
Influencia del procesado térmico sobre la reología de geles de albumen de huevo

J.M Aguilar, A. Jaramillo, F. Cordobés, A. Guerrero*

Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química, Universidad de Sevilla Sevilla, 41012, Spain
Universidad de Sevilla, c/ Prof. García González 1, Sevilla, 41012, Spain

Influència del processament tèrmic sobre la reologia de gels d'albumina d'ou
Influence of thermal processing on the rheology of egg albumen gels

Recibido: 14 de octubre de 2009; revisado: 22 de diciembre de 2009; aceptado: 7 de enero de 2010

RESUMEN

El objetivo del trabajo ha consistido en la caracterización del proceso de gelificación térmica de dispersiones de albumen de huevo mediante ensayos viscoelásticos dinámicos. Las variables estudiadas han sido el tiempo de procesado térmico, manteniendo constante la velocidad de calentamiento y enfriamiento, la concentración de proteína y el pH del medio acuoso. Durante el procesado térmico se ha encontrado un aumento drástico de las propiedades viscoelásticas lineales durante el cual se produce una transición sol-gel. La contribución más importante para dicho incremento corresponde a la etapa de calentamiento y a la primera parte de la etapa isotérmica a 90°C, en las que se produce la formación de entrecruzamientos entre segmentos de proteínas, originando un entramado tridimensional. Tanto el tiempo de procesado como la concentración de albumen conllevan un aumento de propiedades viscoelásticas que reflejan un reforzamiento de la estructura de gel, pudiendo normalizarse los espectros mecánicos obtenidos en ambos casos. Los geles formados mediante procesado térmico presentan un mejor grado de estructuración en la proximidad del punto isoeléctrico del albumen de huevo. Cuando nos alejamos del punto isoeléctrico la presencia de interacciones electrostáticas dificulta la formación del entramado estructural, conduciendo a geles de menor consistencia.

Palabras clave: Albumen, geles proteicos, reología, viscoelasticidad lineal

SUMMARY

This work focuses on the characterisation of heat-induced gelling behaviour of egg white powder dispersions by means of small amplitude oscillatory shear (SAOS) tests. The effects of gel processing time, protein concentration and pH of the initial dispersing solution were evaluated at fixed heating and cooling rates. Linear viscoelastic properties showed a dramatic increase during thermal processing as the sol-gel transition was involved. The most important contribution to G' and G'' values corresponded to the heating zone and the beginning of the isothermal stage performed at 90°C, where cross-linking among protein segments occurred and a three-dimensional protein network was formed. Higher values of both viscoelastic

moduli were achieved by increasing processing time and/or protein concentration, thus leading to a reinforcement of the gel network. In addition, the mechanical spectra obtained were normalized for each of these two variables. As for the influence of pH, heat-set gels exhibited higher network strength at pH close to the isoelectric point of the egg white albumen. However, far from this point, electrostatic interactions interfered with protein network formation leading to a weakening of gel network structures.

Key words: Egg albumen, protein gels, rheology, linear viscoelasticity

RESUM

L'objectiu d'aquest treball consisteix en la caracterització del procés de gelificació tèrmica de dispersions d'albumina d'ou mitjançant assaigs viscoelàstics dinàmics. Les variables estudiades són el temps de processament tèrmic, mantenint constant la velocitat d'escalfament i refredament, la concentració de proteïna i el pH del medi aquós. Durant el processament tèrmic, es troba un augment dràstic de les propietats viscoelàstiques lineals, produint-se al llarg del mateix una transició sol-gel. La contribució més important per a aquest increment correspon a l'etapa d'escalfament i a la primera part de l'etapa isotèrmica a 90°C, en las que es produeix la formació d'entrecruaments entre segments de proteïnes, originant un entramat tridimensional. Tant el temps de processament com la concentració d'albumina comporten un augment de propietats viscoelàstiques que reflecteixen un enfortiment de l'estructura de gel, podent normalitzar-se els espectres mecànics obtinguts en ambdós casos. Els gels formats mitjançant processament tèrmic presenten un millor grau d'estructuració en la proximitat del punt isoelèctric de l'albumina d'ou. Si hom s'allunya del punt isoelèctric, la presència d'interaccions electrostàtiques dificulta la formació de l'entramat estructural, conduint a gels de menor consistència.

