

Funkcionalnost izolata i hidrolizata proteina sirutke

Zoran Herceg, Vesna Lelas, Greta Krešić, Anet Režek

Izvorni znanstveni rad – Original scientific paper

UDK: 637.344.8

Sažetak

Svrha ovog rada je odrediti funkcionalna svojstva: topljivost, disperzibilnost, emulgirajuća svojstva, svojstvo pjenjenja, te utvrditi reološko ponašanje modelnih sustava hidrolizata proteina sirutke (HWP) i izolata proteina sirutke (WPI).

Raspodjela veličine čestica i specifična površina HWP-a i WPI-a određena je upotrebom instrumenta «Malvern Mastersizer X» tzv. metodom light scattering-a, pri čemu su dobiveni rezultati obrađeni uz pomoć «Mie-ovog modela». Uočeno je da HWP ima značajno manju veličinu čestica od WPI-a.

Na osnovu dobivenih rezultata vidljivo je da hidrolizat proteina sirutke ima bolju topljivost, veću disperzibilnost, bolja emulgirajuća svojstva, te da tvori stabilniju pjenu od izolata proteina sirutke.

Ispitivanje reoloških svojstava provedeno je na 10, 15 i 18%-tnim proteinskim suspenzijama upotrebom rotacionog reometra Brookefield DV-III, na temperaturi od 25 °C. Prividna viskoznost izračunata je primjenom Newtonovog zakona pri brzini smicanja od 200 s⁻¹. Na osnovi izmjerene brzine i napona smicanja izračunati su reološki parametri (koeficijent konzistencije i indeks tečenja) primjenom metode linearne regresije, pri čemu je upotrijebljen Ostwald de Waele-ov zakon. Najveću viskoznost imao je 18%-tni modelni sustav hidrolizata proteina sirutke, a najmanju 10%-tni modelni sustav izolata proteina sirutke.

Ključne riječi: hidrolizat proteina sirutke, izolat proteina sirutke, funkcionalna svojstva

Uvod

Uz veliku hranjivu vrijednost koja je posljedica visokog udjela esencijalnih aminokiselina, proteini sirutke imaju široku primjenu (kao dodatak u prehrambenoj industriji) i zbog značajnih funkcionalnih svojstava: dobra topljivost, povećanje viskoznosti sustava, sposobnost vezanja vode, stabiliziranje emulzija, stvaranje pjene i dr. (King, 1996.; Huffman, 1996.; Corradini, 1998.). Funkcionalna svojstva dodanih proteina sirutke ovise ponajprije o načinu njihove proizvodnje, ali i o kompleksnim interakcijama

različitih činitelja, kao što su brzina zagrijavanja i hlađenja, koncentracija proteina, pH, ionske interakcije i međudjelovanje s drugim sastojcima hrane poput hidrokoloida, šećera, mineralnih komponenti i sl.

Prema strukturi, proteini sirutke su kompaktni globularni proteini čija je intramolekularna nabrana struktura rezultat disulfidnih veza (S-S) između ostataka cisteina, koje su unutar molekule uglavnom prekrivene hidrofobnim ostacima (Tratnik, 1998.). Na taj način proteini mogu tvoriti strukture kao što su α -uzvojnica i β -nabrana ploča koje nastaju stabilizacijom posebnih konformacija proteinskog lanca uz povezivanje amino-grupa polipeptidnog lanca vodikovim vezama. Na ovaj način nastaje kvarтерна struktura višelančanih proteinskih kompleksa koja se može interpretirati kao stanje agregacije, te je ujedno i najvažnije svojstvo proteina u smislu predviđanja njihove funkcionalnosti (Morr i Foegeding, 1990.; Foegeding i sur., 2002.). Podvrgavanje enzimskoj hidrolizi polipeptida velike molarne mase, kao što su proteini sirutke, može u značajnoj mjeri izazvati promjenu njihove strukture što u konačnici mijenja i njihova funkcionalna svojstva (Damodaran, 1996.; Damodaran, 1997.).

Obzirom na navedeno, svrha ovog rada je određivanje razlike funkcionalnih svojstava (topljivost, disperzibilnost, emulgirajuća svojstva, svojstva pjenjenja i reološka svojstva) modelnih sustava pripremljenih s hidrolizatom, odnosno izolatom proteina sirutke.

Materijal i metode rada

U ovom radu ispitivanja su provedena s hidrolizatom proteina sirutke (BioZate 3) i izolatom proteina sirutke (BiPRO). Njihov kemijski sastav deklarirao je proizvođač, Davisco Foods International, Inc (SAD), te se može vidjeti u tablici 1.

