

Funkcionalna svojstva α -laktalbumina i β -laktoglobulina

Zoran Herceg, Vesna Lelas, Anet Režek

Izvorni znanstveni rad – Original scientific paper

UDK: 234.344

Sažetak

Proteini sirutke, zbog visoke nutritivne vrijednosti te pozitivnih funkcionalnih svojstava, često se upotrebljavaju u prehrambenoj industriji. Najvažnija funkcionalna svojstva proteina sirutke su topljivost, viskoznost, sposobnost vezanja vode, sposobnost stvaranja pjene i emulgirajuća svojstva.

Svrha ovoga rada bila je odrediti funkcionalna svojstva najzastupljenijih proteinских frakcija sirutke (β -laktoglobulina i α -laktalbumina) koji u konačnici, u najvećoj mjeri, utječe na funkcionalna svojstva istih.

Raspodjele veličine čestica i specifična površina α -laktalbumina i β -laktoglobulina određena je «Mie-ovom teorijom» tzv. light scatteringa upotrebom instrumenta «Malvern Mastersizer X», pri čemu je uočeno da β -laktoglobulin ima veću specifičnu površinu kao i veličinu čestica.

Ispitivanjem funkcionalnih svojstava (topljivost, disperzibilnost, emulgirajuća svojstva – indeks aktiviteta emulzije i indeks stabilnosti emulzije te svojstva pjenjenja) α -laktalbumina i β -laktoglobulina, utvrđeno je da β -laktoglobulin ima veću topljivost, disperzibilnost te stvara stabilnije emulzije kao i da posjeduje bolja svojstva pjenjenja od α -laktalbumina.

Reološka svojstva proteinских suspenzija određena su pomoću rotacionog reometra, Brookfield DV-III, na temperaturi od 25 °C. Reološki parametri, indeks tečenja (n) i koeficijent konzistencije (k) određeni su pomoću modela potencijalne funkcije. Rezultati ispitivanja pokazuju da 10%-tne suspenzije α -laktalbumina i β -laktoglobulina imaju nenewtonske značajke te da pokazuju pseudoplastična svojstva.

Ključne riječi: α -laktalbumin, β -laktoglobulin, funkcionalna svojstva.

Uvod

Proteini sirutke zbog svoje nutritivne vrijednosti i jedinstvenih funkcionalnih svojstava (topljivost, stabiliziranje emulzija, geliranje, uguščivanje, stvaranje pjene, sposobnost vezanja vode i sl.) često se koriste u prehrambenoj industriji (Ker i Toledo, 1992.; King, 1996.; Corradini, 1998.). Proteini sirutke su po svojoj gradi polipeptidi visoke molekulske mase.

Primarna struktura proteina je slijed aminokiselina i prostetičkih skupina. Pod sekundarnom i tercijarnom strukturom proteina podrazumijevamo trodimenzionalnu usmjerenu makromolekulu. Sekundarna struktura opisuje odnose susjednih skupina, a tercijarna nabiranje proteina. Kvarterna struktura je raspored mnogolaničnih proteinskih kompleksa (interpretirana kao stanje agregacije) te je ujedno i najvažnije svojstvo proteina u smislu njihove funkcionalnosti (Feogeding i sur. 2002.). Utvrđeno je da polipeptidni lanci proteina mogu biti vezani na specifične načine, ovisno o sekvencama aminokiselina različitih proteina. Na taj način proteini mogu tvoriti strukture kao što su α -uzvojnica i β -nabrana ploča koje nastaju stabilizacijom posebnih konformacija lanca uz povezivanje amino grupe polipeptidnog lanca vodikovim vezama (Tratnik, 1998.).

Osnovne proteinske frakcije koje čine proteine sirutke su: β -laktoglobulin (60%), α -laktalbumin (22%), govedi serum albumin (5,5%) i imunoglobulini (9,1%) (Evans i Gordon, 1980., Kinsella i Whitehead 1989., de Wit, 1981., de Wit i Klarenbeek, 1984.).

