

Bożenna KAWALEC-PIETRENKO, Karolina KUCHARSKA, Iwona HOŁOWACZ

e-mail: kawalec@chem.pg.gda.pl

Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, Gdańsk

Rola polisacharydów w separacji pianowej białek serwatkowych

Wstęp

Separacja pianowa jest jedną z metod wykorzystujących właściwości powierzchni międzyfazowej do wydzielania składników z roztworów [Bhattacharjee i in., 1997]. Składnik flotowany ulega selektywnej adsorpcji na powierzchni pęcherzy gazu wznoszących się przez warstwę cieczy w kolumnie barbotażowej i jest transportowany do piany tworzącej się nad powierzchnią lustra cieczy [Parnell i in., 2002]. W wyniku kondensacji piany uzyskuje się roztwór lub zawiesinę, w których stężenie flotowanego składnika jest znacznie większe niż w surówce.

W niniejszych badaniach rozważano możliwość zastosowania polisacharydów pochodzenia naturalnego: gumy arabskiej, gumy ksantanowej i gumy *karaya* w separacji pianowej białek serwatkowych, które obok laktozy i substancji mineralnych są głównymi składnikami serwatki. Badania są tym bardziej interesujące, że pełniejsze wykorzystanie składników mleka poprzez odzyskiwanie białka z serwatki odpadowej przełoży się jednocześnie na wzrost zysku ze sprzedaży i zmniejszenie obciążenia środowiska ściekami.

Powierzchnia międzyfazowa gaz – ciecz stanowi istotne ograniczenie dla wydajności separacji pianowej, ponieważ flotowane cząsteczki lub aglomeraty cząsteczek o budowie amfifilowej ulegają adsorpcji na powierzchni cieczy – pęcherz gazu [Myers, 2003]. Zwiększeniu efektywności separacji pianowej białka sprzyjają: rozbudowanie międzyfazowej powierzchni adsorpcyjnej oraz wzrost liczby cząsteczek białka w aglomeratach ulegających adsorpcji na powierzchni pęcherzy. Wprowadzenie do roztworów białek serwatkowych polisacharydów ma na celu stworzenie warunków odpowiednich do powstawania takich aglomeratów.

Guma arabska, E 414, jest stosowana w przemyśle spożywczym, jako zagęstnik, substancja żelująca, stabilizator, emulgator, nośnik i substancja do stosowania na powierzchnię. Zdolności powierzchniowe tego polisacharydu przypisuje się białkowej części cząsteczki, stanowiącej niecałe 2% ogólnego składu chemicznego. Guma arabska zdolna jest do asocjacji z białkami, wynikającej z oddziaływań elektrostatycznych, co w konsekwencji prowadzi do kompleksowania. Ponadto silne związanie białka z polisacharydem powoduje stabilizację steryczną cząsteczki aglomeratu. Guma arabska jest najczęściej używanym biopolimerowym emulgatorem w przemyśle spożywczym. Jako amfifilowy polisacharyd, podobnie jak białka, wpływa na właściwości powierzchniowe produktu, w którego skład wchodzi.

Guma ksantanowa, E 415, jest stosowana w produktach spożywczych, jako zagęstnik, substancja żelująca, stabilizator, substancja do stosowania na powierzchnię i nośnik. Jako biopolimer wchodzi obok białek w skład wielu produktów żywnościowych, zapewniając im odpowiednie właściwości reologiczne. [Kobori i in. 2009] stwierdzili występowanie kompleksów gumy ksantanowej z białkami strukturotwórczymi, w tym z kazeinianem sodu pochodzenia mlecznego. Autorzy dowiedli, że wykazujący właściwości hydrofobowe kazeinian sodu, wiąże się z cząsteczkami gumy ksantanowej w *pH* powyżej 4,2, tworząc agregaty wzdłuż włókna struktury gumy ksantanowej. W punkcie izoelektrycznym agregaty te osiągną największy rozmiar. Występujące w cząsteczce gumy ksantanowej ugrupowania karboksylowe, wiążą się z grupami α - i ϵ -aminowymi występującymi w cząsteczkach białek. Ponadto pomiędzy tego typu kwaśnym heteropolisacharydem i białkiem występują wiązania wodorowe, których siła zależna jest od aktualnego ładunku cząsteczki białka, bezpośrednio zależnego od odczynu środowiska.

