

DARIUSZ KOWALCZYK, MAŁGORZATA STRYJECKA,
BARBARA BARANIAK

CHARAKTERYSTYKA WŁAŚCIWOŚCI FUNKCJONALNYCH NIEMODYFIKOWANYCH I ACYLOWANYCH KONCENTRATÓW BIAŁEK SOCZEWICY I ICH TRYPSYNOWYCH HYDROLIZATÓW

Streszczenie

Celem pracy było scharakteryzowanie wybranych właściwości funkcjonalnych niemodyfikowanych i acylowanych koncentratów białek nasion soczewicy, otrzymanych metodą koagulacji kwasowej lub flokulacyjno-kwasowej oraz ocena wpływu hydrolizy trypsyną na badane właściwości.

Z nasion soczewicy ekstrahowano białka słabym roztworem ługu z jednoczesną ich chemiczną modyfikacją bezwodnikiem kwasu octowego (acylacja). Następnie białka wydzielano z ekstraktu, stosując dwa sposoby agregacji cząsteczek: koagulację poprzez zakwaszenie ekstraktu 2M HCl do punktu najmniejszej rozpuszczalności białek ($pH = pI$) bądź kwasową koagulację połączoną z flokulacją białek przy użyciu polielektrolitów Magnafloc LT22S (kationowy) lub Magnafloc LT27 (anionowy). Preparaty białek niemodyfikowanych otrzymano w analogiczny sposób, z pominięciem w trakcie ekstrakcji czynnika modyfikującego. Uzyskane koncentraty poddawano hydrolizie trypsyną, a produkty hydrolizy liofilizowano. W koncentratkach oraz ich hydrolizatach określono zawartość białka, rozpuszczalność, absorpcję wody i tłuszczu, aktywność emulgowania, trwałość emulsji, wydajność pienienia oraz trwałość piany.

Zarówno modyfikacja, jak i sposób agregacji białka spowodowały zmianę poszczególnych właściwości funkcjonalnych. Koncentraty białek niemodyfikowanych wykazywały dobrą zdolność absorpcji wody wynoszącą, w zależności od sposobu wytrącenia białek, od 184 do 234% oraz absorpcję tłuszczu na poziomie od 61 do 70%. Acylowanie istotnie ($\alpha=0,05$) zwiększyło wodochłonność koncentratów, w największym stopniu o 136% (przy agregacji białek z udziałem flokulanta anionowego), a w przypadku koncentratów otrzymanych z wykorzystaniem flokulacji nastąpiło również istotne zwiększenie zdolności pochłaniania tłuszczu (od 8 do 15%). Aktywność emulgowania i trwałość emulsji nie uległy istotnym zmianom po modyfikacji białka, a ich maksymalną wartość (odpowiednio 42 i 39%) uzyskano w przypadku koncentratów otrzymanych przy udziale flokulanta Magnafloc LT 22S. Koncentraty te odznaczały się również dziesięciokrotnie lepszą zdolnością do tworzenia piany. Wydajność pienienia pozostałych preparatów była niewielka i w obu przypadkach wyniosła 2 ml. Acylacja poprawiła właściwości pianotwórcze białek soczewicy, jednakże wzrost trwałości piany zaobserwowano jedynie w przypadku białek koagulowanych kwasem. W wyniku chemicznej modyfikacji nastąpił wzrost rozpuszczalności białek w pH powyżej punktu izoelektrycznego. Natomiast w silnie kwaśnym środowisku rozpuszczalność acylowanych białek uległa zmniejszeniu. Hydroliza wszystkich badanych koncentratów białkowych spowodowała

Mgr inż. D. Kowalczyk, dr inż. M. Stryjecka, prof. dr hab. B. Baraniak, Katedra Biochemii i Chemii Żywności, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Akademia Rolnicza, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

zwiększenie ich rozpuszczalności w zakresie pH od 3,5 do 6,5. Hydrolizaty w porównaniu z koncentratami charakteryzowały się na ogół wyższą absorpcją wody i trwałością emulsji. Hydroliza białek spowodowała istotną poprawę ich właściwości pianotwórczych.

