

Estabilidad de emulsiones preparadas con suero de soja y tofu y sus proteínas aisladas

Quiescent stability of o/w emulsions prepared with soy whey, tofu whey and their isolated proteins

Sobral PA (1), Palazolo GG (2), Wagner JR (2)

(1) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA)
Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

(2) Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina
jwagner@unq.edu.ar

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue analizar la estabilidad de emulsiones aceite en agua (o/w) preparadas con suero de soja o de tofu y sus proteínas aisladas. El suero de soja (SS) fue obtenido en laboratorio como sobrenadante isoeléctrico de la preparación de aislado nativo de soja (ANS); el suero de tofu (ST), residual líquido industrial, fue cedido por una empresa local. Ambos sueros fueron liofilizados dando SSL y STL. A partir del SS y ST se aislaron las proteínas PSS y PST respectivamente, por precipitación con acetona en frío y liofilización. A todas las muestras se le determinó el contenido proteico ($N \times 6,25$) a fin de preparar dispersiones acuosas de igual concentración proteica. Se prepararon dispersiones de las muestras en buffer fosfato de sodio 10 mM, pH 7,0, con una concentración de proteína de 0,1-1 % p/v. Las emulsiones o/w fueron preparadas homogeneizando 10 ml de las dispersiones acuosas con 5 ml de aceite de girasol (Ultraturax T-25, 20.000 rpm, 1 min., 20°C). Las emulsiones iniciales resultantes se caracterizaron por difracción láser (distribución de tamaño de partícula) y por turbidimetría (área interfacial creada). La estabilidad de las emulsiones se evaluó por medida de la cinética de separación gravitacional (analizador óptico vertical) y del aceite separado (AS%) por el método de dilución del colorante. Todas las emulsiones iniciales, menos la SSL, mostraron distribuciones similares de tamaño de partícula del tipo bimodal con una población mayoritaria a 50-60 μm ; cuando se analizaron sin y con SDS dieron valores D_{43} entre 30 y 40 μm . Las distribuciones correspondientes a la emulsión SSL, medidas sin y con SDS, fueron diferentes debido a la presencia de flóculos estables, lo cual se reflejó en valores de D_{43} sin y con SDS, 70,6 y 45,5 μm , respectivamente y en la baja estabilidad a la separación gravitacional. A una concentración de proteína equivalente, las emulsiones preparadas con sueros fueron siempre menos estables a la separación gravitacional que las elaboradas con sus respectivas proteínas aisladas. Por otra parte, las PST dieron emulsiones más estables a la separación gravitacional que las provenientes de suero de soja obtenido en laboratorio. Según las medidas de AS%, el orden de estabilidad en todas las concentraciones ensayadas fue $PST > PSS > STL > SSL$. Estos resultados permiten concluir que STL, en el cual las proteínas se encuentran desnaturalizadas, es un mejor agente estabilizante que SSL, del mismo modo que PST lo es respecto de PSS. Las emulsiones de PST fueron precisamente las que exhibieron los valores más altos de área interfacial creada y el menor tamaño de partícula. Las proteínas aisladas de ambos sueros dan emulsiones más estables que los sueros respectivos, indicando un efecto negativo de los componentes no proteicos del suero, como los oligosacáridos y las sales.

ABSTRACT

This article focuses on the quiescent stability of emulsions oil in water (o/w) prepared with soybean whey or tofu whey and their isolated proteins. Soybean whey (SS) was obtained as isoelectric supernatant of the soy isolate preparation; the tofu whey (ST), industrial waste, was given by a local company. Both liquids were freeze-dried giving the samples SSL and STL. The proteins PSS and PST were isolated from SS and ST respectively, by precipitation with cold acetone and freeze-drying. The protein content of each sample was determined ($N \times 6.25$) in order to prepare aqueous dispersions of the same protein concentration. Aqueous dispersions of each sample were prepared in 10 mM sodium phosphate buffer, pH 7.0, at different protein concentrations (0.1-1% w/v). O/w emulsions were

