

## Molekularna osnova funkcionalnosti proteina sirutke

Zoran Herceg, Anet Režek, Suzana Rimac Brnčić

Stručni rad - Professional paper

UDK: 637.344

### **Sažetak**

*Proteini sirutke čine 18 - 20 % ukupnih proteina mlijeka. Njihova nutritivna vrijednost, uz raznolika fizikalno-kemijska i funkcionalna svojstva, čine proteine sirutke široko primjenjivima u prehrambenoj industriji. Povećani zahtjevi potrošača za ukusnijim, zdravijim, prikladnijim i prirodnijim prehrambenim proizvodima omogućili su mliječnoj industriji priliku za razvijanje i opskrbu prehrambenih proizvoda dodacima sirutkinih proteina kako bi im se povećala funkcionalna i nutritivna svojstva. Razvoj tih dodataka uvelike je ovisio i o prepoznavanju važnosti razumijevanja molekularne osnove funkcionalnosti proteina od strane prehrambenih znanstvenika. Stoga je cilj ovog rada bio na jednom mjestu izložiti osnove funkcionalnosti sirutkinih proteina kao važnog dodatka prehrambenim proizvodima.*

*Ključne riječi: proteini sirutke, molekularna osnova funkcionalnosti proteina*

### **Uvod**

Sirutka je sporedni proizvod pri proizvodnji sira ili kazeina. U sirutku obično prelazi oko 50 % suhe tvari mlijeka u kojoj je najzastupljenija laktoza, nakon koje slijede proteini, mineralne tvari i mliječna mast. U sirutku prelaze svi ugljikohidrati mlijeka preostali nakon proizvodnje sira, od kojih je 90 % laktoze te nešto glukoze i galaktoze, oligosaharida te aminošćera.

Proteini sirutke čine približno 18 - 20 % ukupnih proteina mlijeka. Prema strukturi, proteini sirutke su tipični, kompaktni globularni proteini sa relativno podjednakom raspodjelom niza nepolarnih (hidrofobnih), polarnih, neutralnih te nenabijenih ili nabijenih ostataka aminokiselina (kisele ili bazne). Intramolekularno nabrana struktura ovih proteina je rezultat disulfidnih veza (S-S) između ostataka cisteina, koje su unutar molekule uglavnom prekrivene hidrofobnim ostacima (Tratnik, 1998.).

Razvoj primjene proteina sirutke, kao dodatka prehranbenim proizvodima, uvelike je ovisio o prepoznavanju važnosti razumijevanja molekularne osnove funkcionalnosti proteina od strane prehranbenih znanstvenika, ali i o napretku na polju membranskih procesa, uslijed čega je prehranbena industrija postala sposobna pretvoriti sirutkine proteine u koristan dodatak prehranbenim proizvodima (King, 1996.).

Povećani zahtjevi potrošača za ukusnijim, zdravijim, prikladnijim i prirodnijim prehranbenim proizvodima omogućili su mliječnoj industriji jedinstvenu priliku za razvijanje i opskrbu prehranbenih proizvoda dodacima sirutkinih proteina kako bi im se poboljšala funkcionalna svojstva te povećala nutritivna vrijednost.

Razvoj tih dodataka uvelike je ovisio o prepoznavanju važnosti razumijevanja molekularne osnove funkcionalnosti proteina od strane prehranbenih znanstvenika (Kinsela, 1982.). Kroz ovaj rad pokušat će se objasniti važnost spoznaje da se gotovo sva pozitivna funkcionalna svojstva proteina sirutke zasnivaju na sposobnosti odmotavanja i akumuliranja molekula proteina u vodenoj otopini. Navedena sposobnost određena je jedinstvenom strukturom i interakcijama molekula proteina u vodenoj otopini (Kilara i Harwalker, 1996.). Da bismo mogli shvatiti molekularnu osnovu funkcionalnosti proteina, koja je iznimno važna za razvoj i primjenu proteinskih dodataka, neophodno je poznavati najvažnije tipove molekularnih interakcija koje uređuju konformaciju i akumulaciju proteina u prehranbenim proizvodima. Stoga je u ovom radu dan detaljan pregled molekularnih interakcija, kako u samim proteinima, tako i njihovim vodenim otopinama.

