

مقاله کوتاه پژوهشی

## بررسی سینتیک تغییرات حلالیت و الگوی الکتروفوریتیکی پروتئین های شیر سویا طی نگهداری در دماهای ۴ و ۱۸- درجه سانتی گراد

نازنین داراب زاده<sup>۱\*</sup> - سحر سادات موسوی نسب<sup>۲</sup> - محمود امین لاری<sup>۳</sup> - رقیه رضانی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۰/۶/۱۲

### چکیده

در سال های اخیر با توجه به ویژگی های مفید و با ارزش لوبیای سویا، استفاده از محصولات مشتق شده از آن مورد توجه قرار گرفته است. یکی از محصولات غیر تخمیری آن شیر سویا می باشد و بررسی حلالیت پروتئین های آن در زمان نگهداری، می تواند در تعیین عمر ماندگاری محصول مفید باشد. شیر سویا تولید و پاستوریزه گردید و به دو قسمت تقسیم شد. بخشی از آن در دمای ۴°C و بخشی دیگر در دمای ۱۸°C نگهداری شد. در زمانهای معین نمونه های شیر سویا برداشته شده و حلالیت پروتئین ها (تعیین میزان پروتئین مایع فوقانی پس از سانتریفیوژ بوسیله آزمایش میکروکلدال) و الکتروفورز روی آنها انجام شد. نتایج نشان داد حلالیت پروتئین های شیر سویا نگهداری شده بصورت منجمد به تدریج کاهش یافت و پس از ۲۱ روز از ۷۵ درصد به ۴۵ درصد (۳۰ درصد کاهش) رسید. این امر احتمالاً به دلیل واسرشتی پروتئین ها در هنگام انجماد می باشد. در شیر سویا نگهداری شده در ۴°C پس از ۹ روز کاهش حلالیت پروتئین از ۷۵ درصد به ۵۸ درصد (۱۷ درصد کاهش) مشاهده شد. این نتایج توسط آزمایش الکتروفورز نیز تأیید گردید. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که نگهداری شیر سویا به صورت منجمد یا در دمای ۴°C می تواند حلالیت پروتئین های آن را کاهش دهد و به خواص عملکردی و احتمالاً تغذیه ای آن آسیب رساند.

واژه های کلیدی: شیر سویا، حلالیت پروتئین، الکتروفورز

### مقدمه

درصد کربوهیدرات شامل: ۱۵-۵ درصد الیگوساکاریدها، ۸/۲-۲/۵ درصد سایر قندها، ۲-۱ درصد رافینوز، کمتر از ۱ درصد نشاسته و فیبر و ۵-۴ درصد خاکستر می باشد (جعفری، ۱۳۸۴). سویا یک منبع عالی از پروتئین های قابل هضم بوده و غنی از فیبر و ویتامین های A، E، K و بعضی ویتامین های گروه B و املاح معدنی شامل کلسیم، سدیم، پتاسیم، آهن، روی و فسفر می باشد. پروتئین های سویا تمام اسید آمینه های اصلی برای تغذیه انسان، همچنین مقادیر قابل توجهی از لیزین (حدود ۷ گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین خالص سویا) را دارا می باشد. قسمت عمده پروتئین های سویا را پروتئین های ذخیره ای تشکیل می دهند (جعفری، ۱۳۸۴; Smith et al., 1987).

محصولات سویا را می توان به دو دسته بزرگ تقسیم نمود:

۱- محصولات تخمیری شامل سس سویا، میسو، تمپه،

لوبیای سویا دارای سابقه بسیار طولانی در تغذیه بشر به ویژه در بخش های بزرگی از آسیا بوده است که عمدتاً به شکل شیر سویا مصرف می شده است (Laemmli, 1970; Liu, 1997). سویا منبعی ارزان از پروتئین با کیفیت بالاست (Laemmli, 1970; Poysa et al., 2006). لوبیای سویا به دو نوع: تیپ مزرعه و تیپ خوراکی تقسیم می شود. نوع اول بیشتر برای مصارف صنعتی و نوع دوم اساساً برای تغذیه انسان استفاده می شود. این لوبیا شامل ۳۰-۴۰ درصد پروتئین، ۲۰-۱۶ درصد اسید چرب غیر اشباع، ۱۳ درصد رطوبت، ۳۱

۲۰۱- دانش آموختگان کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

(\*- نویسنده مسئول: (Email: Darabzadehnazanin@yahoo.com)

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و استاد بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز.