Dakle, najzastupljeniji protein u sirutki je β -laktoglobulin, a njegova funkcionalnost uglavnom odražava funkcionalnost sirutkinih proteina.

β -laktoglobulin pripada lipokalinskoj grupi proteina, koji je zamotan tako da je 8 antiparalelnih β -nabranih ploča formirano oko centralne šupljine, kaliksa. Globularan amfifilan protein sposoban je za adsorbciju na granici voda-ulje. Smanjuje graničnu napetost i stabilizira formaciju filma na međupovršini (Damodaran, 1996.). β -laktoglobulin se razmata na granici faza i tvori intermolekularne asocijacije, bilo hidrofobnim interakcijama ili S-S mostovima. Sastoji se od dva lanca sa 162 aminokiselinska ostatka, molekularne mase 18300 g/mol, te je pI = 5,1 (Tanford i sur., 1959.; Qin i sur., 1998.).

α -laktalbumin je kiseli, monomerni protein te drugi po zastupljenosti u sirutki. Također, posjeduje emulgirajuća i stabilizirajuća svojstva (Leman, 1999.) i sudjeluje s β -laktoglobulinom u S-S povezivanju i formaciji filma na granici faza. Sastoji se od 123 aminokiseline molekularne mase 14200 g/mol, pa je pI između 4,2 i 4,5.

S obzirom da su funkcionalna svojstva proteina sirutke usko povezana njihovim fizikalnim, kemijskim i konformacijskim karakteristikama, te osnovnim proteinskim frakcijama koje ih čine (Damadoran, 1997.), svrha ovoga rada bila je odrediti funkcionalna svojstva najzastupljenijih proteinskih

frakcija sirutke (β -laktoglobulina i α -laktalbumina) koji u konačnici, u najvećoj mjeri, utječe na funkcionalna svojstva istih.

Materijal i metode rada

Ispitivanja su provedena frakcijama proteina sirutke: β -laktoglobulinom (BioPURE Betalactoglobulin) i α -laktalbuminom (BioPURE Alphalactalbumin). Njihov kemijski sastav deklarirao je proizvođač, Davisco Foods International, Inc. što se može vidjeti u tablici 1.

Tablica 1: Kemijski sastav β -laktoglobulina i α -laktalbumina

Table 1: Chemical composition of β -lactoglobulin and α -lactalbumin

Uzorak Sample	Proteini Proteins (%)	(% od ukupnih proteina) (as a % of total proteins)	Laktoza Lactose (%)	Masti Fat (%)	Voda Water (%)	Pepeo Ash (%)
α -laktalbumin α -lactalbumin	92,5	90,6	0,1	0,2	4,6	2,6
β -laktoglobulin β -lactoglobulin	93,1	95,0	0,1	0,2	4,3	2,3

10%-tne modelne otopine pripremljene su otapanjem 10,5 g β -laktoglobulina i 10,4 g α -laktalbumina u 89,5 mL odnosno 89,6 mL destilirane vode. Homogenizacija uzorka provedena je miješanjem u magnetskoj mješalici 30 minuta.

Određivanje pH-vrijednosti 10%-nih suspenzija provedeno je pomoću pH-metra (Model MA 5740, Iskra, Slovenia).

Mjerenje raspodjele veličine čestica α -laktalbumina i β -laktoglobulina u prahu provedeno je na instrumentu «Malvern Mastersizer X», pri čemu je upotrijebljena leća ranga 300 mm. Princip rada uređaja za određivanje raspodjele veličine čestica bazira se na odstupanju laserske zrake tijekom prolaza kroz vodenu suspenziju čestica ispitivanog materijala. Neposredno prije mjerenja ultrazvukom tretirana je suspenzija čestica ispitivanog materijala u svrhu razbijanja aglomerata čestica nastalih uslijed poprimanja vlage iz okoline. Raspodjela veličine čestica i njihova specifična površina izračunate su kompjuterskim programom prema «MIE-ovom modelu» (Bohren i Huffman, 1983.).

