

STANISŁAW MLEKO

TEKSTURA I STRUKTURA ŻELI KONCENTRATU I IZOLATU BIAŁEK SERWATKOWYCH Z NISKOESTRYFIKOWANĄ PEKTYNĄ

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu niskoestryfikowanej pektyny na teksturę i strukturę mieszanych żeli z koncentratu białek serwatkowych i izolatu białek serwatkowych. Zastępowano białko koncentratu i izolatu pektyną, aby zawartość pektyny w mieszaninie białko-pektyna wynosiła 3, 5, 10, 15, 20%. Dyspersje o pH 7,0 ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 80°C przez 30 min i analizowano strukturę i teksturę powstałych żeli. Zastępowanie białek serwatkowych pektyną spowodowało spadek twardości żeli, wynikający z niekompatybilności tych dwóch składników, co zostało potwierdzone przez obraz mikrostruktury. Dodatek większych ilości pektyny do żeli z WPC, aż do stężenia 20%, nie powodował spadku twardości, co mogło być spowodowane żelowaniem pektyny pod wpływem jonów wapniowych zawartych w koncentracie.

Słowa kluczowe: białko, mikrostruktura, pektyna, reologia, serwatka, żel.

Wstęp

Ogrzewanie białek serwatkowych przy stężeniu przekraczającym pewną wartość graniczną powoduje ich żelowanie [8]. Produkowane przemysłowo koncentraty (whey protein concentrate-WPC) i izolaty białek serwatkowych (whey protein isolate-WPI) są używane do otrzymywania żeli o zróżnicowanych właściwościach reologicznych. Zasadniczy wpływ na tworzenie się żeli ma skład chemiczny preparatu białkowego. Zawartość białka oraz skład mineralny są głównymi czynnikami determinującymi teksturę powstających żeli [7, 9]. Potrzeba produkcji żeli o specyficznych właściwościach sensorycznych doprowadziła do badań nad mieszanymi żelami białkowo-polisacharydowymi [2]. W wyniku żelowania tych dwóch składników można otrzymać trzy różne układy. Pierwszy tworzą dwie oddzielne, wzajemnie przecinające się sieci polimerów. Drugi typ struktury żeli mieszanych mogą tworzyć dwa polimery, które są

niekompatybilne i niemieszalność dwóch składników tego układu prowadzi do powstania dużych skupisk jednego polimeru w siatce drugiego. Trzeci typ układu powstaje wówczas, gdy fragmenty składników żelu oddziałują na siebie, w wyniku czego powstaje siatka sprzężonych ze sobą składników [11]. Sama pektyna niskiestryfikowana, a więc o stopniu estryfikacji kwasów poligalakturonowych poniżej 50%, może tworzyć żele w obecności dwuwartościowych kationów w szerokim zakresie pH i niezależnie od ilości cukru w roztworze. Powstają wówczas mostki łączące dwa łańcuchy pektynowe. Einhorn-Stoll i wsp. [1] zaobserwowali powstawanie stabilnych elektrostatycznych kompleksów pomiędzy białkami serwatkowymi a karboksylowymi grupami pektyny. Konkludowali, że są one ważniejsze dla stabilności emulsji, niż wiązania hydrofobowe lub wodorowe. Mishra i wsp. [5] otrzymali kompleksy ultrafiltrowanej WPC i pektyny za pomocą ogrzewania „na sucho” i stwierdzili, iż jest to wartościowa metoda kontrolowania właściwości funkcjonalnych WPC i pozwala na rozszerzenie możliwości aplikacyjnych.

Celem badań było określenie wpływu niskiestryfikowanej pektyny na teksturę i strukturę mieszanych żeli z koncentratów (WPC) i izolatów (WPI) białek serwatkowych.

Material i metody badań

Materiałem do badań były:

- koncentrat białek serwatkowych (PPHU „Laktopol”, Warszawa),
- izolat białek serwatkowych (Davisco Foods International, Le Sueur, MN, USA),
- pektyna niskiestryfikowana („Pektowin”, Jasło).

