

ROL DE CONJUGADOS PROTEÍNA-POLISACÁRIDOS EN LA ESTABILIDAD DE EMULSIONES PROCESADAS CON PROTEÍNA DE SUERO DE LECHE

Maria Cermeño¹, Manuel Félix^{1,2,*}, Alan Connolly¹, Elaine Brennan¹, Bernadette Coffey¹, Edel Ryan¹, Richard J. FitzGerald¹

¹ *Department of Life Sciences, University of Limerick, Limerick.*

² *Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Sevilla, Sevilla.*

E-mail de correspondencia: mfelix@us.es

Resumen

Recientemente las propiedades bioactivas de los distintos alimentos han despertado un gran interés. En el presente trabajo se pretende establecer una relación entre propiedades bioactivas de emulsiones y la estabilidad de éstas. Para preparar estas emulsiones, se ha empleado proteína de suero de leche conjugada con carragenano, el cual es un hidrocoloide conocido por su capacidad de formar conjugados con proteínas, así como de aumentar la viscosidad de los sistemas donde está presente. Tras establecer una relación tiempo/temperatura óptima para la conjugación. Tras llevar a cabo un diseño de experimento, se seleccionaron cuatro sistemas para establecer aquel que mantuviera las propiedades bioactivas y funcionales en una mejor proporción. Los resultados obtenidos ayudan a determinación de una concentración óptima de proteína de suero de leche y de carragenano (polisacárido) en sistemas las emulsiones empleadas. Además de las propiedades bioactivas logradas con este sistema, estos resultados son fundamentales para la posible encapsulación de ingredientes activos en alimentos funcionales.

1. Introducción

Tradicionalmente se han empleado las proteínas provenientes de la leche como un agente con excelentes propiedades para la estabilización de sistemas dispersos (Dickinson, 2001). Debido al carácter anfifílico que tienen, éstas se localizan en la interfase, creando fuerzas de repulsión electrostática y estérica entre las gotas de aceite que estabilizan el sistema. Además, la estabilidad de este tipo de sistemas puede mejorar mediante la adición de polisacáridos (hidrocoloides) de alto peso molecular, lo que conduce a una mejor separación entre las gotas de aceite, además de reducir la cinética de desestabilización de este tipo de sistemas mediante

el aumento de la viscosidad de la fase continua (Tadros, 2013). Además, cuando concurre la presencia de polisacáridos y proteínas hay que considerar la posibilidad de formación de conjugados (Pilosof, 2017). La conjugación de la proteína de suero de leche y polisacáridos mediante la reacción de Maillard conduce a la generación de glucoproteínas, que previamente han demostrado mejorar las propiedades emulsionantes de las emulsiones. Por otra parte, la hidrólisis conlleva no solamente a mejorar la actividad de la emulsión (McCarthy *et al.*, 2013), sino que también estas fracciones proteicas de pequeño tamaño puede llevar a lograr sistemas con altas actividades antioxidantes (Chatterjee *et al.*, 2015) emulsifying and foaming properties, degree of hydrolysis, molecular weight distribution, antioxidant and {ACE} inhibitory activity of sesame protein hydrolysates prepared with pepsin, papain and alcalase enzymes were evaluated. The rate of degree of hydrolysis was found to reach maximum (25–30%).

El objetivo principal del presente estudio ha sido determinar el efecto de la conjugación sobre las propiedades emulsionantes de la proteína de suero de leche, así como determinar el efecto de la conjugación sobre las propiedades antioxidantes de los conjugados resultantes.

2. Materiales y métodos

El concentrado de suero de leche (Whey Protein Concentrate 80, WPC) fue obtenido por Carberry Food Ingredients Limited (Cork, Irlanda). La enzima Alcalasa (2.4L) y Flavourzyme fueron suministrados por Kerry Group (Kerry, Irlanda). Para las emulsiones se empleó aceite de maíz (Mazola, ACH Food Companies INC, Norteamérica). Todos los demás reactivos empleados en este estudio fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Dublín, Irlanda).

2.1 Obtención de los hidrolizados

La hidrólisis enzimática se llevó a cabo a una dispersión de WPC (10% (p/v)) manteniendo el pH constante durante toda la hidrólisis mediante el equipo pH stat (902 Titrand, Metrohm, Suiza). El valor de pH se mantuvo constante a 7,0, mientras que la temperatura se mantuvo constante a 50 °C mediante el empleo de un baño termostático. Las enzimas proteolíticas Alcalase 2.4L y Flavourzyme se añadieron a una concentración de 1.0% y 0.5% (p/v), respectivamente. La hidrólisis enzimática se detuvo incubando la muestra durante 20 minutos a 80 °C. Se generaron tres muestras, WPC no hidrolizado, una muestra con un bajo grado de hidrólisis ($5,7 \pm 0,4\%$) y una muestra con un alto grado de hidrólisis ($11,7 \pm 0,9\%$).

2.2 Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

La actividad antioxidante de las muestras no conjugadas y conjugadas se determinó mediante el ensayo ORAC siguiendo el método descrito por Cermeño, FitzGerald y O'Brien (2016). Los resultados se expresaron como μmol equivalentes de Trolox.

