

# XXVII JORNADAS DE JOVENS PESQUISADORES

A ciência e a tecnologia na produção de inovação e transformação social

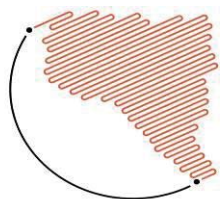
23 A 25 DE OUTUBRO DE 2019

**UFSCar | Brasil | 2019**

ISBN: 978-85-94099-11-2



Asociación de Universidades  
GRUPO MONTEVIDEO



## 15. Biofísica

### Propiedades emulsionantes de hidrolizados proteicos de caupí

Thompson, Cinthia MB; [cinmbthomp@gmail.com](mailto:cinmbthomp@gmail.com)

Acevedo, Belén A; [belenapovolo@gmail.com](mailto:belenapovolo@gmail.com); Avanza, María V; [vavanza@yahoo.es](mailto:vavanza@yahoo.es)

Acevedo, Belén A; [belenapovolo@gmail.com](mailto:belenapovolo@gmail.com);

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura

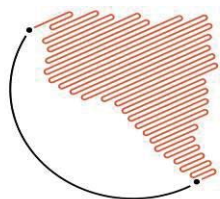
Universidad Nacional del Nordeste

---

#### Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades emulsionantes de hidrolizados proteicos de caupí (H), con bajo grado de hidrólisis (LH), en forma comparativa con el aislado nativo (A). Las semillas fueron molidas y tamizadas. A partir de la harina desgrasada fueron extraídas las proteínas a pH=8 (A8) y a pH=10 (A10) con precipitación isoeléctrica, neutralización y posterior liofilización. Los H fueron obtenidos por digestión con alcalasa (0,08  $\mu$ L/100 mg). Se determinó el grado de hidrólisis alcanzado. Se prepararon emulsiones aceite en agua al 0,1% y 1% de las fracciones solubles de A e H utilizando un homogeneizador (1 min, 20000 rpm) con posterior sonicación (potencia de 50%, 1 pulso, 30 s). Se estudió la estabilidad mediante un analizador óptico vertical de barrido. Se observó buena estabilidad frente al cremado-coalescencia para las emulsiones con A8 y A10, en ambas concentraciones. No obstante, a las 24 h se registró un descenso del 10% del %BS inicial para las emulsiones al 0,1% mientras que para las emulsiones al 1%, el descenso se inició a los 3 días. La estabilidad de las emulsiones con LH fue mejor que las emulsiones solamente con A. Para las dos concentraciones utilizadas el %BS se mantuvo constante en la Zona II (%BS 40-50 mm). En la Zona I (%BS 10-15 mm) se observó una disminución del 20% del %BS para LH A8 y LH A10 al 0,1% y del 5% para las de mayor concentración. A los 10 días de almacenamiento, se evidenció una mejora en la estabilidad de las emulsiones con LH A10 1% respecto a LH A8 de igual concentración. Las proteínas de caupí pueden ser utilizadas como emulsionantes por su habilidad de mejorar la estabilidad. La hidrólisis enzimática resulta un tratamiento favorable para su utilización como posible ingrediente en la formulación de alimentos.

**Palabras claves:** legumbres, aislados de proteínas, estabilidad



## Introducción

El caupí (*Vigna unguiculada* Syn. *Vigna sinensis*), es una leguminosa cuyo cultivo es de larga tradición en la cultura agronómica del Nordeste Argentino. Posee un elevado contenido de proteínas (22-25 %) de buena calidad nutricional (Khattab y col., 2009). La posibilidad de obtener aislados proteicos constituye una de las grandes potencialidades de esta semilla para la industria alimentaria debido a que se realiza la eliminación, lo más completa y selectiva posible, de los compuestos no proteicos presentes en la harina (Vioque y col., 2001). Este tipo de productos podrían ser utilizados como ingredientes alimentarios nutritivos en la medida que posean adecuadas propiedades funcionales. Una emulsión es un sistema coloidal bifásico, termodinámicamente inestable. Desde el momento en que se forma una emulsión, comienza el proceso de desestabilización (Wagner, 2000). Sin embargo, las emulsiones pueden estabilizarse cinéticamente usando emulsionantes y/o estabilizantes que retardan o inhiben los diversos mecanismos de desestabilización. En este contexto, las proteínas de caupí resultan buenos agentes emulsificantes. Por su actividad superficial, tienden a adsorberse en la superficie de las gotas formando una barrera protectora que previene la agregación entre ellas y, por ende, al proceso de coalescencia. La hidrólisis enzimática es un procedimiento