Skład koncentratu i izolatu białek serwatkowych przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Skład chemiczny koncentratu i izolatu białek serwatkowych [%].

The chemical composition of a whey protein concentrate and a whey protein isolate [%].

Preparat białkowy Protein product	Białko Protein	Laktoza Lactose	Tłuszcz Fat	Woda Water	Ca	Na	K	Mg
WPI	71,27	11,7	6,11	7,28	1,68	1,28	0,25	0,074
WPC	93,61	0,65	0,49	4,28	0,24	0,39	0,07	0,008

Sporządzano dyspersje WPC i WPI w $0,1 \text{ M/dm}^3$ NaCl o stężeniu 15% białka. Proporcje mieszanin z pektyną otrzymywano w ten sposób, że zastępowano białko koncentratu i izolatu pektyną w takiej ilości, aby zawartość pektyny w mieszaninie

białko-pektyna wynosiła 3, 5, 10, 15 i 20%. W ten sposób możliwe było obserwowanie, jak substytucja białka przez pektynę wpływa na właściwości żeli, a nie tylko dodatek pektyny. Za pomocą 1 M/dm³ NaOH lub HCl ustalano pH roztworu dyspergowanego na poziomie 7,0. Roztwór dyspergowany umieszczano w szklanych rurkach o średnicy wewnętrznej 7 mm i długości 80 mm powleczonych cienką warstwą oleju roślinnego, zamkniętych z jednej strony gumowymi korkami. Wyloty rurek zakryto folią aluminiową. Roztwory dyspergowane ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 80°C przez 30 min. Próbkę przetrzymywano w rurkach w temp. 21°C przez 10 min, a następnie przechowywano przez około 20 h w temp. 4°C. Uzyskane żele wysuwano z rurek i cięto na 6 mm długości cylindry przy użyciu skalpela chirurgicznego. Próbkę analizowano przy użyciu urządzenia Instron Universal Testing machine (Model 6022, Canton, MA, USA) z głowicą o ciężarze 50 N przy prędkości przesuwu 50 mm/min. Żele ściskano pomiędzy dwiema równoległymi płytkami powleczonymi olejem roślinnym aż do otrzymania pierwszego pikę przy 5% spadku wartości siły. Próbkę analizowano w trzech powtórzeniach po 6 walców w każdym. Żele zostały potraktowane jako nieściśliwe materiały. Względne odkształcenie przy zniszczeniu (ϵ) podczas ściskania obliczano z równania:

$$\epsilon = -\ln [1 - (\Delta h/h)],$$

gdzie:

h – wysokość walca, Δh – wielkość przesunięcia głowicy do zniszczenia próbki.

Naprężenie niszczące przy ściskaniu (σ) obliczano z równania:

$$\sigma = F [[1 - (\Delta h/h)]/2\pi r^2],$$

gdzie:

F – siła powodująca pęknięcie walca, r – początkowy promień walca.

Otrzymywano zdjęcia mikrostruktury żeli. W tym celu sporządzano zawiesinę żeli w wodzie redestylowanej. Utrwalano je wstępnie w 4% aldehydzie glutarowym w 0,1 M/dm³ buforze kakodylanowym o pH 7,4, przez 4 h w temp. 21°C. Po trzykrotnym przemyciu tym samym buforem preparaty utrwalano ostatecznie w 1% czterotlenku osmu przez 2 h. Następnie odwadniano w seriach przy użyciu roztworów alkoholu etylowego (30, 50, 70, 90 i 99,8%) i kolejno w tlenku propylu [12]. Preparaty zatopiono w żywicy Spurr Low Viscosity (Polysciences, Inc., Warrington, PA, USA). Po spolimeryzowaniu krojono na skrawki tzw. półcienkie za pomocą ultramikrotomu Om-U3 (Reichert Ophthalmic Instruments, Depew, USA). Skrawki te miały grubość 0,75 μm . Po dobarwieniu 1% błękitem metylenowym z 1% Azurem II w 1% boraksie wykonano mikrografie przy użyciu mikroskopu optycznego (Analytik Jena AG, Jena, Niemcy).

