بررسی تأثیر کانژوگه کردن با دکستران در شرایط واکنش مایلارد، بر خواص عملکردی و کاربردی پروتئین‌های آب پنیر

فریبا شکاری پور*[1]، محمود امین لاری[2]، مهرداد نیاکوثری[2]، محمدهادی اسکندری[2]

[1]دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[2]دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۲۰

چکیده

در سال‌های اخیر توجه زیادی برای بهبود خواص عملکردی پروتئین‌های آب پنیر (سرم شیر) به وسیله روش‌های مختلف شده است. اصلاح ساختار پروتئین‌ها به وسیله‌ی اصلاحات فیزیکی، آنزیمی یا شیمیایی انجام می‌شود. در این تحقیق نمونه‌های کنسانتره ۸۰٪ پروتئین‌های آب پنیر در شرایط واکنش مایلارد با دکستران ترکیب شدند. میزان گلیکوزیله شدن با روش الکتروفورز تعیین گردید و به وسیله‌ی ژل کروماتوگرافی به تأیید رسید. نتایج نشان داد که بهترین شرایط برای گلیکوزیله کردن پروتئین‌های آب پنیر دمای ۶۰°C، مدت زمان نگهداری ۱۰ روز و نسبت وزنی پروتئین‌های آب پنیر به دکستران ۱ به ۵ بوده است. هم‌چنین پروتئین‌های آب پنیر گلیکوزیله شده حلالیت بهتری در pHهای ۳، ۵، ۷ و ۹ و در دماهای ۲۵، ۴۰ و ۶۰ °C نسبت به نمونه کنترل داشتند. نمونه گلیکوزیله شده پایداری حرارتی بیشتر و هم‌چنین فعالیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون بهتری در مقایسه با نمونه‌ی شاهد و کنترل داشته است.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های آب پنیر، خصوصیات عملکردی، دکستران، گلیکوزیله کردن.

*مسوول مکاتبه: shekaripuor@gmail.com

۱- مقدمه

تولید پروتئین‌های آب پنیر به عنوان یک محصول از کارخانه‌های پنیرسازی خیلی بالاست (۹). برای چندین دهه صنعت لبنیات آب پنیر را به عنوان ضایعات در نظر می‌گرفت و به عنوان غذای دام از آن استفاده می‌شد (۱۰). پروتئین‌های آب پنیر به دلیل خواص تغذیه‌ای و عملکردی‌اشان به خوبی شناخته شده‌اند. این پروتئین‌ها دارای قابلیت حل‌شدن، کف‌کردن، خواص باندشدن، ژل‌شدن و امولسیفایری هستند (۸، ۹، ۱۱، ۱۵). پروتئین‌های آب پنیر به دلیل میزان بالای اسیدهای آمینه ضروری یک منبع بسیار مهم تغذیه‌ای هستند(۱۴). پروتئین‌ها به عنوان امولسیفایرهای ریز قطرات در مقابل توده شدن عمل می‌کنند. خواص امولسیفایری پروتئین‌ها به وسیله شرایط خاصی تضعیف می‌شود و منجر به رسوب و تجمع پروتئین‌ها می‌شود. این عدم پایداری به طور خاص در pHهای نزدیک به نقطه ایزوالکتریک و در غلظت‌های بالای الکترولیت‌ها اتفاق می‌افتد (۲۵، ۲۶). حرارت‌های بالای ۶۰°C نیز باعث ایجاد باندهای درون مولکولی و بیرون مولکولی در پروتئین-های آب پنیر می‌شود. تشکیل این باندها ممکن است منجر به متراکم شدن این پروتئین‌ها گردد. بنابراین به همین دلایل و به علت تمایل دست اندرکاران صنایع غذایی به تولید پروتئین‌های آب پنیر با خصوصیات عملکردی بهتر، اصلاحاتی برای آب پنیر در نظر گرفته شده است (۱۲). یک روش مؤثر برای بهبود خواص عملکردی پروتئین‌ها که نیازی به کاتالیز شیمیایی هم ندارد و به برهمکنش پروتئین‌ها با پلی‌ساکاریدها تکیه دارد واکنش مایلارد است (۱۴). در طی این واکنش کانژوگه شدن یک کربوهیدرات احیا کننده به گروه ε-آمینی لایزین تحت شرایط حرارتی معتدل بدون استفاده از محصولات شیمیایی سمی اتفاق می‌افتد (۲۲). در پایان واکنش ترکیبات کانژوگه با وزن مولکولی بالا که دارای ترکیبی از خواص پروتئین‌های هیدروفوبیک که به طور محکم به سطح ریز قطرات روغن متصل می‌شوند با خواص پلی ساکاریدهای هیدروفیل که به مقدار زیاد در آب محلول هستند، تولید می‌شود (۲).