۴- مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

2- Soya sauce  
3- Miso  
4- Tempeh

ناتو<sup>۱</sup> و تافو<sup>۲</sup> می باشد. ۲- محصولات غیر تخمیری شامل لوبیای سویای سبز، جوانه ها و شیر سویا است (جعفری، ۱۳۸۴). یکی از مهم ترین فراورده های سویا، نوشیدنی شبیه به شیر و معروف به شیر سویا یا شیر نباتی است. ماده اولیه شیر سویا دانه کامل سویا، آرد سویا و ایزوله سویا است (میرزایی، ۱۳۸۳). با توجه به هزینه بالای شیر گاوی و همچنین عدم دسترسی به آن در بسیاری از مناطق دنیا، شیر سویا می تواند جایگزین مناسبی برای آن به شمار آید. افزون بر آن شیر سویا می تواند به راحتی توسط افرادی که به شیر گاو حساسیت دارند، مورد استفاده قرار گیرد. محصولات شیر سویا در رژیم غذایی جدید مردم در کشورهای غربی جایگاه بسیار خوبی دارند که از جمله علت های آن می توان به فقدان کلسترول، گلوتن و لاکتوز در شیر سویا اشاره نمود (میرزایی، ۱۳۸۳). شیر سویا غذای مناسبی برای افراد با مشکل عدم تحمل<sup>۳</sup> لاکتوز و افراد دارای رژیم غذایی گیاهی<sup>۴</sup> می باشد (Liu, 1997).

پروتئین های اصلی سویا (11S) Glycinin و  $\beta$ -Conglycinin (7S) می باشند که هر کدام از چندین زیر واحد تشکیل شده اند (Brooks et al., 1985). این دو پروتئین بیش از ۷۰٪ از کل پروتئین های سویا را تشکیل داده اند (Laemmli, 1970). Glycinin وزن مولکولی ۳۵۰۰۰ دالتون دارد و از حداقل ۶ زیر واحد ناهمسان تشکیل شده است. هر زیر واحد شامل یک زنجیره پلی پپتید اسیدی است که به یک پلی پپتید بازی بوسیله یک باند دی سولفید متصل شده است (Derbyshire et al., 1976).

وزن مولکولی زنجیره پلی پپتیدی اسیدی بین ۳۷۰۰۰-۴۲۰۰۰ دالتون است و پلی پپتید بازی در حدود ۲۰۰۰۰-۱۷۰۰۰ دالتون میباشد (Malaki Nik et al., 2000). الگوهای الکتروفورز نشان می دهند که در حضور افزایش غلظت عوامل احیاکننده، شدت باند های ۲۱۰۰۰-۱۶۰۰۰ دالتون و ۴۲۰۰۰-۳۲۰۰۰ دالتون افزایش می یابد. این داده ها منطبق با شکست باند دی سولفید پروتئین ۱۱S و ظهور پلی پپتیدهای اسیدی و بازی در مایع فوقانی<sup>۵</sup> شیر سویای سانتریفوژ شده است. این پروتئین ها مسئول افزایش ضریب قابلیت پراکنش<sup>۶</sup> پروتئین شیر سویای تیمار شده هستند (Circle et al., 1964). پراکنندگی و گسترش زیر واحدها باعث در معرض قرار گرفتن باقیمانده اسیدهای آمینه فعال و بنابراین تقویت ژل و کاهش حلالیت پروتئین می شوند (Abtahi & Aminlari, 1997).