obtained by mixing 10 ml aqueous dispersions and 5 ml of sunflower oil (Ultraturrax T-25 high-speed homogenizer, 20,000 rpm, 1 min, 20°C). Fresh emulsions were characterized by laser diffraction (particle size distribution, PSD) and turbidimetry (interfacial created area). Emulsion stability was evaluated by measuring the creaming kinetic (vertical optical analyzer) and oiling-off (AS% w/w) by the dye dilution method. All emulsions, with exception of those prepared with SSL, showed similar PSD both in the absence and presence of SDS: a bimodal character, a main particle population at 50-60 µm and D_{43} values in the range 30-40 µm. For SSL emulsions, the PSD measured with and without SDS exhibited noticeable differences ($D_{43} = 70.6$ and 45.5 µm respectively) due to the presence of stable flocs, which enhanced the creaming. At the same protein concentration, emulsions prepared with soy whey samples were always less stable than those prepared with their isolated proteins. Moreover, PST emulsions were more stable against creaming than those prepared with PSS. On the other hand, AS % decreased in the sequence: PST > PSS > STL > SSL. These results suggest that STL, in which proteins are thermally denatured, is a better stabilizing agent than SSL; similarly, PST is a better emulsifier than PSS. Precisely, PST emulsions exhibited the highest values of interfacial area and the smallest mean particle size. The isolated proteins showed better emulsifying properties than those exhibited by freeze-dried soy and whey. This indicates a negative effect of non-protein components present in the soy whey, as oligosaccharides and salts.

PALABRAS CLAVE: *Emulsiones, estabilidad, soja, sueros, tofu.*

KEYWORDS: *emulsions, soybean, stability, tofu, whey.*

INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento de la soja, involucra una serie de procesos destinados a obtener componentes de interés tales como aceites, concentrados y aislados proteicos y eliminar o inactivar los componentes indeseables (factores antinutricionales) y fibra. La producción tradicional de aislados consiste en una extracción cercana al 90% del material nitrogenado a partir de la soja en condiciones alcalinas (pH 8-9), con un bajo porcentaje de desnaturalización (Pearson 1983). La separación de componentes insolubles (fibra) produce un extracto que contiene las proteínas de soja, 75% de las cuales son globulinas de reserva y el 25% restante son proteínas biológicamente activas (Cheftel *et al.* 1989), conocidas como proteínas de suero de soja (Sorgentini y Wagner 1999). La acidificación de este extracto hasta el pH isoelectrico (4,5) permite la precipitación de las globulinas de reserva (7S y 11S) dejando un suero de soja (SS). Otra estrategia que aprovecha las propiedades de agregación e hidratación de las proteínas de reserva de la soja es la elaboración de tofu; hay innumerables recetas y variantes para su obtención pero todas implican una primer etapa de obtención de la leche de soja que consiste en: remojado del poroto (8-10 hs), seguido de una molienda-extracción a 80-90°C en exceso de agua (inactivación de lipoxigenasa), una cocción destinada a la eliminación de volátiles e inactivación de los factores antitripticos y hemaglutinina (Genta y Álvarez 2006) y la filtración o el prensado para remover las fibras y proteínas insolubles (okara) resultando una dispersión-emulsión proteína-aceite (pH \approx 6,5, 9 % sólidos totales) la cual se conoce como leche de soja. La segunda etapa es la coagulación de las proteínas de reserva de esta leche mediante el agregado de sales de calcio y magnesio (2-4% del peso original, 10-30 min, entre 70 y 85°C), en algunos casos el empleo de agentes acidificantes como la glucono- δ -lactona, para formar una estructura tipo coagulo-gel, el tofu, quedando un líquido residual conocido como suero de tofu (ST). Ambos sueros, el proveniente de la elaboración de aislados y el de tofu, contienen los hidratos de carbono solubles del grano de soja (mono-, di- y oligosacáridos); siendo los mayoritarios en el suero de tofu, el disacárido sacarosa y los oligosacáridos estaquiosa y rafinosa (Espinosa-Martos *et al.*, 2006; Espinosa-Martos y Rúperez 2006); le siguen en abundancia la fracción proteica del suero constituida mayoritariamente por la lectina (L) y los factores antitripticos de Kunitz y Bowman-Birk y enzimas como la β -amilasa, lipooxigenasa y ureasa (Sorgentini y Wagner 1999). La importancia del aprovechamiento de los sueros de soja reside en parte en que los inhibidores de tripsina, considerados antinutrientes indeseables en la alimentación humana y animal, poseen una vez inactivados correctamente por calor, no sólo buenas propiedades nutricionales (Kishi y Inoue 1987), sino propiedades anticancerígenas (Kennedy 1993, Lin y Ng 2008;) y en el caso particular del factor de Bowman-Birk, propiedades estimulantes del sistema