خواص امولسیفایری کمپلکس‌های کوالانت مالتودکسترین با ایزوله پروتئین‌های آب پنیر تحت دو شرایط اسیدی و غلظت الکترولیت بالا در سیستم‌های حاوی روغن تری‌گلیسرید با زنجیره متوسط و روغن پرتقال توسط Dickinson and Akhtar (۲۰۰۷) بررسی شد. آزمایشات نشان دادند که متصل شدن مالتودکسترین به پروتئین‌های آب پنیر منجر به افزایش مهمی در رفتار امولیسفایری تحت هر دو شرایط می‌شود. اتصال ایزوله پروتئین‌های آب پنیر به زانتان توسط Benichou و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد و مشاهده کردند که پایداری ریزقطرات در مقابل لخته شدن و انعقاد افزایش می‌یابد.

اتصال پروتئین‌های آب پنیر را با دو پلی ساکارید (سدیم آلژینات و λ-کاراگینان) توسط Perez و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد و مشاهده کردند که سیستم‌های مخلوطی پروتئین آب پنیر و سدیم آلژینات در فاز آبی تمایل به توده شدن پروتئین‌ها و جدا شدن پروتئین و سدیم آلژینات داشتند و سیستم‌های مخلوطی پروتئین آب پنیر و λ-کاراگینان دارای برهمکنش‌های قوی در همه غلظت‌ها بودند.

با این وجود اطلاعات کمی در مورد کانژوگه کردن پروتئین‌های آب پنیر با پلی ساکاریدها از راه واکنش مایلارد در دسترس می‌باشد (۱۴). هدف از این پژوهش گلیکوزیله کردن پروتئین‌های آب پنیر با دکستران از طریق واکنش مایلارد و بررسی خواص عملکردی آن و تولید نوشیدنی از این پروتئین‌ها می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد

دکستران (وزن مولکولی ۱۰۵۰۰، Sigma, St Louis, MO, USA)، کنسانتره ۸۰٪ پروتئین‌های آب پنیر، سفادکس G-100.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- گلیکوزیله کردن پروتئین‌های آب پنیر با دکستران

دکستران و کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر در نسبت‌های وزنی مختلف، ۵۰:۵۰، ۵۰:۱۰۰، ۵۰:۱۵۰، ۵۰:۲۰۰ و ۵۰:۲۵۰ در ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH معادل ۷ حل شد. نمونه‌ها سپس لیوفیلیز گردیدند. پودرهای آماده در حضور برماید پتاسیم اشباع (رطوبت نسبی ۷۹٪) در یک دسیکاتور ۶۰°C به مدت یک هفته قرار داده شد (۴،۳). یک نمونه کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر بدون دکستران نیز به عنوان شاهد تحت شرایط مذکور قرار داده شد.

۲-۲-۲- بررسی تأثیر زمان بر میزان کانژوگه شدن

با توجه به مرحله قبل نسبت ۵۰:۲۵۰ بیشترین میزان کانژوگه شدن را نشان داد به این ترتیب دکستران و کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر به نسبت ۵۰:۲۵۰ مخلوط شدند و نمونه ها بعد از ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز خارج شدند و برای الکتروفورز آماده شدند (۴،۳).

۲-۲-۳-الکتروفورز نمونه‌ها

به منظور سنجش میزان اتصال دکستران به کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر از سیستم SDS-PAGE بر طبق روش (۱۹۷۰) Laemmli استفاده شد. نمونه‌ها با غلظت ۲ میلی گرم پروتئین در میلی لیتر آماده شدند. ژل زیرین یک ژل پلی اکرل آمید ۱۰٪ در ۱/۲M تریس بازی (pH= ۸/۸) و ۰/۳٪ SDS بود. ژل رویی حاوی ۰/۳٪ اکریل آمید در ۰/۰۲۵ M تریس بازی (pH ۸/۶) و ۰/۲٪ SDS بود. بافر الکترود حاوی۰/۰۲۵ M تریس بازی، ۰/۱۹۲ M گلایسین, ۰/۱۵٪ SDS در pH ۸/۶ بود. الکتروفورز در جریان ۲۴ میلی آمپرانجام شد و ژل بوسیله کوماسی بریلیانت بلو آر-۲۵۰ در متانول ۵۰٪ رنگ‌آمیزی شد و سپس با اسید استیک ۱۰٪ در متانول ۷٪ رنگبری شد.

۲-۲-٤ -کروماتوگرافی به روش ژل فیلتراسیون

در این روش از رزین سفادکس G-100 برای شناسایی پروتئین‌های آب پنیر گلیکولیزه شده از پروتئین آب پنیر گلیکولیزه نشده استفاده شد (۱۶). ۲۵۰ میلی گرم نمونه در ۱ میلیتر بافر فسفات M ۰/۰۱ (pH =۷) حل شد. محلول مخلوط شد و در سرعت g × ۲۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع فوقانی برای یک ستون سفادکس G-۱۰۰، cm ۱ × ۹۰ بکار برده شد.