Mots clau: Albumina, gels proteics, reologia, viscoelasticitat lineal

*Autor para la correspondencia: aguerrero@us.es

INTRODUCCIÓN

El huevo de gallina se compone, aproximadamente, de un 67-70% de albúmen y un 30-33% de yema. Estructuralmente, la yema es un sistema complejo en el que participan lípidos y proteínas, mientras que el albúmen es una solución de proteínas globulares que contiene fibras de ovomucina. A pesar de que la clara de huevo se utiliza desde hace mucho tiempo para obtener sistemas estructurados, su uso presenta un interés creciente, ya que no contiene lípidos, presenta una excelente capacidad para formar geles térmicos y existen excedentes importantes de albúmina, debido al mayor uso de la yema en las formulaciones alimentarias ⁽¹⁾.

La formación de geles térmicos de albúmen de huevo responde al mecanismo descrito para proteínas globulares, que comienza por un proceso de desnaturalización parcial. Como consecuencia, algunos grupos hidrofóbicos ocultos originalmente en el interior de los glóbulos proteicos quedan expuestos al medio, actuando como puntos activos para la agregación de las proteínas desnaturalizadas ⁽²⁾. A temperatura superior a 61°C, se ha descrito una pérdida de fluidez debida a la desnaturalización de las proteínas presentes. La desnaturalización de la fracción proteica predominante (ovoalbúmina) determina la temperatura óptima de gelificación y contribuye a incrementar la consistencia del gel por encima de los 80°C. Por otra parte, a temperaturas superiores a 90°C, o para tiempos de calentamiento excesivos, puede producirse una disminución de la consistencia del gel, acompañada por una reducción de volumen del gel y sinéresis ⁽³⁾.

El objetivo de este trabajo ha consistido en la caracterización del proceso de gelificación térmica de dispersiones de albúmen de huevo mediante ensayos viscoelásticos en cizalla oscilatoria de pequeña amplitud (SAOS). Para ello, se han estudiado como variables el tiempo de procesado, la concentración de albúmen y el pH del medio acuoso.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las dispersiones de albúmen se prepararon redisolviendo en agua un albúmen comercial desecado (Ovifrance), con ayuda de un agitador magnético durante tres horas, siendo el rango de concentraciones preparadas entre el 5% y el 15% en peso. Para estudiar la influencia del tiempo de procesado se eligió, una concentración de albúmen del 12.5%. Las muestras fueron sometidas a una rampa de temperatura "in situ", mediante un ensayo SAOS a una frecuencia constante de 1Hz, utilizando un reómetro de esfuerzo controlado AR 2000 (TA Instruments, USA), con un sensor PP rugoso de 40 mm. El ciclo térmico consistió en las siguientes etapas: i) calentamiento desde 20 hasta 90°C, con una velocidad de subida de 10 °C/min; ii) etapa isotérmica de duración variable (10, 20, 30 y 40 min); iii) enfriamiento hasta 20°C, con una velocidad de -10 °C/min; iv) ensayo de barrido de frecuencia para obtener el espectro mecánico del gel final a 20°C.

El estudio del pH se realizó preparando dispersiones de albúmen al 12.5% en agua con volúmenes de HCl 1M y NaOH 1M, necesarios para obtener los valores de acidez o basicidad deseados. Las distintas dispersiones se introdujeron en tubos cilíndricos (15 cm de alto x 2.5 cm de diámetro) para proceder a su gelificación en baño, a una temperatura de 90°C durante 30 min. Los geles se almacenaron posteriormente a 5°C hasta el momento de

su medida. Los ensayos viscoelásticos dinámicos para estos geles de albúmen fueron realizados en un reómetro de deformación controlada ARES (TA Instruments, USA), empleando un sensor PP rugoso de 25 mm. Para establecer el intervalo de viscoelasticidad lineal de las muestras se llevaron a cabo ensayos de barrido de la deformación a una frecuencia de 1 Hz, tanto en dispersiones como en geles. Todos los ensayos reológicos se llevaron a cabo como mínimo por duplicado, con una separación entre platos de 1 mm y utilizando aceite de vaselina como líquido de sellado.