inmune (Harms-Ringdahl *et al.* 1979). Adicionalmente, estos sueros contienen compuestos potencialmente valiosos tales como los oligosacáridos con propiedades prebióticas (Tomomatsu 1994) y las isoflavonas, genisteína y daidzeína, fitoestrógenos de reconocidos efectos beneficiosos para la salud encontradas en niveles importantes en el suero de tofu (Espinosa-Martos *et al.* 2006). Los procesos industriales generan grandes cantidades de estos sueros, que debido a su carga orgánica, representan un problema ambiental para su descarte en forma directa. Han sido poco estudiados como producto integral, aun cuando ya se ha informado que las proteínas nativas y desnaturalizadas de suero de soja preparadas a nivel de laboratorio, poseen propiedades superficiales que pueden aplicarse en alimentos (Sorgentini y Wagner 2002, Mitidieri y Wagner 2002, Palazolo *et al.* 2004, 2005). Recientemente, Matemu *et al.* (2009) informaron sobre las propiedades emulsificantes de proteínas glicosiladas preparadas por ultrafiltración a partir de suero de tofu. Excepto este trabajo, no hay información sobre las propiedades emulsificantes de las proteínas aisladas del suero de tofu y menos aun de este suero como tal.

El objetivo de este trabajo fue estudiar las propiedades de formación y estabilización de emulsiones aceite en agua (o/w) de sueros de soja de laboratorio y de tofu deshidratados y de sus proteínas aisladas a fin de evaluar la influencia de la de posibles aplicaciones en la industria alimenticia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El suero de soja (SS) fue obtenido como el sobrenadante isoeléctrico en la preparación de aislado nativo de soja (ANS), según el procedimiento descrito por Sorgentini y Wagner (1999). La harina de soja desgrasada (Prosam R) fue provista por Solae S.A. (Brasil). El suero de tofu (ST) fue provisto por una industria local (Soyana S.H.). Ambos sueros fueron liofilizados resultando las muestras SSL y STL, respectivamente.

Métodos

Preparación de proteínas

Se prepararon a partir de SS y ST mediante precipitación con acetona a 0°C (relación acetona: suero 1:1 v/v), separadas por centrifugación (10.500g, 4°C, 20 min) y liofilizadas, resultando PPS (proteínas de suero de soja) y PST (proteínas de suero de tofu). Se estimó el contenido de proteína bruta (Kjeldahl, $N \times 6,25$) de todas las muestras (sueros y proteínas aisladas) a fin de preparar emulsiones con niveles de proteína comparables.

Determinación del grado de glicosilación (GG)

Se calculó a partir del contenido de proteínas (Lowry *et al.* 1951) e hidratos de carbono (Dubois *et al.* 1956) en dispersiones acuosas de las proteínas aisladas (10 mg/ml) y expresado como mg carbohidratos/100 mg proteína.

