

STANISŁAW MLEKO

## OTRZYMYWANIE MIESZANYCH ŻELI BIAŁEK SERWATKOWYCH Z WYBRANYMI POLISACHARYDAMI I BADANIE ICH WŁAŚCIWOŚCI MECHANICZNYCH

### Streszczenie

Celem badań było otrzymanie mieszanych żeli białek serwatkowych z karagenem, mączką chleba świętojańskiego, gumą guarową, gumą arabską i gumą ksantanową oraz zbadanie ich właściwości teksturalnych, przy użyciu testu ściskania, do zniszczenia struktury. Stężenie białka wynosiło 15%, a stężenia polisacharydów stanowiły 3, 5, 8, 10, 15 i 20% w stosunku do ilości białka. Roztwory dyspergowane o pH 7,0 ogrzewano w łaźni wodnej o temp. 80°C przez 30 min. W przypadku dodatku gumy ksantanowej oraz arabskiej zaobserwowano spadek wartości naprężenia przy pęknięciu żeli izolatu białek serwatkowych, natomiast mączka chleba świętojańskiego oraz karagen powodowały wzrost twardości żeli. Dodatek polisacharydów, z wyjątkiem karagenu, powodował spadek spójności żeli. W wyższych stężeniach gumy arabskiej i guarowej obserwowano powrót do pierwotnej spójności żeli, w których polisacharydy pełniły prawdopodobnie rolę lepiszcza struktury.

**Słowa kluczowe:** guma arabska, guma guarowa, guma ksantanowa, karagen, mączka chleba świętojańskiego, serwatka.

### Wstęp

Żelowanie białek jest procesem wykorzystywanym powszechnie w przemyśle spożywczym [7]. Potrzeba modyfikacji właściwości reologicznych żeli, jak również złożoność żywności skłania do badań nad mieszanymi żelami, w których często jeden ze składników jest białkiem, a drugi polisacharydem. W mieszaninach takich biopolimerów najczęściej występującym zjawiskiem jest rozdział faz. Obserwuje się tzw. niekompatybilność termodynamiczną. Istnieją wówczas mocniejsze oddziaływania pomiędzy rozpuszczalnikiem a poszczególnymi biopolimerami niż pomiędzy tymi biopolimerami, co prowadzi do powstania niemieszającego się układu i

ostatecznego utworzenia się dwóch faz zawierających tylko poszczególne biopolimery. Innym rodzajem rozdziału faz jest rozdział asocjacyjny. Zachodzi on wówczas, gdy obydwa polimery mają przeciwne ładunki sumaryczne, co prowadzi do tworzenia się kompleksów. Powstałe kompleksy mogą być rozpuszczalne lub ich tworzenie się może doprowadzić do agregacji [3]. Mieszanina białek globularnych, jakimi są białka serwatkowe, i polisacharydowych polimerów, przy odpowiednio dużych stężeniach, również ulega rozdziałowi faz. Przyjmuje się, że rozdział faz następuje przy całkowitym stężeniu polimerów na poziomie 4%, podczas gdy przy stężeniu niższym niż 1% dochodzi do wytrącania się jednego z składników [3]. Często rozdział faz następuje równocześnie z postępującym zjawiskiem żelowania jednego lub dwóch składników. Żelowanie w przypadku białek globularnych zachodzi pod wpływem podwyższonej temperatury, natomiast żelowanie polisacharydów następuje najczęściej po ochłodzeniu podgrzanego roztworu [8, 9]. Powstały żel może makroskopowo wydawać się homogeniczny, natomiast w rzeczywistości następuje w nim rozdział faz. Często polisacharydy wpływają na jeden z etapów żelowania białek. Capron i wsp. [2] stwierdzili przyspieszenie procesu agregacji  $\beta$ -laktoglobuliny w mieszaninie z  $\kappa$ -karagenem.

Celem badań było otrzymanie mieszanych żeli białek serwatkowych z karagenem, mączką chleba świętojańskiego, gumą guarową, gumą arabską i gumą ksantanową oraz zbadanie ich właściwości teksturalnych przy użyciu testu ściskania, do zniszczenia struktury.

