

Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa  
Akademia Rolnicza w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin, Poland

Paweł Glibowski, Stanisław Mleko, Waldemar Gustaw  
Ewa Chełstowska

**Właściwości reologiczne żeli WPI otrzymanych przez bezpośredni  
dodatek soli**

---

Rheological properties of WPI gels made by direct salt addition

**ABSTRACT.** The effect of protein and sodium chloride was studied by analyzing the rheological and textural properties of the gel. The one-stage and two-stage heating process was used. The first step was carried out at pH 8. Disulfide bonds connected the protein molecules. In the second step carried out at pH 7 noncovalent bonds were formed. Increasing NaCl and protein concentration increased gel strength. Two-stage heating process increased gel strength at lower protein concentrations (6%) regardless of NaCl concentration. The gel was harder at low sodium chloride concentration (up to 150 mmol) regardless of protein concentration.

**KEY WORDS:** whey proteins, back extrusion, rheological properties, protein concentration

Białka serwatkowe cechują się znakomitymi właściwościami funkcjonalnymi, dzięki którym w produktach żywnościowych poddanych obróbce przy optymalnych parametrach pojawiają się pożądane cechy sensoryczne. Wpływają one m. in. na lepkość, zdolność do utrzymywania wody, zdolność tworzenia piany, zdolność do emulgowania i tworzenia żeli, przez co znajdują zastosowanie w wielu produktach, np. w jogurtach, serach, śmietanie, niektórych kiełbasach czy wyrobach piekarniczych [Glibowski i in. 2002].

Jedną z najważniejszych właściwości białek serwatkowych jest zdolność do tworzenia żeli. Na zachowanie białek w roztworze wodnym wpływa wiele czyn-

ników fizykochemicznych: pH, moc jonowa roztworu, temperatura, czas ogrzewania, wreszcie stężenie samego białka [Mleko 1996].

Mleko i Foegeding [1999] badali wpływ stężenia białka na teksturę żeli białek serwatkowych, otrzymanych w wyniku dwustopniowego ogrzewania. Podwójne ogrzewanie pozwala na otrzymanie słabych żeli białek serwatkowych już przy 3% stężeniu białka [Mleko, Foegeding 1999], zaś przy stosowaniu pojedynczego ogrzewania do żelowania dochodziło przy stężeniu 5–6% [Hongsprabhas, Barbut 1997].

W badaniach nad właściwościami reologicznymi białek serwatkowych stosuje się dwa sposoby dodawania soli: bezpośredni – polegający na dolaniu roztworu soli do roztworu białka [Barbut 1995a, 1995b; Mleko, Achremowicz 1996] i pośredni – wykorzystujący metodę dializy [Hongsprabhas, Barbut 1996]. Bezpośredni dodatek soli do roztworu wcześniej przygotowanych białek serwatkowych wymaga użycia roztworu bazowego o wyższym stężeniu białka, również dodawany roztwór soli jest bardziej stężony od roztworu końcowego, bowiem zmieszanie roztworu soli i białka powoduje rozcieńczenie obydwu. Metoda dializy umożliwia stosowanie roztworów białka i soli o stężeniach pożądanych do analizy, ponieważ roztwór białka obecny w worku dializacyjnym nie podlega rozcieńczeniu, następuje jedynie przepływ jonów soli z roztworu, w którym zanurzony jest worek dializacyjny. Stosowany roztwór soli ulega jednak niewielkiemu rozcieńczeniu, ponieważ stosunek objętościowy roztworu białka do roztworu soli jest mały i wynosi najczęściej 1:19 [Barbut, Foegeding 1993; Barbut, Drake 1997]. Ponadto żele białek serwatkowych wykazują właściwości adhezyjne [Ju, Kilara 1998b], które sprawiają, że bardzo trudne jest wydostanie nieuszkodzonego walca z rurki szklanej pomimo wcześniejszego posmarowania jej ścianek warstwą np. parafiny.

Celem badań było określenie wpływu metody ogrzewania, stężenia białka i chlorku sodu na właściwości reologicznych żeli WPI, otrzymywanych przez bezpośredni dodatek soli.