Powstające aglomeraty są stabilizowane poprzez oddziaływania elektrostatyczne i oczekuje się, że ich obecność wpłynie korzystnie na wyflotowanie i wzbogacenie białka.

W badaniach własnych stwierdzono, że obecność gumy *karaya* powoduje spadek wielkości pęcherzy, a zatem powoduje wzrost powierzchni międzyfazowej w porównaniu z wielkością pęcherzy powstających w roztworze białka bez gumy *karaya*.

Aparatura i przebieg pomiarów

Badania separacji pianowej prowadzono w ciągłej współprądowej kolumnie barbotażowej. Ciecz doprowadzano do kolumny za pomocą pompy perystaltycznej Masterflex M/S 7519-10 (Cole Parmer), wyposażonej w dwie kasetki MFlex 54321, zaś gaz przez spiek szklany G4 zamocowany w dnie kolumny. Ciecz wyczerpaną odprowadzano przez króciec zamocowany 0,06 m poniżej lustra cieczy, tj. na wysokości 1,09 m nad spiekem. Odbiór cieczy wyczerpanej znajduje się nieco poniżej lustra cieczy, aby jej odpływ nie zaburzał procesu ociekania piany. Piana odprowadzana jest do naczynia analitycznego, gdzie samoczynnie kondensuje. Przez króćce zamontowane na wysokościach 0,04; 0,23; 0,41; 0,57; 0,705; 0,86; 1,09 m nad spiekem pobierane są porcje roztworu, dla których wykorzystując znajomość prędkości przepływu cieczy wyznaczono czas flotacji.

Zawartość białka w uzyskanych z procesu separacji pianowej próbkach i w kondensacie piany badano metodą Lowry'ego. Metoda ta pozwala na oznaczenie białka już w stężeniu $1 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ wobec krzywej wzorcowej otrzymanej dla warunków realizowania procesu.

Metodyka obliczeń

Efektywność separacji pianowej białek serwatkowych z wymienionymi polisacharydami zmierzono za pomocą stopnia wyflotowania R_τ w cieczy wyczerpanej i współczynnika wzbogacenia E_0 w kondensacie piany.

$$R_\tau = \frac{C_0 - C_\tau}{C_0} \quad (1)$$

$$E_0 = \frac{C_k}{C_0} \quad (2)$$

gdzie:

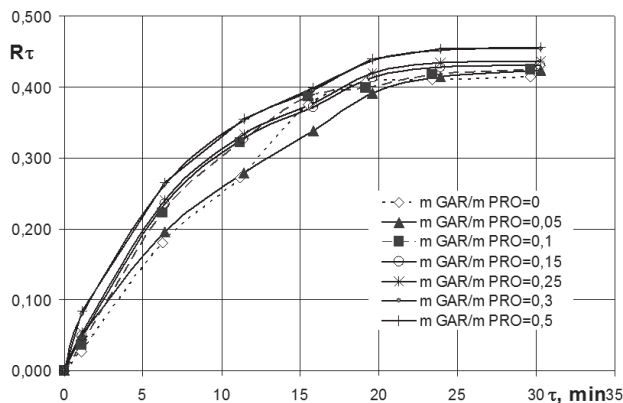
- C_k – stężenie białka w kondensacie piany [$\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]
- C_τ – stężenie białka w roztworze po czasie τ [$\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]
- C_0 – stężenie białka w surówce [$\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$]
- E_0 – współczynnik wzbogacenia [-]
- R_τ – stopień wyflotowania po czasie τ [-]

Dyskusja wyników

Badania współprądowej separacji pianowej białek serwatkowych z polisacharydami przeprowadzono dla prędkości przepływu powietrza równej $0,0127 \text{ m s}^{-1}$ i stężenia wyjściowego białka serwatkowego w wysokości 18 g m^{-3} . Ponieważ we wcześniejszych badaniach stwierdzono, że punkt izoelektryczny mieszaniny białek serwatkowych znajduje się w okolicy *pH* 5,8, tę wartość *pH* zastosowano w badaniach separacji z dodatkiem polisacharydów.