Modelne otopine (10%-tne) pripremljene su otapanjem 10,2 g hidrolizata proteina sirutke ili 10,4 g izolata proteina sirutke u 89,8 mL odnosno 89,6 mL destilirane vode. Homogenizacija uzoraka provedena je 30 minutnim miješanjem na magnetskoj miješalici.

Određivanje pH-vrijednosti 10%-tnih suspenzija provedeno je pomoću pH-metra (Model MA 5740, Iskra, Slovenija) nakon stabilizacije kalomel elektrode uronjene u suspenziju 5 minuta.

Mjerenje raspodjele veličine čestica ispitivanih uzoraka u prahu provedeno je na instrumentu «Malvern Mastersizer X», a upotrijebljena je leća ranga 300 mm. Raspodjela veličine čestica, te njihova specifična površina

izračunata je upotrebom kompjuterskog programa prema «MIE-ovom modelu» (Bohren i Huffman, 1983.).

Metoda za određivanje topljivosti proteina sirutke temelji se na određivanju razlike udjela suhe tvari rekonstituiranog i dehidriranog uzorka. Nakon otapanja 12,5 g proteina u 100 mL destilirane vode, suspenzija se homogenizira snažnim miješanjem 30 minuta te se zatim filtrira kroz filter papir Whatman No.1. Nakon filtriranja odredi se suha tvar sušenjem na 105 °C do konstantne mase profiltrirane otopine, te suha tvar dehidriranog uzorka. Topljivost se izračunava korištenjem sljedećeg izraza:

$$\text{Topljivost (\%)} = \frac{b}{a} * 100$$

gdje je:

a = suha tvar odmjerenog uzorka u prahu (g)

b = suha tvar profiltrirane otopine (g)

(British Standard Methods, 1980.)

Disperzibilnost se određuje tako da se u suhu čašu od 600 mL stavi 250 g vode temperature 25°C. Na vrh čaše stavi se stakleni cilindar visine 65 mm i promjera 80 mm u kojem se nalazi 26,0 g ispitivanog uzorka. U roku 25 sek. odmakne se staklena ploča na kojoj se nalazi cilindar, pri čemu uzorak padne u vodu. Uzorak se zatim 25 sekundi intenzivno miješa, nakon čega se čaša ostavi mirovati 30 sekundi. Bez dizanja taloga brzo se izlije tekući dio preko cjedila u čašu od 200 do 400 mL te se odredi suha tvar disperzije metodom sušenja do konstantne mase na 105 °C.

Disperzibilnost se izračunava uvrštavanjem u sljedeći izraz:

$$D = \frac{C_s * 962}{100 - (C_w + C_s)} * 100$$

gdje je:

D = disperzibilnost (%)

C_s = ukupni udjel suhe tvari tekućeg dijela (%)

C_w = udjel vlage ispitivanog uzorka (%)

(British Standard Methods, 1980.)

Za definiranje svojstva pjenjenja, 100 mL 10%-tne suspenzije (w/v) miješa se ukupno 15 minuta u mikseru maksimalnom brzinom. U intervalima od po 5 minuta uzima se po 100 mL pjene a potom se izvažuje. Nakon vaganja

pjena se vraća u posudu miksera i miksanje se nastavlja dok se ne izvrše sva tri mjerenja (nakon 5, 10 i 15 minuta).

Nakon svakog intervala miksanja izračuna se postotak povećanja volumena pjene na sljedeći način:

$$\% \text{ povećanja volumena pjene} = \frac{(\text{masa } 100 \text{ mL suspenzije proteina} - \text{masa } 100 \text{ mL pjene}) \times 100}{\text{masa } 100 \text{ mL pjene}}$$

(Weeb i sur., 2002.)

Stabilnost pjene određuje se nakon miksanja 100 mL 10%-tne suspenzije maksimalnom brzinom 15 minuta. Sto mililitara pjene se potom izvrne u stakleni lijevak uronjen u menzuru. Indeks stabilnosti pjene izražava se kao vrijeme (min.) kad je pala prva kap tekućine iz lijevka (Webb i sur., 2002.), a maksimalna stabilnost pjene je vrijeme (min.) potrebno da se ocijedi sva pjena (Morr i Foegeding, 1990.).