### ***Proteini sirutke***

Proteine sirutke najvećim dijelom čine  $\beta$ -laktoglobulin i  $\alpha$ -laktalbumin, koji su genski proizvodi mliječne žlijezde. Tada slijede proteoze - peptoni (koji djelomično potječu i od hidrolize  $\beta$ -kazeina) te imunoglobulini i albumin krvnog seruma, kao i manji udjeli poput laktoperoksidaze, lizozima, glikoproteina, krvnog transferina i laktorferina (Damodaran, 1996.) (tablica 1). Neki genski oblici  $\beta$ -laktoglobulina (kao D), imunoglobulini i brojni drugi u tragovima sadrže u sebi i ugljikohidratne komponente (glikoproteini). Proteini sirutke su izrazito hidrofilni pa su, za razliku od kazeina, stabilni na utjecaj kiseline ili enzima te zaostaju u otopini - sirutki nakon koagulacije kazeina i odvajanja sirnog gruš. Međutim, proteini sirutke su veoma termolabilni (izuzev proteoze - peptona) u odnosu na termostabilni kazein te koaguliraju pod utjecajem topline. Denaturacija ovih proteina započinje već

pri temperaturi iznad 60 °C. Međutim, koagulacija većine sirutkinih proteina očekuje se pri zagrijavanju sirutke na temperaturu od 90 - 95 °C / 10 - 20 minuta.

Tablica 1: Sastojci suhe tvari (Hramcov, 1979.) i sadržaj proteina u sirutki (Bird, 1996.)

Table 1: Dry matter composition (Hramcov, 1979) and proteins content in whey (Bird, 1996)

Sastojci suhe tvari Component of dry matter	(g/100 mL)	% od ukupne suhe tvari % of total dry matter	Proteini sirutke Whey protein	% od ukupnih proteina % of total proteins
Laktoza Lactose	4,66	71,7	β-laktoglobulin β-lactoglobulin	50,0
Proteini sirutke Whey protein	0,91	14,0	α-laktalbumin α-lactalbumin	22,0
Mineralne tvari Mineral matter	0,50	7,7	Imunoglobulini Immunoglobulins	12,0
Mliječna mast Milk fat	0,37	5,7	Proteaze - peptoni Protease - peptons	10,0
Ostalo Other	0,06	0,9	Alb. krvnog seruma Bovine serum albumin	5,0
UKUPNO TOTAL	6,50	100,0	Ostalo Other	1,0

Kako je već prethodno navedeno, osnovni sastojci proteina sirutke su β-laktoglobulin, α-laktalbumin, goveđi serum albumin i imunoglobulini (de Wit, 1981.). Podaci o izoelektričnim točkama, molekularnoj masi i temperaturi denaturacije ovih proteina dani su u tablici 2.

Potrebno je naglasiti da proteini sirutke, koji se koriste kao dodaci u prehrambenoj industriji, sadrže i mnoge neproteinske komponente kao što su vlaga, lipidi, laktoza i minerali. Međutim, iako su dobiveni proteini sirutke glede nutritivnih osobina visoko vrijedni, uglavnom se koriste radi svojih funkcionalnih svojstava. Na funkcionalna svojstva utječu brojni faktori od kojih su najvažniji: izvor sirutke te proteinski, mineralni i lipidni sastav proteina sirutke, molekularna struktura proteina i interakcija sa drugim komponentama hrane te pH sustav u kojem se proteini sirutke nalaze

Tablica 2: Fizikalna svojstva glavnih komponenti proteina sirutke  
(de Wit, 1981.)

Table 2: Physical characteristics of the major whey proteins (de Wit, 1981)

Protein Protein	pI	Molarna masa Molar weight (Da)	%	Temp. denaturacije Temp. denaturation (°C)
β-laktoglobulin β-lactoglobulin	5,2	18400	60	78
α-laktalbumin α-lactalbumin	4,8-5,1	14200	22	62
Alb. krvnog seruma Bovine serum albumin	4,8-5,1	66000	5,5	64
Imunoglobulini Immunoglobulins	5,5-6,8	15 - 96 X 10 <sup>4</sup>	9,1	72