۲-۲-۵-مطالعه‌های آنالیتیکی

برای تعیین میزان قند نمونه‌ها از روش اسید سولفوریک فنول با استفاده از گلوکوز به عنوان استاندارد استفاده شد (۷).

۲-۲-۵-۱- حلالیت نمونه‌ها

برای تعیین حلالیت پروتئین‌ها، ابتدا میزان کل پروتئین نمونه‌ها به روش میکروکلدال تعیین گردید (۶). سپس مقادیری از نمونه پروتئینی گلیکولیز شده و طبیعی و حرارت دیده بدون دکستران که حاوی ۱۰ میلی‌گرم پروتئین خالص باشد، در یک میلی‌لیتر بافر استات با pHهای ۳ و ۵ و بافر فسفات با pHهای ۷ و ۹ حل شدند. محلول حاصل در دمای اتاق کاملاً مخلوط شد. سپس با دور ۲۰۰۰۰×g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز بالایی جدا شده و میزان پروتئین آن به روش لوری تعیین شد (۲۱). سپس حلالیت به عنوان میزان پروتئین در مایع فوقانی به میزان کل پروتئین بیان شد. اثر سه دمای ۲۵، ۴۰ و ۶۰ ̊C بر روی حلالیت نمونه‌های پروتئین‌های آب پنیر در pH=۷ (ماکزیمم حلالیت نمونه کانژوگه شده، نتایج) بررسی شد. برای این منظور نمونه‌ها وزن شده و در ۱ میلی‌لیتر بافر در pH=۷ حل شدند. مخلوط به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگه داشته شد. سپس به مدت ۱ ساعت در دماهای ۲۵، ۴۰ و ۶۰ ̊C قرار گرفتند و بعد به مدت ۴۸ ساعت، نمونه‌ها در دمای ۴ ̊C نگه‌داری شدند. سپس در ۲۰۰۰۰×g و در دمای ۴ ̊C به مدت ۱ ساعت سانتریفیوژ شدند. مایع فوقانی جدا شده و برای آزمایش لوری استفاده و سپس حلالیت نمونه‌ها طبق بالا محاسبه شد.

۲-۲-۵-۲ -پایداری حرارتی نمونه‌ها

پایداری حرارتی نمونه‌های کانژوگه و غیر کانژوگه بوسیله اندازه‌گیری کدورت (جذب در ۵۰۰ نانومتر) محلول‌های پروتئین (۷/۴ میلی‌گرم در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار pH=۷/۴) نگهداری شده در ۹۵-۵۰ ̊C تعیین شد. از ۵۰ ̊C به بعد در فاصله زمانی یک دقیقه، یک درجه سانتی‌گراد به دما اضافه شد و جذب نوری نمونه‌های حرارت دیده شده در فاصله زمانی ۵ دقیقه در طول موج ۵۰۰ نانومتر تعیین گردید(۲۶).

۲-۲-۵-۳- فعالیت امولسیون کنندگی نمونه‌ها

فعالیت امولسیون‌کنندگی و پایداری آن براساس روش Pearce,Kinsella(1978) انجام شد. یک میلی‌لیتر روغن ذرت به ۳ میلی‌لیتر نمونه به غلظت ۱۰۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار pH =۷/۴ افزوده شد و کاملاً مخلوط شده و سپس با هموژنایزر با دور ثابت به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط هموژنیزه شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از امولسیون تهیه شده در فواصل زمانی ۰ تا ۱۰ دقیقه در هر دقیقه برداشته شده و ۵ میلی‌لیتر سدیم دو دسیل سولفات ۰/۱ درصد به آن اضافه شد و بلافاصله جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۰۰ نانومتر تعیین شد و منحنی مربوطه براساس میزان جذب و مدت زمان ۱۰ دقیقه رسم شد و میزان جذب در

زمان صفر به عنوان فعالیت امولسیون‌کنندگی در نظر گرفته شد. پایداری امولسیون تشکیل شده تیز با تعیین مدت زمانی که طول می‌کشد تا میزان کدورت به نصف کاهش یابد محاسبه شد.

۲-۲-٦- تجزیه آماری داده‌ها

در این تحقیق از طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد و کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و مقایسه‌ی میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن و برنامه نرم‌افزاری SPSS 16.0 صورت گرفت.