$(\alpha, \alpha', \beta, \gamma)$  تشکیل شده است که بر اساس pH، قدرت یونی و حضور عوامل احیاکننده می تواند در فرم های مولکولی متعدد موجود باشد (بر اساس ترکیبات مختلف زیر واحدها) (Brooks et al., 1985). در pH خنثی و قدرت یونی ۰/۵، گلوبولین  $\gamma$ S از سه نوع زیر واحد تشکیل شده است. نوع I ( $\beta$ -Conglycinin) نوع II ( $\beta$ -Conglycinin) و نوع III ( $\gamma$ -Conglycinin) می باشد. در قدرت یونی ۰/۸، نوع I به یک دایمر<sup>۷</sup>  $\gamma$ S تبدیل می شود، نوع II به یک مجموعه نامحلول ۱۳/۴S تبدیل شده و نوع III تغییر نمی کند (Brooks et al., 1985). وزن مولکولی زیر واحدهای  $\alpha$  و  $\alpha'$  در حدود ۸۳۰۰۰-۵۷۰۰۰ دالتون است در حالی که  $\beta$  و  $\gamma$  ۵۲۰۰۰-۴۲۰۰۰ و ۴۶۰۰۰ دالتون می باشد. این زیر واحدها بوسیله باندهای یونی و هیدروژنی در کنار هم قرار گرفته اند که بوسیله تأثیر قدرت یونی روی ترکیب مولکولی انواع مختلف  $\beta$ -Conglycinin مشخص شده است (Brooks et al., 1985). حلالیت پروتئین های سویا بوسیله تیمارهای شیمیایی، افزایش pH و خودداری از انجماد محصولات سویا افزایش می یابد (Abtahi & Aminlari, 1997).

حلالیت پروتئین یک خاصیت عملکردی اساسی است زیرا یک پروتئین باید به صورت محلول باشد تا بتواند دیگر خصوصیات عملکردی خود را نشان دهد. بهبود حلالیت پروتئین ها می تواند توسط اصلاحات آنزیمی و شیمیایی انجام گیرد (Liu, 1997; Kinsella, 1979). هدف از انجام این تحقیق بررسی تغییرات حلالیت پروتئین های شیر سویا در دماهای نگهداری ۴۰°C و ۱۸°C- می باشد. نتایج این تحقیق می تواند نشان دهنده مدت زمان ماندگاری محصول در شرایط مختلف باشد.

## مواد و روش ها

### تهیه شیر سویا

شیر سویا به روشهای Liu و همکاران (۲۰۰) و Majdinasab و همکاران (۲۰۱۰) با جزئی تغییرات تولید شد. پس از تمیز کردن لوبیای سویا (واريته Williams، تولید ۱۳۸۶) و توزین آنها، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۸°C برای انجام عمل غیر فعال سازی<sup>۸</sup> در آب جوشانده شد و سپس آب اضافه را خارج نموده و لوبیاهای سویا در دمای اتاق خنک گردیدند. پوست دانه ها را جدا کرده و با استفاده از چرخ گوشت با اندازه روزنه ۳ میلی متر چرخ شده و سپس لوبیاهای چرخ شده به نسبت ۱۶ درصد سویا و ۸۴ درصد آب برای بدست آوردن محلول با ۱۲ درصد ماده خشک در مخلوط کن به مدت یک ونیم دقیقه همگن گردید و از صافی با اندازه روزنه ۰/۷ میلی متر عبور داده و در دمای ۸۲°C به مدت ۲۰ دقیقه پاستوریزه گردید و به

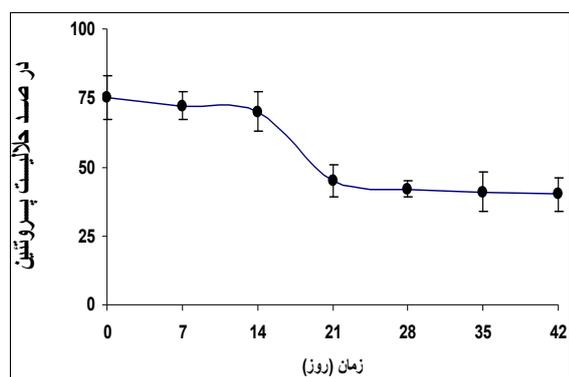
- 1- Natto
- 2- Tofu
- 3- Lactose intolerant consumers
- 4- Vegetarians
- 5- Supernatant
- 6- Protein dispersability index (PDI)