pI - pH izoelektrične točke proteina

(Herceg i sur., 2004.; Herceg i sur., 2005.). Naravno da funkcionalne karakteristike dodataka proteina sirutke ne ovise samo o njihovom sastavu, nego i o stupnju denaturacije. Proteini mogu biti denaturirani do neke mjere različitim koracima u njihovoj proizvodnji (Morr i Foegeding, 1990.), i to obično ima štetan učinak na njihove funkcionalne karakteristike. Kao rezultat navedenog, dva različita proteinska dodatka s potpuno istim sastavom mogu pokazati različite funkcionalne karakteristike zbog razlika u stupnju njihove denaturacije. Kao što je navedeno, proteini sirutke najčešće se koriste u prehrambenoj industriji zbog svojih funkcionalnih svojstava (topljivost, viskoznost, vezanje vode, emulgiranje, pjenjenje te želiranje), no u ovom članku primarno je razmatrana upotreba proteina sirutke kao sredstva za ugušćivanje ili geliranje prehrambenih proizvoda. Ova primjena proteina sirutke bazira se na odmotavanju i akumuliranju molekula proteina u vodenoj otopini.

Mnoge studije o funkcionalnosti proteina sirutke pokazale su da i male promjene u tehnikama proizvodnje sirutkinih proteina mogu imati znatan utjecaj na njihovu funkcionalnost.

### ***Molekularna osnova funkcionalnosti proteina***

Funkcionalne karakteristike dodataka proteina određene su jedinstvenom strukturom i interakcijama molekule proteina. Razumijevanje molekularne osnove funkcionalnosti proteina osnovno je za razvoj i primjenu novih proteinskih dodataka.

Stoga su u ovom radu naglašeni neki od najvažnijih tipova molekularnih interakcija koje uređuju konformaciju proteina u prehrambenim proizvodima (tablica 3).

*Tablica 3: Osnovne karakteristike molekularnih interakcija između proteinskih molekula u vodenoj otopini (Israelachvili, 1992.)*

*Table 3: General characteristics of molecular interactions between two similar protein molecules in aqueous solutions (Israelachvili, 1992)*

Vrsta Type	Veza Bond	Snaga Strength	Duljina Range	pH	Ionska jakost Ionic strength	Temperatura Temperature
Hidrofobne Hydrophobic	Privlačne Attractive	Jake Strong	Duga Long	Ne utječe No influence	Ne No	Povećava Increases
Elektrostatske Electrostatic	Odbojne Repulsive	Slabe do jake <sup>a</sup> Weak to strong <sup>a</sup>	Kratke do duge <sup>a</sup> Short to long <sup>a</sup>	Utječe Yes	Smanjuje Decreases	Povećava Increases
Vodikove veze Hydrogen bonds	Privlačne Attractive	Slabe Weak	Kratke Short	Ne utječe <sup>b</sup> No influence <sup>b</sup>	Ne No	Smanjuje Decreases
Hidratacijske Hydration	Odbojne Repulsive	Jake Strong	Kratke Short	Ne utječe No influence	Ne No	Smanjuje Decreases
Van der Waals	Privlačne Attractive	Slabe Weak	Kratke Short	Ne utječe No influence	Ne No	-
Steričke Steric	Odbojne Repulsive	Jake Strong	Kratke Short	Ne utječe No influence	Ne No	-
Disulfidne veze Disulfide bonds	Privlačne Attractive	Vrlo jake Very strong	Vrlo čvrste Very strong	Ne utječe No influence	Da Yes	No

a - ovisi o pH i ionskoj jakosti (depends on pH and ionic strength)

b - indirektno ovisi o pH i ionskoj jakosti zato jer ovi faktori utječu na stupanj hidratacije proteina (indirectly depends on pH and ionic strength because these factors influence the degree of protein hydration)

### **Steričke i van der Waalsove interakcije**

Steričke reakcije nastaju zbog izrazito snažne odbojne interakcije između atoma ili molekula na bliskoj udaljenosti zbog preklapanja njihovih elektronskih oblaka (Israelachvili, 1992.). Navedeno steričko odbijanje preklapanjem definira veličinu i oblik atoma i molekula i utvrđuje koliko se blizu smiju gomilati nakupine molekula proteina. Interakcije steričkog preklapanja imaju iznimno važnu ulogu u utvrđivanju moguće konformacije proteina u otopini, zbog toga što molekula ne može poprimiti nikakav prostorni raspored u kojem dva ili više segmenata zauzimaju isti prostor.