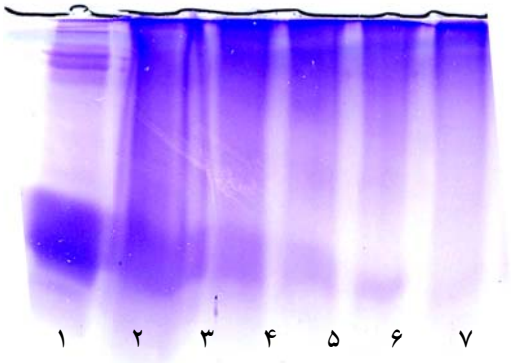
۳- نتایج و بحث

۳-۱- تشکیل کانژوگه‌های پروتئین-دکستران

نتایج حاصل از ژل الکتروفورز نمونه‌های پروتئین‌های آب پنیر در شکل ۱ حاکی از آن است که دکستران تحت واکنش مایلارد، با پیوند کووالانسی به پروتئین‌های آب پنیر متصل شده است که با گسترده شدن باندهای پروتئین مربوطه در الکتروفروگرام همراه می‌باشد. با افزایش نسبت دکستران به پروتئین در محیط تعداد مول دکستران اتصال یافته به پروتئین افزایش می‌یابد و حرکت الکتروفورتیکی پروتئین کاهش می‌یابد و در نهایت گستردگی باندهای مشاهده شده افزایش می‌یابد. بیشترین میزان گلیکوزیلاسیون در نسبت ۱:۵ مشاهده شد نتایج مشابهی نیز توسط Choi و همکاران (۲۰۰۵) در ترکیب اوآلبومین-دکستران و Alahdad و همکاران (۲۰۰۹) در ترکیب لیزوزیم-دکستران سولفات گزارش شده است. شکل ۲ الگوی الکتروفورزی بر روی ژل آکریل آمید ۱۰ درصد مربوط به نمونه‌های پروتئین‌های آب پنیر اصلاح شده با دکستران به نسبت وزنی ۵ میلی گرم دکستران به ۱ میلی گرم پروتئین‌های آب پنیر در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ روز در مقایسه با پروتئین‌های آب پنیر طبیعی و پروتئین‌های آب پنیر حرارت دیده را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود با افزایش زمان حرارت‌دهی از صفر تا ۱۰ روز باندها پررنگ‌تر و پهن تر می‌شوند که بدلیل اتصال بیشتر دکستران به پروتئین می‌باشد. بیشترین میزان گلیکوزیلاسیون در زمان ۱۰ روز مشاهده شد. نتایج مشابهی توسط Miralles و همکاران (۲۰۰۷) و Aminlari و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شد.

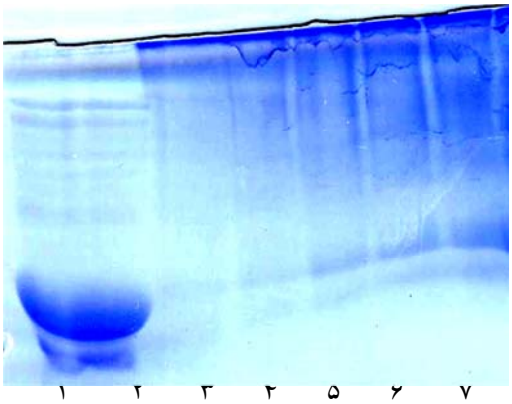
شکل ۳ نتایج حاصل از کروماتوگرافی نمونه پروتئین‌های آب پنیر طبیعی و گلیکوزیله شده با دکستران به نسبت مولی ۱:۵ را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود پروتئین‌های آب پنیر اصلاح نشده سه پیک را نشان می‌دهند درحالیکه با اعمال شرایط یکسان از لحاظ نوع، غلظت و pH بافر، ارتفاع و قطر ستون، نمونه اصلاح شده با دکستران یک پیک را نشان می‌دهد که این حاکی از کمپلکس‌های با وزن مولکولی بالای پروتئین-دکستران می‌باشد. همچنین ظاهر نشدن دو پیک دیگر تأییدی است بر اینکه پروتئین‌های این دو پیک نیز می‌توانند در تشکیل کمپلکس‌ها شرکت کرده باشند.

نتایج نشان داد که میزان ۰/۱ مول دکستران به هر مول پروتئین‌های آب پنیر وصل شده است.