7- Dimer  
8- Blanching

بوده و بوسیله نرم افزار SPSS13 آنالیز آماری آن انجام شد. با استفاده از آزمون دانکن گروه بندی و مقایسه نتایج در سطح ۵ درصد صورت گرفت (بصیری، ۱۳۸۴).

### نتایج و بحث

شکل های ۱ و ۲ تغییر حلالیت پروتئین ها در نمونه های شیر سویای نگهداری شده در یخچال و در حالت انجماد را نشان می دهند. همان طور که مشاهده می شود حلالیت پروتئین طی مدت زمان نگهداری به صورت منجمد به تدریج کاهش یافت و در ۳ هفته از ۷۵ درصد به ۴۵ درصد (۳۰ درصد کاهش) رسید و پس از آن تا هفته ششم در حدود ۴۱ درصد ثابت ماند. دلیل آن احتمالاً واسرشتی<sup>۳</sup> و واسرشتی<sup>۴</sup> پروتئین ها در دمای انجماد، کاهش درصد رطوبت و افزایش غلظت یونی و در نتیجه رسوب پروتئین ها در نتیجه پدیده salting out می باشد. به عبارتی، در طی منجمد کردن سرعت واکنش های شیمیایی به دلیل تأثیر انجماد آب و تغلیظ<sup>۴</sup> بیشتر میشود می شود که باعث نزدیک شدن بیشتر درشت مولکولها به یکدیگر و ایجاد برهم کنش بیشتر بین مولکولها و تجمع و نامحلول شدن و رسوب پروتئینها می شود (شکل ۱) (Abtahi & Aminlari, 1997).



شکل ۱- تغییرات درصد حلالیت نمونه های شیر سویا نگهداری شده در  $-18^{\circ}\text{C}$

با توجه به شکل ۱ به نظر می رسد تغییرات حلالیت پروتئین از دو فاز (مرحله) تشکیل شده است. در مرحله اول کاهش حلالیت پروتئین تدریجی است که احتمالاً بیانگر این واقعیت است که ملکول های پروتئین واسرشته شده و به یکدیگر متصل می شوند و از میزان حلالیت کل آن ها کاسته می شود، اما در مرحله بعد (پس از ۱۴ روز) تمام پروتئین های متصل شده احتمالاً رسوب یافته و حلالیتشان به شدت کاهش می یابد. در نهایت مقداری پروتئین در شیر سویا در تمام مدت نگهداری به صورت محلول باقی مانده اند. با استفاده از

صورت پر کردن داغ<sup>۱</sup> در ظروف پلاستیکی ریخته شد (Aminlari *et al.*, 1977). شیر سویای پاستوریزه به دو قسمت تقسیم شد، قسمتی از آن در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  و قسمتی در دمای  $18^{\circ}\text{C}$  نگهداری گردید و در فواصل زمانی معین برای تعیین حلالیت پروتئین و انجام الکتروفورز استفاده شدند.

### تعیین حلالیت پروتئین

ده گرم نمونه به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده شده و پس از مخلوط و هموژنیزه کردن با هموژنیزر آزمایشگاهی در سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس میزان ازت در مایع روئی با روش میکروکلدال (حسینی، ۱۳۸۴) تعیین شده و درصد حلالیت پروتئین از معادله زیر محاسبه شد (Liu *et al.*, 2000):

$$(1) \times 100 (\text{پروتئین کل} / \text{پروتئین مایع فوقانی}) = \text{درصد حلالیت پروتئین}$$

