

KRZYSZTOF SURÓWKA, IRENEUSZ MACIEJASZEK

## ODDZIAŁYWANIA BIAŁKOWO-POLISACHARYDOWE I ICH PRAKTYCZNE WYKORZYSTANIE

### Streszczenie

Prezentowano charakterystykę oddziaływań między białkami i polisacharydami, które wynikają ze specyficznej budowy tych biopolimerów. Omówiono wymagania dotyczące substratów oraz scharakteryzowano warunki, jakie powinny zostać spełnione, aby możliwe było powstawanie kompleksów między nimi. Określono ponadto parametry występowania termodynamicznej niekompatybilności roztworów białek i polisacharydów. W dalszej części pracy podano praktyczne implikacje, jakie potencjalnie wynikają z oddziaływań tych makrocząsteczek. Opisano również konkretne przykłady zastosowań przemysłowych, wskazując przy tym na to, że oprócz aplikacji tradycyjnych w przemyśle spożywczym coraz częściej pojawiają się nowe niespożywcze zastosowania w obszarach biotechnologii, ochrony środowiska, kosmetyce i technologii materiałów biodegradowalnych.

**Słowa kluczowe:** białka, polisacharydy, biopolimery, interakcje, właściwości funkcjonalne

### Wstęp

Produkty spożywcze to na ogół złożone heterogeniczne systemy zawierające substancje o bardzo zróżnicowanej charakterystyce chemicznej. Na ich stabilność decydujący wpływ mają interakcje między białkami, lipidami, węglowodanami i składnikami mineralnymi. Spośród nich szczególną rolę odgrywają oddziaływania białek i polisacharydów. Każdy bowiem z tych biopolimerów nie tylko z osobna, ale i w postaci połączeń o różnej naturze, znacząco wpływa na teksturę, właściwości reologiczne, hydratacyjne oraz powierzchniowe żywności. Badania biochemiczne wykazują, że połączenia białkowo-polisacharydowe są powszechne w świecie roślin i zwierząt. Nie jest więc zaskakujące, że również w odpowiednich warunkach *in vitro* te makrocząsteczki mogą ze sobą oddziaływać [41], co stwarza szereg możliwości modyfikowania ich właściwości fizykochemicznych. Większość prac z tego zakresu dotyczy wprowadza-

---

*Prof. dr hab. inż. K. Surówka, dr inż. I. Maciejaszek, Katedra Chłodnictwa i Koncentratów Spożywczych, Wydz. Technologii Żywności, Akademia Rolnicza im. H. Kollątaja, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków*

nia do białek dodatków polisacharydów anionowych. Ich cząsteczki wykazują szczególne predyspozycje do reagowania z białkami poprzez interakcje o charakterze elektrostatycznym, a tworzące się produkty często różnią się od substratów pod względem właściwości funkcjonalnych i można je traktować jako odrębną grupę składników żywności [76]. Oprócz zastosowań żywieniowych i paszowych kompleksy białek z polisacharydami stanowią cenne półprodukty wykorzystywane do celów niespożywczych. Istotną ich zaletą jest zdolność do biodegradacji, co nabiera szczególnego znaczenia wobec Dyrektywy 94/62/EC Parlamentu Europejskiego z 1994 roku, zalecającej ograniczenie akumulacji odpadów pochodzących z opakowań oraz ich przerób [63].

### **Charakterystyka oddziaływań białkowo-polisacharydowych**

#### *Rodzaje oddziaływań*

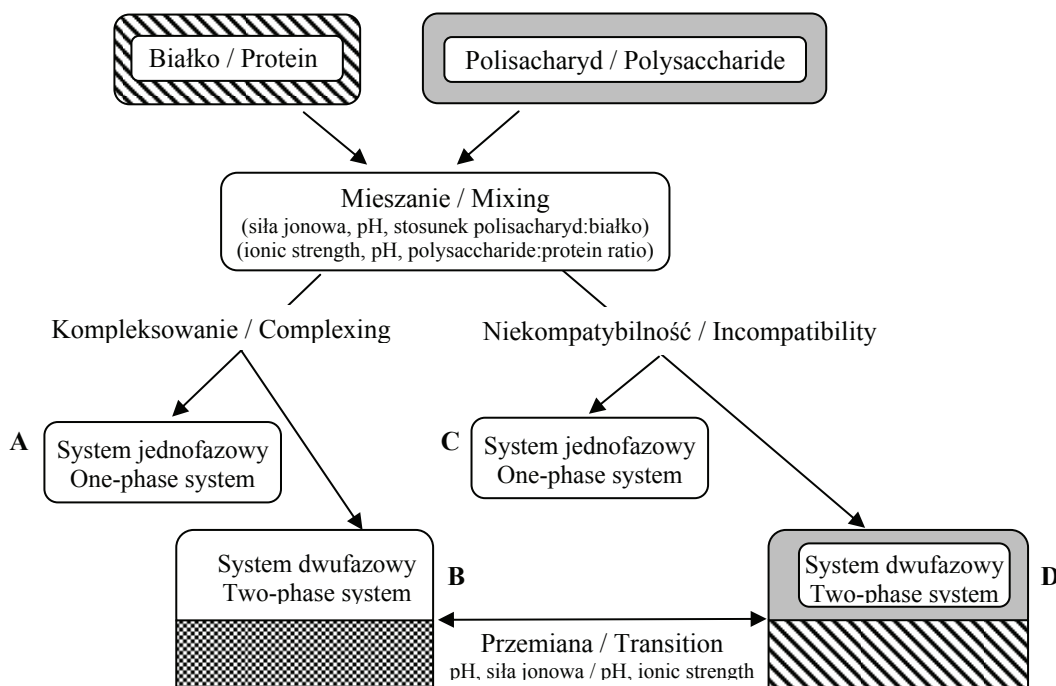
Specyficzna budowa białek i polisacharydów stwarza możliwość zachodzenia między nimi oddziaływań, których efektem jest powstawanie mniej lub bardziej trwałych kompleksów lub wzajemne wykluczanie się, określane mianem termodynamicznej niekompatybilności. Sumaryczny efekt takich interakcji jest wypadkową różnych wiązań lub sił międzycząsteczkowych działających między poszczególnymi fragmentami makrocząsteczek [37]. W ich rezultacie cząsteczki mogą się przyciągać lub odpychać. Oddziaływania odpychające są z natury niespecyficzne, zwykle krótkotrwałe i wywołane najczęściej ładunkami jednoimiennymi, przyciągające z kolei znacznie bardziej różnią się siłą i specyficznością. Najmocniejsze spośród nich są wiązania kowalencyjne, które mogą się tworzyć między specyficznymi reaktywnymi grupami funkcyjnymi. Związki powstałe przy udziale wiązań kowalencyjnych są trwałe, jednak w przypadku białek i polisacharydów występują znacznie rzadziej niż z kompleksami elektrostatycznymi, które są efektem działania sił kulombowskich o bliskim lub dalekim zasięgu. Energia takich oddziaływań uzależniona jest od stopnia zjonizowania cząsteczek, zależnego nie tylko od ich budowy i konformacji, ale także od pH i siły jonowej roztworu. Charakterystycznym typem interakcji elektrostatycznych jest mostkowanie grup anionowych kationami metali dwuwartościowych (np.  $\text{Ca}^{+2}$ ). Znacznie słabsze, ale liczne w układach biopolimerowych, są wiązania wodorowe, których energia zawiera się w granicach 8-40 kJ/mol. Mają one kierunkowy charakter, a wraz ze wzrostem temperatury ulegają osłabieniu. Przeciwną tendencję, ale tylko do temp. ok. 60°C, wykazują przyciągające interakcje hydrofobowe, których energia jest jeszcze mniejsza (zwykle 4-12 kJ/mol). Powstają one w środowisku wodnym między grupami niepolarnymi. Z kolei siły van der Waalsa, będące słabymi przyciągającymi oddziaływaniami elektromagnetycznymi między grupami funkcyjnymi o charakterystyce dipolowej (dipole stałe lub indukowane), mają zazwyczaj drugorzędny wpływ na interakcje białek z polisacharydami. W układach makrocząsteczek często istotne są efekty ste-

ryczne wywoływane nakładaniem się fragmentów ich chmur elektronowych, co powoduje odpychanie i może prowadzić do zmian konformacyjnych [14].