### **Materiał i metody badań**

Do badań użyto następujących materiałów:

- izolat białek serwatkowych (whey protein isolate – WPI) o zawartości 93,6% białka (Davisco Foods International, Le Sueur, MN, USA),
- karagen, mączka chleba świętojańskiego, guma guarowa, guma arabska i guma ksantanowa (Hortimex, Konin).

Sporządzano roztwory dyspergowane WPI w  $0,1 \text{ mol/dm}^3$  NaCl o stężeniu 15% białka z dodatkiem wybranych polisacharydów. Stężenia polisacharydów wynosiły 3, 5, 8, 10, 15 i 20% w stosunku do ilości białka. Używając  $1 \text{ M/dm}^3$  NaOH lub HCl ustalano pH roztworu dyspergowanego na poziomie 7,0. Roztwory wlewano do szklanych rurek o średnicy wewnętrznej 7 mm i długości 80 mm powleczonych cienką warstwą oleju rzepakowego, zamkniętych z jednej strony gumowymi korkami. Wyloty rurek zakrywano folią aluminiową. Roztwory ogrzewano w łaźni wodnej o temp.  $80^\circ\text{C}$  przez 30 min. Próbki przetrzymywano w rurekach w temp.  $21^\circ\text{C}$  przez 10 min, a następnie przechowywano przez około 20 h w temp.  $4^\circ\text{C}$ . Żele wysuwano z rurek i cięto na 6 mm długości cylindry przy użyciu skalpela chirurgicznego. Otrzymane żele

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 pokrytymi cienką warstwą oleju rzepakowego aż do otrzymania pierwszego piksu 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 ( $\varepsilon$ ) podczas ściskania obliczano z równania:

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

gdzie  $h$  – wysokość walca,  $\Delta h$  – wielkość przesunięcia głowicy do zniszczenia próbki.

Naprężenie niszczące przy ściskaniu ( $\sigma$ ) obliczano z równania:

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

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

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

## Wyniki badań i dyskusja

Na wstępie przedstawiono wpływ dodatku polisacharydów na naprężenie niszczące podczas ściskania żeli izolatu białek serwatkowych (tab. 1). Żele o stałej konsystencji nadającej się do ściskania otrzymano we wszystkich przypadkach z wyjątkiem żeli z dodatkiem dużej ilości gumy kasantanowej: 10–20% w stosunku do ilości białka. W przypadku dodatku gumy arabskiej i gumy ksantanowej stwierdzono spadek wartości naprężenia; twardość żeli malała wraz ze wzrostem stężenia tych polisacharydów. Bryant i McClements [1] stwierdzili, że mieszanina białek serwatkowych z ksantanem przy pH 7 podlega rozdziłowemu. W wyniku tego procesu można było zmniejszyć minimalne stężenie białka, przy którym zachodzi żelowanie. Zaobserwowano, iż obecność ksantanu powoduje zwiększenie wielkości agregatów  $\beta$ -laktoglobuliny [13]. Takie synergistyczne zachowanie zaobserwowano przy niskim stężeniu ksantanu, natomiast wyższe stężenia działały antagonistycznie. Ksantan już przy stężeniach większych niż 0,001% powoduje agregację emulsji zawierających białka serwatkowe, co przypisuje się jego negatywnemu wpływowi na termiczną stabilność białek [5]. Hemar i wsp. [6] stwierdzili, że roztwory kazeiny i gumy kasantanowej nie są homogeniczne. Przy użyciu mikroskopu konfokalnego zaobserwowali obszary o włóknistej strukturze, lokalnie bogate w ksantan. Świadczy to o termodynamicznej niekompatybilności takiej mieszaniny. Obserwowany w niniejszych badaniach spadek wartości naprężenia wynikał prawdopodobnie z faktu, iż rozdział faz z równoczesną zwiększoną agregacją białek serwatkowych doprowadziły do zniszczenia struktury sieci żelu białkowego i osłabienia jego wytrzymałości na ściskanie. Podobne zjawisko ma prawdopodobnie miejsce w przypadku mieszanych

żeli z gumą arabską. W literaturze nie znaleziono doniesień na ten temat. W przypadku żeli z dodatkiem gumy guarowej stwierdzono, iż jej dodatek nie wpływał zasadniczo na wartość naprężenia niszczącego przy ściskaniu żeli. El-Garawany i wsp. [4] zaobserwowali tworzenie się słabszych żeli białek serwatkowych po dodaniu gumy guarowej. Różne zachowanie się żeli wynika prawdopodobnie z różnic w stosowanych stężeniach gumy guarowej. Wyższe jej stężenie mogło wzmacniać matrycę polisacharydową przy jednoczesnym osłabianiu struktury części białkowej żelu.