Preparación de emulsiones

Se prepararon dispersiones de cada muestra en buffer fosfato de sodio 10 mM, pH 7,0 con un contenido de proteína 1-10 mg/ml. Las emulsiones o/w se prepararon homogeneizando 10 ml de dispersión con 5 ml de aceite de girasol (Molinos Río de la Plata, Argentina) a 20.000 rpm (1 min, 20 ± 2°C) con rotor S25N-10G conectado a un homogeneizador Ultraturrax T-25 (IKA-Labor Technik, Staufen, Alemania).

Caracterización de las emulsiones

El índice de actividad emulsificante (IAE) se determinó por turbidimetría (Pearce y Kinsella 1978). IAE se calculó como $4,606 \times A \times D / L \times \phi \times C$; C es la concentración proteica en g/m³; A, la absorbancia a 500 nm; D, el factor de dilución (sin unidades); L, el camino óptico (en m) y ϕ , la fracción volumétrica de la fase dispersa. Por dispersión láser se determinó la distribución de tamaño de partícula (expresada en % volumen) y el diámetro promedio de partícula D_{43} con un equipo Malvern Mastersizer (Malvern Instruments Limited., Worcestershire, Reino Unido). Las determinaciones se llevaron a cabo realizando una dilución (1/2 v/v) con el buffer de la fase acuosa o con buffer Tris/HCl 50 mM pH 8,0 conteniendo 1% p/v de SDS para asegurar la completa defloculación de la emulsión (Antón *et al.* 2002). Para las emulsiones recién preparadas, se calculó el grado de floculación (GF %) como: $GF_i \% = [(D_{4,3 \text{ i-SDS}} - D_{4,3 \text{ i+SDS}}) / D_{4,3 \text{ i+SDS}}] \times 100$; $D_{4,3 \text{ i-SDS}}$ y $D_{4,3 \text{ i+SDS}}$ son los diámetros promedio de las emulsiones iniciales medidos en ausencia y presencia de SDS, respectivamente.

Estabilidad de las emulsiones

La estabilidad global se analizó con un analizador óptico vertical (Quick Scan, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, USA). Las emulsiones recién preparadas se colocaron en la celda cilíndrica de vidrio (80 mm) para registrar los perfiles de backscattering (BS %) en función de la altura en la celda. Los perfiles de BS % se registraron durante 60 minutos a intervalos de 1 minuto, con una medida final a las 24 horas de almacenamiento. Para analizar el efecto de la floculación, se prepararon las emulsiones de forma habitual agregándose luego de la homogeneización SDS 10 % p/v en el buffer de la muestra, necesario para alcanzar un valor de 0,1 % p/p del detergente en la fase acuosa. La cinética de separación gravitacional se evaluó a partir de la variación de los valores promedio de BS % en la parte inferior del tubo de medida (10-20 mm). La constante cinética de separación gravitacional (K) provee información sobre la velocidad con la que se desarrollan el proceso de separación gravitacional en los estadios iniciales se definió por medio de la expresión: $K = [10^3 / (BS_{0 \text{ prom}} \% \times t_{1/2})]$ donde $BS_{0 \text{ prom}} \%$ es el valor promedio inicial de BS (correspondiente al perfil inicial) y $t_{1/2}$ es el tiempo para el cual $BS_{\text{prom}} \% = 0,5 \times BS_{0 \text{ prom}} \%$. El aceite separado (%AS) de las emulsiones al ser sometidas a centrifugación se determinó siguiendo el procedimiento experimental descrito por Palanuwech *et al.* (2003) con leves modificaciones. En tubos de centrífuga de plástico se agregaron 8 g de emulsión recién preparada y 2 g de solución de Sudan III 0,001 % p/p en aceite de girasol, se mezcló por inversión suave, se incubó (60 min, $20 \pm 2^\circ\text{C}$) y se centrifugó a baja velocidad (5 min, 250 g a 20°C), para minimizar la coalescencia de la emulsión (Thanasukarn *et al.*, 2004). El aceite separado porcentual (AS%) se calculó empleando la siguiente expresión: $AS\% = [M_O \times (A-1) / (M_E \times \phi_m)]$, donde M_O : masa de solución del colorante; A: relación de las absorbancias a 508 nm antes y después de la extracción; M_E : masa de emulsión; ϕ_m : fracción en masa del aceite en la emulsión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de proteína bruta ($N \times 6,25$) de las muestras utilizadas como agentes emulsificantes dio los siguientes valores: ANS ($90,75 \pm 0,25 \%$ p/p), PSS ($54,25 \pm 2,13 \%$ p/p), PST ($40,54 \pm 1,17 \%$ p/p), SSL ($16,29 \pm 0,01 \%$ p/p) y STL ($15,31 \pm 0,18 \%$ p/p). El bajo contenido de proteínas en los sueros de soja deshidratados confirma que los componentes mayoritarios en estos subproductos son los hidratos de carbono, con un contenido superior al 50% (Sobral y Wagner 2009). Las proteínas obtenidas a partir de estos sueros no superan el 55% de proteína bruta debido a la presencia de hidratos de carbono; el grado de glicosilación para PSS y PST fue 22,4 y 21,2, respectivamente. Debido a las diferencias en el contenido proteico entre sueros y proteínas aisladas se optó por preparar las emulsiones a la misma concentración de proteína en la fase acuosa y no en base a cantidad de muestra equivalente.