#### *Aspekty termodynamiczne*

Pierwsze wzmianki na temat interakcji białek z polisacharydami pojawiły się w literaturze fachowej na początku XX w. i dotyczyły roztworów żelatyny i skrobi ziemniaczanej oraz agaru [4], a także gumy arabskiej [69, 70]. W późniejszym okresie wykazano, że zależnie od siły oddziaływań międzybiałkowych, międzypolisacharydowych oraz białkowo-polisacharydowych, a także wpływu rozpuszczalnika dochodzić może do ich wzajemnego kompleksowania, rozpuszczania lub tworzenia niekompatybilnych systemów jedno- lub dwufazowych [5]. Ostateczny wynik mieszania roztworów białek i polisacharydów jest uzależniony od charakterystyki termodynamicznej obu biopolimerów i ich zachowania w roztworze [77, 78, 79]. Opisuje to model Flory-Hugginsa polegający na analizie wpływu czynników entalpowego i entropowego na potencjały chemiczne w poszczególnych fazach. Z uwagi na to, że entropia mieszania polimerów jest o kilka rzędów mniejsza niż substancji niskocząsteczkowych, to w wielu przypadkach czynnik entropowy nie równoważy entalpowego, a rezultatem tego jest rozseparowywanie się faz. Może do niego dochodzić na dwa różne sposoby zależnie od tego, jakie jest wzajemne powinowactwo biopolimerów i rozpuszczalnika [83]. Homogeniczne na poziomie molekularnym mieszaniny polimerów mogą tworzyć się jedynie wówczas, gdy siły przyciągania są większe między cząsteczkami różnego typu niż między tymi samymi. Na rys. 1. przedstawiono możliwe interakcje między białkami a polisacharydami w środowisku wodnym [5, 81]. Po zmieszaniu roztworów tych substancji, przy pH powyżej punktu izoelektrycznego białka, mają one ładunek ujemny i wykazują termodynamiczną niezgodność, czego rezultatem jest ograniczenie ich wzajemnej rozpuszczalności i utworzenie układu dwufazowego, składającego się z faz wzbogaconych odpowiednio w białko i polisacharyd (D). Dochodzi do tego wówczas, gdy całkowite stężenie składników białkowych i polisacharydowych przekracza 4% [76]. Natomiast w przypadku mniejszych stężeń obu składników od granicy ich rozpuszczalności tworzy się niekompatybilny system jednofazowy (C) i roztwór nie rozwarstwa się. Przyczyną wystąpienia omawianej niezgodności, oprócz pH, może być podwyższona siła jonowa lub kombinacja obu tych czynników. Faworyzowane są wówczas oddziaływania między makromolekułami tego samego typu oraz z rozpuszczalnikiem. W związku z tym może nastąpić konformacyjne przejście polimerów ze stanu kłęбка do helisy, co dodatkowo sprzyja autoasocjacji i w konsekwencji potęguje niekompatybilność [58]. Obniżenie pH do wartości mniejszej niż punkt izoelektryczny białka przy jednoczesnym zachowaniu niskiej siły jonowej roztworu zmienia charakter oddziaływań elektrostatycznych na skutek przyjęcia przez białko sumarycznego ładunku dodatniego [81]. Białko z polisacharydem przyciągają się wówczas tworząc kom-

pleks, który może być rozpuszczalny (A) lub wydzielać się z roztworu w postaci odrębnej fazy (B). W tym ostatnim przypadku jedną fazę tworzy rozpuszczalnik z małą ilością biopolimerów, a drugą kompleks zwany koacerwatem [18]. O efektywności takiego kompleksowania, oprócz stężenia, decydują cechy makrocząstek (masa cząsteczkowa, ładunek netto, konformacja oraz giętkość łańcucha) i ich wzajemny stosunek, który najlepiej jak jest bliski jedności [76]. Nie bez znaczenia jest również temperatura. Jak bowiem informuje Tolstoguzov [77], ogrzanie do temp. 80°C rozpuszczalnego kompleksu żelatyny z pektyną powoduje natychmiastowe rozdzielenie się faz. Zjawisko kompleksowania jest zwykle odwracalne i wzrost pH do wartości powyżej punktu izoelektrycznego i/lub zwiększenie siły jonowej skutkuje dysocjacją kompleksu. Możliwe jest także elektrostatyczne łączenie się białek z polisacharydami anionowymi w środowisku powyżej punktu izoelektrycznego, gdy czynnikami spinającymi te makromolekuły są jony metali dwuwartościowych ( $\text{Ca}^{+2}$ ) lub gdy w cząsteczce białkowej występują lokalne fragmenty o ładunku dodatnim, stanowiące potencjalne miejsce kontaktu z ujemnie naładowanym polisacharydem. To ostatnie zjawisko stwierdzano wielokrotnie w efekcie mieszania roztworów polisacharydów anionowych,



Rys. 1. Różne rodzaje możliwych oddziaływań pomiędzy białkami i polisacharydami w roztworach wodnych.

Fig. 1. Different types of possible interactions between protein and polysaccharides in aqueous medium.

szczególnie zawierających grupy siarczanowe (VI), i białek przy pH zbliżonym do punktu izoelektrycznego tych ostatnich [2, 17, 23, 86].

O sytuacji fazowej w umiarkowanie stężonych roztworach polimerów, w tym samym rozpuszczalniku, można wnioskować na podstawie pomiaru rozproszenia światła, wyznaczając składniki drugiego współczynnika wirialnego roztworu ( $A_{pr-pr}$ ,  $A_{po-po}$ ,  $A_{pr-po}$ ). Porównanie wartości współczynników  $A_{pr-pr}$  i  $A_{po-po}$  reprezentujących termodynamiczny udział oddziaływań międzybiałkowych i międzypolisacharydowych z wartością  $A_{pr-po}$ , dotyczącą interakcji między białkami i wielocukrami pozwala na ocenę ich termodynamicznej zgodności w roztworze. Warunkiem niezbędnym stabilności i uniknięcia rozwarstwienia jest spełnienie następującej nierówności:

$$A_{pr-pr} \cdot A_{po-po} / (A_{pr-po})^2 \geq 1$$

Do rozseparowania faz może więc dojść, gdy  $A_{pr-po}$  przyjmuje duże dodatnie wartości, co odpowiada odpychaniu się makrocząsteczek (tzw. segregacyjna separacja fazowa) lub duże wartości ujemne, co związane jest z przyciąganiem się cząsteczek (tzw. asocjacyjna separacja fazowa) [9, 18]. W tym pierwszym przypadku jest to zjawisko termodynamicznej niezgodności, dość powszechne w roztworach polimerów. Występuje ono często w układach białek i polisacharydów obojętnych lub anionowych mających ładunek tego samego znaku co białko. Taka fazowa separacja spowodowana jest tym, że w odróżnieniu od roztworów substancji niskocząsteczkowych, polimery tworzą układy jednofazowe tylko wówczas, gdy ich mieszaniną towarzyszy efekt egzotermiczny [76]. Jednakże łączeniu roztworów białek i polisacharydów towarzyszy najczęściej niekorzystny termodynamicznie entalpowy efekt endotermiczny, który zwykle nie jest równoważony przez wpływ entropowy idealnego wymieszania [57]. Na skutek tego w roztworach wodnych zawierających białka i niosące ten sam ładunek polisacharydy jest wielce prawdopodobne wzajemne wykluczanie się molekuł jednego biopolimeru z najbliższego sąsiedztwa drugiego. Makroskopowo przejawia się to segregacją układu na dwie współistniejące ze sobą fazy - bogatą w białko i bogatą w polisacharyd. Zjawisko takie nosi nazwę termodynamicznej niekompatybilności [14] i polega na autoasocjacji makromolekuł tego samego typu. W białkach decydującą rolę w tym procesie odgrywają oddziaływania hydrofobowe i elektrostatyczne oraz wiązania wodorowe, a więc sprzyja mu umiarkowane ogrzewanie, pH zbliżone do punktu izoelektrycznego (pI) oraz protonowanie grup karboksylowych [76]. Dodatkowo w takich systemach może dochodzić jeszcze do flokulacyjnego odseparowania dużych agregatów białek cieplnie zdenaturowanych lub mających strukturę micelną (np. kazeiny) [82].