2.3 Reología de las emulsiones

Para determinar las propiedades reológicas de las emulsiones se realizaron ensayos de cizalla de pequeña amplitud (SAOS) en un reómetro DHR-2 (New Castle, EE.UU.). Se llevaron a cabo barrido de frecuencia (de 0,05 a 30 Hz) en el intervalo viscoelástico lineal. La geometría utilizada fueron placas paralelas de 40 mm de diámetro.

3. Resultados y discusión

La Tabla 1 muestra la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) de las emulsiones estabilizadas con suero de leche (WPI) y carragenano (CGN) conjugadas y sin tratamiento de conjugación

Tabla 7. Resultados ORAC para dispersiones proteína/polisacáridos.

ORAC ($\mu\text{moles eq. de Trolox}$)		
Sistema	No conjugado (NC)	Conjugado (C)
No hidrolizado	45 ± 2	(-)
Bajo grado de hidrólisis	60 ± 3	570 ± 7
Alto grado de hidrólisis	180 ± 9	720 ± 11

Fuente: elaboración propia.

Las muestras no conjugadas y conjugadas se analizaron para determinar la actividad antioxidante. Los resultados de ORAC muestran que los sistemas con conjugados sufrieron un aumento significativo ($p < 0,05$) en la actividad antioxidante en comparación con las muestras no conjugadas. Esta tendencia fue anteriormente observada por Hiller y Lorenzen (2010) lactose, pectin and dextran and analysed for changes in molar mass distribution and functional properties. The study revealed that oligomeric (20,000–200,000g/mol para WPI y dextrano, relacionándolo con la exposición de grupos con capacidad antioxidante tras la conjugación de la proteína con el hidrocoloide.

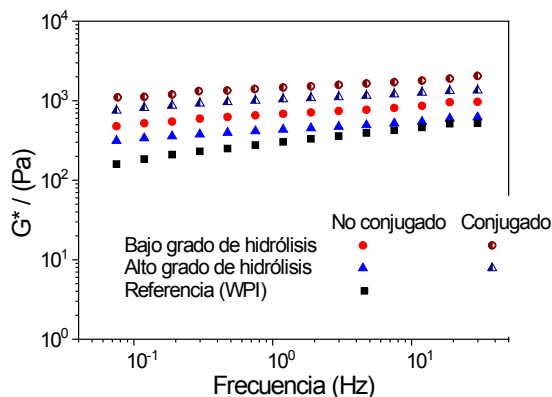


Figura 6. Evolución del módulo complejo en función de la frecuencia.

Fuente: elaboración propia.

Los resultados reológicos muestran que todas las emulsiones presentan un comportamiento tipo gel, donde el módulo complejo exhibe una dependencia baja con la frecuencia. Esta respuesta se ha obtenido previamente para otras emulsiones estabilizadas con proteínas, especialmente en presencia de un polisacárido (Félix, Romero, y Guerrero, 2017). Por otra parte, la caracterización reológica también muestra que los mayores módulos se obtuvieron para los sistemas conjugados, donde un elevado grado de hidrólisis no es deseable.

Conclusiones

Los resultados obtenidos muestran que el empleo de proteína de leche con un hidrocoloide mejora tanto las propiedades antioxidantes, como la reología de la emulsión formada. En este sentido, cabe destacar que la conjugación de estos sistemas es deseable, sin embargo, un elevado grado de hidrólisis puede mejorar las propiedades antioxidantes, pero perjudicar la reología de las emulsiones generadas.

Referencias bibliográficas

Cermeño, M., FitzGerald, R. J., y O'Brien, N. M. (2016). In vitro antioxidant and immunomodulatory activity of transglutaminase-treated sodium caseinate hydrolysates. *International Dairy Journal*, 63, 107–114. https://www.researchgate.net/publication/307997351_In_vitro_antioxidant_and_immunomodulatory_activity_of_transglutaminase-treated_sodium_caseinate_hydrolysates

- Chatterjee, R., Dey, T. K., Ghosh, M., y Dhar, P.** (2015). Enzymatic modification of sesame seed protein, sourced from waste resource for nutraceutical application. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 70–81. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.01.007>
- Dickinson, E.** (2001). Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 20(3), 197–210. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(00\)00204-6](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(00)00204-6)
- Félix, M., Romero, A., y Guerrero, A.** (2017). Influence of pH and Xanthan Gum on long-term stability of crayfish-based emulsions. *Food Hydrocolloids*, 72, 372–380. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.018>
- Hiller, B., y Lorenzen, P. C.** (2010). Functional properties of milk proteins as affected by Maillard reaction induced oligomerisation. *Food Research International*, 43(4), 1155–1166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.006>
- McCarthy, A. L., O’Callaghan, C. Y., Piggott, O. C., FitzGerald, J. R., y O’Brien, M. N.** (2013). Brewers’ spent grain; Bioactivity of phenolic component, its role in animal nutrition: A review. *Proceedings of the Nutrition Society*, 72(1), 117–125. <https://doi.org/10.1017/S0029665112002820>
- Piloso, A. M. R.** (2017). Potential impact of interfacial composition of proteins and polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 68, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.030>
- Tadros, T.** (2013). *Emulsion Formation and Stability*. Wiley.