Emulgirajuća svojstva proteina analizirana su spektrofotometrijski, a prikazana su kao indeks aktiviteta emulzije (IAE) i indeks stabilnosti emulzije (ISE) (Webb i sur., 2002.). Emulzija se priprema miješanjem (mikser Philips, model HR 2304) maksimalnom brzinom 90 sekundi 3%-tne suspenzije proteina sa suncokretovim uljem (Zvijezda d.o.o.) u omjeru 2:1. Apsorbancija tako dobivene emulzije mjeri se pri 500 nm (Helios-β, Pye Unicam Ltd, Cambridge, UK) u kiveti debljine 1 cm.

Mutnoća se računa kao:

$$T = 2,303 \times A / I$$

gdje je: T – mutnoća

A – apsorbancija kod 500 nm

I – debljina kivete (m)

Indeks aktiviteta emulzije (IAE):

$$\text{IAE} = 2 \times T / V_u \times C \quad (\text{m}^2 / \text{g})$$

gdje je: T – mutnoća (izračunata iz gornjeg izraza)

V_u – volumni udio ulja (mL)

C – masa proteina u jedinici volumena vodene faze prije pripreme emulzije (g)

Stabilnost emulzije određuje se reanaliziranjem mutnoće nakon držanja u hladnjaku na 4°C, 24 sata. Indeks stabilnosti emulzije (ISE) računa se na sljedeći način:

$$ISE = (T \times t) / \Delta T \quad (h)$$

gdje je: T – mutnoća određena na početku (0 h)

ΔT – promjena mutnoće za vrijeme od 24 h

t – vremenski interval (24 h)

(Webb i sur., 2002.)

Ispitivanje reoloških svojstava provedeno je na 10, 15 i 18%-tnim suspenzijama proteina sirutke. Navedene suspenzije pripremljene su miješanjem odgovarajuće količine proteina sirutke s destiliranom vodom. Reološka svojstva modelnih sustava proteina određena su rotacionim reometrom Brookefield DV-III, na temperaturi od 25°C, neposredno nakon pripreme. Prividna viskoznost izračunata je primjenom Newtonovog zakona pri brzini smicanja od 200 s⁻¹. Na osnovi izmjerenih vrijednosti za brzinu i napon smicanja izračunati su i ostali reološki parametri (koeficijent konzistencije i indeks tečenja) primjenom metode linearne regresije uz upotrebu Ostwald de Waele-ov zakona.

Sve analize provedene su pet puta, a prikazani rezultati predstavljaju srednju vrijednost svih provedenih ispitivanja.

Tablica 1: Kemijski sastav hidrolizata i izolata proteina sirutke

Table 1: Chemical composition of whey protein isolate and hydrolyzed whey protein

Uzorak Sample	Proteini Proteins (%)	Laktoza Lactose (%)	Mast Fat (%)	Voda Water (%)	Pepeo Ash (%)
Izolat proteina sirutke Whey protein isolate	92,0	1,0	0,9	4,1	2,0
Hidrolizat proteina sirutke Hydrolyzed whey protein	95,0	0,1	0,9	2,2	1,8