Obserwacja systemów fazowo rozdzielonych jest niekiedy utrudniona z tego względu, że zarówno białko, jak i polisacharydy mogą równocześnie żelować [91]. Ma to miejsce wówczas, gdy zmieszane z polisacharydami białka globularne poddaje się

ogrzewaniu. Uzyskiwany produkt o strukturze żelu makroskopowo może wyglądać jednorodnie, jednak pod mikroskopem widać jego budowę heterogeniczną.

Termodynamiczna niekompatybilność roztworów białek i polisacharydów zawierających grupy karboksylowe zwiększa się, gdy pH osiąga i nawet nieznacznie przekracza punkt izoelektryczny białka (pI). Jednakże w roztworach polisacharydów siarczanowych do jej wystąpienia jest wymagane pH znacznie wyższe od pI. Stwierdzono również, że niezależnie od rodzaju polisacharydu, zmniejszenie kompatybilności zachodzi wraz ze wzrostem temperatury i siły jonowej. W przypadku białek i polisacharydów obojętnych niekompatybilność zwiększa się, gdy pH białka zbliża się do punktu izoelektrycznego oraz gdy jest duża masa cząsteczkowa wielocukru [76].

#### *Wpływ rodzaju białka i polisacharydu*

Na efektywność elektrostatycznego kompleksowania białek i polisacharydów wpływa, oprócz pH i siły jonowej, także rodzaj białka. Wykazano bowiem, że rozmaite białka kompleksowane z tymi samymi wielocukrami tworzą układy o różnej kompatybilności [58]. Duże znaczenie ma tu dostępność fragmentów cząsteczek tworzących miejsca kontaktu. Dotyczy to w szczególności cząsteczek białkowych, które zależnie od swojego stanu znacznie różnią się strukturą. W białkach globularnych w stanie natywnym liczebność dostępnych miejsc kontaktu jest znacznie mniejsza niż w przypadku cząsteczek o rozwiniętej strukturze [85]. W tym ostatnim przypadku łatwiej dochodzi do znaczącego zobojętnienia ładunku dodatniego przez aniony polisacharydu, co przejawia się tym, że utworzony kompleks jest prawie obojętny pod względem elektrycznym i często wydziela się w postaci odrębnej fazy jako substancja nierozpuszczalna (np. kompleksy żelatyny z alginianem sodu) [5]. Niezwykle istotny jest także rodzaj polisacharydu. Wg Polyakova i wsp. [55] oraz Bograchevej i wsp. [6] termodynamiczna zgodność białek z anionowymi polisacharydami maleje w następującym kierunku: pektyna > karboksymetyloceluloza > alginian sodu > guma arabska > siarczan dekstranu.

Siła przyciągań kulombowskich między białkami i polisacharydami zależy w sposób istotny od gęstości ładunku [82]. Na przykład Pereyra i wsp. [54] wykazali, że białka mleka tworzą bardziej trwałe kompleksy z pektyną niskometylowaną niż z wysokometylowaną, a Dickinson [14] zaobserwował, że karagen zawierający grupy siarczanowe (VI) silniej reaguje z białkami niż polisacharydy karboksylowe (alginiany, pektyny). Wpływu gęstości ładunku nie można rozpatrywać niezależnie od wielkości cząsteczek i ich podatności na zmiany struktury. Molekuły łatwo ulegające zmianom konformacyjnym, takie jak kazeina lub żelatyna, wiążą mocniej polisacharydy niż białka globularne (albumina wołowa,  $\beta$ -laktoglobulina). Stwierdzono jednak, że cieplna denaturacja tych ostatnich przyczynia się do poprawy zdolności wiązania polisacharydów [3, 8, 82]. Tak więc, bardziej elastyczne molekuły białkowe lub o rozwiniętej,



zdenaturowanej strukturze są lepszym obiektem do przyłączania przeciwnie naładowanych cząsteczek polisacharydowych niż zwarte białka globularne w stanie natywnym.

Główną dodatnio naładowaną grupą funkcyjną w białkach są sprotonowane grupy aminowe ( $-\text{NH}_3^+$ ). Oprócz nich pewne znaczenie mają również guanidynowe i imidazolowe fragmenty łańcuchów bocznych [58]. Liczba i rozmieszczenie w cząsteczce tych dodatnio zjonizowanych grup ma podstawowe znaczenie dla możliwości kompleksowania polisacharydów. Proces denaturacji zwiększa dostępność takich miejsc o uprzednio niewyeksponowane i ukryte w natywnej strukturze białka, a wzrost elastyczności molekuly białkowej ułatwia dopasowanie się jej do struktury polisacharydu, ułatwiając kontakt i dając stabilniejsze kompleksy niż z białkiem natywnym.

Ładunek elektryczny polimeru, a tym samym i potencjalna zdolność do interakcji kulombowskich zależy od tego, jak dalece jego aktualne pH odbiega od punktu izoelektrycznego. Punkt ( $\text{pI}_{\text{pr}}$ ) białek sojowych wynosi ok. 4,5, a polimerów anionowych ( $\text{pI}_{\text{po}}$ ) jest niższy. Zatem w zakresie  $\text{pI}_{\text{po}} < \text{pH} < \text{pI}_{\text{pr}}$  wspomniane makrocząsteczki charakteryzują się odmiennymi ładunkami netto i dochodzić może między nimi do koacerwacji [14]. Siła tego procesu uzależniona jest od dystrybucji zjonizowanych grup na powierzchni białka, jego podatności na rozwinięcie struktury, konformacyjnej stabilności i gęstości ładunku polisacharydu [42]. To czy utworzony kompleks będzie rozpuszczalny lub nierozpuszczalny, oraz czy tworzy się on w sposób odwracalny, zależy od stężenia biopolimerów, siły jonowej i pH. Powstawaniu nierozpuszczalnych koacerwatów sprzyja niskie stężenie soli i pH znacznie mniejsze od punktu izoelektrycznego białka. Powstające w ten sposób połączenia zawierają często więcej białka niż polisacharydu i dlatego ich ładunek ogólny jest dodatni [76].

Podczas alkalizowania roztworów białkowych z dodatnio naładowanych grup funkcyjnych odszczepiają się protony. Wzmaga to międzybiałkowe siły odpychające (wywołane grupami anionowymi) i równocześnie doprowadza do osłabienia przyciągania cząsteczek polisacharydów. Ten ostatni efekt bardzo silnie zależy od rodzaju wielocukru. Wykazano bowiem, że elektrostatyczne przyciąganie anionów karboksylanowych ( $-\text{COO}^-$ ) jest znacznie słabsze niż siarczanowych (VI) ( $-\text{OSO}_3^-$ ). Oznacza to, że przy  $\text{pH} > \text{pI}_{\text{pr}}$  kompleksowanie z udziałem grup  $-\text{COO}^-$  jest bardzo słabe lub w ogóle do niego nie dochodzi [58], chociaż w niektórych układach możliwe jest powstawanie kompleksów rozpuszczalnych dzięki lokalnym dodatnio naładowanym obszarom w białkach, które stanowią miejsca styku z ujemnie zjonizowanymi polisacharydami. Jeżeli takie połączenia tworzone są przez białka globularne, to z reguły zawierają więcej polisacharydu i ich ogólny ładunek jest ujemny [76]. Na powstawanie takich kompleksów znaczący wpływ ma siła jonowa. Gdy przekracza ona 0,2 M, to jony zawarte w roztworze osłabiają oddziaływania elektrostatyczne między cząsteczkami biopolimerów, czego rezultatem jest utrata przez system termodynamicznej zgodności [58]. W odróżnieniu od tego, wykazujące dużą gęstość ładunku polisacharydy siarcza-

nowe mogą w tych samych warunkach tworzyć dość mocne i odwracalne kompleksy z białkami [14]. Przykładem takich kompleksów są połączenia albuminy wołowej z siarczanem (VI) dekstranu oraz ι- i κ-karagenami [22], a także powszechnie wykorzystywane do stabilizowania i wzmacniania tekstury produktów mleczarskich kompleksy kazeiny z karagenem [31].