Słowa kluczowe: właściwości funkcjonalne, nasiona soczewicy, acylacja, koncentraty i hydrolizaty białkowe

Wprowadzenie

Spośród roślin strączkowych uprawianych na cele spożywcze w naszym kraju najpopularniejsze są groch oraz fasola [17], jednak stale dąży się do zwiększenia arealu innych gatunków takich, jak: soczewica, ciecierzycza, lędźwian czy łubin. Spowodowane jest to ogólnym światowym deficytem plonów wysokobiałkowych, rosnącymi cenami surowca mięsnego, jak również niesłabnącym zainteresowaniem bezpieczną i ekologiczną żywnością. Nasiona roślin strączkowych stanowią cenny wysokobiałkowy składnik diety o dużej wartości biologicznej, jednocześnie są bogate w witaminy, węglowodany i składniki mineralne. Soczewica ze względu na jej walory kulinarne takie, jak krótki czas gotowania, smakowitość i sytość potraw zajmuje czołową pozycję w grupie roślin wykorzystywanych w kuchni wegetariańskiej. Oprócz przygotowania posiłków nasiona strączkowych tradycyjnie znajdują zastosowanie w przemyśle spożywczym, gdzie wykorzystywane są pod postacią preparatów białkowych o różnym stopniu przetworzenia. Powszechnie dostępne koncentraty oraz izolaty białka soi i grochu cieszą się dużym uznaniem, aczkolwiek także inne rośliny strączkowe mogą być potencjalnie wykorzystane do ich otrzymywania. Rodzaj surowca, metoda i warunki izolacji oraz stopień oczyszczenia białka z substancji towarzyszących mają kluczowy wpływ na jakość otrzymanego produktu [36]. Wywołanie zmian w charakterystyce funkcjonalnej preparatów, w celu osiągnięcia określonych korzyści technologicznych, może być również uzyskane poprzez modyfikację białek czyli przemiany, jakim podlegają w procesach fizycznych, chemicznych i enzymatycznych.

Celem pracy było scharakteryzowanie wybranych właściwości funkcjonalnych niemodyfikowanych i acylowanych koncentratów białek nasion soczewicy, otrzymanych metodą koagulacji kwasowej lub flokulacyjno-kwasowej oraz ocena wpływu hydrolizy trypsyną na badane właściwości.

Material i metody badań

Z rozdrobnionych na mąkę nasion soczewicy odm. Anita ekstrahowano białka 0,02M roztworem NaOH (pH~9,2, temp. 20°C, czas 1 godz.) przy użyciu mieszadła mechanicznego. Po odwirowaniu zawiesiny (4000 x g, 20 min) z ekstraktu wydzielano białka, stosując dwa sposoby agregacji cząsteczek: koagulację poprzez zakwaszenie ekstraktu 2M HCl do punktu najmniejszej rozpuszczalności białek (pI = 3,6) bądź

kwasową koagulację połączoną z flokulacją białek przy użyciu polielektrolitów o charakterze kationowym - Magnafloc LT22S lub anionowym - Magnafloc LT27 (Ciba Speciality Chemicals). Flokulanty dodawano przed obniżeniem pH, w ilości 30 mg/dm³ ekstraktu. Po upływie ~12 godz. wytrącone osady wirowano (4000 x g, 20 min), przemywano dwukrotnie wodą destylowaną, suszono i mielono. Preparaty białek modyfikowanych otrzymano acylując białka w trakcie ich ekstrakcji. Proces prowadzono poprzez wprowadzenie bezwodnika kwasu octowego w ilości 0,2 cm³ na 1 g białka zawartego w mące. Modyfikacja trwała 1 godz. w temp. 25°C, przy pH 7,5-8,0. Uzyskane koncentraty poddano hydrolizie trypsyną (1240 j./mg, Sigma T-4799; stosunek enzym/substrat 1: 1000) przez 3 godz., w temp. 37°C i pH = 7,5. Hydrolizaty oczyszczano z nierozpuszczalnej frakcji metodą wirówkową i zagęszczano przez liofilizację.

W koncentratkach oraz hydrolizatach oznaczano zawartość białka metodą Kjeldahla (N x 6,25) i wybrane właściwości funkcjonalne. Rozpuszczalność białka oznaczano metodą podaną przez Betschart [7]. Do 100 mg preparatu dodawano 50 cm³ buforu o pH od 2,5 do 9,5 i wytrząsano 1 godz. W przesączu oznaczano zawartość białka metodą Lowry'ego. Absorpcję wody, absorpcję tłuszczu, aktywność emulgowania, trwałość emulsji, wydajność pienienia oraz trwałość piany oznaczano wg metodyki podanej przez Rutkowskiego i Kozłowską [31].

Oznaczenie absorpcji wody

Próbkę o masie 1 g mieszano (homogenizator MPW typ 309, 1000 obr./min, 1 min) z 30 cm³ wody destylowanej, a następnie wirowano (9000 x g) przez 15 min. Po zlanii niezwiązanej wody próbki z osadem pozostawiano na 10 min do góry dnem, po czym je ważono. Absorpcję wody obliczano z równania:

$$WA = a/W \cdot 100\%$$

gdzie: WA – absorpcja wody [%], a – masa mokrego osadu [g], W – naważka [g]

Oznaczenie absorpcji tłuszczu

Próbkę o masie 5 g mieszano z 25 cm³ oleju w ten sam sposób jak opisano w metodzie oznaczenia absorpcji wody. Próbkę odstawiano na 5 min i ponownie mieszano, a następnie wirowano (280 x g, 5 min). Niezwiązany olej zlewano do cylindra miarowego. Absorpcję tłuszczu obliczano z równania:

$$FA = (25-b)/W \cdot 100\%$$

gdzie: FA – absorpcja tłuszczu [%], 25 – liczba cm³ oleju użyta do oznaczenia b – objętość zdekantowanego oleju [cm³], W – naważka [g].

