

XXVII JORNADAS DE JOVENS PESQUISADORES

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

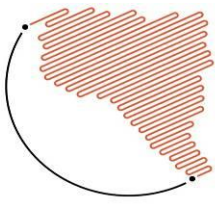
23 A 25 DE OUTUBRO DE 2019

UFSCar | Brasil | 2019

ISBN: 978-85-94099-11-2



Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO



15. Biofísica

Efecto del pH en las propiedades emulsificantes de aislado proteico de *Cajanus cajan*.

Autor: Fernández Sosa, Eliana I.; e-mail: elifersosa@hotmail.com

Co-autor(es): Chaves, María G.; e-mail: chavesgm2@gmail.com; Quiroga, Alejandra V.;
e-mail: alejaquiroga@gmail.com; Avanza, María V.; e-mail: vavanza@yahoo.es

Orientador: Chaves, María G; e-mail: chavesgm2@gmail.com

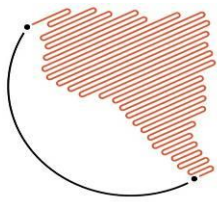
Departamento de Química / IQUIBA-NEA / Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y
Agrimensura

Universidad Nacional del Nordeste

Resumo

Cajanus cajan (CC) es una leguminosa con elevado contenido proteico (20-23%). Las proteínas de CC pueden actuar como emulsificantes, lo cual resulta interesante para la industria alimentaria. El objetivo fue estudiar el efecto del pH en la formación y estabilidad de emulsiones utilizando aislado proteico de CC como agente tensioactivo y estabilizante. Se obtuvo aislado proteico a pH8 (A8) por precipitación isoeléctrica. Se prepararon soluciones buffers a pH2, pH4, pH6 y pH8 ($\mu=0,1$), y se determinó la solubilidad proteica (S_o) de A8 en las mismas. Se prepararon emulsiones aceite/agua (O/W) a los distintos pH a partir de aceite de girasol comercial y dispersiones proteicas (0,5% p/v) en una proporción (1:5), se determinó el tamaño de gota (sin y con SDS) y la estabilidad de cada emulsión formulada. La S_o fue mínima (5,23%) a pH4, mientras que fue máxima (80-100%) a pH2 y pH8. Todas las emulsiones presentaron una distribución de tamaño monomodal, donde las de pH2 y pH8 presentaron menor tamaño de gota. La presencia de SDS causó una disminución en el tamaño de gota por ruptura de flóculos y su efecto fue similar en todas las emulsiones, salvo a pH4. Las emulsiones a pH4 y pH6 se desestabilizaron más rápidamente, presentando una disminución del % de Back Scattering (%BS) (>10%) en la parte inferior del tubo a la hora y a las cuatro horas de almacenamiento, respectivamente. Las emulsiones a pH2 y pH8 alcanzaron esta disminución a las 24 horas. Este fenómeno se produce por migración de gotas hacia la parte superior del tubo, aunque sin cremado evidente (constancia del %BS). El aislado A8 forma emulsiones O:W en las condiciones ensayadas, resultando más estables a pH2 y pH8, donde la solubilidad de las proteínas fue mayor y por lo tanto su concentración en la interfase.

Palavras chave: solubilidad, back scattering, emulsiones



Introdução

Cajanus cajan (CC) es una leguminosa con un elevado contenido de proteínas (20-23%) de buena calidad nutricional (Acevedo y col., 2013). Las propiedades funcionales de proteínas vegetales son importantes para la industria alimentaria y gracias a su naturaleza anfifílica y su flexibilidad se pueden acomodar en distintas interfaces líquido-líquido, característica que les otorga funcionalidad como emulsificante en la interface aceite-agua. Además, las proteínas son moléculas anfóteras dependientes del pH, por esta razón son capaces de formar pequeñas gotas de emulsión y prevenir los fenómenos de desestabilización de las emulsiones como ser la coalescencia y el cremado (Oboh y col., 2009).

Objetivos

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del pH en la formación y estabilidad de emulsiones utilizando aislado proteico de CC como agente tensioactivo y estabilizante.

Materiais e Métodos

1-Material

Aislado proteico obtenido por solubilización a pH 8 (A8) y posterior precipitación isoeléctrica, a partir de harina desgrasada de CC (método de extracción modificado por Horax y col., 2004).

2-Dispersiones proteicas

Fueron preparadas al 0,5% p/v utilizando soluciones buffers en un rango de pH específico (2 a 8) a fuerza iónica constante

($\mu=0,1$). Las mismas fueron preparadas y homogeneizadas previo a su uso (450 rpm; 1 hora; 20°C). El pH y fuerza iónica fueron seleccionados teniendo en cuenta aquellas de uso frecuente en la industria alimentaria.