#### METODY

Pojedyncze ogrzewanie. Roztwory białek serwatkowych o pożądanym stężeniu białka (6–9%) otrzymywano przez jednogodzinne mieszanie WPI z wodą destylowaną w temperaturze pokojowej przy użyciu mieszadła magnetycznego Heidolph MR 3002 (Schwabach, Niemcy). W obecności elektrody pH-metrycznej ustalano pH próbki na 7,0 za pomocą 1 mol NaOH. Próbki ogrzewano w temperaturze 80°C przez 30 minut. Następnie chłodzono do tem-

peratury pokojowej. Otrzymany roztwór spolimeryzowanych białek serwatkowych dalej określano jako sh (single heated).

Podwójne ogrzewanie. W tym przypadku w obecności elektrody pH-metrycznej ustalano pH roztworów białek na 8,0 za pomocą 1 mol NaOH. Próbkę ogrzewano w temp. 80°C przez 30 minut. Następnie po ochłodzeniu do temperatury pokojowej i ustaleniu pH na poziomie 7,0 przy użyciu 1 mol HCl roztwory ponownie ogrzewano w 80°C przez 30 minut i ponownie chłodzono do temperatury pokojowej. Otrzymany roztwór spolimeryzowanych białek serwatkowych dalej określano jako dh (double heated).

Dodatek soli. Do otrzymanych spolimeryzowanych białek serwatkowych dodawano bezpośrednio odpowiednio stężony roztwór chlorku sodu, tak by uzyskać końcowe stężenie od 60 do 270 mmol i jednocześnie otrzymać pożądane stężenie białka (od 6 do 9%). Otrzymane roztwory przetrzymywano w temperaturze 5°C przez 21 godzin.

Reometria oscylacyjna. W badaniach oscylacyjnych pomiarów dokonywano przy użyciu reometru oscylacyjnego RS 300 (Haake, Karlsruhe, Niemcy) w układzie cylindrów współosiowych (rotor Z 41, cylinder Z 43). Wszystkich badań dokonywano w temperaturze 5°C po wcześniejszym umieszczeniu płynnego roztworu w cylindrze pomiarowym aparatu i przykryciu go warstwą parafiny. Czas trwania pomiaru wynosił 21 godzin. Zmiany wartości modułów zachowawczego, stratności i kąta fazowego określano przy amplitudzie drgań 0,1 Hz, odkształceniu 0,05 w układzie CS czyli kontrolowanego naprężenia. Wyniki rejestrowano komputerowo wykorzystując program RheoWin Pro 2.91 (Haake, Karlsruhe, Niemcy).

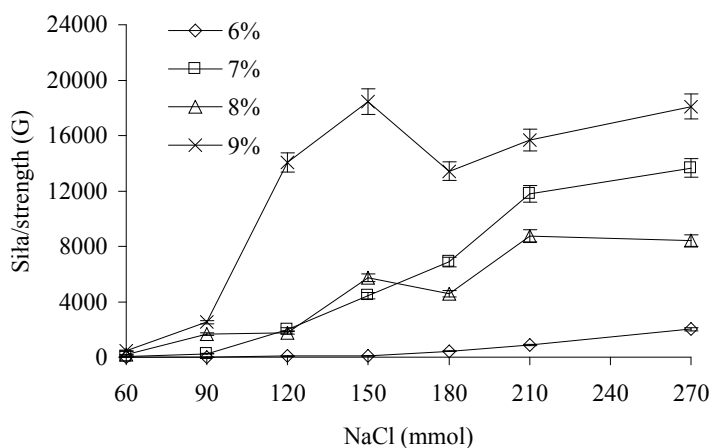
Oznaczanie tekstury. Oznaczenia przeprowadzono przy użyciu analizatora tekstury TA – XT2i (Stable Micro Systems, Surrey, Wielka Brytania). Metoda ekstruzji wstecznej polega na przeciskaniu głowicy cylindrycznej o średnicy 36 mm przez próbkę umieszczoną w pojemniku cylindrycznym o średnicy 47 mm i pomiarze siły, jakiej trzeba użyć, by przesunąć głowicę o 20 mm. Pomiarów dokonywano przy prędkości przesuwu głowicy 1 mm/s.