Metoda određivanja topljivosti proteina sirutke temelji se na određivanju suhe tvari rekonstituiranog uzorka i dehidratiranog uzorka. 12,5 g proteina

otopi se u 100 mL destilirane vode te se homogenizira snažnim miješanjem 30 minuta, a nakon toga se filtrira kroz filter papir Whatman No.1. Nakon filtriranja odredi se suha tvar sušenjem na 105 °C do konstantne mase profiltrirane otopine kao i suha tvar dehidratiranog uzorka.

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

gdje je:

a = suha tvar odmjereno uzorka u prahu (g)

b = suha tvar profiltrirane otopine (g u 100 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 kojemu je 26,0 g ispitivanog uzorka. U roku 25 sek odmakne se staklena ploča na kojoj je cilindar, pri čemu uzorak padne u vodu. Uzorak se zatim 25 sekundi intenzivno miješa. Nakon toga čaša miruje 30 sekundi a zatim se, bez diranja taloga, brzo 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 može odrediti pomoću izraza:

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

gdje je:

D = disperzibilnost (%)

C_s = ukupni udjel suhe tvari u % tekućeg dijela

C_w = udjel vode u % ispitivanog uzorka

(British Standard Methods, 1980.).

Svojstva pjjenjenja određuju se tako da se 100 mL 10%-tne suspenzije (w/v) miješa u mikseru maksimalnom brzinom ukupno 15 minuta. U intervalima od po 5 minuta uzima se po 100 mL pjene koja se potom izvaze. Nakon vaganja pjena se vraća u posudu miksera i miješanje se nastavlja sve dok se ne izvrše sva tri mjerena (nakon 5, 10 i 15 minuta).

Nakon 15 minuta izračuna se postotak povećanja volumena na sljedeći način: % povećanja volumena pjene = (masa 100 mL suspenzije proteina – masa 100 mL pjene) x 100/masa 100 mL pjene (Weeb i sur., 2002)

Stabilnost pjene određuje se tako da se 100 mL 10%-tne suspenzije miješa u mikseru 15 minuta maksimalnom brzinom. Zatim se u čašu stavi 100 ml pjene koja se izvrne u stakleni lijevak uronjen u menzuru od 100 mL Indeks stabilnosti pjene je vrijeme (min) kada padne 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 pomoću spektrofotometra a prikazana su kao indeks aktiviteta emulzije te indeks stabilnosti emulzije (Webb i sur., 2002.). Emulzija se pripremi tako da se 3%-tna suspenzija proteina pomiješa sa suncokretovim uljem (Zvijezda d.o.o.) u omjeru 2:1, te miješa mikserom (Philips, model HR 2304) maksimalnom brzinom 90 sekundi. Apsorbancija emulzije se izmjeri spektrofotometrom na 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):

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

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 odredi se tako da se pripremljena emulzija drži u hladnjaku na 4°C, 24 h i tada se ponovno mjeri apsorbancija na 500 nm, te računa mutnoća.

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)

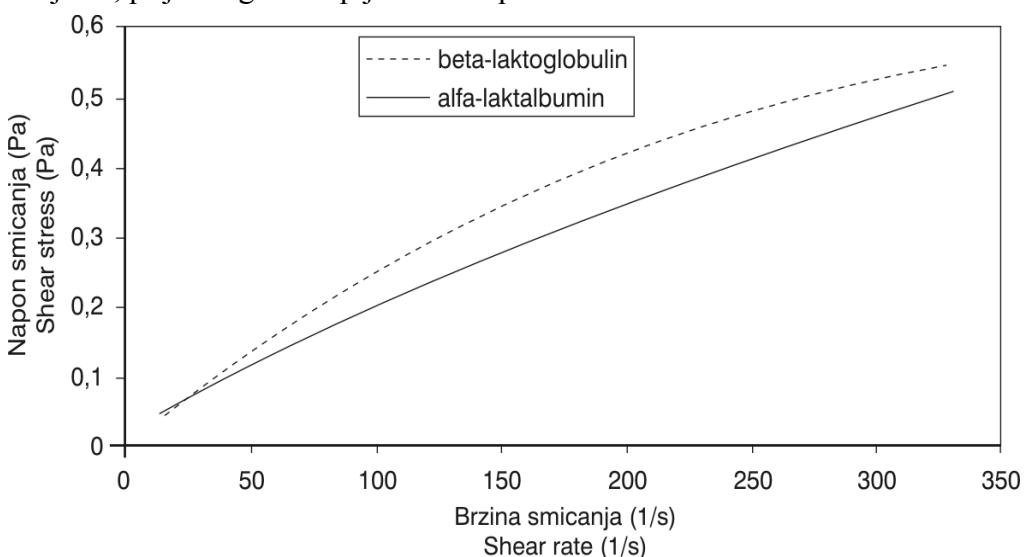
(Weeb i sur., 2002.)