Wartości odchyleń standardowych oraz istotność różnic pomiędzy średnimi analizowano testem t-Studenta na poziomie istotności $P \leq 0,05$. Obliczenia wykonano przy użyciu programu Stat 1 (ISK, Skierniewice).

Wyniki badań i dyskusja

Na wstępie przedstawiono wpływ zastępowania białka pektyną na wartości naprężenia przy pęknięciu żeli (tab. 2).

Tabela 2

Wpływ dodatku pektyny na naprężenie niszczące podczas ściskania żeli mieszanych z koncentratem i izolatem białek serwatkowych.

The impact of pectin on the compression stress at fracture of gels mixed with a whey protein concentrate and a whey protein isolate.

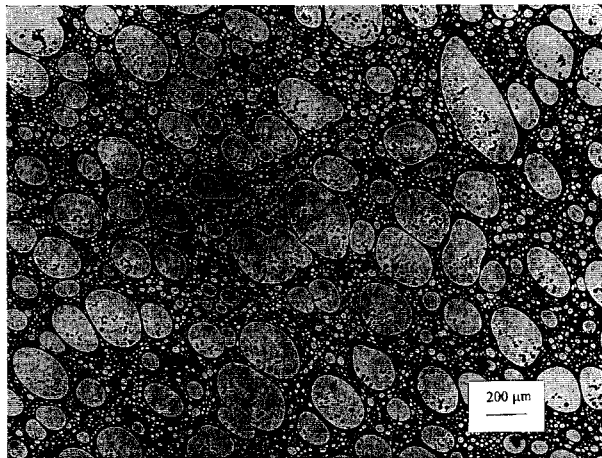
Dodatek pektyny Added pectin [%]	Koncentrat białek serwatkowych Whey protein concentrate		Izolat białek serwatkowych Whey protein isolate	
	Naprężenie przy pęknięciu Compression stress at fracture [kPa]	Odchylenie standardowe Standard deviation	Naprężenie przy pęknięciu Compression stress at fracture [kPa]	Odchylenie standardowe Standard deviation
0	14,9 ^c	0,25	48,2 ^e	0,45
3	7,47 ^b	0,98	44,5 ^d	1,14
5	6,07 ^{ab}	0,46	11,1 ^c	1,05
10	6,93 ^b	0,80	6,09 ^b	0,55
15	6,23 ^{ab}	1,16	5,72 ^b	0,06
20	4,84 ^a	0,45	3,05 ^a	0,33

Różnice pomiędzy wartościami średnimi w kolumnach, oznaczone różnymi literami, są statystycznie istotne ($P \leq 0,05$).

Differences between mean values shown in columns and denoted by different letters are statistically significant ($P \leq 0.05$).

Wielkość ta jest skorelowana z sensorycznym odczuciem twardości [14]. Dodatek pektyny powodował w każdym przypadku spadek twardości żeli, jednak dynamika tego spadku była różna w przypadku koncentratu i izolatu. Niewielki dodatek pektyny w ilości 3% spowodował aż dwukrotny spadek twardości żelu WPC, a tylko niewielki spadek twardości żelu WPI. Wynika to prawdopodobnie z mocniejszej struktury sieci żelowej otrzymywanej z izolatu białek serwatkowych. Żele WPI charakteryzują się większymi wartościami naprężenia. Koncentraty, które zawierały mniejsze ilości białka w swoim składzie charakteryzowały się mniejszymi wartościami naprężenia. Mleko i wsp. [9] stwierdzili, iż istnieje wykładnicza zależność pomiędzy twardością żeli WPC a zawartością białka w koncentracie. Obecność innych składników w koncentraty, takich jak: tłuszcz, laktoza i sole mineralne (tab. 1) wpływa często negatywnie na sam proces rozfałdowania białka, a następnie na ich agregację [4]. Wysoka wartość naprężenia przy stężeniu pektyny 3% jest zgodna z obrazem mikrostruktury żelu