## WYNIKI

Badanie tekstury żeli WPI otrzymanych poprzez bezpośredni dodatek chlorku sodu metodą ekstruzji wstecznej. Jak wspomniano, bardzo trudne jest wydostanie z rurki szklanej nieuszkodzonego walca powstałego żelu WPI. Z tej przyczyny zastosowano metodę ekstruzji wstecznej, która pozwala na zestalenie się żelu w pojemniku o określonej średnicy i pomiarze siły niezbędnej do przeciągnięcia się głowicy do określonej głębokości. Unika się

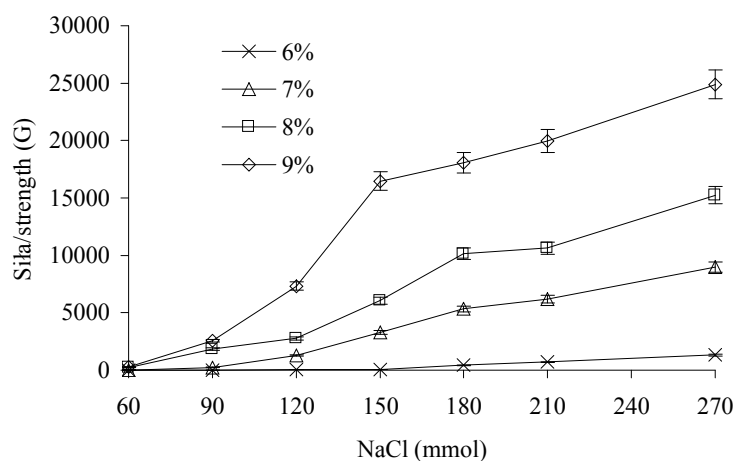
wtedy ryzyka uszkodzenia struktury żelu podczas wyjmowania go z rurki, a różnice w stosowanej sile pozwalają na ocenę tekstury powstałego żelu. Metoda ta pozwala także na porównanie żeli z zolami. Przy niskich stężeniach białka i soli nie dochodzi bowiem do powstania sieci żelu, możliwy jest jedynie wzrost lepkości [Brayant, McClements 1998], a im większa lepkość, tym większa siła potrzebna jest do przecięcia się głowicy przez badaną próbkę.

Rycina 1 przedstawia wpływ stężenia chlorku sodu i zawartości białka na wartość siły wymaganej do przeprowadzenia ekstruzji wstecznej dyspersji pojedynczo ogrzewanych WPI. Wraz ze wzrostem stężenia białka i soli rośnie twardość żelu. W przypadku podwójnego ogrzewania zależności te widoczne są jeszcze wyraźniej (ryc. 2). Uzyskane wyniki pozostają w zgodzie z obserwacjami innych autorów [Barbut 1995b; Barbut, Drake 1997; Mleko 1997]. Rycina 3 wskazuje, iż należało użyć większej siły, by dokonać ekstruzji w przypadku dyspersji WPI ogrzewanych pojedynczo. Niemniej w przypadku 6% stężenia białka użycia większej siły wymagały żele otrzymane metodą podwójnego ogrzewania (ryc. 4).

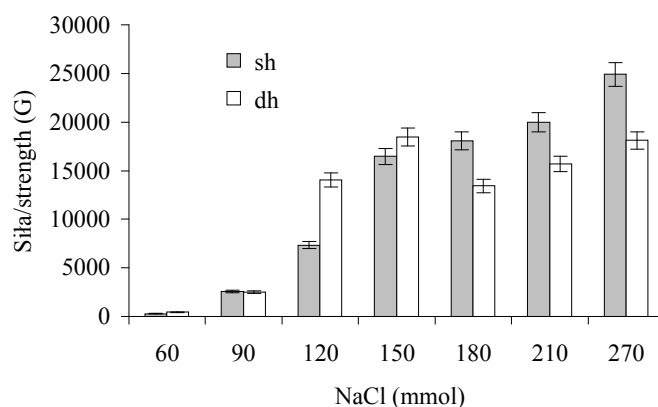


Rycina 1. Wpływ stężenia chlorku sodu i zawartości białka na wartość siły wymaganej do przeprowadzenia ekstruzji wstecznej dyspersji pojedynczo ogrzewanych WPI  
 Figure 1. Effect of sodium chloride and protein concentration on the strength required for back extrusion of single heated WPI dispersions