Se prepararon dispersiones de muestras de geles con una concentración final de proteína cercana al 1%, con ayuda de un homogeneizador Ultraturax T-25 (Ika Instruments) y un agitador magnético, durante 1 y 30 min respectivamente. Las muestras fueron sometidas a centrifugación, a 14.000 rpm durante 15 min en una centrifuga Sorvall. Se extrajeron muestras de los sobrenadantes y se llevaron a cabo medidas de absorbancia a $\lambda = 280$ nm, con un espectrofotómetro Pelkin-Elmer.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio del Tiempo de Procesado

La Figura 1 muestra la evolución de las propiedades viscoelásticas lineales con la temperatura para una dispersión del 12,5% de albúmen en agua sometida a distintos tiempos de procesado a 90°C. Pueden distinguirse tres zonas claramente diferenciadas:

i) Una primera zona, correspondiente a un comportamiento fluido con valores de G'' superiores a G' , en la que se observa un descenso moderado de ambos módulos (hasta unos 60°C), consecuencia del aumento de agitación térmica. Este descenso de valores de G' y G'' a temperaturas moderadas e inferiores a la temperatura de desnaturalización de la proteína, es típico de una disolución de macromoléculas con aumento de movilidad y ruptura de puentes de hidrogeno.

ii) Una segunda zona (60-90°C), en la que se produce una transición sol-gel. Esta zona se inicia con un súbito incremento de ambos módulos viscoelásticos, que se cruzan, observándose a partir de entonces un claro predominio de la componente elástica sobre la viscosa. Esta evolución, corresponde a la aparición de interacciones entre puntos activos de los distintos segmentos proteicos, que pueden originar entrecruzamientos mediante enlaces covalentes (principalmente puentes disulfuro), que conducen a la formación de un entramado tridimensional y al reforzamiento del gel elástico ⁽⁴⁾. Esta etapa finaliza con una zona isotérmica a 90°C, en la que se reduce la pendiente de la curva y se obtiene una tendencia asintótica, que corresponde al comportamiento del gel ya formado. Dicho resultado parece confirmar que se ha llegado a un periodo de estabilización del entramado estructural. Este comportamiento puede ser explicado en términos de los procesos involucrados en la gelificación de proteínas globulares. Según Clark ⁽⁵⁾, dicho mecanismo puede dividirse en tres fases: a) Cambio en las proteínas desde el estado nativo a un estado desnaturalizado, b) Agregación parcial de las proteínas, c) Asociación de los agregados proteicos para formar un entramado tridimensional.

iii) La tercera etapa corresponde a un periodo de reforzamiento del entramado con un importante aumento de ambos módulos viscoelásticos G' y G'' ; seguido de una marcada tendencia hacia un valor de equilibrio a tempe-

ratura ambiente. En esta etapa se produce la recuperación de interacciones de tipo físico, en especial puentes de hidrogeno en el que participan tanto la proteína como el medio acuoso.

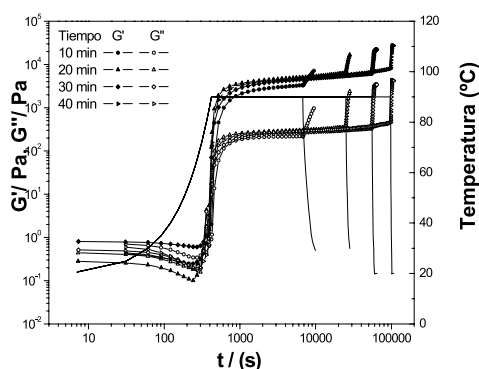


Figura 1. Evolución de los módulos de almacenamiento y pérdidas de la albúmina de huevo a pH 7, para una concentración del 12,5% de albumen.

