WHEY PROTEIN SOLUTIONS

Paweł Glibowski

Department of Food Technology, University of Agriculture
ul. Skromna 8, 20-950 Lublin
e-mail: glibowskipawel@wp.pl

Abstract. The aim of this study was the determination of rheological properties of whey protein solutions (1-7%) with addition of inulin (1-15%). According to increasing inulin concentration, increasing shear stress values for whey protein solutions were observed. All examined mixtures revealed tixotropic behaviour. Weak gels were set at the highest utilized inulin concentrations. It was affirmed that the main component responsible for increasing viscosity were whey proteins, however the increase of inulin concentration influenced the viscosity of the whey proteins-inulin solutions in a positive way. Three hypotheses concerning the nature of bonding between inulin and whey proteins were advanced. Interaction between inulin and β -lactoglobulin occurring probably on the basis of the structure of β -lactoglobulin giving rise to the ability to bind hydrophobic substances. The second possible theory is covalent Maillard reactions between amino groups on β -lactoglobulin and the reducing groups on inulin. The third theory says that at low inulin concentration gelation of the whey proteins is hampered because of inulin increasing the aqueous phase viscosity. Higher inulin concentration helped whey protein gelation through increasing the attraction between proteins as a result of hydration of inulin.

Keywords: inulin, whey proteins, gelation, interactions