Oznaczenie aktywności emulgowania i trwałości emulsji

Próbkę o masie 2,5 g rozpuszczano w 50 cm³ wody destylowanej, dodawano 50 cm³ oleju i homogenizowano jak we wcześniejszych oznaczeniach. Wytworzoną emulsję rozdzielano do probówek miarowych, wirowano (3000 x g) przez 5 min i odczytywano objętość poszczególnych warstw. Aktywność emulgowania obliczano z równania:

$$EA = c/d \cdot 100\%$$

gdzie: EA – aktywność emulgowania [%], c – objętość warstwy zemulgowanej [cm³], d – objętość całkowita [cm³].

W celu oznaczenia trwałości otrzymanej emulsji ogrzewano ją w łaźni o temp. 80°C przez 30 min. Po schłodzeniu przez 15 min w naczyniu z lodem, całość mieszano bagietką, rozdzielano do probówek miarowych i dalej (łącznie z obliczeniami) postępowano jak przy oznaczeniu aktywności emulgowania.

Oznaczenie wydajności pienienia i trwałości piany

Próbkę o masie 1 g homogenizowano, jak w poprzednich oznaczeniach z 99 cm³ wody destylowanej. Spienioną ciecz szybko przenoszono do cylindra miarowego i odczytywano objętość piany (cm³) wyrażającą wydajność pienienia. Trwałość piany wyrażano jako objętość piany po 30 min.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie (trójczynnikowa analiza wariancji) przy użyciu programu Statistica 6.1. Ocenę istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi (n = 3) wykonano testem Tukeya przy $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zarówno modyfikacja, jak i sposób agregacji białka spowodowały statystycznie istotne zmiany poszczególnych właściwości funkcjonalnych preparatów, nie wpływając na istotne różnice zawartości białka w koncentraty (tab. 1). W zależności od metody agregacji białka zdolność absorpcji wody przez koncentraty niemodyfikowanych białek kształtowała się na poziomie 184 do 234%, natomiast absorpcja tłuszczu od 61 do 70% (tab. 2). Przydatność flokulantów w procesie otrzymywania białkowych preparatów była już przedmiotem badań Baraniak i wsp. [4, 5, 6]. W pracach tych, wykorzystanie syntetycznych polielektrolitów do separacji faz różnicowało skład chemiczny uzyskiwanych preparatów, z reguły powodowało zmniejszenie zawartości białka [4, 5] i zmiany w jego składzie aminokwasowym [6]. Zaobserwowane w niniejszej pracy zmiany badanych cech należy powiązać z rezultatami przytoczonych prac, właściwości funkcjonalne są bowiem odzwierciedleniem naturalnych cech białek, m.in. profilu aminokwasowego, ale wynikają też z czynników zewnętrznych takich, jak obecność

Tabela 1

Zawartość białka ogółem w preparatach białkowych otrzymanych różnymi metodami z nasion soczewicy.
The total protein content in preparations obtained by various methods from lentil seeds.

Metoda agregacji białek Method of proteins aggregation	Zawartość białka (N x 6,25) [% s.m.] Total protein [% d.m.]			
	K		H	
	N	A	N	A
HCl	83,14 ^a	80,70 ^a	71,30 ^d	72,30 ^d
LT 22S + HCl	81,55 ^a	82,32 ^a	66,70 ^{cd}	57,95 ^b
LT 27 + HCl	84,89 ^a	83,88 ^a	61,85 ^b	61,70 ^{bc}

Objaśnienia:/ Explanatory notes:

K- koncentraty / concentrates; H- hydrolizaty / hydrolysates; N- niemodyfikowane / native; A- acylowane / acetylated;

a-d - wartości średnie oznaczone tą samą literą, nie różnią się między sobą statystycznie istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$ / mean values denoted by the same letter, do not statistically significantly at $\alpha = 0.05$ level.

Tabela 2

Właściwości funkcjonalne koncentratów i hydrolizatów białek nasion soczewicy, determinowane metodą agregacji i acylacji.

The functional properties of lentil seed proteins concentrates and hydrolysates determined by method of aggregation and acylation.