Mleko i Foegeding [1999] stosując podwójne ogrzewanie WPI w obecności 0,1 mol chlorku sodu uzyskali bardziej lepkie roztwory w porównaniu z roztworami pojedynczo ogrzewanymi. Możliwe to było dla dyspersji zawierających niskie stężenia białka (od 2 do 4%).



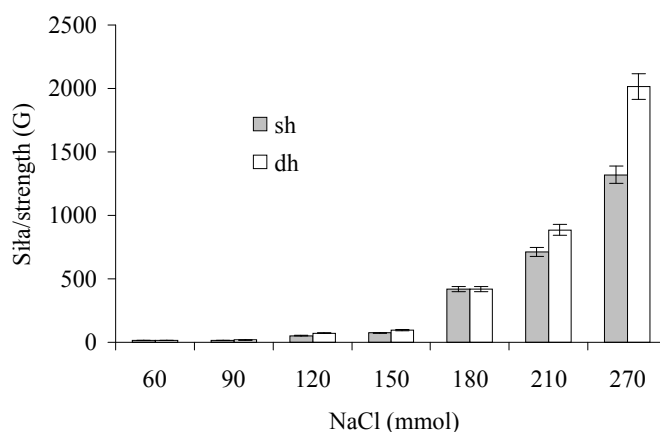
Rycina 2. Wpływ stężenia chlorku sodu i zawartości białka na wartość siły wymaganej do przeprowadzenia ekstruzji wstecznej dyspersji podwójnie ogrzewanych WPI  
Figure 2. Effect of sodium chloride and protein concentration on the strength required for back extrusion of double heated WPI dispersions



Rycina 3. Wpływ stężenia chlorku sodu na wartość siły wymaganej do przeprowadzenia ekstruzji wstecznej dyspersji WPI o zawartości białka 9% pojedynczo (sh) i podwójnie (dh) ogrzewanych  
Figure 3. Effect of sodium chloride on the strength required for back extrusion of WPI dispersions at 9% protein concentration single heated (sh) and double heated (dh)

Pojawienie się struktury żelowej wymagało do wykonania ekstruzji wstecznej użycia siły nacisku równoważnej naciskowi masy 500 gram. Analizując ryciny 3 i 4, można zauważyć, że do żelowania dochodziło przy stężeniu

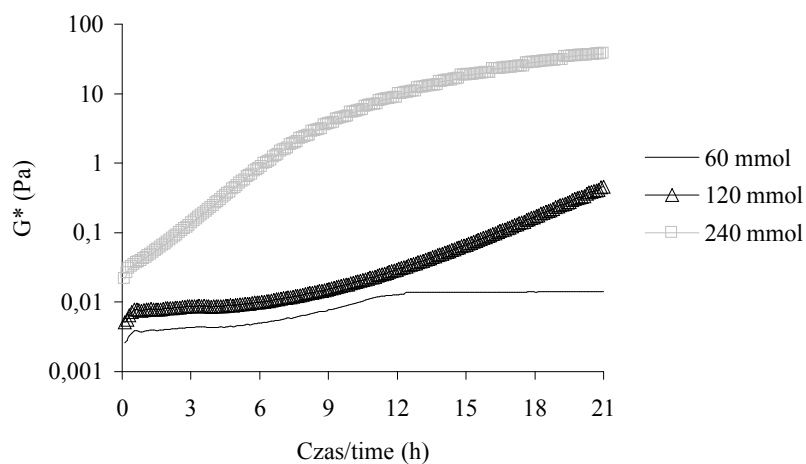
180 mmol dla roztworów zawierających 6% białka (ryc. 4), a przy 90 mmol dla 9% roztworów białka (ryc. 3), bez względu na technikę ogrzewania. W przypadku roztworów ogrzewanych podwójnie do żelowania dochodziło przy takim samym poziomie soli i białka w obu metodach, co może sugerować obecność większej ilości polimerów białek serwatkowych w omawianych roztworach. Do żelowania niezbędne jest bowiem odpowiednie stężenie białka, a proces ten ułatwia obecność polimerów białek serwatkowych [Bryant, McClements 1998].