### آزمایش الکتروفورز

به منظور بررسی میزان تأثیر نگهداری شیر سویا در دو دمای ذکر شده بر پروتئین ها، الکتروفورز روی ژل پلی آکریل آمید - سدیم دودسیل سولفات<sup>۲</sup> ۱۰٪ (SDS-PAGE) با روش Laemmli (۱۹۷۰) روی نمونه های شیر سویای پاستوریزه با زمان های نگهداری ۱ تا ۱۲ روز در  $4^{\circ}\text{C}$  و ۱ تا ۶ هفته در  $18^{\circ}\text{C}$ ، انجام گرفت. محلول پروتئین به بافر الکتروفورز مخلوط شد به گونه ای که غلظت نهائی مواد در این محلول برابر ۱ میلی گرم پروتئین در میلی لیتر، ۰/۱ مولار تریس-HCl، pH برابر ۶/۸، ۰/۴ درصد SDS، ۱۰ درصد گلیسرول و ۰/۰۴ درصد بروموفنل بلو بود. ژل اصلی در اندازه  $140 \times 140 \times 1$  میلی متر، غلظت آکریل آمید ۱۰٪، در بافر تریس-HCl ۱/۲ مولار (pH = 8.8) و ۰/۳ درصد SDS کار برده شد. ژل بالائی شامل ۳ درصد آکریل آمید در بافر تریس-HCl ۰/۲۵ مولار (pH = 6.8) و ۰/۲ درصد SDS بود. بافر الکتروفورز دارای ۰/۲۵ مولار تریس-HCl، گلیسن ۰/۱۹۲ مولار و ۰/۱۵ درصد و pH برابر ۸/۱۶ بود. الکتروفورز با شدت جریان ۱۵ میلی آمپر انجام شد و ژل ها با محلول ۰/۲۵ درصد کوماسی بریلیانت بلو آر-۲۵۰ در متانول ۵۰٪ رنگ آمیزی و با محلول ۱۰٪ اسیداستیک ۷٪ متانول رنگ بری شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری

طرح مورد استفاده در این آزمایشات، طرح تصادفی با دو تکرار

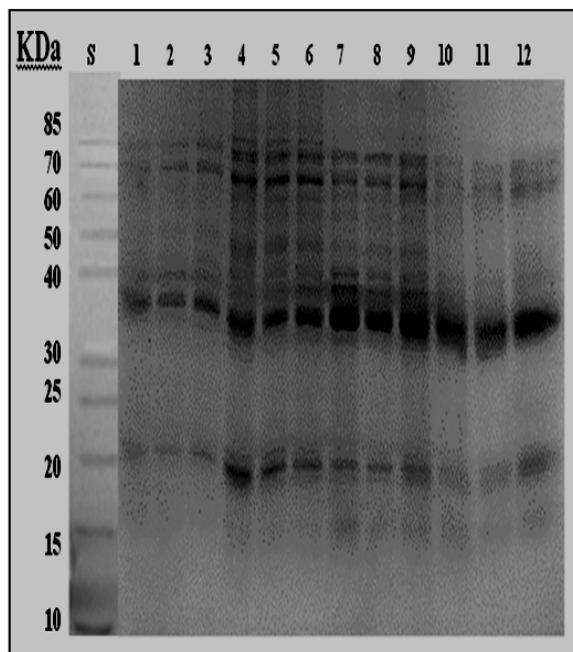
3- Denaturation  
4- Freeze concentration effect

1- Hot filling  
2- SDS-PAGE

آزمایش (پس از ۹ روز) به ۵۸ درصد رسید (۱۷ درصد کاهش). میزان کاهش حلالیت کمتر از نمونه های منجمد بوده و دلیل آن هم می تواند واسرشتی پروتئین ها باشد اما به علت اینکه دمای یخچال به مراتب از حالت انجماد بیشتر است ، اثر آن روی کاهش حلالیت نیز محدودتر بوده است ( شکل ۲). با توجه به شکل ۲، کاهش حلالیت پروتئین ها در دمای ۴°C از سینتیک صفر درجه پیروی می کند که معادله مربوطه در زیر نشان داده شده است (Labuza, 1985):

$$[A_0] - [A] = kt \quad (۴)$$

k از شیب منحنی خطی شکل ۲ و  $t_{1/2} = 0.5/k$  (جدول ۱).  
با مقایسه شکل های ۲ و ۳ و اعداد محاسبه شده برای k و  $t_{1/2}$  می توان نتیجه گرفت که کاهش حلالیت در دو دمای مختلف مکانیسم های متفاوت را در بر می گیرند که عمدتاً "مربوط به تاثیر کریستالها یخ تولید شده در دمای انجماد است (Kinsella, 1979).