utilizado en la industria alimentaria para generar péptidos pequeños a partir de las proteínas, con el objetivo de mejorar, las propiedades funcionales y características nutricionales (Wang y de Mejía, 2005). La enzima comúnmente utilizada es la alcalasa, ya que ha sido reportada como una proteasa eficiente para la hidrólisis de proteínas vegetales (Gao y Zhao, 2012). La hidrólisis causa cambios en el tamaño molecular, la solubilidad y la exposición de grupos hidrofóbicos, influyendo todas éstas, entre otras propiedades, en la capacidad de emulsificar de las proteínas. Según estudios, se requiere un bajo grado de hidrólisis ( $\leq 10$  %), para obtener un mejoramiento en las propiedades funcionales de la proteína (Tsumura, 2009).

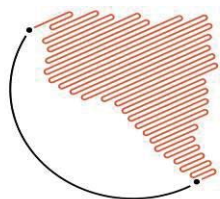
## Objetivo

El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades emulsionantes (capacidad y estabilidad de emulsificación) de hidrolizados proteicos, con bajo grado de hidrólisis, en forma comparativa con el aislado nativo de caupí.

## Materiales y Métodos

### I. Obtención de aislados e hidrolizados proteicos de caupí

I.a. Aislados (A). Se utilizaron semillas provistas por la Estación Experimental Agropecuaria El Sombrero, Corrientes (INTA). Se preparó harina moliendo las



semillas en un molino Wiley y tamizando a través de ASTM 80 (177  $\mu$ m). La harina obtenida fue desgrasada por tratamiento con n-hexano (10 g de harina/100 mL de n-hexano, agitación durante 24 h a 4 °C y filtración al vacío a temperatura ambiente). A fue preparado por extracción de las proteínas a partir de una suspensión de harina desgrasada en agua destilada al 10%(p/v) a pH=8 (A8) y a pH=10 (A10), precipitación isoelectrica a pH=4,5, neutralización y liofilización (Martinez y Añón, 1996).

I.b. Hidrolizado proteico con alcalasa (H). Se preparó una suspensión (1 g A/100 mL de NaOH 1 mM, pH=10) y se incubó en agitación (1 h, 37 °C) manteniendo el pH constante. Se adicionó alcalasa ( $\geq$  2,4 U/g, Anson Units Sigma), 0,08  $\mu$ L/100 mg de muestra incubando durante 4 h a 37 °C. Se detuvo la reacción enzimática (85 °C, 10 min) y se liofilizó la suspensión (Tironi y Añón, 2010).

**II. Determinación del grado de hidrolisis**  
**Método de TNBS** (Adler-Nissen, 1979).

### III. Preparación de emulsiones

Se ensayaron dos concentraciones de proteínas total 0,1 y 1% p/p. Se prepararon emulsiones aceite en agua, pre homogeneizando 4 mL de aceite de girasol con 16 mL de la fracción soluble del A e H a 20.000 rpm (Ultraturrax T-25, rotor S25N-10G, 1 min, 20  $\pm$  2°C). Posteriormente, se utilizó un homogeneizador ultrasónico (SONICS Vibra Cell VCX750, potencia de

50%, 1 pulso, 30 seg).

### IV. Estabilidad global de las emulsiones

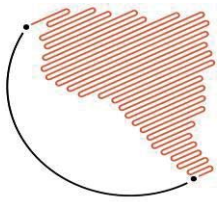
Se estudió la estabilidad global de las emulsiones por medidas de dispersión de luz utilizando un analizador óptico vertical de barrido QuickSCAN (Beckman Coulter, USA). Se obtuvieron cinéticas de cremado-floculación y floculación-coalescencia registrando los perfiles de backscattering (% BS) en función de la altura del tubo de medida (cada 2 min durante 1 h) estableciéndose dos zonas de lectura, Zona I o parte baja del tubo 10-15 mm (% BS10-15) y Zona II o parte alta del tubo 40-50mm (% BS40-50). Con el objetivo de realizar un estudio comparativo, las emulsiones preparadas se monitorearon todos los días durante 10 días de almacenamiento, a 4 °C.