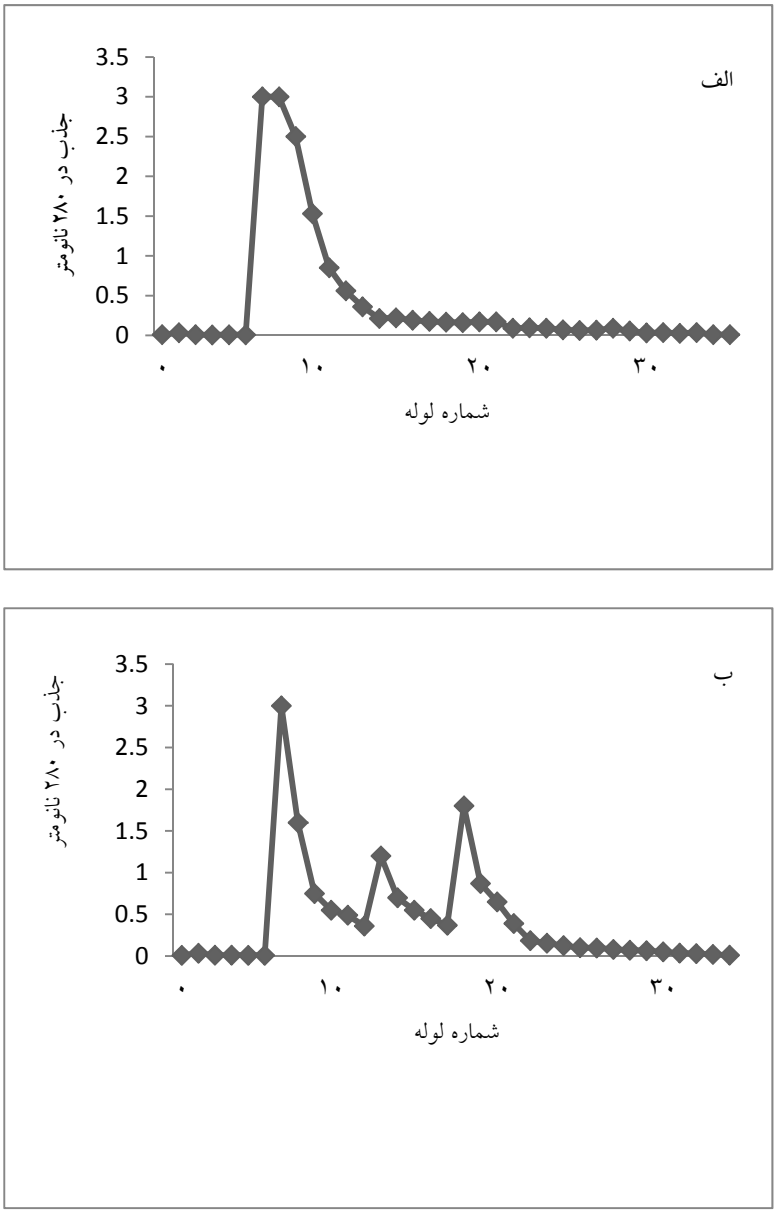
شکل ۱- الگوی الکتروفورز پروتئین‌های آب پنیر گلیکوزیله شده با دکستران بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد با نسبت‌های وزنی مختلف

(۱: پروتئین‌های آب پنیر طبیعی (بدون دکستران)، ۲-۶: بترتیب پروتئین‌های آب پنیراصلاح شده به نسبت وزنی پروتئین‌های آب پنیر/دکستران۱:۱، ۲:۱، ۳:۱، ۴:۱ و ۵:۱ .رطوبت ۷۹٪، دمای C ۶۰، یک هفته).



شکل ۲- الگوی الکتروفورز پروتئین‌های آب پنیر گلیکوزیله شده با دکستران به نسبت وزنی ۱:۵ بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۰ درصد در زمان‌های مختلف

(۱: پروتئین‌های آب پنیر طبیعی (بدون دکستران)، ۲: پروتئین‌های آب پنیر حرارت دیده (بدون دکستران) ۳: پروتئین آب پنیر اصلاح شده به مدت ۲ روز، ۴: ۴ روز، ۵: ۶، ۶: ۸ روز، ۷: ۱۰ روز).



شکل ۳- کروماتوگرام حاصل از کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون G-۱۰۰ پروتئین‌های آب پنیرطبیعی (الف) و پروتئین‌های آب پنیر کانژوگه شده (ب)

جدول ۱- تأثیر pH بر حلالیت نمونه‌های پروتئین‌های آب پنیر گلیوزیله شده با دکستران در دمای ۲۵°C

نمونه	درصد حلالیت نمونه در دمای ۲۵°C			
	pH ۳	pH ۵	pH ۷	pH ۹
پروتئین‌های آب پنیر طبیعی	۹۳/۱۳^{bC}	۸۲/۴۷^{aC}	۹۵/۴^{bC}	۹۱/۲۷^{aC}
پروتئین‌های آب پنیر حرارت دیده بدون دکستران	۵۱/۲۳^{aA}	۴۳/۰۳^{aA}	۶۰/۴^{cA}	۵۸/۹^{cA}
پروتئین‌های آب پنیر گلیکوزیله شده با دکستران به نسبت وزنی ۱ به ۵	۶۷/۱۳^{aB}	۶۷/۱^{aB}	۷۳/۳۳^{bB}	۶۸^{aB}