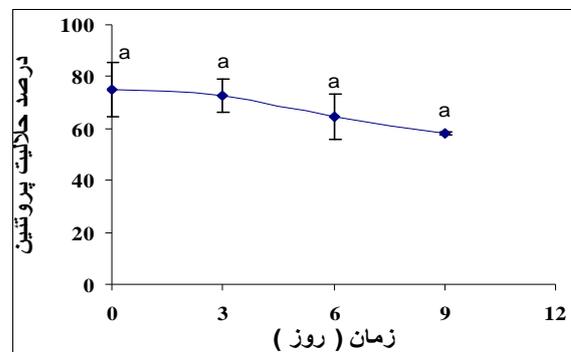
شکل ۴- SDS-PAGE نمونه های شیر سویا نگهداری شده در ۴°C و -۱۸°C

S: مارکر وزن مولکولی

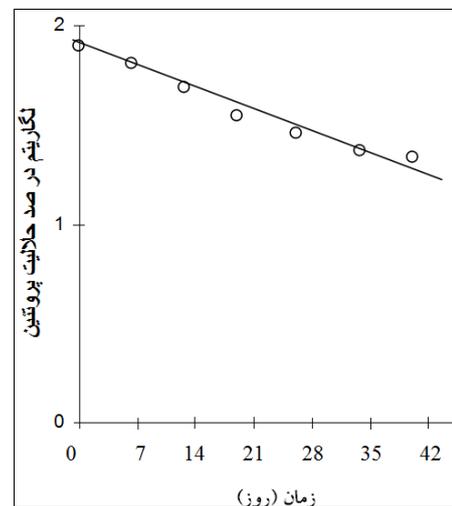
۳ و ۲، ۱: شیر سویا نگهداری شده در ۴°C در زمانهای صفر ، ۶ و ۱۲ روز  
۵، ۴، ۶: شیر سویا نگهداری شده در -۱۸°C در زمانهای صفر ، ۲۱ و ۴۲ روز  
۹، ۸، ۷: مایع فوقانی پس از سانتریفیوژ شیر سویا نگهداری شده در ۴°C در زمانهای صفر ، ۶ و ۱۲ روز  
۱۱، ۱۰، ۱۲: مایع فوقانی پس از سانتریفیوژ شیر سویا نگهداری شده در -۱۸°C در زمانهای صفر ، ۲۱ و ۴۲ روز

نتیجه آزمایشات الکتروفورز تاحدودی تأیید کننده نتایج حلالیت پروتئین است. در تمام نمونه ها کاهش ضخامت باندها در SDS-

مدل سازی سینتیکی ارائه شده توسط Labuza (۱۹۸۵) ، روند تغییرات حلالیت پروتئین های شیر سویا در ۱۸°C- از یک سینتیک درجه ۱ (first order kinetics) پیروی می کند (شکل ۳).



شکل ۲- تغییرات درصد حلالیت نمونه های شیر سویا نگهداری شده در ۴°C.



شکل ۳- تغییرات لگاریتمی درصد حلالیت نمونه های شیر سویا نگهداری شده در ۱۸°C-.