Na molekularnoj razini van der Waalsove interakcije upravljaju između svih vrsta molekula, pri čemu imaju sličan značaj kao i steričke reakcije (Israelachvili, 1992.). Stoga, one imaju samo manju ulogu u određivanju konformacije biopolimera u otopini jer postoji samo mala razlika u van der Waalsovima interakcijama u zamotanim ili odmotanim stanjima proteina. Međutim, ako je molekula biopolimera dovoljno velika da se ponaša kao koloidna čestica, tada mogu postojati iznimno značajna van der Waalsova privlačenja, koja pogoduju njegovim agregacijama sa drugim molekulama biopolimera (de Wit i Kessel, 1996.).

### **Hidrofobne interakcije**

Hidrofobne interakcije imaju manju ulogu u utvrđivanju konformacije i interakcije molekula proteina u otopini (Israelachvili, 1992.; Nakai i Li-Chan, 1988.). Očituju se kao snažne privlačne sile između nepolarnih grupa koje su odvojene vodom (Israelachvili, 1992.). Međutim, one nastaju zbog sposobnosti molekula vode da tvore relativno snažne vodikove veze sa drugim molekulama vode pa nepolarne molekule mogu tvoriti samo relativno slabe van der Waalsove veze sa svojim susjedima (Israelachvili, 1992.). Kada se nepolarne molekule uvede u vodu, one uzrokuju da se molekule vode u njoj izravnoj blizini preurede, što mijenja entropiju i entalpiju sistema. Te promjene su termodinamički nepoželjne, tako da sistem nastoji smanjiti područje kontakta između vode i nepolarnih grupa, što proizvodi privlačne sile između nepolarnih grupa (Evans i Wennerstrom, 1994.). Direktna mjerenja sile između makroskopskih nepolarnih površina pokazala su da su hidrofobne interakcije relativno jake i dugog raspona (0 do 10 nm), međutim još su uvijek nejasna takva mjerenja za pojedinačne molekule (Israelachvili, 1992.). Jedna od karakterističnih osobina hidrofobnih interakcija je njihova sklonost ka povećanju jakosti sa povišenjem temperature sve do 60 - 70 °C kod koje

počinju polagano gubiti jačinu što se više temperatura povisuje (Lumry i Rajeneder, 1970.).

### **Elektrostatske interakcije**

Elektrostatske interakcije djeluju između grupa (molekula) koje imaju trajan električni naboj, npr. dipola ili iona. One mogu biti privlačne ili odbojne u ovisnosti od relativne veličine koji nose (Koning i Visser, 1992.). Kada naboji imaju isti znak, interakcije su odbojne, ali kada imaju različite znakove one su privlačne (Israelachvili, 1992.). Proteini mogu biti uključeni u mnoštvo različitih tipova elektrostatskih interakcija u ovisnosti od prirode uključenih molekularnih vrsta, kao npr. ion - ion, ion - dipol ili dipol - dipol (u padajućem nizu jakosti). Znak, veličina i raspodjela naboja na molekuli proteina prije svega je upravljana pH vrijednošću okružujuće vodene otopine (Howell, 1992.). Iznad njihove izoelektrične točke (pI) proteini su negativno nabijeni, ispod nje su pozitivno nabijeni, a u njoj nemaju mrežu naboja, (iako i dalje imaju neke dijelove pozitivnog naboja i neke druge dijelove negativnog naboja) (Doi, 1993.).

Elektrostatske interakcije između nabijenih vrsta osobito su osjetljive na ionsku jakost medija u kojem se nalaze (vode). Veličina i raspon interakcija mogu se osjetno smanjiti prisutnošću elektrolita zbog elektrostatskog prikriivanja protu-iona (Evans i Wennerstrom, 1994.; Doi, 1993.). Elektrostatske interakcije između nabijenih vrsta u otopini prije svega su entropijskog podrijetla i zbog toga se njihova jačina povećava povišenjem temperature (Evans i Wennerstrom, 1994.).