### *Elektrosynteza*

W obliczu ciągłego zainteresowania problematyką oddziaływań pomiędzy cząsteczkami biopolimerów opracowano w krakowskim środowisku naukowym technikę wytwarzania kompleksów białkowo-polisacharydowych zwaną metodą elektrosyntezy [12]. Polega ona na przepuszczaniu prądu stałego przez zalkalizowane roztwory białek i polisacharydów. Podczas tego procesu ujemnie naładowane cząsteczki biopolimerów migrują do anody, gdzie w wyniku reakcji elektrodowych następuje strącanie powstającego z nich kompleksu. W dotychczasowych pracach tą techniką otrzymano wiele elektrokompleksów m.in. pomiędzy pektyną, karboksymetylocelulozą, skrobią ziemniaczaną i gumą ksantanową a żelatyną, albuminą jaja kurzego, kazeiną i białkami sojowymi oraz serwatkowymi [12, 44-46, 49-50, 86-90]. Analizy chemiczne uzupełnione badaniami spektroskopowymi i analizą termogravimetryczną wykazały, że w zależności od rodzaju substratów i warunków elektrosyntezy w tworzeniu się kompleksów, obok oddziaływań elektrostatycznych, mogą brać udział wiązania peptydowe i grupy aminowe białek oraz ugrupowania anionowe (np. fosforanowe i karboksylowe) i grupy hydroksylowe polisacharydów.

### **Wpływ oddziaływań białkowo-polisacharydowych na wybrane właściwości funkcjonalne i przydatność technologiczną**

Kompleksy białek i polisacharydów niejednokrotnie wykazują lepsze właściwości funkcjonalne niż pojedyncze składniki, z których powstają. Wynika to z ich struktury oraz z tego, że składają się one jednocześnie z białek i wielocukrów. Kompleksy takie mogą mieć pożądane właściwości hydratacyjne (rozpuszczalność, zwilżalność), reologiczne i strukturotwórcze (modyfikowanie lepkości, żelowanie) oraz powierzchniowe (właściwości emulgujące i pianotwórcze). Można na nie wpływać przez regulację pH, siły jonowej, gęstości ładunku, temperatury, ciśnienia oraz działaniem siłami mechanicznymi [28, 62, 80].

### *Rozpuszczalność, właściwości reologiczne i zdolność żelowania*

Wynikiem oddziaływań białek z polisacharydami jest poprawa [19] lub pogorszenie [36] stabilności termicznej. Zmienia się także rozpuszczalność i po takiej modyfikacji często jest ona lepsza w szerszym zakresie pH. W literaturze przedmiotu podawane są nawet przykłady, w których wielocukry zawierające grupy sulfonowe stoso-



wano do rozpuszczania białek zdenaturowanych [29, 30]. Z drugiej jednak strony wiele jest doniesień o formowaniu się kompleksów nierozpuszczalnych, co wykorzystywane bywa do odseparowywania białek z bardzo rozcieńczonych roztworów [34], a nawet do ich frakcjonowania w przypadkach, gdy różnią się powinowactwem do polisacharydu. W ten sposób można rozdzielać białka serwatkowe, stosując pektynę [60]. W praktycznych zastosowaniach wpływu kompleksowania na rozpuszczalność przydatne są diagramy fazowe poszczególnych układów białkowo-polisacharydowych [76]. Istotny jest również wpływ polisacharydów na reologiczne właściwości roztworów białkowych. Np. niektóre rodzaje gum dają efekt antagonistyczny, inne zaś mogą działać synergistycznie w odniesieniu do parametrów reologicznych białek sojowych [59]. Jest to często spowodowane tworzeniem się połączeń o charakterze kompleksów [66].

Cenną właściwością funkcjonalną składników żywności jest zdolność żelowania. W procesie tym makrocząsteczki zmieniają konformację i agregują, formując przy tym trójwymiarową strukturę. Obecność polisacharydu w otoczeniu białka w warunkach ich niekompatybilności przyczynia się do zwiększenia termodynamicznej aktywności tego ostatniego, czego rezultatem może być sprzyjanie jego agregacji i w konsekwencji łatwiejsze żelowanie. Zjawisko to zachodzi częściej w obecności białek o rozwiniętej strukturze, a jest rzadkie w przypadku białek globularnych [10, 27]. W warunkach, gdy istnieje termodynamiczna zgodność i powstają kompleksy, może także dochodzić do występowania struktur żelowych. Jest to szczególnie korzystne, gdy wyjściowe składniki nie mają zdolności do żelowania. Przykładem układu tego typu jest mieszanina roztworów kazeinianu sodu i alginianu sodu (1:3) o 7-procentowym stężeniu, która w środowisku o pH 4,5 i przy małej sile jonowej tworzy żel trwały nawet w temp. 80°C [76]. Obserwuje się równocześnie wpływ pH, siły jonowej, a także temperatury i czasu na reologiczne właściwości utworzonych żeli [64].

#### *Właściwości emulgujące i pianotwórcze*

Kompleksy białek i polisacharydów mogą wykazywać bardzo dobre właściwości emulgujące i stabilizujące, co pozwala na zastępowanie nimi niskocząsteczkowych emulgatorów syntetycznych. Eliminuje to konieczność stosowania specjalnych procedur legislacyjnych, a dodatkowo jest korzystne ze względów żywieniowych i prozdrowotnych [5]. Według Dickinsona [13] oraz Galazki i wsp. [21] przyłączenie polisacharydu do białka jest najlepszym sposobem na zatrzymanie wielocukru na powierzchni międzyfazowej emulsji. Poprawia to steryczną stabilizację tej powierzchni i zwykle sprzyja tworzeniu się mniejszych kuleczek fazy rozproszonej podczas homogenizacji. O efektywności stabilizującej kompleksów decyduje rodzaj oddziaływań między makrocząsteczkami, przy czym silne wiązania chemiczne są znacznie bardziej efektywne niż słabe oddziaływania asocjacyjne [5, 15].

Rezultatem zainteresowania wykorzystaniem połączeń białkowo-polisacharydowych jako emulgatorów było pojawienie się patentów z tego zakresu [24, 43]. Dalsze badania wykazały, że o przydatności konkretnego kompleksu decydują jego składniki. Larichev i wsp. [40] stwierdzili, że trwałość emulsji stabilizowanych przez kompleksy albuminy wołowej (BSA) z siarczanem dekstranu silnie zależy od pH i siły jonowej, co wskazuje na istotny efekt elektrostatyczny w ich tworzeniu. Z kolei Tokaev i wsp. [71] odnotowali, że efekt stabilizowania emulsji przez kompleksy kazeiny z pektyną jest wyjątkowo silny na skutek powstawania żelopodobnej struktury na powierzchni międzofazowej. Również emulsje wytwarzane przy współudziale kompleksów białek sojowych z alginianem sodu [47] powstawały łatwiej i wykazywały większą stabilność niż jej odpowiedniki otrzymywane z samego białka sojowego. Przyczyną tej poprawy właściwości emulgujących w obecności polisacharydu było łatwiejsze rozwinięcie się cząsteczek białek i lepsze wyeksponowanie aktywnych powierzchniowo fragmentów cząsteczki, co z kolei ułatwia wiązanie tłuszczu i tworzenie bariery przeciwdziałającej koalescencji. Lippi i Taranto [47] podjęli badania nad poprawą właściwości emulgujących sojowego izolatu białkowego poprzez mieszanie go z alginianem sodowym. Utworzona mieszanina wykazywała aktywność emulgowania i zdolność do stabilizowania emulsji porównywalną z tymi właściwościami funkcjonalnymi żółtka jaja. Dalsze prace nad tym zagadnieniem prowadzili Kiosseoglou i Doxastakis [38], którzy zaobserwowali, że dodatek do białka sojowego polisacharydów jonowych sprzyja zmniejszeniu rozmiarów cząstek fazy rozproszonej tworzonej emulsji oraz zwiększa lepkość fazy ciągłej. Należy tu jednak nadmienić, że w określonych warunkach pH, siły jonowej i stężenia polisacharydów tworzące się kompleksy z białkami mogą przyczynić się do zmniejszenia stabilności emulsji, tak jak to odnotowali Dickinson i Pawlowsky [16] w przypadku kompleksu albuminy z surowicy krwi wołowej (BSA) z ι-karagenem.