۳-۲-تأثیر pH و دما بر حلالیت

جدول ۱ تـأثیر pHهـای مختلـف (۳، ۵، ۷ و ۹) را بـر حلالیـت نمونه‌های کنسانتره پروتئین‌های آب پنیر طبیعـی، حـرارت دیـده و گلیکوزیله شده با دکستران به نسبت وزنی ۱ به ۵ را نشان مـی‌دهـد. مشاهده می‌شود که پروتئین‌های آب پنیر طبیعـی در تمـامی pHهـا حلالیـت بـالایی دارنـد و در pH=۵ دارای کمتـرین حلالیـت می‌باشند. با حرارت دهی پروتئین‌های آب پنیر به تنهایی، بـه مـدت ۱۰ روز در دمای ۶۰°C، حلالیت نمونـه در تمـامی pHهـا کـاهش می‌یابد. با گلیکوزیله نمودن پروتئین‌های آب پنیر، مشاهده می‌شود که حلالیت در تمامی pHها نسبت به نمونه کنترل بطور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) افزایش می‌یابد که اثر حفـاظتی گلیکوزیلـه کـردن بـر حلالیـت را نشـان مـی‌دهـد. جـدول ۲ اثـر دماهـای مختلـف را بـر حلالیـت پـروتئین‌هـای آب پنیـر گلیکوزیلـه شـده بـا دکسـتران در pH=۷ نشان می‌دهـد. انتخـاب pH=۷ بـه ایـن دلیـل مـی‌باشـد کـه ماکزیمم حلالیت پروتئین‌های گلیکوزیله شده در این pH مشاهده شد. مشاهده می‌شود که در pH= ۷ حلالیت نمونه گلیکوزیله شده در سـه دمـای ۲۵، ۴۰ و ۶۰°C بـه طـور معنـی‌داری ($p < ۰/۰۵$) از نمونه کنترل بالاتر می‌باشد. همچنین مشاهده می‌شـود کـه حلالیـت نمونه پروتئین‌های آب پنیر طبیعی وکانژوگه وکنترل با افزایش دمـا کاهش می‌یابد. در واقع با اتصال کوولان پلی‌ساکارید بـه پـروتئین، پلی ساکاریدها باعث ایجاد ممانعت فضـایی شـده و از تـوده شـدن پروتئین‌های باز شده جلـوگیری کـرده و در نتیجـه حلالیـت بهبـود می‌یابد (۲۴ و۲۷).

۳-۳-تأثیر گلیکوزیله نمودن بر پایداری حرارتی

در شکل ۴ مشاهده می‌شود کدورت محلول پـروتئین طبیعـی و حرارت دیده در دماهای بالای ۶۰°C به سرعت افـزایش مـی‌یابـد. روند افزایش کدورت بـا افـزایش دمـا از ۵۰ تـا ۹۰°C در پـروتئین گلیکوزیله شده نسبت به پروتئین بدون دکستران کمتر می‌باشد. در واقع گلیکوپروتئین‌هـا نسـبت بـه پـروتئین‌هـا تمایـل کمتـری بـرای اتصـال بـه یکـدیگر در اثـر حـرارت دارنـد. ایـن مسـئله مربـوط بـه گروههای کربوهیدراتی پـروتئین مـی‌باشـد کـه هماننـد یـک لایـه حفاظتی از بهم چسبیدن پروتئین‌های باز شده در طی حـرارت‌دهـی جلوگیری مـی‌نمایـد. نتـایج مشـابهی توسـط Hattori و همکـاران (۱۹۹۴) در ترکیب لیزوزیم با کربوکسی متیـل دکسـتران، Kato و همکاران (۱۹۹۵) در ترکیب اوآلبومین-دکسـتران و Aminlari و همکاران (۲۰۰۵) در ترکیب لیزوزیم-دکستران به دست آمد.