### Resultados y Discusión

El hidrolizado de caupí A8 presentó un grado de hidrólisis igual a 4,9  $\pm$  0,2% mientras que para A10 fue de 5,0  $\pm$  0,5%.

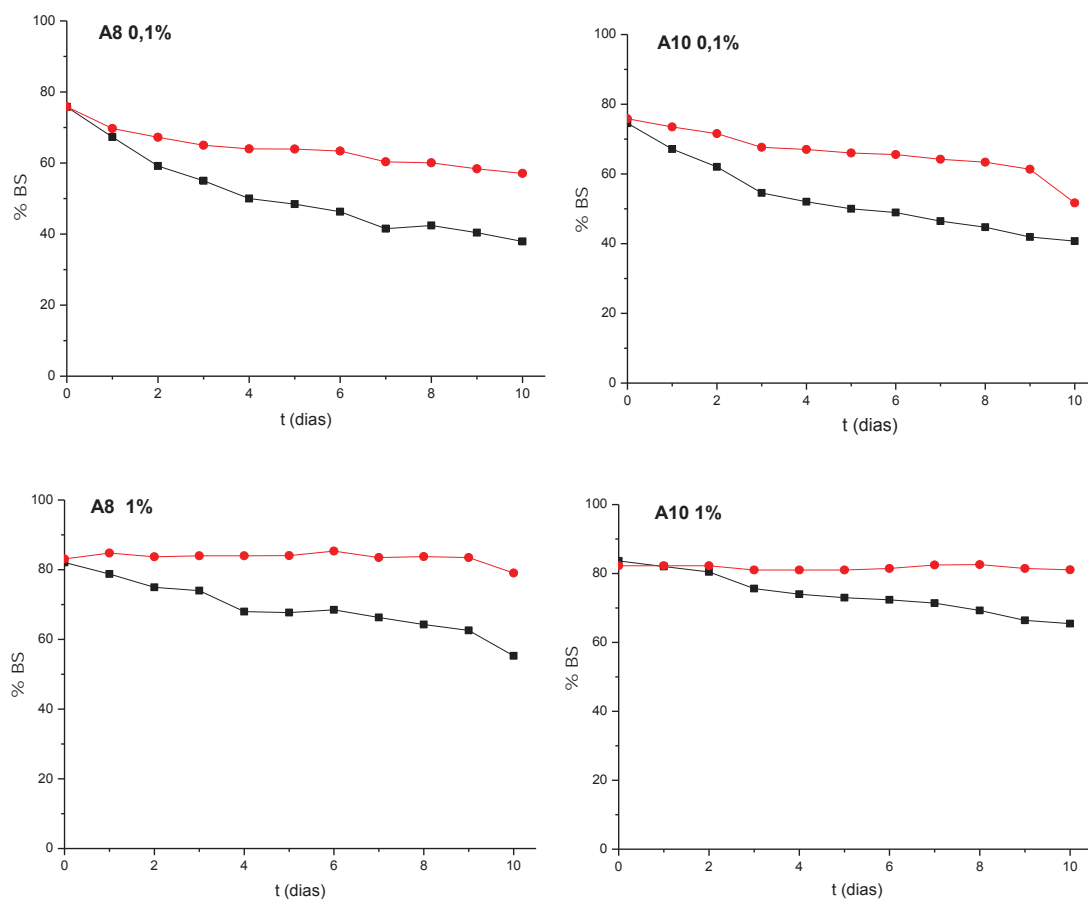
### Emulsiones formuladas con Aislados

La **Figura I** muestra las cinéticas de desestabilización obtenidas para A8 Y A10, pudiéndose constatar, en ambas emulsiones, una buena estabilidad frente al cremado y la coalescencia. Según el contenido de proteínas, en las emulsiones A8 y A10 al 0,1%, puede observarse que la disminución del 10% del %BS comienza a las 24 h de preparada la emulsión, llegando a un descenso, luego de 10 días, del 40% respecto al valor de luz dispersada inicial.