Reološka svojstva 10%-nih modelnih sustava proteina određena su rotacionim reometrom Brookfield DV-III, na temperaturi od 25°C, neposredno nakon pripreme uzoraka. Viskoznost 10%-nih otopina proteina određena je tako da se brzina smicanja postepeno povećava od $3,9 \text{ s}^{-1}$ do maksimalne brzine od 317 s^{-1} , a potom smanjuje do 0 s^{-1} . Pravidna viskoznost izračunata je primjenom Newtonovog zakona na 200 s^{-1} . Na osnovi izmjerениh podataka (brzina i napon smicanja) izračunati su reološki parametri (koeficijent konzistencije i indeks tečenja) primjenom metode linearne regresije, pri čemu je upotrijebljen Ostwald de Waele-ov zakon.

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

Rezultati i rasprava

Neposredno prije određivanja osnovnih funkcionalnih svojstava proteina određena im je raspodjela veličine čestica u svrhu utvrđivanja razlike veličine čestica α -laktalbumina i β -laktoglobulina te postojanja eventualnih aglomerata koji bi u dalnjem ispitivanju značajno utjecali na njihova funkcionalna svojstva, prije svega na topljivost i disperzibilnost.



Slika 1: Raspodjela veličine čestica α -laktalbumina i β -laktoglobulina

Fig.1: Particle size distribution of α -lactalbumin and β -lactoglobulin

β -laktoglobulin ima neznatno veću specifičnu površinu kao i veličinu čestica (Tablica 2, Slika 1) što je bilo i očekivano jer su mnogi autori (Damodoran, 1997.; Qin i sur., 1998., Boye i sur., 1997., utvrdili da je molekula β -laktoglobulina neznatno veća od α -laktalbumina. Provedenim ispitivanjem se pokazalo da je 90 % čestica α -laktalbumina bilo manje od 156,10 μm dok je je 90 % čestica β -laktoglobulina bilo manje od 203,03 μm .

Topljivost i disperzibilnost proteina sirutke jedna je od najvažnijih osobina proteinskih sustava koja također utječe i na druga funkcionalna svojstva: sposobnost stvaranja pjene, emulgirajuća svojstva, povećanje viskoznosti itd. Na topljivost α -laktalbumina i β -laktoglobulina u velikoj mjeri utječe pH i temperatura te veličina čestica. Iz tablice 3 vidi se da β -laktoglobulin ima veću topljivost i disperzibilnost (81,27 odnosno 32,99%)

Tablica 2: Raspodjela veličine čestica i specifična površina β -laktoglobulina i α -laktalbumina u prahu

Table 2: Particle size analysis and specific area of powdered β -lactoglobulin and α -lactalbumin

Uzorak Sample	Specifična površina Specific area (m^2/g)	Veličina čestica Particle size (μm)		
		10% ispod* 10% under*	50% ispod** 50% under**	90% ispod*** 90% under***
α -laktalbumin α -lactalbumin	0,0942	85,77	116,21	156,10
β -laktoglobulin β -latoglobulin	0,0989	52,14	122,34	203,03