زیرا چنانچه لگاریتم حلالیت از شکل ۱ محاسبه شده در برابر زمان رسم گردد، منحنی خطی به دست می آید که می توان معادله زیر را برای آن نوشت:

$$\ln [A]/[A_0] = kt \quad (۲)$$

در این معادله  $[A_0]$  حلالیت قبل از شروع انجماد ،  $[A]$  حلالیت در زمان t و k ضریب ثابت (rate constant) است که از شیب منحنی خطی در شکل ۳ محاسبه می شود. همچنین نیمه عمر برای حلالیت پروتئین های شیر سویا ( $t_{1/2}$ , half life) نیز از معادله زیر قابل محاسبه است (Labuza, 1985) (جدول ۱):

$$t_{1/2} = 0.693/k \quad (۳)$$

در نمونه های شیر سویایی که در دمای ۴°C نگهداری شدند حلالیت با روند تدریجی باگذشت زمان کاهش یافت و در انتهای

خواص پروتئین‌ها را تغییر دهد (Kinsella, 1979). در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که نگهداری شیر سویا به صورت منجمد یا دردمای ۴°C می‌تواند حلالیت پروتئین‌های آن را کاهش دهد و به خواص عملکردی و احتمالاً تغذیه‌ای آن آسیب رساند.

### تشکر و قدر دانی

این تحقیق به کمک مالی گرانت شماره ۱۱-GR-VT-۸۸ شورای پژوهشی دانشگاه شیراز انجام شد. از کمک‌های خانم مریم توانا در انجام آزمایشات الکتروفورز قدردانی می‌شود.

PAGE مربوط به پروتئین‌های با وزن مولکولی ۱۶۰۰۰ تا ۲۱۰۰۰ و ۳۲۰۰۰ تا ۴۲۰۰۰ دالتون مشاهده می‌شود که احتمالاً مربوط به واکنش بین زیرواحدهای پروتئین اصلی سویا (GLYCININ) است. این پروتئین‌ها احتمالاً در اثر تجمع به مولکول‌های درشت‌تر، باعث رسوب و کاهش حلالیت شده و مقدارشان در الگوی الکتروفورز کاهش یافته است. ساختار پروتئین‌های سویا در طی منجمد کردن تغییر کرده و باعث در دسترس بودن بیشتر باند‌های دی‌سولفید می‌شود. از طرف دیگر، منجمد کردن به شدت حلالیت پروتئین‌های سویا را کاهش می‌دهد. بعضی از باند‌های پروتئین در نمونه‌های منجمد شده حذف شده یا بسیار ضعیف شده که این امر به نوبه خود می‌تواند

جدول ۱- ثابت سرعت و نیمه عمر برای کاهش حلالیت پروتئین‌های شیر سویا نگهداری شده در ۴ و ۱۸- درجه سانتی‌گراد

| پارامتر سینتیکی               | ۴°C   | -۱۸°C |
|-------------------------------|-------|-------|
| ثابت سرعت (روز) <sup>-۱</sup> | ۰/۶۲۵ | ۰/۰۱۴ |
| نیمه عمر (روز)                | ۱۴۴   | ۶۲    |