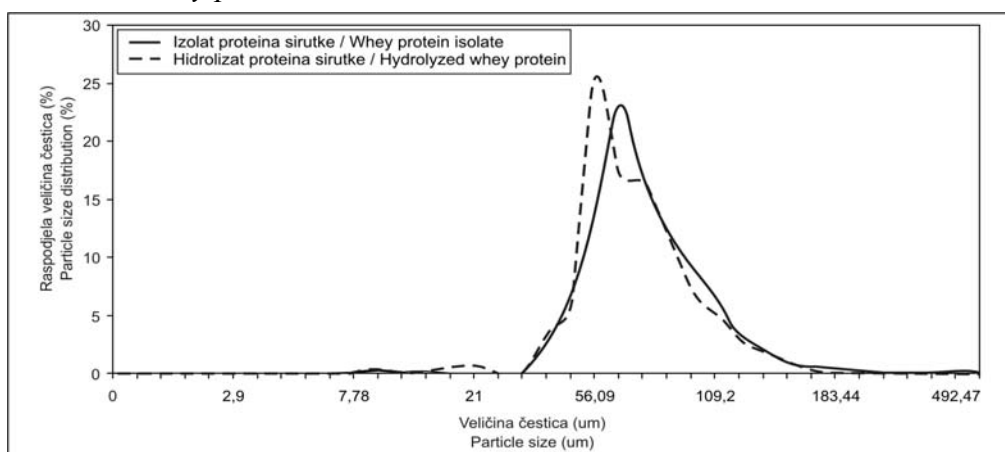
Rezultati i rasprava

U ovom radu provedena su ispitivanja osnovnih funkcionalnih svojstava izolata (WPI) i hidrolizata proteina sirutke (HWP). Osnovna je razlika između izolata i hidrolizata proteina sirutke u načinu njihove izolacije i proizvodnje. Proizvodnjom hidrolizata proteina sirutke provodi se enzimska hidroliza pri čemu dolazi do cijepanja peptidnih veza proteina zbog čega nastaju i značajne promjene u konformaciji proteinske globule. Ovisno o vrsti upotrijebljenog enzima, te uvjeta u kojima se provodi hidroliza, nastaju kraći peptidni lanci i različiti fragmenti aminokiselina. Tako dobiveni hidrolizat proteina sirutke u konačnici ima modificiranu nutritivnu vrijednost, odnosno fizikalna i funkcionalna svojstva u odnosu na izolat proteina sirutke.

Obzirom na ove pretpostavke, a u svrhu utvrđivanja razlike veličine čestica izolata i hidrolizata proteina sirutke, određena im je specifična površina, te raspodjela veličina čestica prije određivanja ostalih osnovnih funkcionalnih svojstava. Neposredno prije mjerenja, suspenzije čestica proteina tretirane su ultrazvukom frekvencije 50 kHz radi razbijanja aglomerata čestica nastalih uslijed primanja vlage iz okoline. Dobiveni rezultati (tablica 2, slika 1) pokazuju da hidrolizat proteina sirutke ima značajno manju veličinu čestica u usporedbi s izolatom proteina sirutke (90 % čestica HWP bilo je manje od 106,79 μm , u usporedbi s WPI kod kojega je 90 % čestica bilo manje od 124,35 μm). Ova razlika je posljedica samog postupka enzimatske hidrolize koja uzrokuje cijepanje peptidnih veza.

Slika 1: Raspodjela veličine čestica hidrolizata i izolata proteina sirutke

Figure 1: Particle size distribution of whey protein isolate and hydrolyzed whey protein



Tablica 2: Raspodjela veličine čestica i specifična površina hidrolizata i izolata proteina sirutke u prahu

Table 2: Particle size analysis and specific area of powdered whey protein isolate and hydrolyzed whey protein

Uzorak Sample	Specifična površina Specific area (m ² /g)	Veličina čestica Particle size (μ m)		
		10% ispod* 10% under*	50% ispod** 50% under**	90% ispod*** 90% under***
Izolat proteina sirutke Whey protein isolate	0,0815	55,10	84,86	124,35
Hidrolizat proteina sirutke Hydrolyzed whey protein	0,0936	44,48	73,02	106,79

* upotrebom MIE-ove teorije utvrđeno je da 10 % čestica ima manji promjer od navedenog

* using MIE theory, it was established that 10 % of particles have smaller diameter than quoted

** upotrebom MIE-ove teorije utvrđeno je da 50 % čestica ima manji promjer od navedenog

** using MIE theory it was established that 50 % of particles have smaller diameter than quoted

*** upotrebom MIE-ove teorije utvrđeno je da 90 % čestica ima manji promjer od navedenog

*** using MIE theory it was established that 90 % of particles have smaller diameter than quoted

Budući da je raspodjela veličine čestica pokazala da postoji značajna razlika u veličini čestica nakon enzimske hidrolize proteina sirutke, za očekivati je da modifikacije strukture proteina te djelomično odmotana polipeptidna struktura HWP-a ima i značajno drugačija funkcionalna svojstva od WPI (Messens i sur., 1997.). Svi postupci koji uzrokuju denaturaciju proteina predstavljaju kompleksan fenomen čiji intenzitet ovisi o strukturi proteina, upotrijebljenom enzimu, temperaturi, pH, ionskoj jakosti i uvjetima tretiranja (Masson, 1992.).

Topljivost i disperzibilnost proteina sirutke jedne su od najvažnijih osobina proteina koje uvelike određuju manifestaciju drugih funkcionalnih svojstava kao što su emulgiranje, pjenjenje, viskoznost i sl., budući da su sva ta svojstva određena ravnotežom intermolekularnih i intramolekularnih interakcija. Razaranje peptidnih veza hidrolizom uzrokuje konformacijske promjene u proteinskim globulama pri čemu je došlo do povećanja topljivosti i disperzibilnosti suspenzija pripremljenih s HWP u odnosu na suspenzije WPI-a (tablica 3). Tijekom određivanja topljivosti i disperzibilnosti isključen je utjecaj kolebanja temperature budući da su sva mjerenja provedena na 20 °C i u pH rasponu od 7,2-7,4 što je daleko od izoelektrične točke ovih proteina (pI=4-5) (King, 1996.).