Ionsko povezivanje je drugi tip molekularnih interakcija koji uključuje elektrostatske interakcije (Dickinson, 1992.). Pojavljuje se prilikom simultanog vezanja polivalentnog iona na površine dviju molekula koje imaju suprotni naboj od iona. Ti polivalentni ioni mogu biti vrste male molekulske mase, kao što su  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , ili  $\text{Al}^{3+}$ , ili biopolimeri velike molekulske mase, kao što su polisaharidi ili drugi proteini. Sposobnost polivalentnih iona u formiranju ionskih mostova je nametnuta njihovom sposobnošću reduciranja veličine elektrostatskih interakcija kroz elektrostatsko prikriivanje (Dickinson, 1992.).

Osjetljivost elektrostatskih interakcija na pH i ionsku jakost daje prehrambenim znanstvenicima jednostavnu i prikladnu metodu manipuliranja interakcijama između molekula proteina i, prema tome, prilagođavanje njihovih funkcionalnih svojstava potrebama koje se postavljaju u prehrambenoj industriji.

### **Vodikove veze**

Vodikove veze su stvorene između ionskog para elektrona na elektronegativnom atomu (npr. kisik), i vodikovog atoma na susjednoj grupi, npr.  $\text{O}-\text{H}^{\delta+}-\text{O}^{\delta-}$  (Baianu, 1990.). Najveći doprinos vodikovim vezama je elektrostatski (dipol - dipol), ali van der Waalsove sile i sterička odbijanja isto imaju značajan doprinos. Najčešće jačina veza varira između 10 i 40  $\text{kJmol}^{-1}$  i duljina od oko 0,18 nm. Stvarna jačina pojedine vodikove veze ovisi o elektronegativnosti i orijentaciji grupa donora i akceptora (Israelachvili, 1992.). Vodikove veze su jače od većine drugih dipol - dipol interakcija zbog toga što vodikovi atomi imaju snažnu tendenciju da postanu pozitivno nabijeni i imaju mali radijus. Vodikove veze su toliko jake da mogu uzrokovati značajne promjene u konformaciji uključenih molekula proteina. Jačina i karakter usmjerenja vodikovih veza su odgovorni za mnoga jedinstvena svojstva vode kao medija u kojem se najčešće nalaze otopljeni proteini sirutke (Fennema, 1996.).

Iako vodikove veze obično nisu glavna pokretačka sila u određivanju konformacije i agregacije globularnih proteina, ipak imaju značajnu ulogu u stabiliziranju jednom stvorene strukture (Kinsella i Whitehead, 1989.).

### **Hidratacijske interakcije**

Hidratacijske interakcije su odbojne interakcije kratkog raspona koje proizlaze kada se dvije hidratizirane molekule nalaze blizu jedna drugoj (Israelachvili, 1992.). One su rezultat energije potrebne za narušavanje vodikovih veza između molekule i molekula vode u njenoj neposrednoj okolini (Besseling, 1997.). Jačina ove vrste interakcije ovisi o stupnju hidratacije molekule: što je veća hidratacija, jače je odbijanje i dulji je raspon interakcija. Ova vrsta interakcije može imati važnu ulogu u sprječavanju agregiranja molekula proteina u otopini, osobito kod visokih koncentracija soli kada je vezanje iona na proteine najveće. Prehrambenim znanstvenicima je moguće regulirati interakcije hidratacije inkorporirajući visoko hidratirane ionske vrste koje se vežu na površinu molekula proteina (Israelachvili, 1992.).

### **Disulfidni mostovi**

Cistein je aminokiselina koja se nalazi u molekulama proteina sirutke. Posjeduje tiolnu grupu (-SH), koja je sposobna formirati disulfidne mostove



(-S-S-) s drugim tiolnim grupama reakcijom oksidacije (Kinsella, 1982.). Slobodne tiolne grupe mogu sudjelovati u tio-disulfidnim razmjenama s disulfidnim mostovima. Te reakcije obično se pojavljuju u alkalnim uvjetima. Proteini su sposobni stvarati intramolekularne i intermolekularne disulfidne mostove pod prikladnim uvjetima. Intramolekularni mostovi se stvaraju kada se par cisteinskih ostataka nađe u neposrednoj blizini zamatanjem proteinske molekule, dok se intermolekularni disulfidni mostovi stvaraju kada se cisteinski ostaci na različitim molekulama nađu u neposrednoj blizini (Howell, 1992.).