Oprócz emulsji układem dyspersyjnym szczególnie często spotykanym w produktach spożywczych są piany. Wykazują one naturalną tendencję do zanikania, jednak istnieje wiele substancji je stabilizujących. Można do nich zaliczyć także niektóre kompleksy białek z polisacharydami anionowymi, szczególnie że, jak wykazał Tolstoguzov i wsp. [74, 75], czasem mają one lepsze właściwości powierzchniowo aktywne dla układów ciecz-powietrze niż same białka. Ahmed i Dickinson [1], analizując wpływ dodatku białek soi na właściwości aeracyjne alginianów glikolu propylenowego, stwierdzili, że zwiększają one wydajność pienienia roztworów tego polisacharydu w środowisku obojętnym. Związane to było z formowaniem się na powierzchni międzofazowej woda-powietrze kompleksów elektrostatycznych białko-alginian.

### *Ekstruzja*

Oddziaływania białkowo-węglowodanowe były także przedmiotem badań dotyczących procesu ekstruzji [68]. W ich wyniku stwierdzono, że frakcje węglowodanowe wchodzące w skład mąki sojowej zmniejszają udział międzybiałkowych oddziaływań wodorowych i hydrofobowych w ekstrudatach, a niektóre z nich (substancje pektynowe) przyczyniają się równocześnie do wzrostu znaczenia wiązań jonowych. Ponadto wykazano, że w procesie ekstruzji substancje pektynowe i hemicelulozy zostają częściowo unieruchomione w białkowej matrycy ekstrudatów. W literaturze przedmiotu są również opisane badania nad wpływem na przebieg ekstruzji dodatku polisacharydów nie pochodzących z soi. Wynika z nich, że alginian sodu w ekstruderze ulega interakcjom z rozwiniętymi cząsteczkami białek, dając w efekcie produkt o twardszej strukturze, zwiększonej gęstości i bardziej odporny na działania mechaniczne [7]. Podobny wpływ wykazuje skrobia, która w czasie ekstruzji może łączyć się z  $\beta$ -konglicyniną, głównie poprzez wiązania niekowalencyjne [53]. Znacząco poprawiają jakość ekstrudatów tworzące się w ekstruderze kompleksy  $\lambda$ -karagenu z białkami sojowymi [48].

### *Piekarnictwo*

Nie do przecenienia jest rola oddziaływań skrobi z białkiem podczas wypieku i składowania pieczywa. Procesy te zostały ostatnio szczegółowo opisane przez Fika [20]. W pierwszym z nich dochodzi do wkomponowywania się ziarenek napęczniałej i skleikowanej skrobi do skoagulowanej struktury gliadyny i gluteniny. Utworzone struktury w pieczywie świeżym są zwarte, jednak podczas czerstwienia pojawiają się wewnątrz nich warstwy powietrza. Im bardziej czerstwy jest chleb, tym większe są te komory powietrzne. Równocześnie wg Martina i wsp. [51] oraz Hoseneya i Millera [35] powstają wiązania krzyżowe między napęczniałą skrobią a zdenaturowanym glutenem i jest ich tym więcej, im bardziej napęczniałe są granulki skrobiowe, a zatem także zwiększona powierzchnia potencjalnego kontaktu z białkiem. Te krzyżowe interakcje mają charakter wiązań wodorowych, a więc w podwyższonej temperaturze łatwo ulegają rozrywaniu, co wykorzystuje się podczas odświeżania pieczywa [20]. Liczbę białkowo-skrobiowych wiązań w pieczywie może ograniczać dodatek do ciasta  $\alpha$ -amylazy, która hydrolizując skrobię utrudnia jej retrogradację oraz skutecznie eliminuje powstawanie wspomnianych wiązań krzyżowych. Taki efekt można osiągnąć również poprzez dodatek do ciasta gotowych hydrolizatów skrobiowych lub zastosowanie skrobi częściowo rozłożonej w procesie ekstruzji [20, 92]. Za główny powód czerstwienia pieczywa uważa się jednak retrogradację skrobi. Kulp [39] twierdzi, że proces ten może być zahamowany w obecności tłuszczów oraz białek, gdyż te kompleksując polimery skrobiowe utrudniają ich agregację. Dobrze koresponduje to ze spostrzeżeniami pozytywnego wpływu dodatków glutenu, mąki sojowej lub półpro-

duktów mleczarskich bogatych w białko na elastyczność, porowatość, barwę i walory smakowo-zapachowe pieczywa po wypieku i podczas jego przechowywania [20].

### **Zastosowanie zjawiska oddziaływań białek i polisacharydów**

Kompleksy białkowo-polisacharydowe znajdują wiele zastosowań w przemyśle spożywczym, biotechnologii, medycynie, przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym oraz innych. Wykorzystuje się je m.in. do odzyskiwania białek z rozcieńczonych roztworów przez strącanie ich polisacharydami anionowymi przy niskim pH. Metoda ta pozwala na strącenie ok. 90% białka, które powstaje jako produkt uboczny w różnych procesach przetwórczych. Smith i wsp. [61] odzyskiwali tym sposobem białka sojowe zawarte w odcieku po produkcji koncentratu, stosując w tym celu m.in. kwas alginowy. Gillberg i Törnell [26] opisali metodę otrzymywania izolatów białka rzepaku, w której jako czynnik strącający zastosowali polisacharydy anionowe. Z kolei wielu badaczy [32, 34, 52, 65] uznało, że najlepiej do odzyskiwania białek serwatkowych nadaje się karboksymetyloceluloza, chociaż efekt jej działania zależy od pH, siły jonowej i stopnia podstawienia. Białka serwatkowe odzyskiwane z udziałem tego polisacharydu wykazują bardzo dobre właściwości funkcjonalne, a strącanie jest selektywne i można je wykorzystać do frakcjonowania serwatki na  $\alpha$ -laktoalbuminę i  $\beta$ -laktoglobulinę, a także do rozdzielania białek komórek drożdży [73]. Ogólnie należy stwierdzić, że metoda ta ma duże możliwości aplikacyjne w ochronie środowiska, gdyż ścieki pozbawione substancji białkowych charakteryzują się znacznie mniejszym biologicznym zapotrzebowaniem tlenu (BZT<sub>5</sub>).

Łączenie się białek z polisacharydami może też służyć do zapobiegania strącaniu się ich z roztworów. Białka w postaci kompleksów jonowych z polisacharydami część swoich dodatnio naładowanych grup funkcyjnych mają związanych przez grupy anionowe tych ostatnich, co powoduje istotne przesunięcie punktu izoelektrycznego powstających układów w kierunku środowiska bardziej kwaśnego. Sprawia to, że przy pH charakterystycznym dla wielu lekko kwaśnych napojów, które jednocześnie często zbliżone jest do punktu izoelektrycznego białek, nie następuje ich strącanie w postaci kompleksów z polisacharydami [83]. Zjawisko to wykorzystuje się do zapobiegania precypitacji kazeiny z mlecznych napojów o smaku owocowym, które najlepsze cechy sensoryczne wykazują przy pH między 4 i 5. Szczególnie przydatnym polisacharydem do tego celu jest karboksymetyloceluloza [56]. Hidalgo i Hansen [33] stwierdzili, że dodatek nadmiaru polisacharydów anionowych do nierozpuszczalnych kompleksów z białkiem może prowadzić w kwaśnym środowisku nawet do ponownego ich przechodzenia do roztworu. Według tych autorów spowodowane jest to peptyzacją polegającą na przeorientowaniu molekuł białkowych na cząsteczkach wielocukrów, co powoduje łatwiejszą ich hydratację, a w konsekwencji rozpuszczanie.

Jedną z potencjalnie najbardziej interesujących właściwości układów białkowo-polisacharydowych zaobserwowali Imeson i wsp. [36], którzy stwierdzili, że obecność wielocukrów może zapobiegać termicznej precypitacji białek związanej z ich cieplną denaturacją. Tak więc nawet po obróbce termicznej pozostają one w roztworze i mogą dzięki temu wykazywać typowe dla nich właściwości funkcjonalne.

Innym ważnym zastosowaniem kompleksów białkowo-polisacharydowych jest mikrokapsułkowanie. Mogą one tworzyć stałe filmy wokół kropelek emulsji będących nośnikami substancji mikrokapsułkowanych lub też zamykać w swojej strukturze koacerwatu cząstki rozpuszczalnika zawierającego substancję mikrokapsułkowaną [5]. Metodę tę stosuje się w technologii aromatów, środków ochrony roślin, w kosmetyce, farmacji i medycynie. Ważną cechą tworzących się struktur jest zmniejszanie szybkości uwalniania się tak zamkniętych składników do środowiska pod wpływem czynników zewnętrznych.