Stężenia polisacharydów wprowadzonych do roztworów białek serwatkowych wyrażone są, jako względne ułamki masowe, a badania wykonano w zakresie $0,05 \div 0,5 \text{ kg}$ polisacharydu na kg białka.

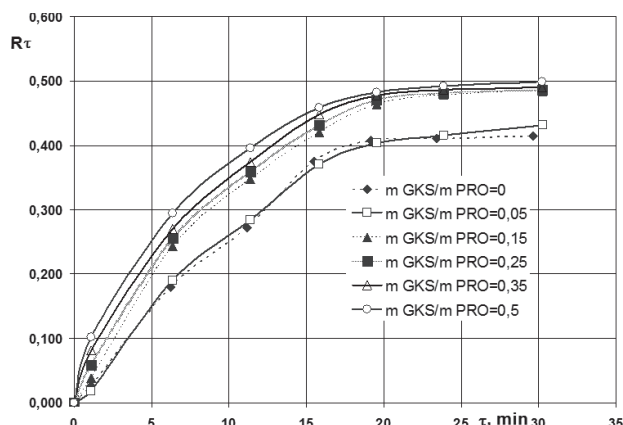
Na rys. 1 przedstawiono przebieg separacji pianowej białek serwatkowych z dodatkiem gumy arabskiej. Analiza uzyskanych wyników pozwoliła zaobserwować ok. 10% wzrost stopnia wyflotowania białka ze wzrostem udziału masowego gumy arabskiej od 0,05 do 0,3 $\text{kg}_{\text{GAR}}/\text{kg}_{\text{PRO}}$. Ponadto stwierdzono, że zwiększenie udziału masowego do 0,5 $\text{kg}_{\text{GAR}}/\text{kg}_{\text{PRO}}$ nie spowodowało dalszej zmiany wyników prowadzonego procesu.



Rys. 1. Przebieg separacji pianowej białek serwatkowych w zależności od stosunku masy gumy arabskiej i białka serwatkowego

Można stwierdzić, że zastosowany dodatek gumy arabskiej wpływa nieznacznie na właściwości powierzchniowe, a występowanie oddziaływań elektrostatycznych pomiędzy gumą arabską i cząsteczkami białek nieznacznie poprawia wyflotowanie białka z roztworu.

Analiza przebiegu separacji pianowej z dodatkiem gumy ksantanowej (Rys. 2) pozwoliła zaobserwować ok. 18% wzrost stopnia wyflotowania białka ze wzrostem udziału masowego gumy ksantanowej od 0,05 do 0,25 kg_{GKS}/kg_{PRO}. Zwiększanie udziału masowego do 0,35 i 0,5 kg_{GKS}/kg_{PRO} nie spowodowało dalszego wzrostu stopnia wyflotowania.



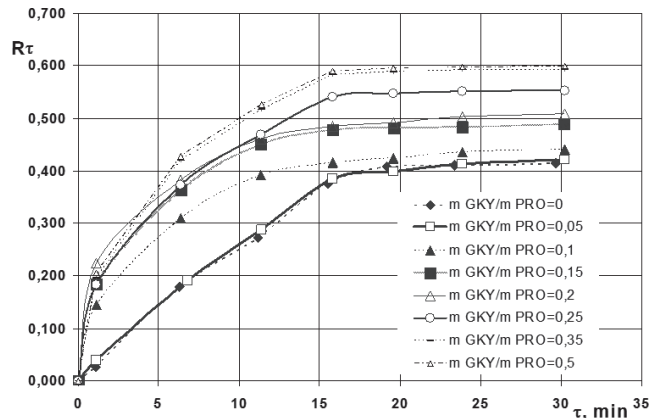
Rys. 2. Przebieg separacji pianowej białek serwatkowych w zależności od stosunku masy gumy ksantanowej i białka serwatkowego

Warto podkreślić, że kompleksy gumy ksantanowej z białkiem charakteryzują się większą odpornością na zmieniające się warunki środowiska, w tym pH. Możliwe jest zatem polepszenie wyników procesu separacji pianowej białek serwatkowych poprzez dodatek gumy ksantanowej, bez kontroli pH, nawet w serumie kwaśnym.