۳-٤- تأثیر گلیکوزیله نمودن بر ویژگی‌هـای امولسـیون کنندگی

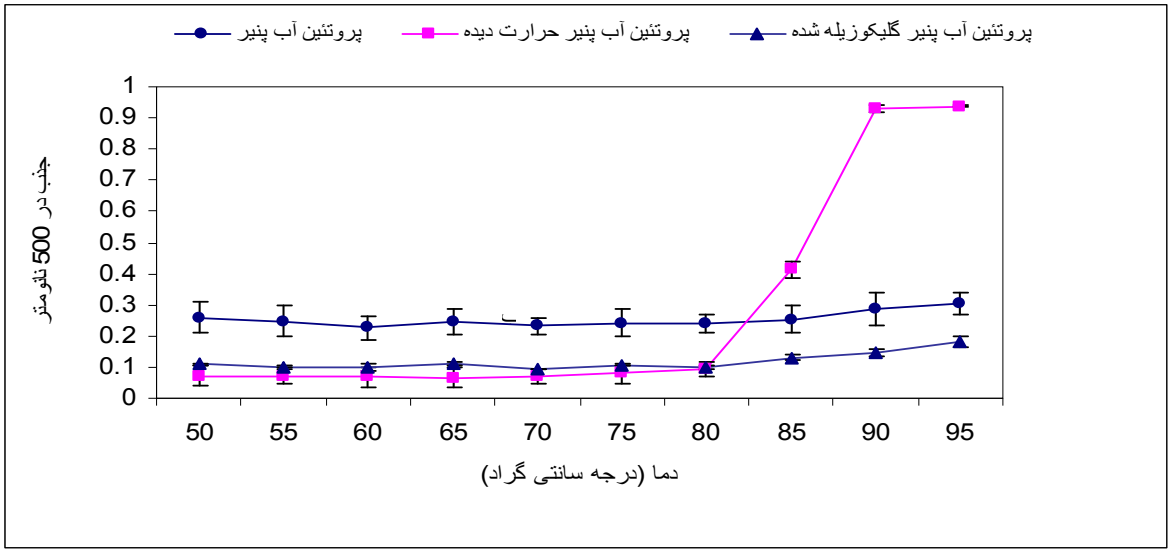
نتایج به دست آمـده از فعالیـت امولسـیون کننـدگی و پایـداری امولسـیون حاصـل از پـروتئین‌هـای آب پنیـر طبیعـی، کنتـرل و پروتئین‌های آب پنیر اصلاح شده در جدول ۳ حاکی از آنست کـه اتصال کووالانسی دکستران به پروتئین‌های آب پنیـر بـه طـور قابـل توجهی در بهبود فعالیت امولسیون کننـدگی و پایـداری امولسـیون پروتئین مؤثر می‌باشد.

جدول ۲- تأثیر دما برحلالیت نمونه‌های پروتئین‌های آب پنیر گلیکوزیله شده با دکستران در pH =۷

نمونه	درصد حلالیت نمونه در pH ۷		
	۲۵°C	۴۰°C	۶۰°C
پروتئین‌های آب پنیر طبیعی	۹۳/۵۸^{cC}	۸۵/۱۹^{bC}	۷۷/۱۲^{aC}
پروتئین‌های آب پنیر حرارت دیده بدون دکستران	۶۰/۹^{bA}	۵۶/۸^{bA}	۴۵/۸۳^{aA}
پروتئین‌های آب پنیر گلیکوزیله شده با دکستران به نسبت وزنی ۱ به ۵	۷۴/۵۴^{bB}	۷۲/۶۹^{bB}	۶۵/۸۹^{aB}

جدول ۳ - فعالیت امولسیون کنندگی و پایداری امولسیون تشکیل شده در نمونه‌های پروتئین‌های آب پنیر گلیکوزیله شده با دکستران

نمونه	فعالیت امولسیون کنندگی	پایداری امولسیون (دقیقه)
آب پنیر معمولی	۰/۰۳۳^{b}	۸/۰۰^{b}
آب پنیر حرارت دیده بدون دکستران	۰/۰۱۶^{a}	۶/۵۰^{a}
آب پنیر گلیکوزیله شده با دکستران به نسبت وزنی ۱ به ۵	۰/۰۷۵^{c}	۹/۰۸^{c}



شکل ٤- تأثیر گلیکوزیله نمودن بر پایداری حرارتی پروتئین‌های آب پنیر

در گلیکوزیله نمودن پروتئین با دکستران نیمه پروتئینی کانژوگه، مولکول را در فصل مشترک آب-روغن محکم می‌کند و سپس زنجیره پلی‌ساکاریدی متصل یک لایه پایدار اطراف قطرات روغن ایجاد می‌کند که از تجمع یافتن آن‌ها جلوگیری می‌کند. نتایج مشابهی نیز توسط Wooster و همکاران (۲۰۰۶) در ترکیب بتالاکتوگلوبولین ـ دکستران و Akhtar و Dickinson (۲۰۰۷) در کانژوگه‌های ایزوله پروتئین‌های آب پنیر با مالتودکسترین و Akhtar و Dickinson (۲۰۰۳) در کانژوگه‌های ایزوله پروتئین‌های آب پنیر و دکستران در شرایط خاص غلظت بالای نمک و pH اسیدی حاصل گردید.

۵- منابع

1. Akhtar, M., Dickinson, E. 2003. Emulsifing properties of whey protein-dextran conjugates at low pH and different salt concentration. Colloids and surfaces B: *Biointerfaces*, 31:125-132.
2. Akhtar, M., Dickinson, E. 2007. Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifing agents: An alternative to gum Arabic. *Food Hydrocolloids*, 21:, 607-616.
3. Alahdad, Z., Ramezani, R., Aminlari, M. and Majzoobi, M. 2003. Preparation and properties of Dextran Sulfate-lysozyme conjugate. *J. Agric. Food Chem,* 57: 6449-6454.
4. Aminlari, M., Ramezani, R. and Jadidi, F. 2005. Effect of Maillard-based conjugation with dextran on the functional properties of lysozyme and casein. *J Sci Food Agric*, 85: 2617–2624.
5. A.O.A.C. 2000. Kjldahl method. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17 th edition, Washington DC. US. Method 39.1.15, Alternative (coper-based catalyst).
6. Choi, S.J., Kim, H.J., Park, K.H., Moon, T.W. 2005. Molecular characteristics of ovalbumin–dextran conjugates formed through the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 92: 93–99.
7. Dubois, M., Gillis, K.A., Hamilton, J.K, Rebers, P.A and Smith, F. 1959. Colorimetric method for determination of sugar and related substance. *Anal.Chem*, 28(3): 350-356.
8. Ercelebi, E.A., Ibanoglu, E. 2007. Influence of hydocolloids on phase separation and emulsion