Tabela 1

Wpływ dodatku polisacharydów na naprężenie niszczące podczas ściskania żeli izolatu białek serwatkowych.

The effect of the polysaccharides on the breaking stress while compressing the WPI gels.

Polisacharyd Polysaccharide	Naprężenie przy pęknięciu / Compressive stress at fracture [kPa]						
	Wielkość dodatku polisacharydu / Quantity of the polysaccharide added [%]						
	0	3	5	8	10	15	20
Guma arabska Arabic gum	48,23 <sup>d</sup> ±0,54	46,25 <sup>d</sup> ±0,79	44,92 <sup>d</sup> ±1,34	40,23 <sup>c</sup> ±0,07	39,82 <sup>c</sup> ±3,35	19,82 <sup>b</sup> ±3,35	15,59 <sup>a</sup> ±1,66
Mączka chleba świętojańskiego Locust bean gum	48,23 <sup>a</sup> ±0,54	48,28 <sup>a</sup> ±4,46	52,74 <sup>b</sup> ±2,76	56,18 <sup>b</sup> ±3,12	61,21 <sup>c</sup> ±0,12	66,24 <sup>d</sup> ±0,98	76,68 <sup>e</sup> ±1,99
Guma guarowa Guar gum	48,23 <sup>ab</sup> ±0,54	44,11 <sup>a</sup> ±0,78	47,65 <sup>ab</sup> ±2,76	43,95 <sup>a</sup> ±4,78	51,51 <sup>b</sup> ±3,16	47,98 <sup>ab</sup> ±0,76	50,01 <sup>b</sup> ±3,70
Karagen Carrageenan	48,23 <sup>a</sup> ±0,54	52,79 <sup>a</sup> ±3,98	49,86 <sup>a</sup> ±5,76	62,00 <sup>b</sup> ±4,76	64,88 <sup>b</sup> ±2,55	68,54 <sup>bc</sup> ±4,12	74,79 <sup>c</sup> ±6,99
Guma ksantanowa Xanthan gum	48,23 <sup>d</sup> ±0,54	26,38 <sup>c</sup> ±1,57	20,25 <sup>b</sup> ±5,01	11,63 <sup>a</sup> ±2,24	---	---	---

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

The differences among the mean values contained in lines and designated by different letters are statistically significant ( $P \leq 0.05$ ).

Dodatek mączki chleba świętojańskiego powodował wzrost wartości naprężenia (tab. 1). Sanchez i wsp. [11] stwierdzili, iż dodatek mączki chleba świętojańskiego oraz gumy ksantanowej do jogurtu spowodował zmiany w strukturze sieci żelu kazeinowego. Struktura ta była bardziej zwarta, a wielkość porów uległa redukcji. Powstawanie takiej struktury mogło być przyczyną obserwowanych wyższych wartości naprężenia przy zniszczeniu żeli białek serwatkowych z dodatkiem mączki chleba świętojańskiego. Również dodatek karagenu powodował wzrost twardości żeli białek serwatkowych (tab. 1).

Schmidt i Smith [12] zdefiniowali zdolność polisacharydów do tworzenia bardziej lepkich roztworów w mleku niż w wodzie jako reaktywność mleczną (milk reactivity). Podobne zjawisko zaobserwowali również w odniesieniu do roztworów białek serwatkowych z karagenem, gumą guarową oraz ksantanową. Mleko i wsp. [10] stwierdzili, że 3% roztwór białek mleka powoduje wzrost wartości naprężenia przy pęknięciu żeli  $\kappa$ -karagenu. Maksymalną twardość żeli zaobserwowano przy pH 6–7, podczas gdy przy innych wartościach pH następowało bądź tworzenie się kompleksów, bądź silne odpychanie się pomiędzy białkami i  $\kappa$ -karagenem. Euston i wsp. [5] stwierdzili, że karagen ma mniejszy wpływ na agregację białek serwatkowych niż ksantan, natomiast prawdopodobnie oddziałuje z rozfałdowanymi białkami.