Potrebno je napomenuti kako se slobodne tiolne i disulfidne grupe u nativnim proteinima sirutke nalaze u unutrašnjosti zamotane molekule i da su, stoga, nedostupne za interakciju, čak i pod uvjetima koji bi normalno pogodovali tiol/disulfidnoj razmjeni. Zbog toga je često potrebno da se proteini razmotaju kako bi reaktivne sulfhidrilne grupe bile izložene vodenoj fazi prije nego što se bilo koje reakcije mogu dogoditi (Shimada i Cheftel, 1989.).

### **Konfiguracijska entropija**

Glavna sila koja se suprotstavlja zamatanju globularnih proteina je entropija povezana s većim brojem konfiguracijskih položaja koje nezamotan protein relativno može zauzeti u odnosu na zamotan protein (Alber, 1989.). Proteini imaju lokalne i ne-lokalne doprinose svojoj ukupnoj entropiji. Lokalna entropija ovisi o broju konformacija koje se mogu formirati povezivanjem aminokiselina duž polipeptida. Formiranje sekundarne strukture, kao što je  $\alpha$ -uzvojnica i  $\beta$ -nabrana ploča, primjer je smanjivanja lokalne entropije. Ne-lokalna entropija ovisi o mogućim konfiguracijama koje se mogu formirati kroz dužinu cijelog polipeptidnog lanca.

Efekti isključenog volumena igraju važnu ulogu u određivanju ne-lokalne entropije zbog činjenice da dva segmenta u lancu ne mogu istovremeno zauzimati isto mjesto (Alber, 1989.). Lanac koji zauzima veliki volumen u prostoru može zauzeti veliki broj mogućih konformacija, ali ako je volumen smanjen, broj mogućih konformacija se smanjuje, iako je hidrofobni učinak pritom jako sklon zamotanom stanju biopolimera (Hvidt i Westh, 1992.; McSwiney i sur., 1994.)

Važna posljedica doprinosa ne-lokalne entropije proteinskoj stabilnosti je efekt kovalentno umreženih proteinskih lanaca. Uvođenje kovalentnog umrežavanja (npr. disulfidne veze) uvelike ograničava broj konformacija koje nezamotan, tj. razmotan protein može zauzeti te tako smanjuje entropijsku

poticajuću silu, kojoj pogoduje razmatanje proteina. Stabilnost proteina se tako može modificirati uvođenjem ili uklanjanjem disulfidnih veza (mostova) (Kinsella, 1982.).

### **Razmatanje proteina**

Ugušćivanje otopina (povećanje viskoznosti) i stvaranje gelova, kao jedno od glavnih funkcionalnih svojstva proteina sirutke, ovise o njihovoj sposobnosti da tvore nakupine (agregate), a njihovo nastajanje posljedica je prethodno prikazanih molekularnih interakcija.

U nativnom stanju privlačne sile (uglavnom van der Waalsove i hidrofobne) između molekula proteina nisu dovoljno jake kako bi prevladale odbojne sile (uglavnom elektrostatske, hidratacijske i entropijske). Stoga, molekule teže postojati kao individualni subjekti ili kao mali agregati. Mnoge od reaktivnih aminokiselina (nepolarne ili ostaci cisteina) smještene su u unutrašnjosti globularnih proteina, tako da je obično potrebno potaknuti neki stupanj razmatanja proteina prije nego što agregacija počne (Kinsella i Whitehead, 1989.).

U vodenim otopinama proteini sirutke postoje u ravnoteži između dva stanja: nativnog i denaturiranog (Kilara i Harwalker, 1996.). Nativno je kompaktna, organizirana globularna konformacija, a denaturirano je više slučajno orijentirano, nesređeno stanje. Konformacija koju protein poprima pod određenim skupom uvjeta okoline (pH, ionska jakost, temperatura, sastav otapala) ovisi o osjetljivoj ravnoteži između sila (prikazanih međumolekulskih interakcija) kojima pogoduje zamotano stanje i sila kojima pogoduje razmotano stanje. Ove dvije skupine sila su velike i otprilike jednake u veličini, ali suprotne po znaku. Kao rezultat, razlika u slobodnoj energiji između zamotanog i razmotanog stanja prilično je mala, što objašnjava zašto male promjene u uvjetima okoline mogu uzrokovati konformacijske promjene proteina (Kilara i Harwalker, 1996.).