En la tabla 1, se muestra la evolución de los índices de estructuración para las tres etapas mencionadas, calculados a partir de G' y G'' de la siguiente forma:

$$I'_k = \frac{G'_{kf} - G'_{ki}}{G'_{ki}}$$

$$I''_k = \frac{G''_{kf} - G''_{ki}}{G''_{ki}}$$

Donde G'_{ki} y G''_{ki} son los valores de los módulos elástico y viscoso obtenidos para el inicio de la etapa k, en tanto que G'_{kf} y G''_{kf} corresponden a los valores finales de dichos módulos para la misma etapa.

	10 min	20 min	30 min	40 min
I'_1	-0,19	-0,20	-0,58	-0,21
I''_1	-0,52	-0,23	-0,34	-0,43
I'_2	9661	18783	21321	23039
I''_2	647	1045	991	1303
I'_3	1,18	1,63	2,06	2,48
I''_3	3,41	5,72	9,12	8,55

Tabla 1. Índices de estructuración correspondientes a las etapas de procesado térmico (12.5% albumen, pH 7).

Puede apreciarse que en la primera etapa, tanto I'_1 como I''_1 , presentan valores negativos debido al descenso de los valores de ambos módulos a lo largo de la etapa. Hecho que puede relacionarse con la pérdida de estructura de la proteína que pasa a desnaturalizarse desde su estado nativo (mínimo energía) durante esta etapa de agitación térmica. Sin embargo, en las etapas siguientes se alcanzan índices de reforzamiento positivo, sobre todo en la segunda etapa, en la que se produce la formación del gel por agregación de las proteínas y asociación de los agregados proteicos, con valores de I' mucho mayores que los de I'' . La prolongación del tiempo de procesado durante el

periodo isoterma produce un aumento del grado de reforzamiento estructural, causado por la asociación de agregados proteicos.

Como se indicó previamente, en la última etapa, en la que tiene lugar una recuperación de interacciones de carácter físico, puede observarse un mayor reforzamiento de la componente viscosa que de la componente elástica (6).

La Figura 2 muestra los espectros mecánicos obtenidos tras el ciclo térmico llevado a cabo sobre las muestras de albúmina a pH 7. Un aumento del tiempo de procesado se traduce en un aumento de los valores de G' y G'' de las muestras. Además, la forma de los espectros es similar, lo que permite utilizar el módulo elástico a 1 rad/s (G'_1) como parámetro de normalización para obtener un único espectro mecánico generalizado con sendas curvas maestras para ambas funciones viscoelásticas (Figura 3).

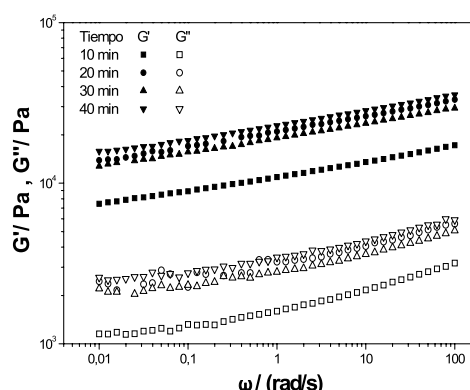


Figura 2. Módulos de almacenamiento y pérdidas en función de la frecuencia y el tiempo de procesado a pH 7 y 12,5% de albumen.

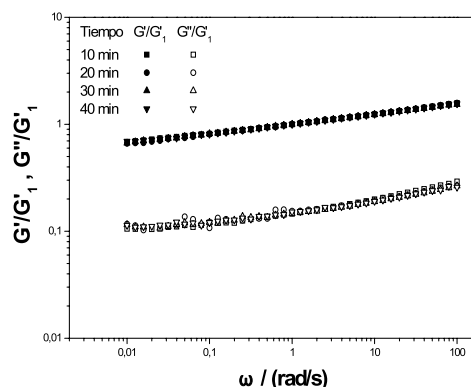


Figura 3. Espectro mecánico normalizado para geles de albumen procesados in situ a pH 7 y 12,5% de albumen.