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

* using MIE theories it is 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 theories it is 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 theories it is established that 90% of particles have smaller diameter than quoted

u odnosu na α -laktalbumin (76,82 odnosno 13,4%). Tijekom određivanja topljivosti i disperzibilnosti isključen je utjecaj temperature (sva mjerena provedena su na 25°C) i pH (7,0 – 10% otopina α -laktalbumina odnosno 7,5 – 10% otopina β -laktoglobulina, što je daleko od njihove izoelektrične točke (pI = 4-5) (King, 1996.). Razlika u topljivosti se može objasniti većom površinom molekule β -laktoglobulina u odnosu na molekulu α -laktalbumina te njenom otvorenijom strukturom koja omogućuje bolje međudjelovanje s vodom (Garrett i Grisham, 1995.).

Tablica 3: pH-vrijednost, topljivost, disperzibilnost, mutnoća, indeks aktiviteta emulzije (EAI) i indeks stabilnosti emulzije (ESI) β -laktoglobulina i α -laktalbumina

Table 3: pH, solubility, dispersibility, turbidity, emulsion activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) of β -lactoglobulin and α -lactalbumin

Uzorak Sample	pH (10% modelne otopine) (10% model solution)	Topljivost Solubility (%)	Disperzibilnost Dispersibility (%)	Mutnoća Turbidity	EAI (m ² /g)	ESI (h)
α -laktalbumin α -lactalbumin	7,0	76,82	13,4	407,63	135,87	63,9
β -laktoglobulin β -lactoglobulin	7,5	81,27	32,9	445,86	148,62	71,6

β -laktoglobulin bolje formira emulzije nego drugi proteini sirutke, dok za α -laktalbumin nije u potpunosti razjašnjena funkcija u stvaranju emulzija (Webb i sur., 2002.). Prethodna istraživanja pokazala su da α -laktalbumin može pozitivno djelovati na stabilizaciju emulzija (Leman, 1999.), međutim neka istraživanja pokazuju da α -laktalbumin može inhibirati formiranje emulzije (Dickinson i Stainsby, 1982.). Iz tablice 3 vidi se da β -laktoglobulin u znatno većoj mjeri utječe na formiranje emulzija (indeks aktiviteta emulzije je 148,62) nego α -laktalbumin čiji je indeks aktiviteta emulzije 135,87 (m²/g). Do značajne razlike u sposobnosti formiranja emulzija između α -laktalbumina i β -laktoglobulina dolazi zbog samog mehanizma tvorbe emulzija pri čemu se na površini masne kapljice tvori adsorbirani sloj proteina. Pojedinačne kapljice unutar emulzije (granica ulje-voda) okružene su adsorbiranim slojem proteina sličnog gelu. Njegova jačina je kritična u sprječavanju spajanja kapljica koje dovodi do eventualnog kolapsa strukture emulzije (Poole, 1989.). Rezultat adsorbiranih komponenti je redukcija

površinske napetosti između dva sloja tekućine (Dickinson i Stainsby, 1982.). Također β -laktoglobulin ima veću topljivost i sposobnost boljeg otvaranja proteinskih lanaca te stabilizira formaciju filma na međupovršini negoli α -laktalbumin što omogućuje bolje usmjeravanje hidrofilnog odnosno hidrofobnog dijela molekule unutar emulzije na granici ulje-voda (Damodoran, 1996).

Adsorbirani sloj na površini kapljice ulja (sličan gelu) proizlazi iz međusobnih interakcija između proteinskih molekula te između proteinskih molekula i kapljica ulja pri čemu hidrofobne interakcije imaju značajnu ulogu u njihovu nastajanju. Sile koje upravljaju navedenim interakcijama pri stvaranju tzv. gela iste su kao i kod stvaranja kvarterne strukture proteina - vodikove veze, ionske interakcije (privlačne i odbojne), van der Waals – ove interakcije i hidrofobne interakcije (kada se hidrofobni lanci grupiraju i isključuju molekule vode iz okoline uljne kapljice) (Blijdenstein i sur., 2004.).