3-Solubilidad proteica (So)

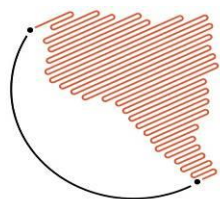
Se determinó por el método de Bera & Murkherjee (1989) con ligeras modificaciones. El contenido proteico de los sobrenadantes se midió por el método de Lowry (Lowry y col., 1951; Stoschek, 1990). Se utilizó seroalbúmina como estándar.

4-Preparación de emulsiones

Se prepararon emulsiones aceite/agua (O/W) a partir de aceite de girasol comercial y la dispersión proteica en un proporción (1:5), las cuales fueron primero homogeneizadas con un homogeneizador Ultraturrax T25 (20.000 rpm, 1 min) y luego con un homogeneizador ultrasónico (Sonics&Materials-750Watts) con punta standard a 50% de potencia, aplicando pulsos de 30 s durante 5 min en baño de hielo para reducir el calentamiento durante el proceso de homogeneización.

5-Distribución de tamaño de gota

Las medidas se realizaron en un analizador Malvern Mastersizer 2S (Malvern Instrument Ltd, UK) en presencia y en ausencia de dodecilsulfato de sodio (SDS). La muestra fue diluida en 600 ml de agua con agitación constante (2000 rpm), de manera de lograr un nivel de obscuración adecuado (10 y 20%) para realizar la medida. A partir de la



distribución de tamaño de gota se obtuvieron los diámetros promedio: D_{3,2} (diámetro promedio de volumen-superficie), D_{4,3} (diámetro promedio de volumen equivalente) y span (grado de polidispersión). Para el cálculo se tuvieron en cuenta el índice de refracción y la densidad del aceite de girasol (1,47; 0,942 g/cm³), así como el coeficiente de absorción (0,001).

6-Estabilidad global de las emulsiones

Las emulsiones fueron analizadas en un analizador óptico vertical de barrido modelo QuickScan, desde el momento de su preparación (t=0) y durante su almacenamiento a 4°C (24h, 48h, 72h y 96h). Se obtuvieron las cinéticas de cremado-floculación y coalescencia-floculación a partir del registro de la variación del porcentaje de back scattering (%BS) en función del tiempo en la parte inferior del tubo (10-15 mm desde la base) y en la parte superior (40-50 mm desde la base), respectivamente.

Resultados e Discussão

En la tabla 1 se presentan los porcentajes de So de A8 en función del pH, donde el mínimo de So ocurre a pH4, cercano al punto isoeléctrico (pI) de estas proteínas, y el máximo de So (80-100%) a los pH extremos (2 y 8). A pH ácidos y alcalinos la carga superficial neta de las proteínas es mayor por lo que se producen repulsiones electrostáticas entre éstas que favorece su solubilidad. Por el contrario, a pH cercanos

al pI, la carga superficial neta es menor, lo cual reduce la So de las proteínas.

Tabla 1: Solubilidad proteica (So) de A8 en función del pH.

pH	So (%)
2	95,93±0,21 a
4	5,23±0,11 d
6	55,65±1,06 c
8	88,97±1,86 b

a, b, c, d, letras iguales en la misma columna significa que los promedios no presentan diferencias significativas (p≥0,05).

En la figura 1 se presentan las distribuciones de tamaño de gota obtenidas para cada emulsión O/W. En ausencia de SDS, todas las emulsiones presentaron una distribución de tamaño monomodal, donde a pH2 y pH8 se observó la presencia de un ligero hombro que representa una población de partículas más pequeñas. A pH4 y pH6, las gotas de emulsión resultaron de mayor diámetro. Esto se corrobora con los parámetros de caracterización de emulsiones detallados en la tabla 2, ya que los valores de D[3,2] obtenidos indican la existencia de gotas de menor tamaño en las emulsiones preparadas a pH2 y pH8, aunque con mayor polidispersidad (span) que la emulsión preparada a pH4. La presencia de SDS causó una disminución en el tamaño de gota por ruptura de flóculos y su efecto fue similar en todas las emulsiones, salvo la preparada a pH4. Ventureira y col. (2012) reportaron que la floculación es un fenómeno importante en emulsiones formuladas a partir de dispersiones proteicas.