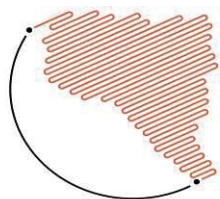


En el caso de la concentración proteica más alta estudiada, la disminución del %BS, se inició recién a los 3 días llegando a disminuir sólo el 15% del valor inicial. Esto podría deberse a que una concentración de 0,1% de proteínas es insuficiente como para cubrir toda el área formada dando lugar a la formación de gotas grandes (desproporción). El %BS promedio inicial de la Zona I permite dar una estimación relativa del tamaño de partícula de cada emulsión en condiciones iniciales, existiendo una correlación lineal entre el (% BS10-15) y el tamaño de gota

(Palazolo y col., 2005). Para ambas emulsiones A8 y A10, a la mayor concentración estudiada, el % BS en la Zona I fue de más del 80% mientras que en las de menor concentración, 75%. Los valores de este parámetro disminuyeron en función de la longitud de la celda y del tiempo de almacenamiento. Este hecho se puede relacionar con una disminución en el número de partículas, debido a un aumento del tamaño de las mismas y, por ende, a la ocurrencia de un proceso de cremado.



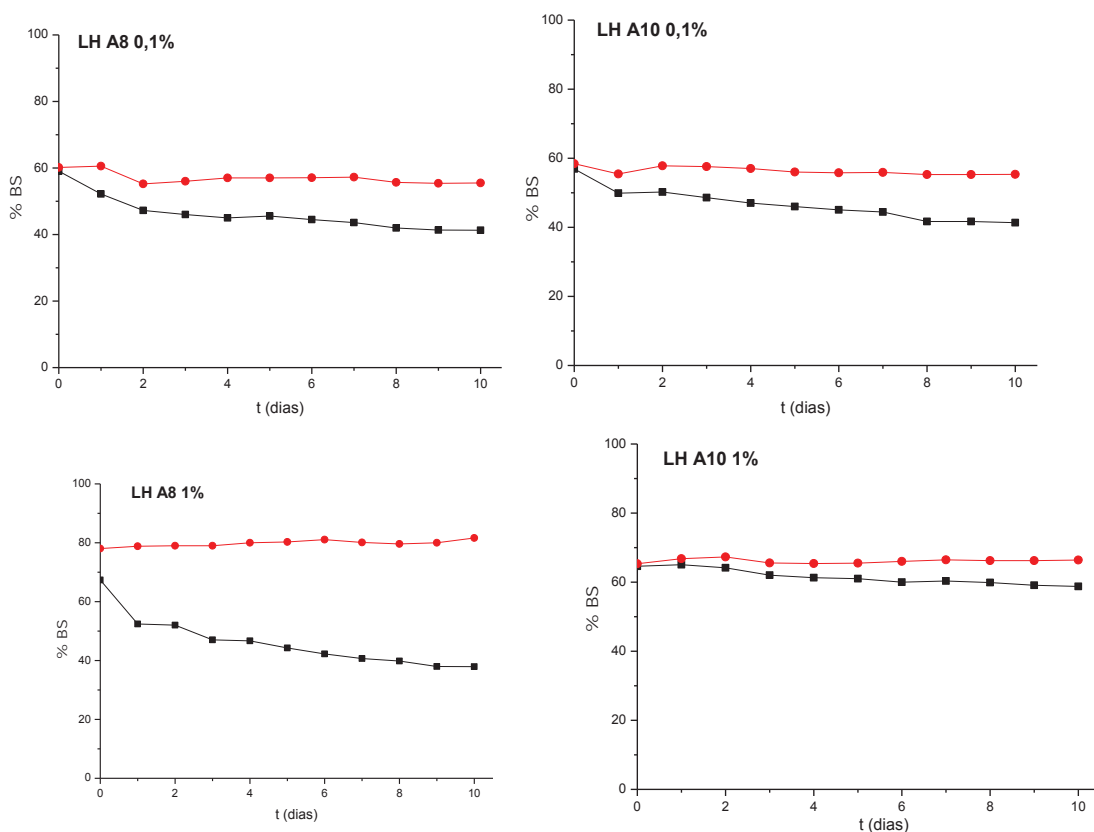
**Figura I:** Variación de los valores de %BS en función del tiempo para las emulsiones de aislados proteicos de caupí (A8 y A10) Zona I: Cinéticas de Cremado-floculación (-■-) y Zona II: Cinética de Floculación-coalescencia (-●-)