W tab. 2. przedstawiono wpływ dodatku gum na wartość względnego odkształcenia przy zniszczeniu podczas ściskania żeli WPI. Wyniki obrazują zmiany spójności żeli. Generalnie dodatek polisacharydów, z wyjątkiem karagenu, powodował spadek spójności żeli. Następujący rozdział faz sprzyjał powstawaniu mniej zwartej struktury żeli. Przy wyższych stężeniach gumy arabskiej i guarowej dochodziło do powrotu do pierwotnej spójności żeli, gdzie polisacharydy pełniły prawdopodobnie rolę lepiszcza struktury. Zaobserwowane wysokie wartości odkształcenia mieszanych żeli WPI-karagen odnotowali wcześniej Mleko i wsp. [10] i mogą one świadczyć o istniejącym synergizmie pomiędzy żelami białek serwatkowych i karagenu.

Tabela 2

Wpływ dodatku polisacharydów na odkształcenie przy zniszczeniu podczas ściskania żeli izolatu białek serwatkowych.

The effect of polysaccharides on the fracture strain while compressing WPI gels.

Polisacharyd Polysaccharide	Odkształcenie przy pęknięciu / Compressive strain at fracture						
	Wielkość dodatku polisacharydu / Quantity of the polysaccharide added [%]						
	0	3	5	8	10	15	20
Guma arabska Arabic gum	0,90 <sup>b</sup> ±0,01	0,70 <sup>a</sup> ±0,09	0,73 <sup>a</sup> ±0,08	0,69 <sup>a</sup> ±0,08	0,69 <sup>a</sup> ±0,08	0,93 <sup>b</sup> ±0,01	0,96 <sup>b</sup> ±0,02
Mączka chleba świętojańskiego Locust bean gum	0,90 <sup>d</sup> ±0,01	0,87 <sup>cd</sup> ±0,05	0,83 <sup>bc</sup> ±0,01	0,82 <sup>bc</sup> ±0,01	0,82 <sup>bc</sup> ±0,02	0,78 <sup>b</sup> ±0,03	0,65 <sup>a</sup> ±0,08
Guma guarowa Guar gum	0,90 <sup>d</sup> ±0,01	0,86 <sup>cd</sup> ±0,04	0,79 <sup>bc</sup> ±0,06	0,72 <sup>ab</sup> ±0,07	0,68 <sup>a</sup> ±0,06	0,78 <sup>bc</sup> ±0,05	0,81 <sup>bcd</sup> ±0,05
Karagen Carrageenan	0,90 <sup>a</sup> ±0,01	0,92 <sup>ab</sup> ±0,01	0,94 <sup>bc</sup> ±0,01	0,94 <sup>bc</sup> ±0,01	0,97 <sup>cd</sup> ±0,02	0,99 <sup>d</sup> ±0,02	1,12 <sup>e</sup> ±0,04
Guma ksantanowa Xanthan gum	0,90 <sup>b</sup> ±0,01	0,75 <sup>a</sup> ±0,07	0,69 <sup>a</sup> ±0,05	0,72 <sup>a</sup> ±0,04	---	---	---

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

The differences among the mean values contained in individual lines and designated by different letters are statistically significant ( $P \leq 0.05$ ).

## Wnioski

1. W przypadku dodatku gumy ksantanowej oraz arabskiej zaobserwowano spadek wartości naprężenia żeli izolatu białek serwatkowych. Wynika on prawdopodobnie z rozdziału faz z równoczesną zwiększoną agregacją białek serwatkowych.
2. Mączka chleba świętojańskiego oraz karagen powodowały wzrost twardości żeli.
3. Dodatek polisacharydów, z wyjątkiem karagenu, powodował spadek spójności żeli.
4. W wyższych stężeniach gumy arabskiej i guarowej dochodziło do powrotu do pierwotnej spójności żeli, gdzie polisacharydy pełniły prawdopodobnie rolę lepiszcza struktury.
5. Wysokie wartości odkształcenia mieszanych żeli białek serwatkowych z karagenem mogą świadczyć o istniejącym synergizmie pomiędzy tymi składnikami.