Tablica 3: pH- vrijednost, topljivost, disperzibilnost, mutnoća, indeks aktiviteta emulzije (IAE) i indeks stabilnosti emulzije (ISE) hidrolizata i izolata proteina sirutke

Table 3: pH-value, solubility, dispersibility, turbidity, emulsion activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of whey protein isolate and hydrolyzed whey protein

Uzorak* Sample*	pH	Topljivost Solubility (%)	Disperzibilnost Dispersibility (%)	Mutnoća Turbidity	IAE (m ² /g)	ISE (h)
Izolat proteina sirutke Whey protein isolate	7,40	70,27	26,18	385,86	145,62	69,6
Hidrolizat proteina sirutke Hydrolyzed whey protein	7,20	76,82	52,84	438,63	164,87	71,9

*(10%-tne modelne suspenzije)

*(10% model suspensions)

U emulzijama stabiliziranim proteinima, proteini osiguravaju nastanak međufazne membrane oko masne globule čime se sprječava flokulacija, koalescencija i izuljivanje. Svojstvo proteina da doprinese nastanku i stabilizaciji emulzija ključno je za primjenu proteina sirutke u različitim prehrambenim proizvodima, uključujući aditive za mesnu industriju, bjelilo za kavu, dresinge i zamrznute deserte (Jayaprakasha i Brueckner, 1999.). Ispitivanja sposobnosti emulgiranja hidrolizata i izolata proteina sirutke pokazala su da modelni sustavi pripremljeni s hidrolizatom proteina sirutke imaju veći indeks aktiviteta emulzije (IAE). Prema Pearce i Kinsella (1978.), indeks aktiviteta emulzije predstavlja površinu međufaze koju može stabilizirati jedan gram proteina. Ovako nastale emulzije pokazivale su i značajno veću stabilnost koja je izražena kao vrijednost indeksa stabilnosti emulzije (ISE) u usporedbi s modelnim sustavima pripremljenim s izolatom proteina sirutke (tablica 3). Bolja emulgirajuća svojstva hidrolizata proteina sirutke mogu se objasniti njihovom manjom molarnom masom, odnosno manjom veličinom proteinske globule u odnosu na molekule izolata proteina sirutke (slika 1). Proteinski lanci manje molarne mase brže dospjevaju na međufaznu površinu, značajno su fleksibilniji s boljom sposobnošću reorijentacije na granici faza, a time i bolji emulgatori. Također, do značajne razlike u sposobnosti formiranja emulzija među ispitivanim uzorcima dolazi i

zbog samog mehanizma tvorbe emulzija, pri čemu se na površini masne kapljice tvori adsorbirani sloj proteina. Jačina adsorbiranog sloja kritična je u sprječavanju spajanja kapljica koje dovodi do eventualnog kolapsa strukture emulzije (Poole, 1989.). Rezultat adsorbiranih komponenti je redukcija površinske napetosti na granici faza ulje-voda. (Blijdenstein i sur., 2004.).

Tijekom formiranja stabilne pjene dolazi do stvaranja filma na međufazi voda/zrak, te djelomičnog odmotavanja proteina i interakcija putem intermolekularnog vezanja koje uključuje inkapsuliranje mjehurića zraka i asocijacija proteinskih molekula, što u konačnici rezultira stvaranjem kohezivnog filma kojim je mjehurić zraka u pjeni stabiliziran (Jayaprakasha i Brueckner, 1999.; Adebowale i Lawal, 2003.). Sposobnost stvaranja pjene suspenzija HWP-a i WPI-a praćena je povećanjem volumena pjene produženim miješanjem, pa je uočeno da se produljenjem vremena miješanja u svim uzorcima značajno povećava volumen pjene uslijed inkorporiranja veće količine zraka (tablica 4). Ovakvo povećanje volumena pjene manifestacija je velike molekularne fleksibilnosti proteina kao rezultat njihove prostorne orijentacije, te sposobnosti interakcije i raširenosti na međufazi u formiranju debljeg i viskoznijeg filma (Mishra i sur., 2001.). Prema Coke i sur. (1990.), stabilnost pjene treba promatrati kao funkciju dvaju mehanizama: drenaže tekućine i urušavanja strukture pjene. U održavanju strukture pjene presudni su sastav i struktura adsorbiranog materijala na međufazi zrak/voda, dok je za drenažu tekućine presudna karakteristika površinskog sloja tankog filma tekućine stvorenog između susjednih mjehurića. U skladu s time, stabilnost pjene 10%-tnih suspenzija HWP-a i WPI-a u ovom radu je praćena izdvajanjem prve kapi tekućine iz pjene čime je definiran indeks stabilnosti pjene, te vrijeme potrebno za urušavanje kompletne strukture pjene. Suspenzije HWP imale su značajno veći indeks stabilnosti pjene od suspenzija WPI (tablica 4), što se može objasniti sposobnošću odmotavanja globularnih proteina. Ta je sposobnost značajno veća kod prethodno hidroliziranih proteina budući da oni tvore nestabilno klupko, a veći je i broj razmotanih globula nastalih kao posljedica hidrolize na raspolaganju za stvaranje viskoelastičnog filma na granici faza. Sve ovo djeluje na povećavanje volumena i stabilnosti pjene (Clarkson i sur., 1999.). Veća stabilnost pjene HWP direktna je posljedica većeg udjela proteina (tablica 1) i debljine filma na granici faza koja sprječava drenažu tekućine iz lamelnog sloja (Zhu i Damodaran, 1994.), ali i sposobnosti boljeg otvaranja proteinskih lanaca hidrolizata proteina sirutke (djelomično hidroliziranih), što omogućuje bolje usmjeravanje na međupovršine tekućina-zrak.