Rycina 4. Wpływ stężenia chlorku sodu na wartość siły wymaganej do przeprowadzenia ekstruzji wstecznej dla dyspersji WPI o zawartości białka 6% pojedynczo (sh) i podwójnie (dh) ogrzewanych

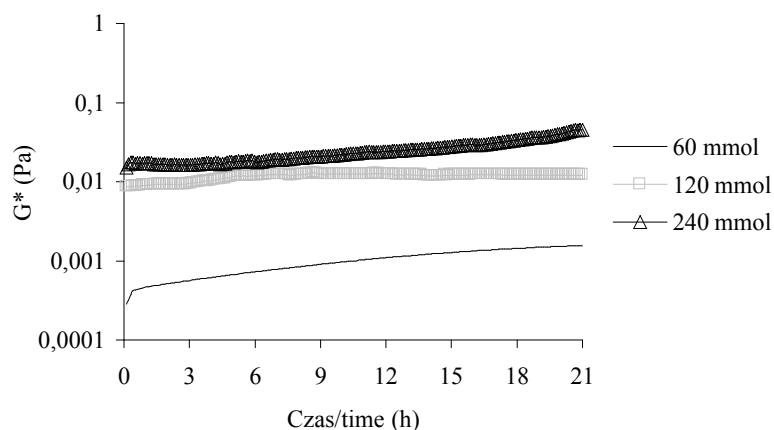
Figure 4. Effect of sodium chloride on the strength required for back extrusion of WPI dispersions at 6% protein concentration single heated (sh) and double heated (dh)

Badanie właściwości reologicznych żeli WPI otrzymanych poprzez bezpośredni dodatek chlorku sodu przy użyciu reometrii oscylacyjnej. Wykorzystanie reometrii oscylacyjnej pozwala na obserwację procesu żelowania bez jednoczesnego niszczenia powstającej sieci żelu [Foege- ding i in. 1992]. Ryciny 5 i 6 przedstawiają zmianę wartości modułu zespolonego  $G^*$  w czasie. W przypadku substancji całkowicie lepkich wartość modułu zespolonego  $G^*$  jest równa wartości modułu stratności  $G''$ , zaś w przypadku substancji całkowicie sprężystych równa wartości modułu zachowawczego  $G'$ . Moduł zachowawczy  $G'$  obrazuje, jaka część energii zostaje zachowana przez układ w wyniku odkształcenia sprężystego, w odróżnieniu od modułu stratności  $G''$ , który wskazuje, ile energii podczas odkształcenia zostało rozproszonej w formie ciepła.



Rycina 5. Wpływ czasu przetrzymania w temperaturze 5°C na zmiany modułu zespolonego dla dyspersji pojedynczo ogrzewanych roztworów WPI o zawartości 6% białka z dodatkiem chlorku sodu

Figure 5. Effect of endurance time at temperature 5°C on the changes in complex modulus for single heated WPI dispersions at 6% protein concentration with sodium chloride addition



Rycina 6. Wpływ czasu przetrzymania w temperaturze 5°C na zmiany modułu zespolonego dla dyspersji podwójnie ogrzewanych roztworów WPI o zawartości 6% białka z dodatkiem chlorku sodu

Figure 6. Effect of endurance time at temperature 5°C on the changes in complex modulus for double heated WPI dispersions at 6% protein concentration with sodium chloride addition