Metoda agregacji białek Method of proteins aggregation	Modyfikacja Modification	Absorpcja wody Water absorption [%]		Absorpcja tłuszczu Oil absorption [%]		Aktywność emulgowania Emulsifying activity [%]		Trwałość emulsji Emulsion stability [%]		Wydajność pienienia Foam capacity [ml]		Trwałość piany Foam stability [ml]	
		K	H	K	H	K	H	K	H	K	H	K	H
		HCl	N	234 ^c	321 ^{bc}	62 ^{ab}	61 ^a	38,5 ^a	40 ^{ab}	30,5 ^a	32,5 ^a	2 ^c	57 ^a
	A	304 ^c	354 ^a	65 ^{ab}	66 ^{ab}	38 ^a	43 ^{bc}	30 ^a	39 ^{bc}	30 ^c	59 ^{ab}	26 ^g	50 ^f
LT 22S + HCl	N	184 ^d	342 ^{ab}	61 ^a	65 ^{ab}	42 ^{ab}	47 ^d	34 ^{ac}	44 ^{bd}	20 ^d	62 ^{ab}	0 ^a	41 ^{dc}
	A	234 ^c	397 ^f	76 ^d	69 ^{abc}	42 ^{ab}	50 ^d	39 ^{bc}	46 ^d	30 ^c	65 ^b	0 ^a	32 ^b
LT 27 + HCl	N	192 ^d	337 ^{ab}	70 ^{bc}	63 ^a	39 ^{ab}	43 ^{bc}	31 ^a	40 ^b	2 ^c	58 ^a	0 ^a	45 ^{ef}
	A	328 ^{abc}	353 ^a	79 ^d	68 ^{ac}	40,5 ^{ab}	49 ^d	32 ^a	45,5 ^d	14 ^d	62 ^{ab}	0 ^a	35 ^{bc}

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

a-g -wartości średnie oznaczone w obrębie tej samej właściwości funkcjonalnej tą samą literą, nie różnią się między sobą statystycznie istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$ / mean values denoted by the same letter, and included in the same functional properties, do not statistically significantly at $\alpha=0.05$ level.

składników niebiałkowych czy warunki środowiska [36]. Oceny właściwości funkcjonalnych koncentratów białkowych z nasion soczewicy podejmowali się również inni autorzy. Lee i wsp. [25] analizowali wpływ warunków ekstrakcji białek z dwóch au-

stralijskich odmian soczewicy. Wykazali, że wzrost pH oraz temperatury podczas ekstrakcji wpływa na wzrost wydajności izolowania białka, zwiększa wodochłonność i stabilność piany, obniża natomiast aktywność emulgowania, stabilność emulsji i zdolność pienienia. Wartości liczbowych nie można jednak porównywać z wynikami niniejszej pracy ze względu na odmienne warunki badań. Właściwości funkcjonalne acetylowanych oraz sukcyńlowanych białek soczewicy były badane przez Bora [9, 10]. Autor określił wpływ stopnia modyfikacji na analizowane cechy. Acylowane białka, w porównaniu z niemodyfikowanymi, miały przesunięty punkt izoelektryczny (pI) w kierunku niższego pH, co zwiększyło ich rozpuszczalność w obszarze powyżej pI. W silnie kwaśnym środowisku rozpuszczalność acylowanych białek zmalała [9, 10] na skutek niedoboru protonowanych grup aminowych. Zmniejszenie w cząsteczce udziału ładunku dodatniego uniemożliwia zrównoważenie hydrofobowych oddziaływań reszt alkilowych i aromatycznych, wywołujących agregację białka [33]. Jest to typowy efekt acylacji, który znalazł potwierdzenie również w niniejszej pracy (rys. 1). Zmiany ładunku spowodowane są podstawieniem grup ϵ -aminowych lizyny, imidazolowych histydyny, ferulowych tyrozyny i tiolowych cysteiny resztami bezwodnika. Siły elektrostatyczne między grupami aminowymi i karboksylowymi białek są wówczas niwelowane i w rezultacie dochodzi do ograniczenia reakcji typu białko-białko, a ułatwienia oddziaływań białko-woda [23]. Powoduje to jednoczesny wzrost zdolności wiązania i utrzymywania wody, co zaobserwowano w cytowanych badaniach, jak też w niniejszej pracy (tab. 2). Przyrost wodochłonności może być również spowodowany dysocjacją białkowych oligomerów po modyfikacji, co zwiększa ich powierzchnię absorpcji wody [24]. Bora [9] wykazał ponadto, że wraz ze wzrostem stopnia acetylacji (w zakresie od 62,5 do 93%) zwiększa się wodochłonność białka, aktywność emulgowania i wydajność pienienia, a zmniejszeniu ulega zdolność absorpcji tłuszczu. W przedstawionej pracy, na skutek inkorporacji dodatkowych grup hydrofilowych, wodochłonność koncentratów uległa istotnej poprawie, maksymalnie o 136% (przy agregacji białek z udziałem flokulanta anionowego). Odmienne niż w pracy Bora [9], zdolność absorpcji tłuszczu przez koncentraty wytrącone kwasem nie zmieniła się istotnie po przeprowadzeniu chemicznej modyfikacji. Z kolei koncentraty otrzymane z wykorzystaniem flokulacji miały istotnie, o 8 do 15% większą zdolność chłonięcia tłuszczu. Wzrost absorpcji tłuszczu obserwowano także w przypadku acetylowanych preparatów białka fasoli złocistej (*Phaseolus aureus*) [15], fasoli *Canavalia ensiformis* [23], słonecznika [18]. Aktywność emulgowania i trwałość emulsji nie uległy istotnym zmianom po modyfikacji białka, a ich największą wartość (odpowiednio 42 i 39%) uzyskały koncentraty otrzymane przy udziale flokulanta Magnafloc LT 22S. Koncentraty te odznaczały się również dziesięciokrotnie lepszą zdolnością do tworzenia piany. Wydajność pienienia pozostałych preparatów była znikoma i w obu przypadkach wyniosła 2 ml. Acylacja istotnie poprawiła właściwości pianotwórcze białek soczewicy,