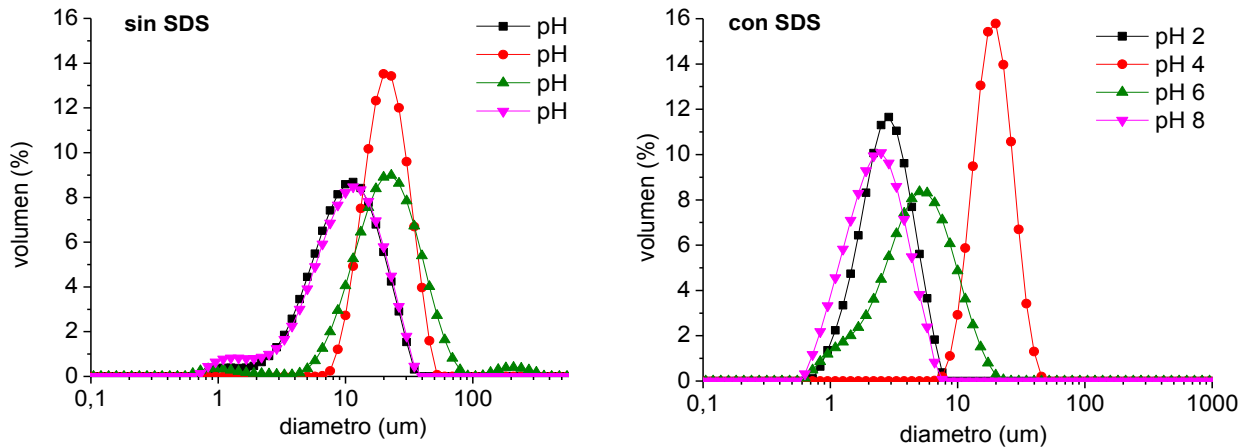


Figura 1: Distribución del tamaño de partícula de emulsiones O/W preparadas con dispersiones de A8 a distintos pH.

Tabla 2: Valores de D[3,2], D[4,3] y span, en ausencia y presencia de SDS.

pH	Sin SDS			Con SDS		
	D [3,2]	D [4,3]	span	D [3,2]	D [4,3]	Span
2	6,79±0,13 c	10,41±0,31 c	1,65±0,01 a	2,26±0,01 c	2,79±0,03 c	1,24±0,01 b
4	18,11±0,20 a	20,65±0,00 b	0,98±0,05 b	16,70±0,00 a	18,60±0,00 a	0,88±0,00 c
6	11,89±0,39 b	25,00±1,27 a	1,67±0,02 a	3,19±0,13 b	5,17±0,01 b	1,87±0,12 a
8	6,03±0,08 d	10,51±0,28 c	1,72±0,02 a	1,84±0,00 d	2,37±0,00 d	1,10±0,01 b

a, b, c, d, letras iguales en la misma columna significa que los promedios no presentan diferencias significativas ($p \geq 0,05$).

El %BS inicial de las emulsiones preparadas a pH4 es inferior a las demás y esto se relaciona con el tamaño de las gotas presentes, ya que mayor tamaño la dispersión de la luz es menor. En cuanto a la estabilidad de las emulsiones, aquellas preparadas a pH4 y pH6 presentaron una disminución del %BS (>10%) en la parte inferior del tubo a la hora y a las cuatro horas de almacenamiento, respectivamente (figura 2). En cambio, esta disminución ocurrió a las 24 horas en las emulsiones preparadas a pH2 y pH8. Este fenómeno ocurre por la migración de gotas hacia la parte superior del tubo. Por otra parte, es importante destacar que si bien se detecta la

migración de gotas, ésta no se encuentra acompañada, en principio, por un cremado evidente, tal como lo indica la constancia de los valores del %BS obtenidos en la parte superior del tubo (cinética de floculación-coalescencia). Este fenómeno puede estar asociado a la migración insuficiente de gotas hacia la parte alta del tubo, debido a una baja velocidad de migración o a la ocurrencia simultánea de cremado y coalescencia de las gotas. Suarez y col. (2018) encontraron que la estabilidad de emulsiones formuladas a pH2 es mayor que aquellas formuladas a pH6.