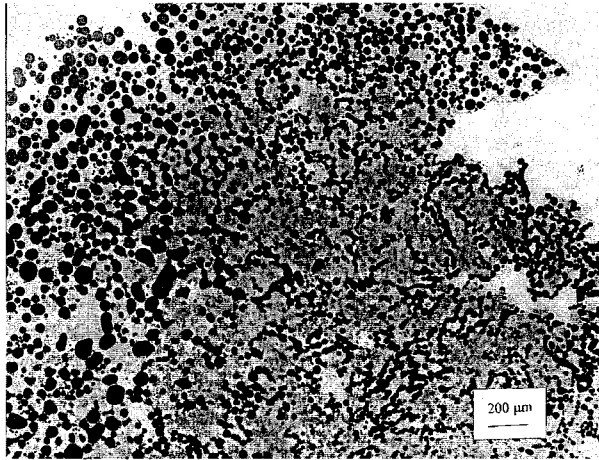
(fot. 1). Obserwuje się wprawdzie zjawisko niekompatybilności pektyny i białek serwatkowych, które tworzą dwie niemieszające się ze sobą fazy, jednak wciąż obserwuje się ciągłość matrycy białkowej (ciemne elementy), co determinuje właściwości mechaniczne żelu. Niekompatybilność pektyny i białka ma charakter elektrostatyczny. Przy pH 7 zarówno cząsteczki pektyny, jak i białek serwatkowych mają sumaryczny ładunek ujemny i dlatego odpychają się. Podobne zjawisko zaobserwowano w przypadku pektyny i kazeiny [3].



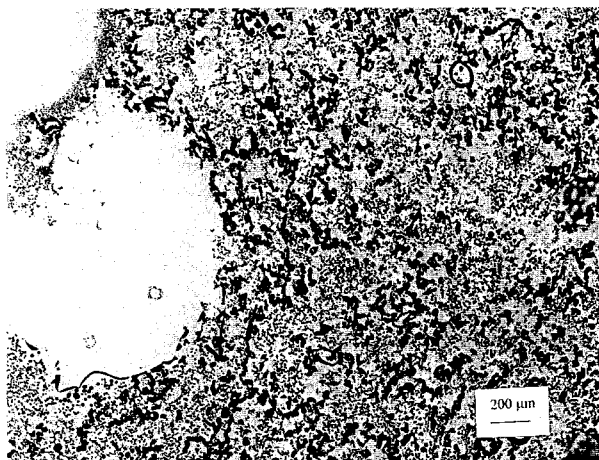
Fot. 1. Mikrostruktura mieszanych żeli WPI/pektyna przy stężeniu pektyny 3%.
Photo. 1. Microstructure of mixed gels WPI/pectin with 3% pectin.

Dodatek pektyny w ilości 5% spowodował już całkowity rozdział faz, przedstawiający się w postaci mieszaniny kuleczek z pektyną i agregatów białkowych (fot. 2). Ciągłość matrycy białkowej została przerwana i żel białkowy przypomina bardziej mieszaninę skoagulowanego białka. Żele o nieciągłej strukturze charakteryzują się małą twardością. Podobną strukturę obserwuje się w przypadku białek serwatkowych ogrzewanych w środowisku o pH zbliżonym do punktu izoelektrycznego [6, 13]. Obserwowany rozdział faz spowodował spadek wartości naprężenia z 48,2 kPa do 11,1 kPa (tab. 2). Dodatek pektyny w ilości 20% spowodował, że zaobserwowano strukturę, w której sieć białkowa była już bardzo luźna i występowały dość często wolne przestrzenie spowodowane niekompatybilnością mieszanych składników (fot. 3). Żel WPI otrzymany z takim dodatkiem pektyny charakteryzował się najmniejszą wartością naprężenia – 3,05 kPa (tab. 2). Pomimo tego, że mikrostruktura żeli WPC była podobna do mikrostruktury żeli WPI (nie pokazano), pektyna nieco inaczej wpływała na twardość żeli WPC. Po spadku twardości, przy stężeniu pektyny 3%, nie obserwowano statystycznie istotnego spadku naprężenia przy pęknięciu aż do stężenia pektyny 20% w stosunku do ilości białka. Może to wynikać ze swoistego „buforującego” działania