β -laktoglobulin tvori emulzije veće stabilnosti od α -laktalbumina (tablica 3) budući da posjeduje sposobnost razmatanja peptidnog lanca na granici faza, te tvori intermolekularne asocijacije bilo putem hidrofobnih interakcija ili S-S mostova a posjeduje i tzv. "hidrofobni džep" unutar kojeg se može vezati hidrofobni ligand (Qin i sur., 1998.; Damodoran, 1997.).

Formiranje pjene iz 10%-tne suspenzije proteina zavisi o sposobnosti proteinskih lanaca da se otvore i usmjere na međupovršine tekućina-zrak.

Tablica 4: Svojstva pjenjenja 10%-nih suspenzija β -laktoglobulina i α -laktalbumina

Table 4: Foaming properties of 10% solutions β -lactoglobulin and α -lactalbumin

Uzorak Sample	Povećanje volumena pjene (%) Vrijeme miješanja u mikseru Foam expansion (%) Time of whipping (min)			Stabilnost pjene (min) Foam stability (min)	
	5	10	15	Indeks stabilnosti pjene Foam stability index	Maximum stabilnosti pjene Maximum of foam stability
α -laktalbumin	515,1	600,1	682,6	1,13	56
β -laktoglobulin	629,9	684,3	752,2	2,45	111

Za formiranje stabilne pjene neophodna je brza difuzija proteina na međupovršinu radi smanjenja površinske napetosti. Pri tome dolazi do djelomičnog otvaranja proteinske molekule što rezultira inkapsuliranjem mjehurića zraka i asocijacijom proteinskih molekula čime se stvara intramolekulski kohezivni film određenog stupnja elastičnosti (Adebawale i Lawal, 2003.).

β -lakto-globulin ima veću topljivost i molekularnu fleksibilnost (kao rezultat orijentacije aminokiselinskih ostataka) negoli α -laktalbumin. Posljedica je značajno veći indeks stabilnosti pjene od α -laktalbumina (tablica 4) zbog međudjelovanja između proteinskih lanaca, bolje raširenosti na međufazi tekućina-zrak te formiranju debljeg i viskoznijeg filma (Mishra i sur., 2001.; Clarkson i sur., 1999.).

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 determinacije za navedene suspenzije bio izrazito visok (0,99) (Tablica 5).

Određivanje reoloških svojstva pokazalo je da suspenzije α -laktalbumina i β -laktoglobulina imaju nenewtonski karakter, odnosno da ih karakterizira pseudoplastičan tip tečenja ($n < 1$, Tablica 5).

Tablica 5: Reološki parametri modelnih α -laktalbumina i β -laktoglobulina

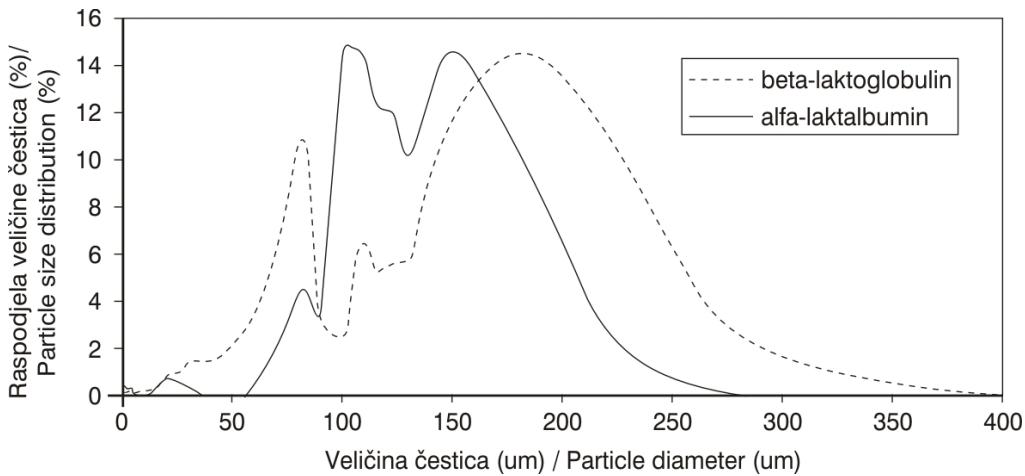
Table 5: Rheological parameters of model systems α -lactalbumin and β -lactoglobulin