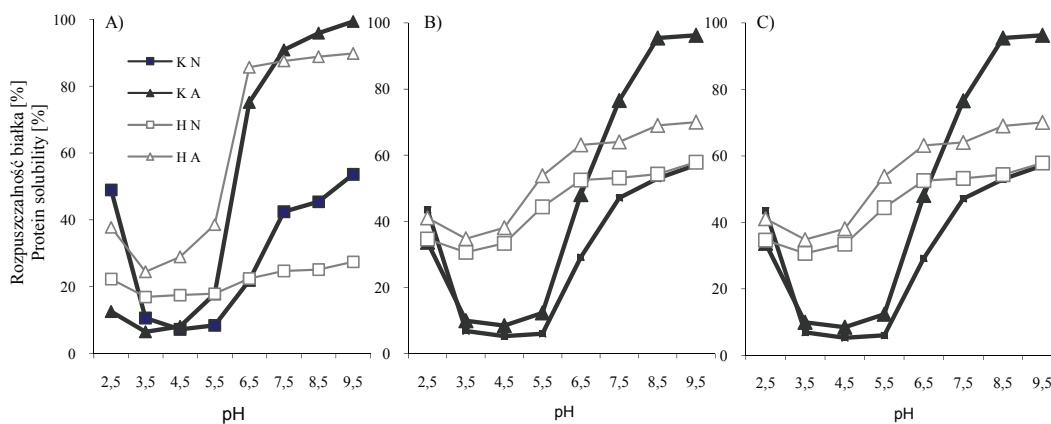
jednak wzrost trwałości piany zaobserwowano jedynie w przypadku białek koagulowanych kwasem.

Chemiczne modyfikacje, takie jak: alkiłowanie, estryfikacja, utlenianie czy acylowanie, pomimo że pozwalają na znaczną poprawę niektórych właściwości funkcjonalnych, to jednak budzą obawy i jak dotąd nie znajdują zastosowania w produkcji żywności. Częściej do modyfikacji surowców białkowych wykorzystywane są metody enzymatyczne. Hydroliza z udziałem enzymów stwarza możliwości kształtowania właściwości funkcjonalnych białek poprzez dobór proteaz, warunków i stopnia hydrolizy [27]. Produktami rozpadu białek są produkty o niższej masie cząsteczkowej: polipeptydy, oligopeptydy i aminokwasy, dzięki czemu hydrolizaty wykazują większą rozpuszczalność w wodzie [1, 11]. Spowodowane jest to wzrostem hydrofilności na skutek zwiększenia liczby grup zdolnych do jonizacji (NH_2 , COOH) [27]. W zakresie pH od 3,5-6,5 hydrolizaty otrzymane zarówno z białek natywnych, jak i acylowanych charakteryzowały się wyższą rozpuszczalnością w stosunku do materiału wyjściowego (rys. 1). Hydrolizowane białka na ogół miały również istotnie wyższą (od 9 do 163%) wodochłonność i trwałość emulsji (od 2 do 13,5%) (tab. 2). Hydroliza spowodowała istotną poprawę właściwości pianotwórczych białek. Wydajność piany wzrosła z 30 do 55 ml, jednocześnie uzyskane piany były dużo trwalsze.

Badania strawności sukcylinowanych białek wykazały, że wiązania utworzone pomiędzy bezwodnikiem a resztami aminokwasowymi są odporne na działanie trzustkowych, jak i gastrycznych proteaz [32]. Wprowadzenie grup acetylowych do białka spowodowało istotne polepszenie wodochłonności uzyskanych koncentratów, lecz po ich proteolizie tylko hydrolizaty białek wytraconych kwasem i/lub przy użyciu flokulanta LT22S wykazywały statystycznie istotnie wyższą wodochłonność w porównaniu z hydrolizatami białka niemodyfikowanego (tab. 2).