Produkty interakcji białek z polisacharydami są też wykorzystywane do wytwarzania zamienników tłuszczu. Jakkolwiek tłuszcze są podstawowym składnikiem diety człowieka, to istnieje tendencja do ograniczania ich spożycia i zastępowania produktami niskotłuszczowymi, w których funkcje lipidów przejmują niejednokrotnie białka i polisacharydy. Przykładem kompleksu wymienionych makromolekuł, stosowanym jako zamiennik tłuszczu, jest kompleks białek mleka i gumy ksantanowej [11].

Produkcję analogów mięsa na bazie kazeiny, białek sojowych i drożdży oraz alginianów i pektyn opisali Tolstoguzov i wsp. [72]. Dodatek dwuwartościowych kationów metali do substratów zmieszanych przy  $\text{pH} < \text{pI}$  białka, a następnie podwyższenie pH i ogrzanie całości do temp. 40-90°C pozwoliło na uzyskanie analogów mięsa w postaci żeli polisacharydowych zawierających białkowe inkluzje. Jeżeli proces żelowania prowadzić w przepływie, to możliwe jest wytwarzanie takich analogów w formie anizotropowej, zawierającej zorientowane włókna w matrycy żelu [67].

Badania nad wpływem polisacharydów anionowych na białka enzymatyczne wykazały, że przy niskich wartościach pH, na skutek interakcji grup karboksylanowych polisacharydów z dodatnio naładowanymi białkami, dochodzi do zmian konformacyjnych tych ostatnich [25]. Rezultatem może być osłabienie lub całkowita inaktywacja funkcji katalitycznej enzymu. Zatem jak sugeruje Ledward [41] powstawanie w takich warunkach kompleksów białkowo-polisacharydowych może być potencjalną metodą przedłużenia trwałości produktów spożywczych. Samant i wsp. [58] twierdzą jednak, że takie osłabienie aktywności może być spowodowane przesunięciem się pH optymalnego działania enzymu pod wpływem pola elektrycznego polisacharydu, a zwiększenie siły jonowej środowiska powoduje rozpad kompleksów i powrót optymalnego pH do wartości początkowej. Osłabiające aktywność enzymatyczną działanie polisacharydów znalazło zastosowanie przy izolowaniu insuliny z trzustki, bowiem te biopolimery hamują aktywność proteolityczną i dzięki temu umożliwiają wyekstrahowanie

insuliny w stanie nienaruszonym. Interesujące badania nad zastosowaniem polisacharydów anionowych do poprawy biologicznej wartości żywności prowadzili Varfolomeeva i wsp. [84], którzy zastosowali te biopolimery do inaktywowania inhibitorów trypsyny.

### Podsumowanie

Badania nad budową i właściwościami biopolimerów, w połączeniu ze znacznym postępowaniem w dziedzinie inżynierii materiałowej, przyczyniły się do rozwoju technik wytwarzania nowych produktów z surowców naturalnych. Duże osiągnięcia w tym zakresie nastąpiły dzięki wykorzystaniu wiedzy o wzajemnych oddziaływaniach między białkami i polisacharydami. Obok typowych, dobrze już ugruntowanych zastosowań w przemyśle spożywczym pojawiają się nowe, w obszarach biotechnologii, ochrony środowiska czy kosmetyki. Duże potencjalne znaczenie ma także stosowanie kompleksów białek i polisacharydów w charakterze materiałów biodegradowalnych. Istotnym problemem przy wytwarzaniu z nich różnych wyrobów jest zachowanie odpowiedniej wytrzymałości. Omawiane kompleksy niejednokrotnie wykazują lepsze właściwości mechaniczne niż komponenty z których powstają. Dlatego też budzą duże zainteresowanie firm zajmujących się wytwarzaniem nie tylko opakowań biodegradowalnych, ale i materiałów opatrunkowych, nici chirurgicznych, a nawet protez. Ważną zaletą takich wyrobów jest ich naturalne pochodzenie oraz to, że są materiałami odnawialnymi.

### Literatura

- [1] Ahmed M., Dickinson E.: Foaming of aqueous solutions of protein + propylene glycol alginate. *Food Hydrocoll.*, 1991, **4** (5), 395-402.
- [2] Antonov Y. A., Gonçalves M. P.: Phase separation in aqueous gelatin-k-carrageenan systems. *Food Hydrocoll.*, 1999, **13** (6), 517-524.
- [3] Antonov Y. A., Lashko N. P., Glotova Y. K., Malovikova A., Markovich O.: Effect of the structural features of pectins and alginates on their thermodynamic compatibility with gelatin in aqueous media. *Food Hydrocoll.*, 1996, **10** (1), 1-9.
- [4] Beijering M. W.: Über Emulsionbildung bei der Vermischung Wasseriger Lösungen Gewisser Gelatinierender Kolloide. *Zeitschrift für Chemie und Industrie der Kolloide*, 1910, **7**, 16-25.
- [5] Benichou A., Aserin A., Garti N.: Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions. *J. Disp. Sci. Technol.*, 2002, **23** (1-3), 93-123.
- [6] Bogracheva T. Y., Grinberg V. Y., Tolstoguzov V. B.: Compatibility of gum acacia with macromolecular components of the globulin fraction of baker's yeast. *Nahrung/Food*, 1983, **27** (8), 735-740.
- [7] Boison G., Taranto M. V., Cheryan M.: Extrusion of defatted soy flour-hydrocolloid mixtures. Effect of operating parameters on selected textural and physical properties. *J. Food Technol.*, 1983, **18** (6), 719-730.



- [8] Braudo E. E.: Functional interactions in mixed biopolymer systems. In: Gums and stabilisers for the food industry 9 - eds. Williams P. A., Phillips G. O., Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1998, pp. 169-183.
- [9] Braudo E. E., Plashchina I. G., Schwenke K. D.: Plant protein interactions with polysaccharides and their influence on legume protein functionality. *Nahrung/Food*, 2001, **45 (6)**, 382-384.
- [10] Brownsey G. J., Morris V. J.: Mixed and filled gels - models for foods. W: Food structure - its creation and evaluation - pod red. Blanshard J. M. V., Mitchell J. R., Butterworth & Co. Ltd., London 1988, pp. 7-23.
- [11] Chen W. S., Henry G. A., Gaud S. M., Miller M. S., Kaiser J. M., Balmadeca E. A., Morgan R. G., Baer C. C., Borwankar R. P., Hellgeth L. C., Strandholm J. J., Hasenheuttl G. L., Kerwin P. J., Chen C-C., Kratochvil J. F., Lloyd W. L.: Microfragmented ionic polysaccharide/protein complex dispersions. European Patent 0 340 035, 1989.
- [12] Dejewska A., Mazurkiewicz J., Tomasik P., Zaleska H.: Electrochemical synthesis of polysaccharide-protein complexes. I. Preliminary studies on apple pectin-albumin complexes. *Starch/Stärke*, 1995, **47 (6)**, 219-223.
- [13] Dickinson E.: The role of hydrocolloids in stabilising particulate dispersions and emulsions. In: Gums and stabilisers for the food industry 4 - eds. Phillips G. O., Wedlock D. J., Williams P. A., IRL Press Ltd., Oxford 1988, pp. 249-263.
- [14] Dickinson E.: Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions. *Trends Food Sci. Technol.*, 1998, **9 (10)**, 347-354.
- [15] Dickinson E., Galazka V. B.: Emulsion stabilisation by protein-polysaccharide complexes. I: Gums and stabilisers for the food industry 6 – eds. Phillips G. O., Wedlock D. J., Williams P. A., IRL Press Ltd., Oxford 1992, pp. 351-361.
- [16] Dickinson E., Pawlowsky K.: Effect of iota-carrageenan on flocculation, creaming, and rheology of a protein-stabilized emulsion. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45 (10)**, 3799-3806.
- [17] Dickinson E., Pawlowsky K.: Influence of kappa-carrageenan on the properties of a protein-stabilized emulsion. *Food Hydrocoll.*, 1998, **12 (4)**, 417-423.
- [18] Doublier J. L., Garnier C., Renard D.: Protein-polysaccharide interactions. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2000, **5 (3/4)**, 202-214.
- [19] Elbein A. D., Mitchell M.: Protein: Polyanion interaction. The effect of heparin on the trehalosephosphate synthetase of *Mycobacterium smegmatis*. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1975, **168 (2)**, 369-377.
- [20] Fik M.: Czerstwienie pieczywa i sposoby przedłużania jego świeżości. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **2 (39)**, 5-22.
- [21] Galazka V. B., Dickinson E., Ledward D. A.: Effect of high pressure on ovalbumin-polysaccharide interactions. *High Pressure Res.*, 2000, **19**, 515-520.
- [22] Galazka V. B., Smith D., Ledward D. A., Dickinson E.: Complexes of bovine serum albumin with sulphated polysaccharides: Effects of pH, ionic strength and high pressure treatment. *Food Chem.*, 1999, **64 (3)**, 303-310.
- [23] Galazka V. B., Smith D., Ledward D. A., Dickinson E.: Interactions of ovalbumin with sulphated polysaccharides: Effects of pH, ionic strength, heat and high pressure treatment. *Food Hydrocoll.*, 1999, **13 (2)**, 81-88.
- [24] Ganz A. J.: Protein-polymer complexes and process. U.S. Patent 3 407 076, 1968.
- [25] Gatfield I. L., Stute R.: Circular dichroism studies on the interaction between horseradish peroxidase and polygalacturonic acid in aqueous solution. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1976, **9 (6)**, 363-365.
- [26] Gillberg L., Törnell B.: Preparation of rapeseed protein isolates. Precipitation of rapeseed proteins in the presence of polyacids. *J. Food Sci.*, 1976, **41 (5)**, 1070-1075.