WPC, a prawdopodobnie obecnych w dużej ilości jonów wapniowych (tab. 1). Zastępowanie białka przez pektynę powoduje, że jony wapniowe znajdujące się w koncentracji stwarzają dogodne warunki do żelowania niskoestryfikowanej pektyny przez tworzenie się mostków wapniowych. Możliwe, że tworzyły się również pewne połączenia pomiędzy białkami a pektyną. Tworzenie się charakterystycznych kompleksów było stwierdzone wcześniej przez Mishra i wsp. [5]. Dopiero dodatek pektyny w ilości 20% spowodował obniżenie się twardości żeli WPC, ale nawet wówczas wartość ta była większa niż odpowiednia izolatu (tab. 2).



Fot. 2. Mikrostruktura mieszanych żeli WPI/pektyna przy stężeniu pektyny 10%.
Photo. 2. Microstructure of mixed gels WPI/pectin with 10% pectin.



Fot. 3. Mikrostruktura mieszanych żeli WPI/pektyna przy stężeniu pektyny 20%.
Photo. 3. Microstructure of mixed gels WPI/pectin with 20% pectin.

W tab. 3. przedstawiono wpływ dodatku pektyny na wartości odkształcenia przy zniszczeniu żeli WPC i WPI, która to wartość koreluje z sensorycznym odczuciem spójności żeli [14].

Tabela 3

Wpływ dodatku pektyny na odkształcenie przy zniszczeniu podczas ściskania żeli mieszanych z koncentratem i izolatem białek serwatkowych.

The impact of pectin on the compression strain at fracture of gels mixed with whey protein concentrate and whey protein isolate.

Dodatek pektyny Added pectin [%]	Koncentrat białek serwatkowych Whey protein concentrate		Izolat białek serwatkowych Whey protein isolate	
	Odształcenie przy pęknięciu Compression strain at fracture [kPa]	Odchylenie standardowe Standard deviation	Odształcenie przy pęknięciu Compression strain at fracture [kPa]	Odchylenie standardowe Standard deviation
0	0,91 ^e	0,01	0,77 ^c	0,01
3	0,59 ^b	0,01	0,88 ^c	0,01
5	0,62 ^b	0,01	0,80 ^d	0,01
10	0,72 ^d	0,00	0,50 ^a	0,02
15	0,66 ^c	0,02	0,56 ^b	0,03
20	0,55 ^a	0,02	0,50 ^a	0,02

Różnice pomiędzy wartościami średnimi w kolumnach, oznaczonymi różnymi literami, są statystycznie istotne ($P \leq 0,05$).

Differences between the mean values shown in columns and denoted by different letters are statistically significant ($P \leq 0.05$).

Ogólnie, dodatek pektyny powodował spadek spójności żeli, jednak w przypadku żeli WPC, przy stężeniu pektyny 10% i w przypadku żeli WPI, przy stężeniu pektyny 3 i 5%, obserwowano wzrost spójności żeli, co objawiało się tym, że żel pękał wprawdzie pod działaniem mniejszej siły, lecz wielkość odkształcenia, przy której następowało załamanie się struktury była większa. Większą spójność żeli w tych warunkach można tłumaczyć faktem, że pektyna tworzyła swoiste lepiscze żelu lub bardziej zagregowanym białkiem, które w tych warunkach tworzy bardziej spójną strukturę. Tworzenie się bardzo spójnej, elastycznej struktury zaobserwowano wcześniej, badając mieszane żele białek serwatkowych z karagenem [10]. Często struktura taka uniemożliwia zbadanie właściwości teksturalnych żelu, gdyż nawet podczas 100% odkształcenia nie obserwuje się momentu załamania się struktury.