properties of whey protein isolate. *Jouranl of Food Engineering*, 80: 454-459.
9. Fox, P.F., MscWeeney, P.L.H. 2003. Advanced dairy chemistry Part A. New York, Volume 1, pp. 18-22, 337-340 .
10. Fox, P.F., MscWeeney, P.L.H. 2003. Advanced dairy chemistry Part B. New York, Volume 1, pp. 623-625, 1242-1243, 1261-1281.
11. Gauthier, F., Bouhallab, S., Renaul, A. 2001. Modification of bovine β-lacoglobulin by glycation in a powdered state or in aqueos solution: adsorption at the air-water interface. Colloids and Surfaces B; *Biointerfaces*, 21: 37-45.
12. Hattori, M., Imamura, S., Nagasawa, K. and Takahashi, K. 1994. Functional changes of lysozyme by conjugating with carboxymethyl dextran. *Biosci Biotech Biochem*, 58: 174–177.
13. Jimenes-Castano, L., Villiamiel, M., Lopez-fandino, R. 2007. Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass. *Food Hydrocolloids*, 21: 433-443.
14. Jimenez-Castano, L., Lopez-Fandino, R., Olana, A., Villamiel, M. 2005. Study on β-lacoglobulin glycosylation with dextran: effect on solubility and heat stability. *Food Chemistry*, 93: 689-695.
15. Janson, J.C. 1998. Protein Purification, Principle, High Resolution Methods and Application. 2nd New York. WILEY-LISS, 79-210.
16. Kato, A. 2000. Review Industrial Applications of Maillard-Type Protein-Polysaccharide Conjugates. *Food Sci. Technol*, 8(3): 193–199.
17. Kato, Y., Takayoshi, A., Kato, N., Nakamura, R. and Matsuda, T. 1995. Modification of ovalbumin with glucose , 6-phosphate by amino-carbonyl reaction. Improvement of protein heat stability and emulsifying activity. *J Agric Food Chem*, 43: 301–305.
18. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. T4. *Nature*, 227: 680-685.
19. Lawhon, J. T., Cater, C. M., & Mattil, K. F. 1972. A comparative study of the whipping potential of an extract from several oilseed flours. *Cereal Science Today*, 17 : 240–246.
20. Lowry, P.H., Rosebrough, N.G. and Randall, R.J. 1952. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Bio. Chem*, 193: 265-275.
21. Medrano, A., Abirached, C., Panizzolo, L., Moyna, P., Anon, M.C. 2009. The effect of glycosylation on foam and structural properties of β-lactoglobulin. Food Chemistry, 113: 127-133.
22. Miller, G.L. 1992. protein determination for large numbers of samples. *Anal. Chem*, 31: 964-974.
23. Miralles, B., Martinez-Rodrigues, A., Santiago, A., Lagemaat, J., Heras, A. 2007. The occurrence of a Maillard-type protein-polysaccharide reaction between β-lacoglobulin and chitosan. *Food Chemistry*, 1000: 1071-1075.
24. Mulsow, B.B., Jacob, M., Henle, T. 2009. Studies on the impact of glycosylation on the denaturation of whey proteins. *Eur Food Res Technol,* 228:. 643-649.
25. Nakamura, S., Kobayashi, K. and Kato, A. 1994. Role of positive charge of lysozyme in the excellent emulsifying properties of maillard-type lysozyme-polysaccharide conjugates. *J. Agric. Food. Chem,* 42: 2688-2691.
26. Pearce, K.M. and Kinsella, J.E. 1978. Emulsifying properties of proteins: Evalution of a turbidimeric technique. *J. Agric. Food. Chem*, 26: 716-723.
27. Pelegrine, D.H.G., and Gasparetto, C.A. 2004. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 38: 77-80
28. Perez, A.A, Carrara, C.R., Sanchez, C.C., Redriguez Patino, J.M., Santiago, L.G. 2009. Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. *Food Chemistry*, 116: 104-113.
29. Wooster, T.J., Augustin, M.A. 2006. β-lactoglobulin-dextran Maillard conjugates: Their effect on interfacial thickness and emulsion stability. *Journal of Colloid and Interface Science,* 303: 564-572