Uzorak Sample	Prividna viskoznost* Apparent viscosity* (mPa s)	Koeficijent konzistencije Consistency coefficient (mPa s ⁿ)	Indeks tečenja Flow behaviour index	Koeficijent regresije Regression coefficient
α -laktalbumin α -lactalbumin	1,62	6,66	0,762	0,992
β -laktoglobulin β -lactoglobulin	1,86	7,10	0,732	0,995

* Prividna viskoznost kod 200 s⁻¹

* Apparent viscosity at 200 s⁻¹

Također je uočeno da suspenzije β -laktoglobulina imaju veći koeficijent konzistencije, odnosno prividnu viskoznost, od suspenzija α -laktalbumina (Slika 2) što je povezano s većom sposobnošću β -laktoglobulina za međudjelovanje protein-protein što dovodi do agregacije, odnosno povećanja viskoznosti (Timasheff, 1993., Herceg i Lelas, 2004.).



Slika 2: Odnos napona smicanja i brzine smicanja modelnih otopina α -laktalbumina i β -laktoglobulina

Fig. 2: Shear stress and shear rate relationship of model solutions
 α -lactalbumin and β -lactoglobulin

Zaključci

Osnovne frakcije sirutkinih proteina α -laktalbumin i β -laktoglobulin posjeduju različita funkcionalna svojstva (topljivost, disperzibilnost, emulgirajuća svojstvima, sposobnost stvaranja pjene te reološka svojstva).

β -laktoglobulin ima veću specifičnu površinu kao i veličinu čestica u odnosu na α -laktalbumin.

β -laktoglobulin ima također veću topljivost, disperzibilnost i molekularnu fleksibilnost od α -laktalbumina što rezultira značajno većom sposobnošću stvaranja pjene te boljom stabilnosti iste.

β -laktoglobulin tvori emulzije veće stabilnosti od α -laktalbumina budući da posjeduje sposobnost razmatanja peptidnog lanca na granici faza, te tvorbe adsorbiranog sloja proteina na površini masne kapljice.

Suspenzija β -laktoglobulina ima veći koeficijent konzistencije odnosno prividnu viskoznost od suspenzija α -laktalbumina.

Određivanje reoloških svojstava pokazalo je da suspenzije α -laktalbumina i β -laktoglobulina pokazuju nenewtonski – pseudoplastičan tip tečenja.

FUNCTIONAL PROPERTIES OF α -LACTALBUMIN AND β -LACTOGLOBULIN

Abstract

Whey proteins are commonly used in the food industry due to their nutritive value and functional properties. The most important functional properties of whey proteins are solubility, viscosity, water holding capacity, emulsification and foaming.

The aim of this study was to determine functional properties of main whey protein fractions (α -lactalbumin and β -lactoglobulin) which have the biggest influence on the functional properties of whey proteins.

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

By examining functional properties (solubility, dispersibility, emulsifying properties – emulsion activity index (EAI) and emulsion stability index (ESI) and foaming properties) of α -lactalbumin and β -lactoglobulin, it has been established that β -lactoglobulin has higher solubility, dispersibility, emulsifying properties as well as foaming properties than α -lactalbumin.

Rheological properties of protein suspensions were determined by rotational viscosimeter, Brookfiel DV-III at temperature 25 °C. Rheological parameters, flow behavior indeks (n) and consistency coefficient (k) were determined by the power-law model. The results of investigation have shown that 10% suspenzion of α -lactalbumin and β -lactoglobulin are non-Newtonian fluids and they exhibited pseudoplastic properties.