Tablica 4: Svojstvo pjenjenja 10%-tnih suspenzija hidrolizata i izolata proteina sirutke

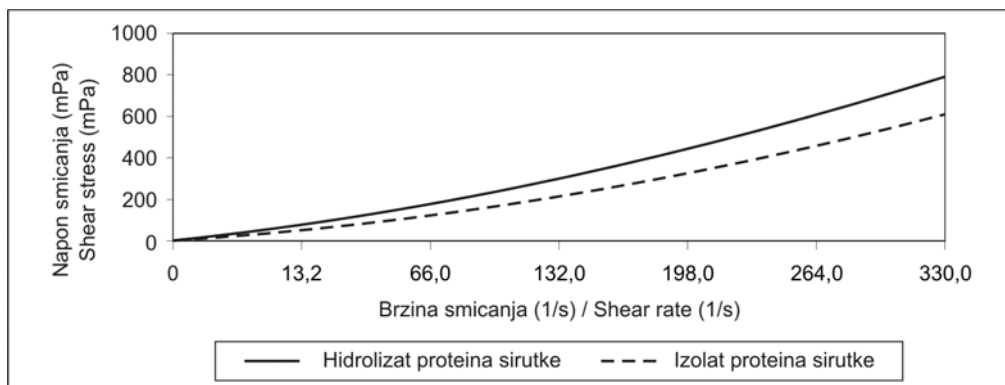
Table 4: Foaming property of 10% solutions whey protein isolate and hydrolyzed whey protein

Uzorak Sample	Povećanje volumena pjene (%) Foam expansion (%)			Stabilnost pjene (min.) Foam stability (min)	
	Vrijeme miješanja (min.) Whipping time (min)			Indeks stabilnosti pjene Foam stability index	Maksimalna stabilnost pjene Maximum foam stability
	5	10	15		
Izolat proteina sirutke Whey protein isolate	421,92	436,33	565,21	1,87	94
Hidrolizat proteina sirutke Hydrolyzed whey protein	400,18	577,12	624,61	2,39	109

Reološka svojstva ispitivanih suspenzija proteina izražena su koeficijentom konzistencije i indeksom tečenja, te su adekvatno opisana Ostwald de Waele-ovim zakonom, budući da je koeficijent regresije za navedene suspenzije bio izrazito visok (0,95-0,99) (tablica 5). Ispitivanjem reoloških svojstava modelnih sustava proteina sirutke utvrđeno je da se sve suspenzije ponašaju kao nenevtonski sustavi dilatantnog tipa ($n > 1$) (slika 2, tablica 5). Najveću prividnu viskoznost imao je 18%-tni modelni sustav hidrolizata proteina sirutke, dok je najmanji prividni viskozitet zabilježen kod 10%-tnog modelnog sustava izolata proteina sirutke. Kod svih modelnih sustava (HWP i WPI) uočeno je, da povećanje udjela proteina u značajnoj mjeri povećava i prividnu viskoznost sustava, odnosno vrijednost koeficijenta konzistencije (tablica 5). Također je uočeno, da sve suspenzije HWP-a imaju veći koeficijent konzistencije u odnosu na suspenzije WPI, što je povezano s većom sposobnošću za protein-protein međudjelovanje nakon enzimske hidrolize, a to dovodi do agregacije i povećanja viskoznosti (Herceg i Lelas, 2005.; Timasheff, 1993.). Također, za očekivati je da se neke konformacijske promjene, koje su posljedica enzimske hidrolize, manifestiraju djelomičnim odmotavanjem proteinske uzvojnice čime se oslobađaju nova mjesta za vezanje vode, a direktna posljedica je povećanje viskoznosti sustava (Michel i sur., 2001.).