- [27] Gotleib A.M., Plaschina I.G., Braudo E.E., Titova E.E., Belavtseva E.M., Tolstoguzov V.B.: Investigation of mixed agarose-gelatin gels. *Nahrung/Food*, 1988, **32**, 927-937.
- [28] Gurov A.N., Gurova N.V., Leontiev A.L., Tolstoguzov V.B.: Equilibrium and non-equilibrium complexes between serum albumin and dextran sulfate. I. Complexing conditions and composition of non-equilibrium complexes. *Food Hydrocoll.*, 1988, **2**, 267-283.
- [29] Gurov A.N., Wajnerman E.S., Tolstoguzov V.B.: On the interaction of some proteins with sulphated dextran in aqueous medium. *Starch/Stärke*, 1974, **26 (5)**, 172-174.
- [30] Gurov A.N., Wajnerman E.S., Tolstoguzov V.B.: Interaction of proteins with dextransulphate in aqueous medium. II. Non-equilibrium phenomena. *Starch/Stärke*, 1977, **29 (6)**, 186-190.
- [31] Hansen P.M.T.: Hydrocolloid-protein interactions: relationship to stabilisation of fluid milk products. *Prog. Food Nutr. Sci.*, 1982, **6**, 127-138.
- [32] Hansen P.M.T., Hidalgo J., Gould I. A.: Reclamation of whey protein with carboxymethylcellulose. *J. Dairy Sci.*, 1971, **54 (6)**, 830-834.
- [33] Hidalgo J., Hansen P. M. T.: Interactions between food stabilizers and beta-lactoglobulin. *J. Agric. Food Chem.*, 1969, **17 (5)**, 1089-1092.
- [34] Hill R.D., Zadow J.G.: The precipitation of whey proteins by carboxymethyl cellulose of differing degrees of substitution. *J. Dairy Res.*, 1974, **41 (3)**, 373-380.
- [35] Hoseney C., Miller R.: Current understanding of staling of bread. *Technical Bulletin AIB*, 1998, **20 (6)**, 1-6.
- [36] Imeson A.P., Ledward D.A., Mitchell J.R.: On the nature of the interaction between some anionic polysaccharides and proteins. *J. Sci. Food Agric.*, 1977, **28**, 661-668.
- [37] Israelachvili J.: *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press Harcourt Brace & Company, London 1992.
- [38] Kiosseoglou V., Doxastakis G.: The emulsification properties of soybean protein in the presence of polysaccharides. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1988, **21 (1)**, 33-35.
- [39] Kulp K.: Staling of bread. *Technical Bulletin AIB*, 1979, **1 (8)**, 1-21.
- [40] Larichev N.A., Gurov A.N., Tolstoguzov V.B.: Protein-polysaccharide complexes at the interphase. 1. Characteristics of decane/water emulsions stabilized by complexes of bovine serum albumin with dextran sulphate. *Colloids Surf.*, 1983, **6 (1)**, 27-34.
- [41] Ledward D.A.: Protein-polysaccharide interactions. W: *Polysaccharides in food - pod red. Blanshard J.M.V., Mitchell J. R. A., Butterworth & Co. Ltd., London, 1979, pp. 205-217.*
- [42] Ledward D.A.: Protein-polysaccharide interactions. W: *Protein functionality in food systems - eds. Hettiarachchy N.S., Ziegler G.R., Marcel Dekker Inc., New York, 1994, pp. 225-259.*
- [43] Le Gloahec V.C.E.: Proteinous compound and the manufacture thereof. U.S. Patent 2 430 180, 1947.
- [44] Lii C. Y., Liaw S. C., Tomasik P.: Xanthan gum-ovalbumin complexes from electrosynthesis and coacervation. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2003, **12/53**, 25-29.
- [45] Lii C. Y., Tomasik P., Zaleska H., Liaw S. C., Lai V. M. F.: Carboxymethyl cellulose-gelatin complexes. *Carbohydr. Polym.*, 2002, **50 (1)**, 19-26.
- [46] Lii C.Y., Zaleska H., Tomasik P.: Electrosynthesis of carboxymethyl cellulose-ovalbumin complexes. *J. Food Eng.*, 2002, **53 (3)**, 249-257.
- [47] Lippi M.S., Taranto M. V.: Soy protein - acidic polysaccharide interaction: modification of the emulsification properties of soy protein isolate. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1981, **14 (2)**, 55-59.
- [48] LuPing N.: Texturization of soy protein via twin-screw extrusion. *Dissertation Abstracts International B*, 1994, **54 (11)**, 5455.
- [49] Maciejaszek I., Surówka K.: Polysaccharide-protein complexes from potato starch and 11S soy protein. W: *Starch: Progress in Structural Studies, Modifications and Applications - eds. Tomasik P., Yuriev V.P., Bertoft E., PTTŻ Cracow 2004, pp. 395-406.*