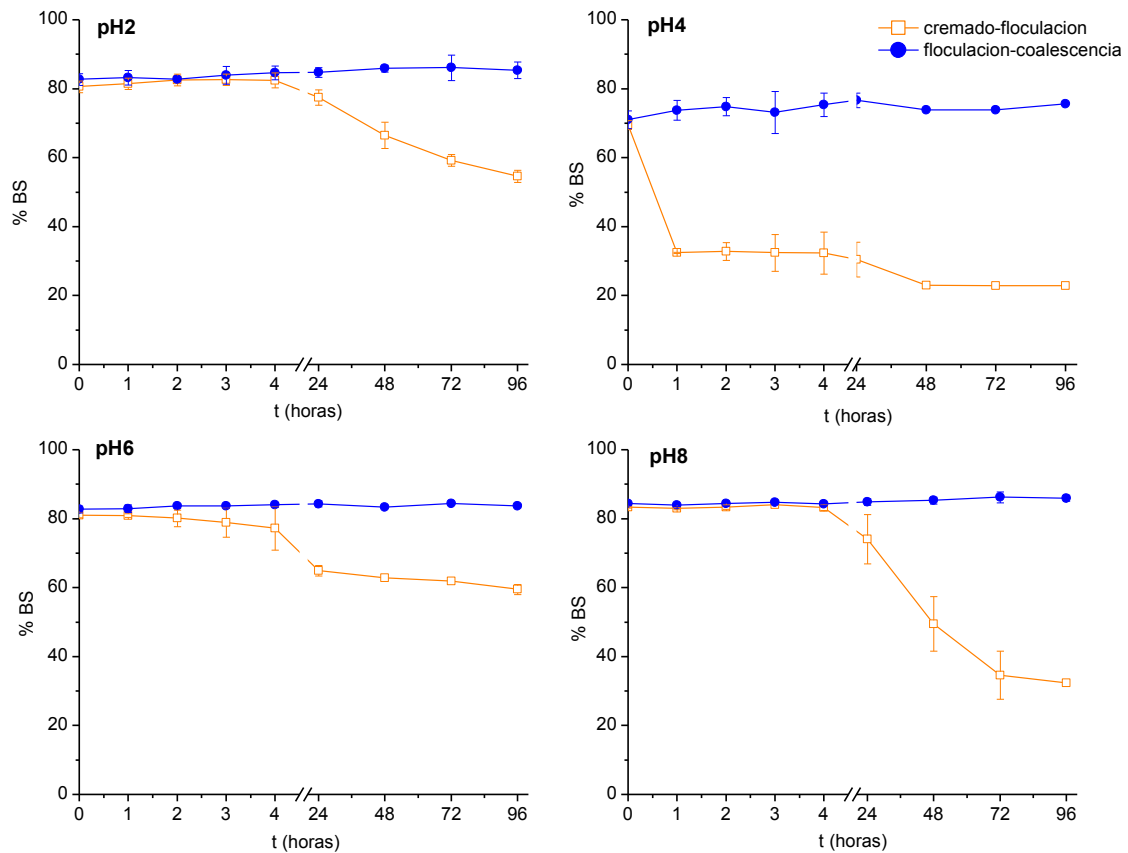
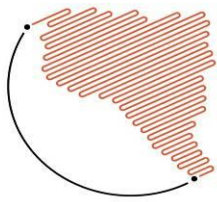


Figura 2: Variación de Back Scattering (%BS) en función del tiempo de emulsiones al 0,5% de proteína (p/v) a distintos pH. Cinética de cremado-floculación (10-15 mm) y cinética de floculación-coalescencia (40-50 mm).

Conclusões

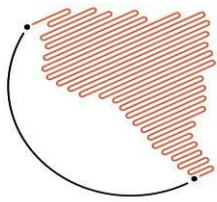
El aislado A8 de CC forma emulsiones O/W en las condiciones ensayadas en este trabajo (0,5% de proteína p/v; 1:5), siendo aquellas preparadas a pH 2 y pH8 las de mayor estabilidad, lo cual está relacionado a la mayor solubilidad de las proteínas a esos

pH. En base a los resultados obtenidos podemos decir que el pH es un factor a considerar en la formulación de emulsiones, dado que influye directamente en la solubilidad y por lo tanto en la concentración de las mismas en la interfase.

Referências Bibliográficas

Acevedo, B. A., Avanza, M. V., Cháves, M.

G., & Ronda, F. (2013). Gelation, thermal and pasting properties of pigeon pea



(Cajanus cajan L.), dolichos bean (*Dolichos lablab* L.) and jack bean (*Canavalia ensiformis*) flours. *Journal of Food Engineering*, 119(1), 65–71.

Bera, M. B., Mukherjee, R. K. (1989). Solubility, Emulsifying, and Foaming Properties of Rice Bran Protein Concentrates. *Journal of Food Science*, 54(1), 142–145.

Horax, R., Hettiarachchy, N. S., Chen, P., Jalaluddin, M. (2010). Preparation and Characterization of Protein Isolate from Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Journal of Food Science*, 69(2), 114–118.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall, RJ. (1951). *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-267.

Financiamento

Propiedades físico-químicas y funcionales de legumbres cultivadas en el NEA. Parte II: Aislados proteicos y almidones.

Oboh, G., Ademiluyi, A.O., Akindahunsi, A.A. (2009). Changes in polyphenols distribution and antioxidant activity during fermentation of some underutilized legumes. *Food Science and Technology International*, 15(1), 41–46.

Suarez, S.E., Añón, M.C. (2018). Comparative behaviour of solutions and dispersions of amaranth proteins on their emulsifying properties. *Food Hydrocolloids*, 74, 115-123.

Ventureira, J.L., Bolontrade, A.J., Speroni, F., David-Briand, E., Scilingo, A.A., Ropers, M.H., Anton, M. (2012). Interfacial and emulsifying properties of *Amaranthus hypochondriacus* protein isolates under different conditions of pH. *Food Science and Technology*, 45,1-7.

PI:16F017. Entidad: SGCyT-UNNE. Fecha de Desarrollo: 2017-2020.