Wnioski

1. Zastępowanie białek serwatkowych pektyną spowodowało spadek twardości żeli, wynikający z niekompatybilności tych dwóch składników, co zostało potwierdzone przez obraz mikrostruktury.
2. W przypadku izolatu białek serwatkowych, dodatek pektyny w niewielkich ilościach nie powodował dużego spadku twardości w przeciwieństwie do mieszanych żeli z koncentratem tych białek.
3. Dodatek większych ilości pektyny do żeli z WPC nie powodował spadku twardości, co mogło wynikać z żelowania pektyny pod wpływem jonów wapniowych zawartych w koncentracie.
4. Dodatek pektyny powodował spadek spójności żeli, z wyjątkiem żeli WPC przy stężeniu pektyny 10% i żeli WPI przy stężeniu pektyny 3 i 5%, gdzie obserwowano wzrost spójności żeli.

Literatura

- [1] Einhorn-Stoll U., Glasenapp N., Kunzek H.: Modified pectins in whey protein emulsions. *Nahrung*, 1996, **40**, 60-67.
- [2] Ludvigsen H.K.: Stabilization of yogurts and yogurt drinks. *Asia Pacific Food Industry*, 2000, **44**, 46, 48-49.
- [3] Marozieni A., de Kruif C.G.: Interaction of pectin and casein micelles. *Food Hydrocoll.*, 2000, **14**, 391-394.
- [4] Mei F.L., Laye I., Karleskind D., Morr C.V.: Gelation of calcium reduced and lipid reduced whey protein concentrates as affected by total and ionic mineral concentrations. *J. Food Sci.*, 1996, **61**, 899-905.
- [5] Mishra S., Mann B., Joshi V.K.: Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin. *Food Hydrocoll.*, 2001, **15**, 9-15.
- [6] Mleko S.: Effect of pH on the microstructure and texture of whey protein concentrates and isolate gels. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1996, **46**, 63-72.
- [7] Mleko S.: High-pH gelation of whey protein isolate. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2001, **36**, 331-334.
- [8] Mleko S.: Studies on permeability and rheology of heat and sodium induced whey protein gels. *J. Food Sci. Technol.*, 2000, **37**, 307-310.
- [9] Mleko S., Achremowicz B., Foegeding A.: Effect of protein concentration on the rheological properties of whey protein concentrate gels. *Milchwiss.*, 1994, **49**, 266-269.
- [10] Mleko S., Li-Chan E., Pikus S.: Interactions of κ -carrageenan with whey proteins in gels formed at different pH. *Food Res. Inter.*, 1997, **6**, 427-433.
- [11] Rajni A.P., Ranganna S., Manjrekar S.P.: Mechanism of gel formation by low methoxyl pectins. *J. Food Technol.*, 1979, **14**, 277-287.
- [12] Reynolds E.S.: The use of the lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 1963, **17**, 208-212.
- [13] Stading M., Langton M., Hermansson A.M.: Microstructure and rheological properties of particulate β -lactoglobulin and whey proteins at varying pH. *Food Hydrocoll.*, 1992, **5**, 523-539.
- [14] Twomey M., Keogh M.K., Mehra R, O'Kennedy B.T.: Gel characteristics of β -lactoglobulin, whey protein concentrate and whey protein isolata. *J. Food Texture*, 1997, **28**, 387-403.

THE TEXTURE AND STRUCTURE OF WHEY PROTEIN CONCENTRATE AND ISOLATE GELS WITH PECTIN

S u m m a r y

The objective of this study was to determine an effect of a low-methoxyl pectin on the texture and structure of gels mixed with WPC and WPI. The whey protein in WPC and WPI was substituted by pectin in order to obtain the following pectin concentration rates in a pectin-protein mixture: 3%, 5%, 10%, 15%, and 20%. Dispersions (pH 7.0) were heated 30 minutes at 80 °C. and the resulting texture and microstructure of the produced gels were analyzed. Owing to the substitution of the whey protein by the pectin, the hardness of gels decreased as the result of their incompatibility, and this fact was proved by microphotographs. No decrease in the hardness of the gels was caused by the higher concentrations of pectin, up to 20%, added to WPC. This phenomenon could be attributed to the gelation process of pectin induced by calcium ions present in WPC.

Key words: gel, microstructure, pectin, protein, rheology, whey. ☒