- [50] Maciejaszek I., Surówka K.: Functional properties of potato starch-soy protein complexes In: Starch: Progress in Basic and Applied Science - eds. Tomasik P., Yuriev V. P., Bertoft E., PTTŻ Cracow 2007, pp. 343-354.
- [51] Martin M. L., Zeleznak K. J., Hosney R. C.: A mechanism of bread firming. I. Role of starch swelling. *Cereal Chem.*, 1991, **68** (5), 498-503.
- [52] Morr C.V., Swenson P.E., Richter R.L.: Functional characteristics of whey protein concentrates. *J. Food Sci.*, 1973, **38** (2), 324-330.
- [53] Nyanzi F.A., Maga J. A.: Effect of processing temperature on detergent-solubilized protein in extrusion-cooked cornstarch/soy protein subunit blends. *J. Agric. Food Chem.*, 1992, **40** (1), 131-133.
- [54] Pereyra R., Schmidt K.A., Wicker L.: Interaction and stabilization of acidified casein dispersions with low and high methoxyl pectins. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45** (9), 3448-3451.
- [55] Polyakov V.I., Grinberg V.Y., Tolstoguzov V.B.: Application of phase-volume ratio method for determining the phase diagram of water-casein-soybean globulin system. *Polym. Bull.*, 1980, **2**, 757-760.
- [56] Qureshi A. K., Shah M. A., Mahmood ul Hassan, Elahi M.: Studies on the effect of emulsifiers on milk protein's stability at different pH values. *Science and Industry Pakistan*, 1972, **9** (3/4), 211-215.
- [57] Rowlinson J. S.: *Liquids and Liquid Mixtures*. Butterworth & Co. Ltd., London 1969.
- [58] Samant S.K., Singhal R.S., Kulkarni P.R., Rege D.: V. Protein-polysaccharide interactions: A new approach in food formulations. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1993, **28** (6), 547-562.
- [59] Sanchez V. E., Bartholomai G. B., Pilosof A. M. R.: Rheological properties of food gums as related to their water binding capacity and to soy protein interaction. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1995, **28** (4), 380-385.
- [60] Serov A.N., Antonov Y.A., Tolstoguzov V.B.: Isolation of lactic whey proteins in the form of complexes with apple pectin. *Nahrung/Food*, 1985, **29** (1), 19-30.
- [61] Schmitt C., Sanchez C., Desobry-Babon S., Hardy J.: Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1998, **38** (8), 689-753.
- [62] Sherys A.Y., Gurov A.N., Tolstoguzov V.B.: Water-insoluble triple complexes: Bovine serum albumin-bivalent metal cation-alginate. *Carbohydr. Polym.*, 1989, **10** (2), 87-102.
- [63] Stepaniak L.: Opakowania biodegradowalne na bazie skrobi. *Przem. Spoż.*, 1999, **53** (10), 18-19.
- [64] Stainsby G.: Proteinaceous gelling systems and their complexes with polysaccharides. *Food Chem.*, 1980, **6** (1), 3-14.
- [65] Sternberg M., Chiang J. P., Eberts N. J.: Cheese whey proteins isolated with polyacrylic acid. *J. Food Sci.*, 1976, **59** (6), 1042-1050.
- [66] Sucharzewska D.: Rheological characteristics of selected protein-polysaccharide pastes. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1999, **8/49**(2), 169-176.
- [67] Suchkov V.V., Grinberg V.Y., Muschiolik G., Schmandke H., Tolstoguzov V.B.: Mechanical and functional properties of anisotropic gel fibres obtained from the two-phase system of water-casein-sodium alginate. *Nahrung/Food*, 1988, **32** (7), 661-668.
- [68] Surówka K.: Wpływ składników mąki sojowej na właściwości fizykochemiczne spożywczych preparatów białkowych z soi. *Zesz. Nauk. AR Kraków* 1997, 232.
- [69] Tiebackx F.W.: Simultaneous coagulation of two colloides. *Zeitschrift für Chemie und Industrie der Kolloide*, 1910, **8**, 198-201.
- [70] Tiebackx F.W.: Investigation of the system: Gum arabic - Gelatin. *Zeitschrift für Chemie und Industrie der Kolloide*, 1911, **9**, 61-65.
- [71] Tokaev E.S., Gurov A.N., Rogov I.A., Tolstoguzov V.B.: Properties of oil/water emulsions stabilized by casein-acid polysaccharide mixtures. *Nahrung/Food*, 1987, **31** (8), 825-834.
- [72] Tolstoguzov V.B., Izjumov D.B., Grinberg V.Y., Marusova A.N., Chekhovskaya V.T.: Method of making protein-containing foodstuffs resembling minced-meat. U.S. Patent 3 829 587, 1974.

- [73] Tolstoguzov V.B., Vainermann E.S., Rogozhin S.V., Kurskaya E.A., Kalisanov S.E.: Investigation of the interaction between proteins and sodium alginate in an aqueous medium. *Nahrung/Food*, 1974, **18 (4)**, 355-362.
- [74] Tolstoguzov V.B., Braudo E.E., Gurov A.N.: On protein functional properties and the methods of their control. I. On the concept in protein functional properties. *Nahrung/Food*, 1981, **25 (3)**, 231-239.
- [75] Tolstoguzov V.B., Braudo E.E., Gurov A. N.: On the protein functional properties and the methods of their control. II. On the methods of control of functional properties of proteins and gel-forming systems. *Nahrung/Food*, 1981, **25 (9)**, 817-823.
- [76] Tolstoguzov V.B.: Functional properties of protein-polysaccharide mixtures. W: Functional properties of food macromolecules - pod red. Mitchell J.R., Ledward A.A., Elsevier Applied Science Publisher Ltd., London 1986, pp. 385-415.
- [77] Tolstoguzov V.B.: Creation of fibrous structures by spinnerless spinning. W: Food structure - its creation and evaluation - pod red. Blanshard J. M. V., Mitchell J. R., Butterworth & Co. Ltd., London 1988, pp. 181-196.
- [78] Tolstoguzov V.B.: Concentration and purification of proteins by means of two-phase systems: Membraneless osmosis process. *Food Hydrocoll*, 1988, **2**, 195-207.
- [79] Tolstoguzov V.B.: Some physico-chemical aspects of protein processing into foodstuffs. *Food Hydrocoll*, 1988, **2**, 339-370.
- [80] Tolstoguzov V.B.: Interactions of gelatin with polysaccharides. W: Gums and stabilisers for the food industry 5 - eds. Phillips G.O., Wedlock D.J., Williams P.A., IRL Press Ltd., Oxford 1990, pp. 351-357.
- [81] Tolstoguzov V.B.: Functional properties of food proteins and the role of protein-polysaccharides interaction. *Food Hydrocoll*, 1991, **4 (6)**, 429-468.
- [82] Tolstoguzov V.B.: Protein-polysaccharide interactions. W: Food proteins and their applications - eds. Damodaran S., Paraf A., Marcel Dekker Inc., New York 1997, pp. 171-198.
- [83] Tolstoguzov V.B. Phase behaviour of macromolecular components in biological and food systems. *Nahrung/Food*, 2001, **44**, 299-308.
- [84] Varfolomeeva E.P., Burova T.V., Grinberg V.I., Tolstoguzov V.B. Thermodynamic and kinetic study of thermal denaturation of Kunitz soybean trypsin inhibitor by differential scanning microcalorimetry. *Mol. Biol.*, 1989, **23 (5)**, 1263-1272.
- [85] Vies A., Aranyi C. Phase separation in polyelectrolyte system. I. Complex coacervation of gelatin. *J. Phys. Chem.*, 1960, **64**, 1203-1210.
- [86] Zaleska H., Ring S., Tomasik P. Apple pectin complexes with whey protein isolate. *Food Hydrocoll*, 2000, **14 (4)**, 377-382.
- [87] Zaleska H., Ring S., Tomasik P. Electrosynthesis of potato starch-whey protein isolate complexes. *Carbohydr. Polym.*, 2001, **45 (1)**, 89-94.
- [88] Zaleska H., Ring S., Tomasik P. Electrosynthesis of potato starch-casein complexes. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2001, **36 (5)**, 509-515.
- [89] Zaleska H., Tomasik P., Lii C.Y. Formation of carboxymethyl cellulose-casein complexes by electrosynthesis. *Food Hydrocoll*, 2002, **16 (3)**, 215-224.
- [90] Zaleska H., Mazurkiewicz J., Tomasik P., Bączkiewicz M. Electrochemical synthesis of polysaccharide-protein complexes. Part 2. Apple pectin-casein complexes. *Nahrung/Food*, 1999, **43 (4)**, 278-283.
- [91] Zasyplin D.V., Braudo E.E., Tolstoguzov V.B. Multicomponent biopolymer gels. *Food Hydrocoll*, 1997, **11**, 156-170.

- [92] Ziobro R., Gambuś H., Nowotna A., Bala-Piasek A., Sabat R. Starch extrudates as a source of low molecular dextrans slowing down bread staling. *Żywność. Technologia. Jakość*, 1998, **5 (4) Supl.**, 251-258.

## PROTEIN-POLYSACCHARIDE INTERACTIONS AND THEIR PRACTICAL APPLICATIONS

### S u m m a r y

Characteristic of protein-polysaccharide interactions, resulting from the specific structure of these biopolymers, were presented in the paper. Substrate requirements were discussed as well as treatment conditions necessary to form such interactions. In case of protein-polysaccharide solutions, parameters for their thermodynamic incompatibility were also defined. Next, practical implications were assessed arising from the macromolecular interactions. Some industrial applications were also referred. Apart from the traditional use in food technology new, non-nutritive ways of protein-polysaccharide complexes usability were emphasized especially in biotechnology, environmental protection, cosmetics and technology of biodegradable materials.

**Key words:** protein, polysaccharides, biopolymers, interactions, functional properties ☒