Slika 2: Odnos napona smicanja i brzine smicanja modelnih otopina hidrolizata i izolata proteina sirutke

Figure 2: Shear stress and shear rate relationship of whey protein isolate and hydrolyzed whey protein model solutions



Tablica 5: Reološki parametri modelnih suspenzija hidrolizata i izolata proteina sirutke

Table 5: Rheological parameters of whey protein isolate and hydrolyzed whey protein model systems

Uzorak Sample	Modelni sustav Model systems (%)	Prividna viskoznost* Apparent viscosity* (mPa s)	Koeficijent konzistencije Consistency coefficient (mPa s ⁿ)	Indeks tečenja Flow behaviour index	Koeficijent regresije Regression coefficient
Izolat proteina sirutke Whey protein isolate	10	1,67	4,66	1,462	0,992
	15	2,31	9,87	1,532	0,981
	18	2,86	12,02	1,644	0,952
Hidrolizat proteina sirutke Hydrolyzed whey proteins	10	1,83	5,10	1,532	0,995
	15	2,62	11,21	1,687	0,923
	18	3,13	14,16	1,703	0,967

* Prividna viskoznost pri 200 s⁻¹

* Apparent viscosity at 200 s⁻¹

Zaključci

Nakon provedene enzimske hidrolize dolazi do značajnih promjena funkcionalnih svojstava (topljivost, disperzibilnost, emulgirajuća svojstva, te sposobnosti stvaranja pjene) svih ispitivanih uzoraka.

Posljedica enzimske hidrolize proteina sirutke značajno je smanjenje veličine čestica proteina sirutke (HWP) te njihove specifične površine u odnosu na izolate proteina sirutke. Hidrolizat proteina sirutke imao je veću topljivost i disperzibilnost od izolata proteina sirutke što je u konačnici rezultiralo stvaranjem pjene većeg volumena i produljene stabilnosti.

Zahvaljujući manjoj veličini čestica HWP-a omogućena je lakša tvorba adsorbiranog sloja proteina na površine masne kapljice, a samim time i tvorba emulzije veće stabilnosti u usporedbi s emulzijama stabiliziranim WPI.

Konformacijske promjene, koje su posljedica enzimske hidrolize, uzrokuju djelomično odmotavanje proteinske uzvojnice, čime se oslobađaju nova mjesta za vezanje vode, a direktna posljedica je veća viskoznost sustava pripremljenih s HWP u odnosu na iste pripremljene s WPI.

FUNCTIONALITY OF WHEY PROTEIN ISOLATES AND HYDROLYZED WHEY PROTEINS

Summary

The aim of this study was to determine functional properties: solubility, dispersibility, viscosity, emulsifying, foaming and rheological properties of hydrolyzed whey protein (HWP) and whey protein isolate (WPI).

Particle size analysis and specific area of HWP and WPI were performed by «Mie – theory» of «light scattering» using «Malvern Mastersizer X». The results of this analysis have shown that HWP had higher particle size and specific area than WPI.

By examining functional properties, it has been established that HWP has higher solubility, dispersibility, emulsifying properties as well as foam stability (FSI and MFS) compared to WPI.

Rheological properties of protein suspensions were determined in 10, 15, and 18 % suspension of proteins (HWP and WPI) by rotational viscosimeter, Brookfiel DV-III at 25 °C. Apparent viscosity at 200 s⁻¹ was calculated, using Newtonian law. On the basis of measured shear rate and shear stress, using least square method, rheological parameters, flow behavior indeks (n) and consistency coefficient (k) were determined according to the Ostwald de

Waele model. The highest viscosity was observed in 18% HWP model system while the least viscosity was found in a model system prepared with 10% WPI.