Este procedimiento, que suele utilizar el módulo Plateau como parámetro de normalización, ha sido realizado anteriormente en sistemas proteicos tales como emulsiones estabilizadas con yema de huevo (7), o dispersiones de yema de huevo atomizada (8).

Como puede apreciarse, dicho procedimiento de normalización produce excelentes resultados, que permiten simplificar el análisis de la influencia del tiempo de procesado, a través de la evolución del parámetro de normalización. Al mismo tiempo, el hecho de que la generalización sea

posible indica ausencia de cambios estructurales importantes al prolongar el tiempo de procesado.

La Figura 4 muestra una tendencia asintótica en la evolución del parámetro de normalización con el tiempo de procesado tras el ciclo térmico aplicado anteriormente hasta 90°C, lo que confirma la tendencia hacia una estabilización en la estructura.

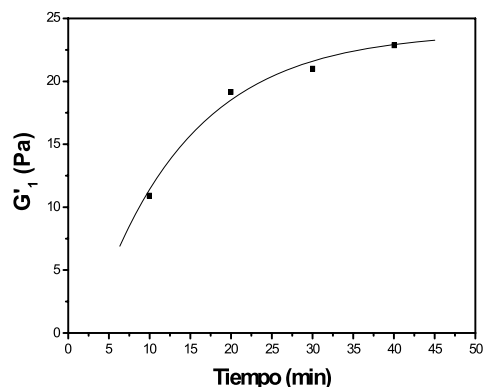


Figura 4. Evolución del módulo elástico a 1 rad/s con el tiempo de procesado, a pH 7 y 12,5% de albumen.

Influencia de la Concentración

En la Figura 5 se presentan los resultados de los barridos de frecuencia de los gels de albumen de huevo procesados térmicamente en baño durante 30 min a una temperatura de 90°C.

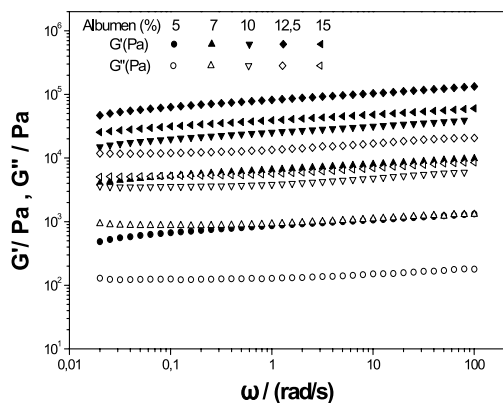


Figura 5. Módulos viscoelásticos en función de la frecuencia y el contenido de albumen (pH 7 y 30 min).

Los espectros mecánicos obtenidos muestran que el aumento de la concentración de albumen produce un aumento de los valores de G' y G'' , aunque no se modifica su forma. Dicho comportamiento permite de nuevo la superposición de todos los barridos de frecuencia en un único espectro normalizado (Figura 6), usando de nuevo G' a 1 rad/s como parámetro de normalización.

Una consecuencia de la obtención de un espectro mecánico maestro consiste en que la evolución de los gels procesados en baño con la concentración de albumen puede ser analizada simplemente a través de la evolución del parámetro de normalización.

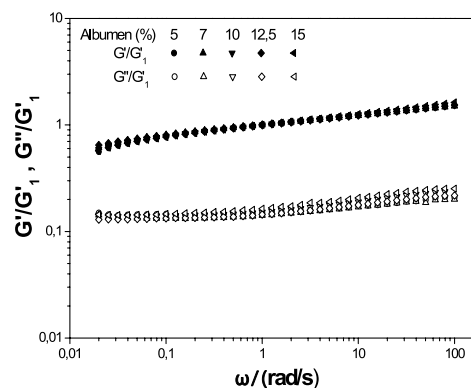


Figura 6. Espectro mecánico normalizado para gels de albumen procesados en baño a pH 7 y 90°C durante 30 min.