Zdolność tworzenia układów dyspersyjnych (emulsji i pian) przez białka i peptydy wynika z amfipatyczności tych cząsteczek, co umożliwia ich gromadzenie na granicy faz. Uważa się, że częściowa proteoliza korzystnie modyfikuje właściwości związane z aktywnością powierzchniową. Ochiai i wsp. [26] poddali hydrolizie trypsyną białka soi i stwierdzili, że proces ten powoduje poprawę właściwości emulgujących, a peptydy o wysokich masach cząsteczkowych oraz te pochodzące z glicyniny mają pod tym względem najlepsze właściwości. Adler-Nissen i wsp. [2] wykazali, że proteoliza białka sojowego do $\text{DH} = 5\%$, zwiększa wydajność emulgowania, ale jej pogłębienie do $\text{DH} = 9\%$ powoduje wyraźne pogorszenie tej cechy. Poprawa właściwości emulgujących w rezultacie ograniczonej proteolizy spowodowana jest odsłonięciem reszt aminokwasów hydrofobowych, usytuowanych wewnątrz molekuł natywnego białka, co zwiększa i ułatwia adsorpcję na granicy faz [19]. Właściwości pianotwórcze białek zależą od zdolności cząsteczek do szybkiego dyfundowania na powierzchnię międzyfazową, jak i zdolności reorganizacji na niej [20]. Po adsorpcji na granicy po-

wietrze/woda polarne reszty aminokwasów znajdujące się na powierzchni cząsteczek białek zwracają się w stronę cieczy, a niepolarne w kierunku gazu. Wokół pęcherzyków powietrza powstaje spójny, elastyczny film międzyfazowy [12]. Uzyskana w pracy niska wydajność pienienia koncentratów białkowych może być spowodowana zwartą, globularną strukturą białek, która hamuje ich zdolność do efektywnej reorientacji. Hydroliza zmniejsza masę cząsteczkową i zwiększa elastyczność struktur białkowych umożliwiając powstanie elastycznego filmu [3]. Możliwość łatwiejszego rozfałdowania molekuł białka z odsłonięciem wielu reszt lipo- i hydrofilowych stwarza również acylacja [23]. Tłumaczyć to może istotny wzrost wydajności pienienia koncentratów białkowych po przeprowadzeniu modyfikacji (tab. 2). Limitowana hydroliza najczęściej poprawia zdolność pienienia białek, ale zmniejsza stabilność pian [3, 22, 28]. Peptydy są lepiej rozpuszczalne w wodzie, dlatego szybko osiągają powierzchnię międzyfazową. Z drugiej strony zbyt krótkie peptydy nie są efektywne w obniżaniu napięcia powierzchniowego, gdyż nie są w stanie rozwinąć się i utworzyć stabilnego filmu [16, 29]. Powstanie mocnych, kohezyjnych i elastycznych błon zdolnych do ochrony utworzonej piany przed działaniem sił grawitacji i mechanicznymi interakcjami [13], umożliwiają jedynie wysokocząsteczkowe peptydy lub częściowo hydrolizowane białka [8, 30]. Podobnie, jak w niniejszej pracy, wzrost trwałości piany po hydrolizie obserwowano w przypadku preparatów białek glutenowych [35], rzepaku [34], białek mięśni rekina (*Squalus acanthias*) [14] i globin krwi [21].



Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Rys. 1. Rozpuszczalność białka preparatów otrzymanych różnymi metodami agregacji: A) HCl, B) LT22S + HCl, C) LT27 + HCl.

Fig. 1. Protein solubility of preparations received by various methods of aggregation: A) HCl, B) LT22S + HCl, C) LT27 + HCl.

Wnioski

1. Wykorzystanie polielektrolitów w procesie agregacji białek soczewicy różnicuje właściwości funkcjonalne otrzymanych koncentratów, bez istotnego wpływu na zawartość białka.
2. Acylacja bezwodnikiem kwasu octowego polepsza absorpcję wody i wydajność pienienia białkowych koncentratów oraz zwiększa ich rozpuszczalność w zakresie pH powyżej punktu izoelektrycznego.
3. Trypsynowe hydrolizaty białek soczewicy w porównaniu z koncentratami charakteryzują się na ogół lepszą rozpuszczalnością w zakresie pH 3,5–6,5, większą wodochłonnością i trwałością emulsji oraz ulepszonymi właściwościami pianotwórczymi.