Na rys. 3 przedstawiono przebieg separacji pianowej białek serwatkowych z dodatkiem gumy karaya. Analiza uzyskanych wyników przebiegu separacji pianowej z dodatkiem gumy karaya pozwoliła zaobserwować ok. 40% wzrost stopnia wyflotowania białka ze wzrostem udziału masowego gumy karaya od 0,05 do 0,35 kg_{GKY}/kg_{PRO}. Można stwierdzić, że obecność gumy karaya w roztworze białek serwatkowych działa bardzo korzystnie w kierunku zwiększenia stopnia wyflotowania. Ponieważ jej pozyskiwanie ogranicza się jedynie do izolacji i oczyszczania z materiału biologicznego, jest to środek tani i może być otrzymywany na dużą skalę.

W przypadku wszystkich badanych polisacharydów, już dla niewysokich względnych stężeń masowych, do ok. 0,3 kg/kg, uzyskano poprawę efektywności separacji pianowej białek serwatkowych. Jest to sytuacja korzystna, gdyż zwiększenie stopnia wyflotowania nie wymaga wprowadzania bardzo dużych ilości substancji dodatkowych, które pozostając w roztworze dostarczają dodatkowych problemów wynikających z potrzeby ich usunięcia.

W tab. 1 zestawiono współczynniki wzbogacenia i objętości piany otrzymane w trakcie prowadzonych procesów.



Rys. 3. Przebieg separacji pianowej białek serwatkowych w zależności od stosunku masy gumy karaya i białka serwatkowego

Tab. 1. Współczynniki wzbogacenia i objętość piany otrzymanej w separacji pianowej białek serwatkowych z dodatkiem polisacharydów

Typ roztworu	Stężenie, kg/kg	E_{ρ} -	σ -	V_F , cm ³
m_{GAR}/m_{PRO}	0,05	2,055	0,111	178
	0,1	2,069	0,031	193
	0,15	2,155	0,163	199
	0,25	2,191	0,367	205
	0,3	2,243	0,094	212
	0,5	2,311	0,012	221
m_{GKS}/m_{PRO}	0,05	2,211	0,006	176
	0,15	3,627	0,062	184
	0,25	3,422	0,081	190
	0,35	2,897	0,031	190
	0,5	2,605	0,036	201
m_{GKY}/m_{PRO}	0,05	2,061	0,018	221
	0,1	2,290	0,044	191
	0,15	3,206	0,086	194
	0,2	3,246	0,103	196
	0,25	3,203	0,010	192
	0,35	3,089	0,107	190
	0,5	2,928	0,085	188

Porównując wzbogacenie z uzyskanym w analogicznych warunkach dla roztworów czystych białek serwatkowych, tj $E_0 = 1,887 \pm 0,198$, $V_F = 181 \text{ cm}^3$, można zaobserwować, że dla wszystkich zastosowanych stężeń polisacharydów zanotowano wzrost współczynnika wzbogacenia.

Ponieważ nie zaobserwowano znacznych różnic w objętości kondensatu piany V_F , uzyskanego w różnych procesach, można stwierdzić, że wzrost współczynnika wzbogacenia koresponduje ze wzrostem stopnia wyflotowania.

Wnioski

Badania separacji pianowej białek serwatkowych wykazały, że efektywność separacji pianowej z gumą arabską, ksantanową i karaya, zmierzona za pomocą stopnia wyflotowania i współczynnika wzbogacenia, wzrasta w porównaniu z separacją pianową prowadzoną w roztworach wodnych czystych białek serwatkowych. Substancje te mogą być z powodzeniem stosowane w celu izolacji białek z serum.

LITERATURA

- Bhattacharjee S., Kumar R., Gandhi K.S., 1997. Prediction of separation factor in foam separation of proteins. *Chem. Eng. Sci.*, **52**, 4625-4636. DOI:10.1016/S0009-2509(97)00304-7
- Kobori T., Matsumoto A., Sugiyama S., 2009. pH-Dependent interaction between sodium caseinate and xanthan gum. *Carbohydr. Polym.*, **75**, 719-723. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.10.008
- Myers D., 2003. *Surfactant Science & Technology*, 3rd Ed., John Wiley&Sons Inc., London.
- Pernell C.W., Foegeding E.A., Luck P.J., Davis J.P., 2002. Properties of whey and egg white protein foams. *Coll. Surf.*, **204**, 9-21. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2004.03.003