Key words: α -lactalbumin, β -lactoglobulin, 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 Hidrocoloids*, 18, 24-31.

- BOHREN, C.F., HUFFMAN D.R. (1983.): *Absorption and scattering of light by small particles*, New York: Wiley, pp 89-91. .
- BOYE, J.I., ALLI I., RAMASWAMY H., REGHVAN V.G. S. (1997.): Interactive effects of factor affecting gelation of whey proteins. *Journal of Food Science* **62** 57-65.
- 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.
- CORRADINI, C. (1998.): Functional properties of whey proteins in foods., *Scienzia e Technca 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.
- DAMODORAN, S. (1996.): Amino acids, peptide and proteins, Marcel Dekker.Inc., New York, 15-21.
- DE WIT, J.N. (1998.): Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products, *Journal of Dairy Science*, **81**, 597-608.
- DE WIT, J.N. (1981.) Structure and Functional Behaviour of Whey Proteins in Neth. Milk, *Dairy J.*, **35**, 47-64
- DE WIT, J.N., KLARENBEEK G. (1984.): Effects of Various Heat Treatments on Structure Functional Properties' in Adv. Food Nutr. Res. **33**, 343-438
- DEMETRIADES, K., COUPLAND J.N., MCCLEMENTS D.J. (1997.) Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl. *Journal of Food Science*, **62**, 342-347.
- DICKINSON, E., STAINSBY G., (1982.): *Colloids in food*, London: Applied Science, 95-113.
- EVANS, M.T.R., GORDON J.F. (1980.): *Whey proteins*. In Grant, R.A. Applied protein chemistry, London: Applied Science Publisher Ltd., 145-211.
- 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.
- GARRET, R.H., GRISHAM C.M. (1995.): Biochemistry, Saunders college publishing, New York, 5-76.
- HERCEG, Z., LELAS V. (2004.): 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*, *in press*.

- KER, Y.C., TOLEDO, R.T. (1992.): Influence of shear treatments on consistency and gelling properties of whey protein isolate suspension, *J. Food Sci.*, 57, 82.
- KING, L., (1996.): Whey protein concentrates as ingredients, *Food Tech. Europe*, 3, 88-89.
- KINSELLA, J.E. & WHITEHEAD, D.M. (1989.): Proteins in Whey: Chemical, Physical, and Solubility of Whey Proteins, *J. Dairy Sci.*, 67, 2701-2710.
- LEMAN, J., (1999.): Emulsification properties of alpha-lactalbumin, *Natural Sciences*, 3, 35-43.
- MISHRA, S., MANN B., JOSHY V.K. (2001.): Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin, *Food Hidrocolloids*, 15, 9-15.
- 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.
- POOLE, S., (1989.): The foam-enhancing properties of basic biopolymers, *International Journal of Food Science and Technology*, 24, 121-137.
- QIN, B.Y., BEWLEY, M.C., CREAMER, L.K., BAKER, H.M., BAKER, E.N., JAMESON, G.B. (1998.): Structural basis of the Tanford transition of bovine β -lactoglobulin. *Biochemistry*, 37,14014-14023.
- TANFORD, C., BUNVILLE, L.G., NOZAKI, Y., (1959.): The reversible transformation of β -lactoglobulin at pH 7.5, *J. Am. Chem. Soc.*, 81, 4032-4036.
- 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.): Milk-technology, biochemistry and microbiology, Croatian milk society, Zagreb, 345-380.
- WEBB, M.F., MAAEM, H.A., SCHMIDT, K.A. (2002.): Food protein functionality in a liquid system: A comparison of deamidates whey protein with dairy and soy proteins, *Journal of Food Science*, 67, 2896-2902.

Adrese autora – Author's addresses:

Dr. sc. Zoran Herceg, doc.

Dr. sc. Vesna Lelas, red. prof.

Anet Režek, dipl. ing.

Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Pierottijeva 6, 10000 Zagreb

Prispjelo – Received: 20. 06. 2004.

Prihvaćeno – Accepted: 17. 09. 2004.