Pracę wykonano w ramach PBZ/KBN/021/P06/99 finansowanego przez KBN w latach 2001-2004. Była ona prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Adler-Nissen J.: Enzymic hydrolysis of food proteins. Elsevier Applied Science Publishers, London 1986, pp. 1-427.
- [2] Adler-Nissen J., Olsen H.S.: The influence of peptide chain length on taste and functional properties of enzymatically modified soy protein. In: Functionality and protein structure - ed. A. Pour-Ei, ACS, Washington, DC, 1979, p. 125-146.
- [3] Aluko R.E., Monu E.: Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 2003, **68** (4), 1254-1258.
- [4] Baraniak B., Niezabitowska M., Pielecki J., Wójcik W.: Evaluation of usefulness of Magnafloc M-22S flocculant in the process of obtaining protein concentrates from peas. *Food Chem.*, 2004, **85**, 251-257.
- [5] Baraniak B., Niezabitowska M., Porzucek H.: Zawartość białka ogółem, inhibitorów trypsyny i stachiozy w preparatach białkowych uzyskiwanych z mąki grochu za pomocą różnych metod koagulacji. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **3** (40), 87-97.
- [6] Baraniak B., Niezabitowska M.: Jakość białka koncentratów otrzymanych różnymi metodami z nasion grochu odmiany Piast. *Annales UMCS, Sec. E*, 2004, **59** (4), 1557-1566.
- [7] Betschart A.A.: Nitrogen solubility of alfaalfa protein concentrate as influenced by various factors. *J. Food Sci.*, 1974, **39**, 1110-1115.
- [8] Bombara N., Pilosof A.M.R., Añón M.C.: Mathematical model for formation rate and collapse of foams from enzyme modified wheat flours. *J. Food Sci.*, 1994, **59** (3), 626-628.
- [9] Bora P.S.: Effect of acetylation on the functional properties of lentil (*Lens culinaris*) globulin. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **83** (2), 139-141.
- [10] Bora P.S.: Functional properties of native and succinylated lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Food Chem.*, 2002, **77** (2), 171-176.
- [11] Chobert J.M., Briand L., Guéguen J., Popineau Y., Larré C., Haertlé T.: Recent advances in enzymatic modifications of food proteins for improving their functional properties. *Nahrung*, 1996, **40**, 177-182.

- [12] Darewicz M., Dziuba J.: Struktura a właściwości funkcjonalne białek mleka. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2005, **2** (43), 47-60.
- [13] Dickinson E.: Protein adsorption at liquid interfaces and the relationship to foam stability. In: Foams: physics, chemistry and structure - ed. A.J. Wilson Springer, London 1989, pp. 39-53.
- [14] Diniz F.M., Martin A.M.: Effects of the extent of enzymatic hydrolysis on functional properties of shark protein hydrolysate. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 1997, **30**, 266–272.
- [15] El-Adawy T.A.: Functional properties and nutritional quality of acetylated and succinylated mung bean protein isolate. Food Chem., 2000, **70**, 83-91.
- [16] Gbogouri G. A., Linder M., Fanni J., Parmentier M.: Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon by product hydrolysates. J. Food Sci., 2004, **69**, 615–622.
- [17] <http://faostat.fao.org/site/336/DesktopDefault.aspx?PageID=336>.
- [18] Kabirullah M., Wills R.B.H.: Functional properties of acetylated and succinylated sunflower protein isolate. J. Food Technol., 1982, **17**, 235-249.
- [19] Kim (Lee) S.Y., Park P.S.-W., Rhee K.C.: Functional properties of proteolytic enzyme modified soy protein. J. Agric. Food Chem., 1990, **38**, 651-656.
- [20] Kinsella J.E.: Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. Food Chem., 1981, **7**, 273-288.
- [21] Konieczny P., Uchman W., Krysztofiak K., Przyborski J.: Some selected properties of protein preparations made by enzymatic treatments of animal blood red cell fraction. Acta Sci.Pol., Technol. Aliment. **4** (2), 111-118.
- [22] Kuehler C.A., Stine M.C.: Effect of enzymatic hydrolysis on some functional properties of whey protein. J. Food Sci., 1974, **39**, 379-382.
- [23] Lawal O.S., Adebawale K.O.: The acylated protein derivatives of *Canavalia ensiformis* (jack bean): A study of functional characteristics. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. LWT - Food Sci. Technol., 2006, **39**, 918-929.
- [24] Lawal O.S.: Functionality of native and succinylated Lablab bean (*Lablab purpureus*) protein concentrate. Food Hydrocolloids, 2005, **19**, 63-72.
- [25] Lee H.C., Htoon A.K., Uthayakumaran S., Paterson J.L.: Chemical and functional quality of protein isolated from alkaline extraction of Australian lentil cultivars: Matilda and Digger. Food Chem., 2007, **102**, 1199-1207.
- [26] Ochiai K., Kamata Y., Shibasaki K.: Effect of tryptic digestion on emulsifying properties of soy protein. Agric. Biol. Chem., 1982, **46** (4), 91-96.
- [27] Panyam D., Kilara A.: Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. Trends Food Sci. Technol., 1997, **7**, 120-125.
- [28] Pedroche J., Yust M.M., Lqari H., Girón-Calle J., Alaiz M., Vioque J., Millán F.: *Brassica carinata* protein isolates: chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis. Food Chem., 2004, **88**, 337–346.
- [29] Rahali V., Chobert J.M., Haertle T., Guéguen J.: Emulsification of chemical and enzymatic hydrolysates of β -lactoglobulin: characterization of the peptides adsorbed at the interface. Nahrung, 2000, **44**, 89–95.
- [30] Rahali V., Guéguen J.: Foaming characteristics of chemical and enzymatic hydrolysates of bovine β -lactoglobulin. Nahrung, 2000, **44** (5), 309-317.
- [31] Rutkowski A., Kozłowska H.: Preparaty żywnościowe z białka roślinnego. WNT, Warszawa 1981.
- [32] Shukla T.P.: Chemical modification of food protein. In: Food protein deterioration: mechanism and functionality - ed. J.P. Chery. ACS, Washington, DC, 1982, p. 275.
- [33] Sikorski Z.E.: Chemiczne i enzymatyczne modyfikowanie białek. W: Chemiczne i funkcjonalne właściwości składników żywności - pod red. Z.E. Sikorskiego. WNT, Warszawa 1994, s. 278.