Key words: whey protein hydrolysate, whey protein isolate, functional properties

Literatura

- ADEBOWALE, K. O., LAWAL, O. S. (2003.): Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean protein concentrates, *Food Chemistry* 83, 237-246.
- BLIJDENSTEIN, T. B. J., ZOET, F. D., VAN VLIET, T., VAN DER LINDEN, T., VAN AKEN, G.A. (2004.): Dextran-induced depletion flocculation in oil-water emulsions in the presence of sucrose, *Food Hydrocolloids*, 18, 24-31.
- BOHREN, C. F., HUFFMAN, D. R. (1983.): *Absorption and scattering of light by small particles*, New York: Wiley, pp 89-91. .
- British Standard Methods (1980.): Analysis for dried milk and dried milk products BS 1743: Part 4.
- CLARKSON, J. R., CUI, Z. F., DARTON, R.C., CLARKSON, J. R., COLL, J., (1999.): Protein denaturation in Foam: II. Surface Activity and Conformational Change, *Journal of Colloid and Interface Science*, 215, 333-338.
- COKE, M., WILDE, P. J., RUSSEL, E. J., CLARK, D. C. (1990.): The influence of surface composition and molecular diffusion on the stability of foams formed from protein/surfactant mixtures, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 267-272.
- CORRADINI, C. (1998.): Functional properties of whey proteins in foods., *Scienza e Technica Lattiero Casearia*, 49, 204-213.
- DAMODARAN, S. (1996.): Amino acids, peptides and proteins. In: *Food Chemistry*, pp. 321-430. Fennema O R , ed. New York: Dekker.
- DAMODORAN, S. (1997.): Food proteins: an overview. In *Food Proteins and their Applications*; Damadoran, S., Paraf, A. Eds.; Marcel Dekker Inc.: New York, 1-24.
- FOEGEDING, E. A., DAVIS, J. P. DOUCET, D., MCGUFFEY, M. K. (2002.): Advances in modifying and understanding whey protein functionality, *Trends Food Sci. Technol.* 13, 151-159.
- HERCEG Z., LELAS V. (2005.): The influence of temperature and solid matter content on the viscosity of whey protein concentrates and skim milk powder before and after tribomechanical treatment, *Journal of Food Engineering*, 66, 433-438.
- HUFFMAN, L. M. (1996.): Processing whey protein for use as a food ingredient. *Food Technology*, 50, 49-52.
- JAYAPRAKASHA, H. M., BRUECKNER, H. (1999.): Whey protein concentrate: a potential functional ingredient for food industry, *Journal of Food Science and Technology*, 36, 189-204.
- KING, L., (1996.): Whey protein concentrates as ingredients, *Food Tech. Europe*, 3, 88-89.

- MASSON, P. (1992.): Pressure denaturation of proteins, In: High pressure and biotechnology, Colloques INSERM, John Bibbey Eurotext Ltd: Montrouge, Vol. 224, 89-99.
- MESSENS, W., VAN CAMP, J., HUYGEBEART, A. (1997.): The use of high pressure to modify the functionality of food proteins, *Trends in Food Science & Technology*, 8, 107-112.
- MISHRA, S., MANN, B., JOSHY, V. K. (2001.): Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin, *Food Hydrocolloids*, 15, 9-15.
- MICHEL, M., LESER, M. E., CLERC, M. F. (2001.): Pressure effects on whey protein-pectin mixtures. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 3, 41-52.
- MORR, C. V., FOEGEDING, E. A. (1990.): Composition and Functionality of Commercial Whey and Milk Protein Concentrates and Isolates: A Status Report' in *Food Tech.*, 44, 100-112.
- PEARCE, K. N., KINSELLA, J. E. (1978.): Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidometric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 716-723.
- POOLE, S., (1989.): The foam-enhancing properties of basic biopolymers, *International Journal of Food Science and Technology*, 24, 121-137.
- TIMASHEFF, S. N. (1993.): The control of protein stability and association by weak interactions with water, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 22, 67-97.
- TRATNIK, LJ. (1998.): Mlijeko – Tehnologija, biokemija i mikrobiologija, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 345-380.
- WEBB, M. F., MAAEM, H. A., SCHMIDT, K. A. (2002.): Food protein functionality in a liquid system: A comparison of deamidated whey protein with dairy and soy proteins, *Journal of Food Science*, 67, 2896-2902.
- ZHU, H., DAMODARAN, S. (1994.): Heat induced conformational changes in ewhey protein isolate and its relation to foaming properties, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 846-855.

Adrese autora – Author's addresses:

Dr. sc. Zoran Herceg, doc.

Dr. sc. Vesna Lelas, red. prof.

Anet Režek, dipl. ing.

Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Dr. sc. Greta Krešić

Hotelijerski fakultet, Opatija

Prispjelo – Received: 04. 05. 2005.

Prihvaćeno – Accepted: 08. 07. 2005.