En la Figura 7 puede observarse una variación de tipo exponencial del parámetro de normalización con la concentración de albumen. Esta variación indica que el reforzamiento de la matriz proteica se vuelve cada vez más importante a medida que aumenta el contenido de albumen y, por tanto, la densidad de los agregados proteicos que participan en el entramado.

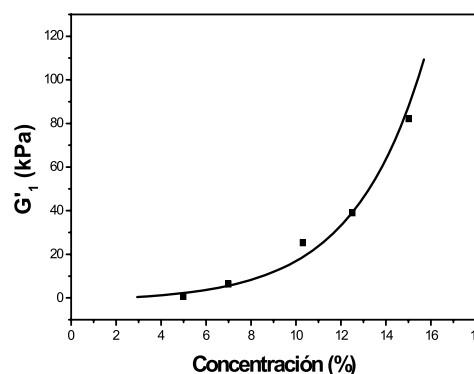


Figura 7. Evolución del parámetro $G'1$ en función del contenido de albumen para gels procesados en baño a pH 7 y 90°C durante 30 min.

Influencia del pH

En la Figura 8 puede observarse que las muestras con mayor grado de estructuración se corresponden con los gels obtenidos a partir de dispersiones de albumen de huevo preparadas al valor más próximo al punto isoeléctrico (pH=4,5). Ambos módulos viscoelásticos disminuyen conforme nos alejamos de ese valor, próximo al punto isoeléctrico (pI) del albumen. Así, mientras que en el pI la carga neta de la proteína es nula, para valores de pH lejanos a éste se produce un incremento de las repulsiones electrostáticas que conducen a un debilitamiento de la estructura del gel⁽⁹⁾.

La Figura 9 muestra la evolución de los parámetros reológicos $G'1$ y $G''1$ en función del pH. Para ello, se ha seleccionado el valor de los módulos de almacenamiento y de pérdidas a 1 rad/s para cada muestra, observándose que toman valores máximos para el pH más cercano al pI. Contrariamente, los valores de absorbancia correspondiente a dichas muestras de gels son menores conforme

nos acercamos al pI, siendo su evolución coincidente con la cantidad de proteína solubilizada, que siempre será mínima en ausencia de cargas eléctricas ⁽¹⁰⁾. Así pues, el menor valor para la solubilidad de la proteína coincide con la máxima estructuración del gel para valores próximos al punto isoelectrónico, que a su vez coincide con la presencia mínima de cargas en las superficies de las proteínas y de interacciones electrostáticas repulsivas.

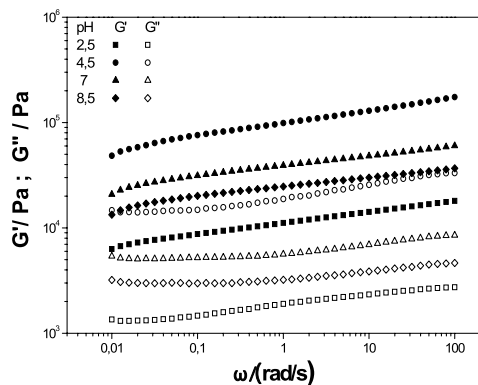


Figura 8. Módulos viscoelásticos de geles con un 12,5% de albúmina, procesados en baño a 90°C durante 30 min, en función de la frecuencia y el pH.

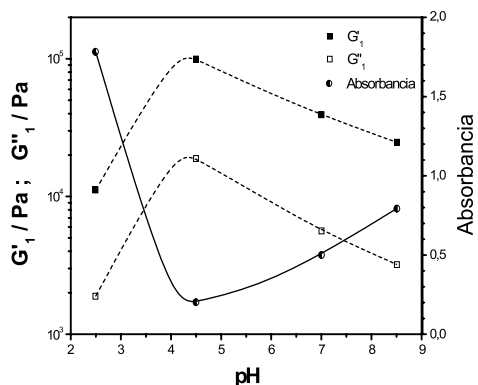


Figura 9. Evolución de los parámetros reológicos ($G'1$ y $G''1$) y de la absorbancia para geles con un 12,5% de albúmina procesados en baño a 90°C durante 30 min, en función del pH.