- [34] Vioque J., Sánchez-Vioque R., Clemente A., Pedroche J., Millán F.: Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2000, **77** (4), 447-450.
- [35] Xiangzhen K., Huiming Z., Haifeng Q.: Enzymatic preparation and functional properties of wheat gluten hydrolysates. *Food Chem.*, 2007, **101**, 615-620.
- [36] Zaborska Z., Krysztofiak K., Uchman W.: Zastosowanie preparatów białkowych. W: *Substancje dodatkowe w przetwórstwie mięsa - pod red. W. Uchmana*. Wyd. AR Poznań 2001, s. 121-127.

THE PROFILE OF FUNCTIONAL PROPERTIES OF NATIVE AND ACYLATED LENTIL PROTEIN CONCENTRATES AND THEIR TRYPSIN HYDROLYSATES

S u m m a r y

The purpose of this study was to characterize the chosen functional properties of native and acylated protein concentrates received from lentil seeds by acidic or flocculation-acidic coagulation and estimate of effect trypsin hydrolysis on studied proprieties.

From the lentil seeds, proteins were extracted by weak solution of lye and chemically modified with acetic anhydride (acylation) at the same time. Then protein in extract were exuded applying two ways of aggregation of particles: coagulation by souring the extract 2M HCl to the point of the smallest solubility of proteins ($\text{pH} = \text{pI}$) or acidic coagulation joint from the flocculation of proteins using polyelectrolytes 'Magnafloc LT22S' (kationic) or 'Magnafloc LT27' (anionic). Unmodified protein concentrates were prepared analogically, except no acylating agent witch was added during extraction. Protein concentrates were hydrolyzed with trypsin and than desiccated by lyophilisation. Protein content, solubility, water and oil absorption, emulsifying activity, emulsion stability, foam capacity and foam stability were determined in concentrates and their hydrolysates.

Both the modification and the way aggregation of proteins caused changes of individual functional proprieties. Native protein concentrates possessed good ability to water absorption, carrying out from 184 to 234% in dependence from the way precipitation of protein, and oil absorption in range 61–70%. Acylation essentially ($\alpha=0,05$) increased water absorption of concentrates, in largest degree about 136% (in case aggregation of proteins by anionic flocculant) and significantly increased ability to oil absorption (in range 8-15%) in the case of concentrates received with utilization of flocculation. The emulsifying activity and emulsion stability did not change significantly after protein modification, achieving maximum value (42 and 39% respectively), for concentrates received with flocculant 'Magnafloc LT 22S'. These concentrates were also characterizing by ten times better ability to foam creating. The foam capacity remaining preparations was small and achived 2ml in both cases. Acylation improved foam proprieties of lentil proteins, yet the growth of foam stability was observed only in the case proteins coagulated by the acid. The chemical modification caused of highest protein solubility in range above isoelectric point. However solubility of acylated proteins decreased in the strong acid medium. The hydrolysis of studied protein concentrates caused increased their solubility in range pH 3,5-6,5. Hydolysates in comparison with concentrates were characterizing higher water absorption and emulsion stability. The hydrolysis of proteins caused the significant improvement of their foam proprieties.

Key words: functional properties, legume seeds, acylation, protein concentrates and hydrolysates 