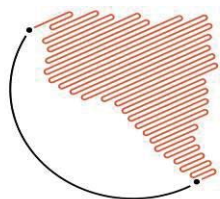
## Emulsões formuladas com Hidrolizados

En la **Figura II** se observa el comportamiento cinético de las emulsiones con H. La estabilidad de las emulsiones de H, con bajo grado de hidrólisis (LH) fue mejor al de las emulsiones preparadas solamente con A. Para las dos concentraciones proteicas utilizadas el %BS se mantuvo constante en la Zona II. En la Zona I, se observó una disminución del 20% del %BS para ambas emulsiones (LH A8 y LH A10) al 0,1% (p/p) y del 5% para las de mayor concentración. Esto probablemente

pueda deberse a la hidrólisis. La reducción del tamaño de las proteínas, tendría como consecuencia un cambio en la movilidad, permitiéndoles difundir más rápidamente en el medio acuoso para alcanzar la interfase, incrementando de esta manera la estabilidad frente al cremado-coalescencia (Suarez, 2017). Además, se observó la mejora en la estabilidad de las emulsiones preparadas con LH A10 1% respecto a las de LH A8 a la misma concentración a los 10 días de almacenamiento.



**Figura II:** Variación de los valores de %BS en función del tiempo para las emulsiones de hidrolizados proteicos de caupí; (LH A8 y LH A10) Zona I: Cinéticas de Cremado-floculación (-■-) y Zona II: Cinética de Floculación-coalescencia (-●-).



## Conclusiones

Es posible afirmar que las proteínas de caupí pueden ser utilizadas como emulsionantes por su habilidad de facilitar la formación, mejorar la estabilidad y producir propiedades fisicoquímicas deseadas en las emulsiones de aceite en agua. La incorporación del hidrolizado con bajo grado

de hidrolisis, como tensioactivo, resultó en la mejora de la formación y estabilidad de las emulsiones. Por lo tanto, la hidrólisis enzimática de la proteína de caupí es un tratamiento favorable para su utilización como un posible ingrediente funcional en la formulación de alimentos.

## Referencias bibliográficas

Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(6), 1256–1262.

Gao, B., Zhao, X. (2012). Modification of soybean protein hydrolysates by alcalase-catalyzed plastein reaction and the ACE-inhibitory activity of the modified product in vitro. *International Journal of Food Properties*. 15, 982–996.

Khattab, R.Y.; Arntfield, S.D. and Nyachoti, C.M. (2009). Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments. *Food Science and Technology*, 42, 1107- 1112.

Martínez, E.N., Añón M.C. (1996). "Composition and structural characterization of amaranth protein isolates" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2523-2530.

Palazolo, G. G., Sorgentini, D. A., & Wagner, J. R. (2005). Coalescence and flocculation in o/w emulsions of native and denatured whey soy proteins in

comparison with soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 19(3), 595–604

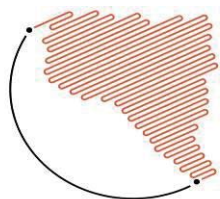
Suárez, S.; Añón, M.C., (2017) Comparative behaviour of solutions and dispersions of amaranth proteins on their emulsifying properties. *Food Hydrocolloids*, 74, 115-123.

Tironi, V.A., Añón, M.C. (2010). Amaranth Proteins as a Source of Antioxidant Peptides: Effect of Proteolysis. *Food Research International*, 43, 315-322.

Tsumura, K. (2009). Improvement of the physicochemical properties of soybean proteins by enzymatic hydrolysis. *Food Science and Technology Research*, 15, 381–388.

Wagner, J. R. Propiedades superficiales. En: Pilosof, A. M.R.; Bartholomai, G. Caracterización funcional y estructural de proteínas. Buenos Aires: Eudeba, 2000. pp. 41-70.

Wang, W., De Mejía, E. G. (2005). A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases.



**XXVII** JORNADAS DE JOVENS  
PESQUISADORES  
23 A 25 DE OUTUBRO DE 2019  
A ciência e a tecnologia na produção  
de inovação e transformação social



---

Comprehensive Reviews in Food Science  
and Food Safety, 4, 63–78.