CONCLUSIONES

El albúmina de huevo sometido a procesamiento térmico experimenta un aumento drástico de propiedades viscoelásticas lineales, incluyendo una transición desde un comportamiento típico de un sol hasta otro característico de un gel. La contribución más importante para dicho incremento corresponde a la etapa de calentamiento entre 55-90°C, y la primera parte de la etapa isotérmica a 90°C, en las que se produce la formación de entrecruzamientos entre segmentos de proteínas que originan un entramado tridimensional. De hecho, la habilidad de las proteínas para formar puentes disulfuro durante su tratamiento térmico es un factor considerado decisivo en la formación de geles alimentarios, pues proporciona una adecuada textura a una gran variedad de alimentos ^(11,12). Un aumento del tiempo de procesamiento de la etapa isotérmica produce un mayor reforzamiento del gel, pero no con-

lleva cambios estructurales importantes, como se deduce de la obtención de un espectro mecánico generalizado. La influencia de la concentración de albúmina para los geles procesados en baño produce un efecto similar al anterior, que conduce a un nuevo espectro mecánico generalizado. Se obtiene una variación de tipo exponencial creciente para el parámetro de normalización, como consecuencia de la mayor disponibilidad y proximidad de puntos activos para la formación de enlaces disulfuro. Los geles formados mediante procesamiento térmico presentan un mejor grado de estructuración en la proximidad del punto isoelectrónico del albúmina de huevo. Cuando nos alejamos del punto isoelectrónico se generan repulsiones electrostáticas debido a la presencia de cargas superficiales en las moléculas de proteína, que tienden a dificultar la formación del entramado estructural y conducen a geles de menor consistencia.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación recibida por MEC/FEDER, dentro del proyecto de investigación AGL2007-65709, que ha permitido este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Damodaran, S. and Paraf, A.: "Food proteins and their applications". Marcel Dekker, Inc. New York (1997).
2. Aguilera, J.M. and Rademacher, B.: "Protein gels", Proteins in food processing. Yada R.Y. (ed.). Woodhead Publishing Limited & CRC Press, Cambridge (2004).
3. Ross-Murphy, S.B.: "Incipient behavior of gelatin gels". Rheol Acta, 30, 401 (1991).
4. Weijers, M.; Sagis, L.M.C.; Veerman, C.; Sperber, B. and van der Linden, E.: "Rheology and structure of ovalbumin gels at low pH and low ionic strength". Food Hydrocolloid, 16, 269 (2002).
5. Clark, A.H.: "Gelation of globular proteins". Functional properties of food macromolecules, 2nd ed. Hill, S.E.; Ledward, D.A. and Mitchell J.R. (eds.). Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg (1998).
6. Clark, A.H.: "Biopolymer gels". Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 1, 712 (1996).
7. Franco, J.M.; Berjano, M.; Gallegos, C.: "Linear viscoelasticity of salad dressing emulsions". J. Agric. Food Chem., 45, 713 (1997).
8. Miranda, J. Partal, P., Cordobés, F.; Guerrero, A.: "Rheological characterization of egg yolk processed by spray-drying and lipid-cholesterol extraction with carbon dioxide". J. Am. Oil Chem. Soc., 79, 183 (2002).
9. Guerrero, A.; Carmona, J.A.; Martínez, I.; Cordobés, F. and Partal, P.: "Effect of pH and added electrolyte on the thermal-induced transitions of egg yolk". Rheol Acta, 43, 539 (2004).
10. Puppo, M.C. and Añón, M.C.: "Soybean protein dispersions at acid pH. Thermal and rheological properties". J. Food Sci., 64, 50 (1999).
11. Dickinson, E.: "Enzymic crosslinking as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization". Trend Food Sci. Tech. 8, 334 (1997).
12. Zayas, J.F.: "Functionality of proteins in food". Springer-Verlag, Berlin (1997).