Najveći doprinos silama odgovornim za zadržavanje zamotanog stanja proteina sirutke u otopini je hidrofobni efekt, dok je glavna sila kojoj pogoduje razmotano stanje konfiguracijska entropija. Kod relativno niskih temperatura (< 65 °C) dominira hidrofobni učinak tako da je pogodnije globularno stanje, dok kod viših temperatura dominira konfiguracijska entropija tako da je pogodnije razmotano stanje (Hvidt i Westh, 1992.; McSwiney i sur., 1994.)

Kod uobičajenih temperatura, koje se koriste za pripremu dodataka proteina sirutke (< 100 °C), globularni proteini samo se djelomično razmotaju

u stanje «stvorene kugle», radije nego se potpuno razmotaju u oblik nasumičnog klupka (McSwiney i sur., 1994.; Qi i sur., 1997.). Stanjem stvorene kugle molekule proteina sirutke zadržavaju ustroj sekundarne strukture, veoma nalik nativnoj molekuli, iako razmotavanje vodika pogoduje formiranju hidrofobnih dijelova na površini molekule. Poznavanje molekularnih karakteristika nativnog i denaturiranog  $\beta$ -laktoglobulina osnovno je za razumijevanje prirode agregata koje tvori u otopini, budući da je to komponenta koja dominira u sastavu proteina sirutke (Kinsella, 1982.).

### **Zaključci**

Dostupnost različitih vrsta dodataka proteina sirutke, pojedinačno usklađenih za određenu primjenu, porasla je zbog sustavne primjene znanja o odnosu između molekularnih i funkcionalnih svojstava proteina. Znanstvenici iz mnoštva različitih područja doprinijeli su našem razumijevanju ovog područja, uključujući fizičare, kemičare, biologe i inženjere. Informacije o svojstvima proteina proizašle su iz napretka računalnih simulacija, razvoja teorije i eksperimentalnih tehnika. Razvoj dodataka proteina sirutke jasno označava potrebu za korištenjem osnovnih i multidisciplinarnih pristupa sa svrhom napretka u prehrambenoj industriji, a navedeni razvoj temelji se na prepoznavanju važnosti razumijevanja molekularne osnove funkcionalnosti proteina od strane prehrambenih znanstvenika.

## **MOLECULAR BASIS OF WHEY PROTEIN FUNCTIONALITY**

### **Summary**

*Whey proteins constitute 18-20% of total milk protein content. Their nutritive value, accompanied by diverse physico-chemical and functional properties, make whey proteins widely applicable in food industry. Highly risen demands of consumers for tastier, healthier, suitable and more natural food products have given dairy industry the opportunity for development and enrichment of food products with whey protein supplements in order to increase their functional and nutritive properties. Development of these supplements mainly depended on recognition of the importance in understanding molecular basis of whey protein functionality from food*

scientists. Thereby, the aim of this paper is to expose the basis of whey protein functionality at one place, as the important supplement for food products.

*Key words: whey protein, molecular basis of protein functionality*

### **Literatura**

ALBER, T. (1989): «Stabilization Energies of Protein Conformation» in Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation (G.D. Fasman, ed.), pp. 161-192, Plenum.

BESSELING, N.A.M. (1997): Theory of Hydration Forces Between Surfaces, *Langmuir* 13, 2113-2122.

BIRD, J. (1996): The application of membrane systems in the dairy industry, *J. Soc. Dairy Technol.* 49, 16-23.

DAMODARAN, S (1996): Amino acids, peptides and proteins. U *Food Chemistry*, pp. 321-430. Ed. Fennema O. R, Marcel Dekker, New York.

de WIT, J.N. (1981.): «Structure and Functional Behaviour of Whey Proteins» *Neth. Milk Dairy J.*, 48, 56-72.

de WIT, J.N. AND VAN KESSEL, T. (1996): Effects of Ionic Strength on the Solubility of Whey Protein Products: A Colloid Chemical Approach, *Food Hydrocolloids*, 10, 143-149.

DICKINSON, E. (1992): Introduction to Food Colloids, Oxford University Press, London.

DOI, E. (1993): «Gels and Gelling of Globular Proteins», *Trends Food Sci. Technol.*, 4, 1-5.

EVANS, D.F. AND WENNERSTROM, H. (1994): The Colloidal Domain: Where Physics, Chemistry, Biology, and Technology Meet, VCH Publishers, Inc.