## Literatura

- [1] Bryant C.M., McClements D.J.: Influence of xanthan gum on physical characteristics of heat-denatured whey protein solutions and gels. *Food Hydrocoll.*, 2000, **14**, 383-390.
- [2] Capron I., Nicolai T., Durand D.: Heat induced aggregation and gelation of  $\beta$ -lactoglobulin in the presence of  $\kappa$ -carrageenan. *Food Hydrocoll.*, 1999, **13**, 1-5.
- [3] Doublier J.L., Garnier C., Renard D., Sanchez C.: Protein-polysaccharide interactions. *Current Opin. in Coll. Interf. Sci.*, 2000, **5**, 202-214.
- [4] El-Garawany G.A., Korolczuk J., Ahd-El-Salam M.H.: Effect of stabilizers and mineral salts on the gel strength of whey protein concentrate. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 2002, **30**, 325-331.
- [5] Euston S.R., Finnigan S.R., Hirst R.L.: Kinetics of droplet aggregation in heated whey protein-stabilized emulsions: effect of polysaccharides. *Food Hydrocoll.*, 2002, **16**, 499-505.
- [6] Hemar Y., Tamehana M., Munro P.A., Singh H.: Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food Hydrocoll.*, 2001, **15**, 565-574.
- [7] Mleko S.: Effect of protein concentration on whey protein gels obtained by a two-stage heating. *Eur. Food Res. Technol.*, 1999, **6**, 389-392.
- [8] Mleko S.: Rheological properties of milk and whey protein desserts. *Milchwiss.*, 1997, **52**, 262-265.
- [9] Mleko S., Gustaw W.: Model whey protein polymer desert. *Milchwiss.*, 2000, **55**, 149-151.
- [10] Mleko S., Li-Chan E., Pikus S.: Interactions of  $\kappa$ -carrageenan with whey proteins in gels formed at different pH. *Food Res. Inter.*, 1997, **6**, 427-433.
- [11] Sanchez C., Zuniga-Lopez R., Schmitt C., Despond S., Hardy J.: Microstructure of acid-induced skim milk-locust bean gum-xanthan gels. *Inter. Dairy J.*, 2000, **10**, 199-212.
- [12] Schmidt K.A., Smith D.E.: Milk reactivity of gum and milk protein solutions. *J. Dairy Sci.*, 1992, **75**, 3290-3295.

- [13] Zasyplin D.V., Dumay E., Cheftel J.C.: Pressure- and heat-induced gelation of mixed  $\beta$ -lactoglobulin/xanthan solutions. *Food Hydrocoll.*, 1996, **10**, 203-211.

### **PRODUCTION OF WHEY PROTEIN / POLYSACCHARIDES MIXED GELS AND INVESTIGATION OF THEIR MECHANICAL PROPERTIES**

#### **S u m m a r y**

The objective of this research was to investigate the effect of the gelling agents: arabic gum, carrageenan, guar gum, locust bean gum, and xanthan gum on the texture properties of 'WPI' gels using a 'compression to failure' test. The whey protein concentration in gels was 15%, and the concentration values of polysaccharides added, in relation to proteins, were respectively: 3, 5, 8, 10, 15, and 20%. The dispersed solutions (pH 7.0) were heated at 80°C during a period of 30 min. When xanthan gum and arabic gum were added, the compression stress value decreased when gels cracked. The addition of locust bean gum and carrageenan caused the increase of the gels hardness, whereas the cohesion of gels decreased as soon as polysaccharides were added except for the addition of the carrageenan. As for the higher concentration values of arabic gum and guar gum, it was stated that the initial cohesiveness of gels was restored; this phenomenon could be attributed to a specific role of the polysaccharides at a particular level of their concentration: they probably were a gluing factor of the structure of gels.

**Key words:** arabic gum, carrageenan, guar gum, locust bean gum, xanthan gum, whey ☒