W przypadku dyspersji otrzymywanych z dodatkiem jonów sodowych o stężeniu 240 mmol obserwowano najwyższy wzrost wartości modułu zespolonego dla roztworu zawierającego 6% białka (ryc. 5) przy pojedynczo i podwójnie ogrzewanych dyspersjach (ryc. 6). Wzrost wartości  $G^*$  wraz ze wzrostem stężenia białka obserwowany był także przez innych autorów [Aguilera 1995; Mleko 1997]. Ju i Kilara [1998a] zaobserwowali, że proces żelowania przebiega wolno na początku, by dalej ulec przyspieszeniu, co można dostrzec na przedstawionych rycinach (ryc. 5 i 6). Mleko [1997] zaobserwował wzrost wartości modułu zespolonego wraz ze wzrostem stężenia chlorku sodu do poziomu 200 mmol podczas ogrzewania. Użycie wyższych stężeń tej soli spowodowało obniżenie tych wartości. Aguilera [1995] odnotował wzrost zarówno modułu stratności, jak i zachowawczego podczas ochładzania roztworów WPI, zawierających od 5 do 15% białka.

#### WNIOSKI

1. Twardość żeli WPI rośnie wraz ze wzrostem stężenia chlorku sodu i białka.
2. Metoda podwójnego ogrzewania daje żele twardsze przy niższych stężeniach białka (6%) niezależnie od stężenia chlorku sodu.
3. Podwójne ogrzewanie zwiększa twardość żeli przy niższych stężeniach chlorku sodu (do 150 mmol) niezależnie od stężenia białka.

#### PIŚMIENNICTWO

- Aguilera J. M. 1995. Gelation of whey proteins. *Food Techn.* 10, 83–89.
- Barbut S. 1995a. Effect of calcium level on the structure of pre-heated whey protein isolate gels. *Lebensm.-Wiss u. Tech.* 28, 598–603.
- Barbut S. 1995b. Effect of sodium level on microstructure and texture of whey protein isolate gels. *Food Res. Int.* 28, 5, 437–443.
- Barbut S., Drake D. 1997. Effect of reheating on sodium-induced cold gelation of whey proteins. *Food Res. Int.* 30, 2, 153–157.
- Barbut S., Foegeding E. A. 1993.  $Ca^{2+}$  induced gelation of preheated whey protein isolate. *J. Food Sc.* 4, 867–871.
- Bryant C.M., McClements D.J. 1998. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. *Trends in Food Sc. Tech.* 9, 143–151.
- Foegeding E.A., Kuhn P.R., Hardin C.C. 1992. Specific divalent cation-induced changes during gelation of  $\beta$ -lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.* 40, 2092–2097.
- Glibowski P., Gustaw W., Mleko S. 2002. Żelowanie zdenaturowanych białek serwatkowych pod wpływem dodatku soli mineralnych. *Przem. Spoż.* 5, 48–50.



- Hongsprabhas P., Barbut S. 1996. Ca<sup>2+</sup> induced gelation of whey protein isolate: effects of pre-heating. *Food Res. Int.* 2, 135–139.
- Hongsprabhas P., Barbut S. 1997. Protein and salt effects on Ca<sup>2+</sup>-induced cold gelation of whey protein isolate. *J. Food Sci.* 2, 382–385.
- Ju Z.Y., Kilara A. 1998a. Gelation of hydrolysates of a whey protein isolate induced by heat, protease, salts and acid. *Int. Dairy J.* 8, 303–309.
- Ju Z.Y., Kilara A. 1998b. Textural properties of cold-set gels induced from heat-denatured whey protein isolates. *J. Food Sci.* 2, 288–292.
- Mleko S. 1996. Żelowanie białek globularnych. *Przem. Spoż.* 12, 11–12.
- Mleko S. 1997. Oscillatory shear studies of whey protein gels. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 3, 89–95.
- Mleko S., Achremowicz B. 1996. Effects of sodium chloride and calcium chloride on the fracture properties of whey protein gels. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 5, 2, 33–41.
- Mleko S., Foegeding E.A. 1999. Formation of whey protein polymers: effect of a two-step heating process on rheological properties. *J. Texture Stud.* 30, 137–149.

Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2004-2006 jako projekt badawczy.