FENNEMA, O.R. (1996): «Water and Ice» in Food Chemistry (O.R. Fennema, ed.), (3<sup>rd</sup> edn) pp. 17-94, Marcel Dekker, Inc, New York.

HERCEG, Z., LELAS, V., REŽEK, A. (2004): Funkcionalna svojstva  $\alpha$ -laktalbumina i  $\beta$ -laktoglobulina, *Mljekarstvo*, 54, 195-208.

HERCEG, Z., LELAS, V., KREŠIĆ, G., REŽEK, A. (2005): Funkcionalnost izolata i hidrolizata proteina sirutke, *Mljekarstvo*, 55, 171-184.

HOWELL, N.K. (1992.): «Protein - Protein Interactions» in Biochemistry Food Proteins (B.J.F. Hudson, ed.) pp. 35-74, Elsevier Applied Science, London.

HRAMCOW, A.G. (1979): Moločnaja Sivorotka, Piščevaja promišlenost, Moskva.

HVIDT, A. AND WESTH, P. (1992): «Stabilization and Destabilization of Protein Conformations» in Protein Interactions (H. Visser, ed.), pp. 327-343, VCH Publishers, London.

- ISRAELACHVILI, J. (1992): Intermolecular and Surface Forces (2<sup>nd</sup> edn.) Academic Press.
- KILARA, A. AND HARWALKER, V.R. (1996): «Denaturation» in Food Proteins: Properties and Characterization (S. Nakai and H.W.Modler, eds), pp. 71-135, VCH Publishers, Inc, Dublin.
- KING, L. (1996): Whey protein concentrates as ingredients, *Food Technology Europe*, 3, 88-89.
- KINSELLA, J.E. (1982): «Relationships Between Structure and Functional Properties of Food Proteins» in Food Proteins (P.F. Fox and J.J. Condon, eds), pp. 51-103, Applied Science, Dublin.
- KINSELLA, J.E. AND WHITEHEAD, D.M. (1989): Proteins in Whey: Chemical, Physical and Functional Properties, *Adv. Food Nutr. Res.*, 33, 343-438.
- KONING, M.M.G. AND VISSER, H. (1992): Protein Interactions (H.Visser, ed.) pp. 1-24, VCH Publishers, Oxford.
- LUMRY, R. AND RAJENEDER, S. (1970.): «Enthalpy - Entropy Compensation Phenomena in Water Solutions of Proteins and Small Molecules: a Ubiquitous Property of Water», *Biopolymers* 9, 1125-1227.
- McSWINEY, M., SINGH, H. AND CAMPANELLA, O. (1994): Thermal Aggregation and Gelation of Bovine  $\beta$ -lactoglobulin, *Food Hydrocolloids*, 8, 441-453.
- MORR, C.V. AND FOEGEDING, E.A. (1990): Composition and Functionality of Commercial Whey and Milk Protein Concentrates and Isolates: A Status Report, *Food Tech.*, 44, 100-112.
- NAKAI, S. AND LI-CHAN, E. (1988): Hydrophobic Interactions in Food Systems, CRC Press, 33-38.
- QI, X.L., HOLT, C., MCNULTY, D., CLARKE, D.T., BROWNLOW, S. AND JONES, G.R. (1997): Effect of Temperature on the Secondary Structure of  $\beta$ -lactoglobulin at pH 6.7, as Determined by CD and IR Spectroscopy: a Test of the Molten Globule Hypothesis, *Biochem. J.*, 324, 341-346.
- SHIMADA, K. AND CHEFTEL, J.C. (1989): Sulfhydryl Group/Disulfide Bond Interchange Reactions during Heat-Induced Gelation of Whey Protein IsolatE, *J. Agric. Food Chem.*, 37, 161-168.
- TRATNIK, LJ. (1998): *Mlijeko - tehnologija, biokemija i mikrobiologija*, Hrvatska mljekarska udruha, Zagreb, 345-380.

**Adrese autora - Author's addresses:**

Prof. dr. sc. Zoran Herceg  
Anet Režek, dipl. ing.  
Doc. dr. sc. Suzana Rimac Brnčić  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Pierottijeva 6, Zagreb

**Prispjelo - Received:** 15.02.2008.

**Prihvaćeno - Accepted:** 11.04.2008.