### منابع

- بصری، ع. ۱۳۸۴. طرح‌های آماری در علوم کشاورزی. چاپ نهم. انتشارات دانشگاه شیراز.
- جعفری، ع. ۱۳۸۴. پروتئین سویا و اعجاز آن در سلامتی انسان. انتشارات آوای قلم.
- حسینی، ز. ۱۳۸۴. روش‌های متداول در تجزیه مواد غذایی. چاپ پنجم. انتشارات دانشگاه شیراز.
- میرزایی، ح. ۱۳۸۳. پروتئین سویا. نشر علوم کشاورزی.
- Abtahi, S. and M. Aminlari. 1997. Effect of sodium sulfite, sodium bisulfite, cysteine, and pH on protein solubility and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis of soybean milk base. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4768.
- Aminlari, M., L.K. Ferrier and A.I. Nelson. 1977. Protein dispersibility of spray-dried whole soybean milk base: Effect of processing variables. *J. Food Sci.* 42:985.
- Brooks, J.R. and C.V. Morr. 1985. Current aspects of soy protein fractionation and nomenclature. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 62:1347.
- Circle, S.J., E.W. Meyer and R.W. Whitney. 1964. Rheology of soy protein dispersions: effect of heat and other factors on gelation. *Cereal Chem.* 4, 157.
- Derbyshire, E., D.G. Wright and D. Boulter. 1976. Legumin and vivilin, storage proteins of legume seeds. *Phytochem.* 15,3.
- Feeney, R.E. 1977. Chemical changes in proteins. In *Evaluation of Proteins for Humans*. AVI Publ.
- Fennema, O.R. 1985. Water and ice. In: "Food Chemistry", Fennema, O.R., Ed. 2nd ed. Marcel Dekker, New York, pp23-68.
- Kinsella, J.E. 1979. Functional properties of soy proteins. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56:242.
- Kuiken, K. A and Lyman, C.M. 1949. Essential amino acid composition of soy bean meals prepared from twenty strains of soy beans. *J. Biol. Chem.* 177, 29.
- Labuza, T.P. 1985. An integrated approach to food chemistry: Illustrative cases. In: "Food Chemistry", Fennema, O.R., Ed. 2nd ed. Marcel Dekker, 1985, pp913-938.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature.* 222:680.
- Liu, K. 1997. In "Soybean, chemistry, technology and utilization. Chapman and Hill, New York.
- Liu, J.R., Lin, C.W. 2000. Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose, or sucrose. *J of Food Sci.* 65: 716.
- Majdinasab, M, Aminlari L., Aminlari, M. and Niakosari, M. 2010. Effect of actinidin on the solubility and SDS-PAGE pattern of soymilk proteins. *J. of Biochem.* (In press).
- Malaki Nik, A., Tosh, S., Poysa, V., Woodrow, L. and Corredig, M. 2008. Physicochemical characterization of soymilk after step-wise centrifugation. *Food Res Int.* 41: 286.
- Poysa, V, Woodrow L, Yu, K. 2006. Effect of soy protein subunit composition on tofu quality. *Food Res Int.* 39: 309.
- Smith, A.K. and S.J. Circle. 1978. Soybeans, Chemistry and technology. AVI Publ. Vol. 1.
- Tay, S.L., Tan, H.Y., Perera, C, 2008. Enhanced growth of Lactobacilli in soymilk upon immobilization on agrowastes. *Process Biochem.* 40. 1791

Research Note

**Kinetic Studies on Protein Solubility and Electrophoretic Pattern of Soymilk Stored at Different Temperatures**

N. Darabzadeh <sup>1\*</sup>- S.S. Mousavi Nasab <sup>2</sup>- M. Amin Lari <sup>3</sup>- R. Ramezani <sup>4</sup>

Received: 15-06-2010

Accepted: 03-09-2011

**Abstract**

In recent years soybean derived foods (such as soymilk) have received considerable attention due to their high nutritional value and functional properties. The purpose of this study was to investigate the changes in protein solubility and electrophoretic behavior of soymilk stored at refrigerator and freezer conditions. A 12% total solid content soymilk was produced and stored at 4 and -18°C. At different time intervals samples were removed and analyzed for protein solubility and SDS-PAGE. A gradual decrease in solubility of proteins stored at -18°C with time was observed such that after 3 weeks solubility was dropped from 75% to 45% (30% decrease) and remained at 41% thereafter up to 6 weeks. These changes appeared to follow a first order kinetics with a rate constant (k) of 0.014(day)<sup>-1</sup> and half life (t<sub>1/2</sub>) of 62 days. Similar pattern was seen in the refrigerated sample except that the decrease in solubility occurred slowly and at final stage, solubility decreased by 17%. At this temperature the decrease in protein solubility followed a zero order kinetics with k of 0.625 (day)<sup>-1</sup> and t<sub>1/2</sub> of 144 days. These results indicate that long term refrigeration and freezing of soymilk must be avoided.

**Keywords:** Soymilk, solubility, SDS-PAGE

1&2- Former MSc students, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University.

(\*- Corresponding author Email: Darabzadehnazanin@yahoo.com)

3- Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University.

4- Lecturer, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University.