Cuando las emulsiones se prepararon con un contenido de proteína de 5 mg/ml en la fase acuosa, las distribuciones de tamaño de partículas medidas en presencia de SDS para las emulsiones de sueros liofilizados (SSL, STL), y de proteínas aisladas (PSS y PST) fueron similares a la del aislado (ASN), en cuanto a su carácter bimodal y a que presentan una población principal de partículas, con un máximo a 50-60 μm . Cuando las medidas se realizaron sin SDS, sólo la emulsión SSL exhibió una diferencia importante en la distribución (**Figura 1**) que evidencia la presencia de flóculos estables en las condiciones de medida. En esta misma figura se observó que la emulsión SSL fue la de menor estabilidad durante el almacenamiento; la aparición de una población de partículas superior a 150 μm hizo crecer el valor D_{43} a 106,5 μm . La **Tabla 1** muestra que los valores de D_{43} de ANS, PSS, PST y STL estuvieron en el rango 30-40 μm , tanto en presencia como en ausencia de SDS; en tanto que para SSL el valor D_{43} medido sin y con SDS fue de 70,6 y 45,5 μm , respectivamente, debido a una tendencia a la formación de gotas grandes y floculadas. El grado de floculación en la emulsión preparada con esta muestra fue 5 veces superior al de la emulsión STL (**Tabla 1**). Por otra parte, las emulsiones preparadas con los sueros presentaron un mayor grado de floculación que cuando se utilizan sus respectivas proteínas aisladas. Es probable que los componentes no proteicos presentes en los sueros tales como oligosacáridos y las sales contribuyan a la desestabilización de las emulsiones formadas. Si se comparan las emulsiones preparadas con proteínas aisladas, resulta que el grado de floculación fue más de 10 veces superior con las proteínas aisladas de tofu (PST) que cuando se emplean PSS. Dado que en la preparación del tofu por coagulación de la leche de soja se emplean sales de calcio, este catión se encuentra en alta concentración en PST. El contenido de calcio (% p/p)

en las proteínas aisladas, determinado por espectroscopía de absorción atómica en las muestras mineralizadas, resultó: $9,23 \times 10^{-3}$, 1,09 y 6,96 para ANS, PSS y PST, respectivamente. En base a estos resultados, es evidente que la tendencia a la floculación de las emulsiones puede tener una relación con el contenido de calcio en las proteínas empleadas.

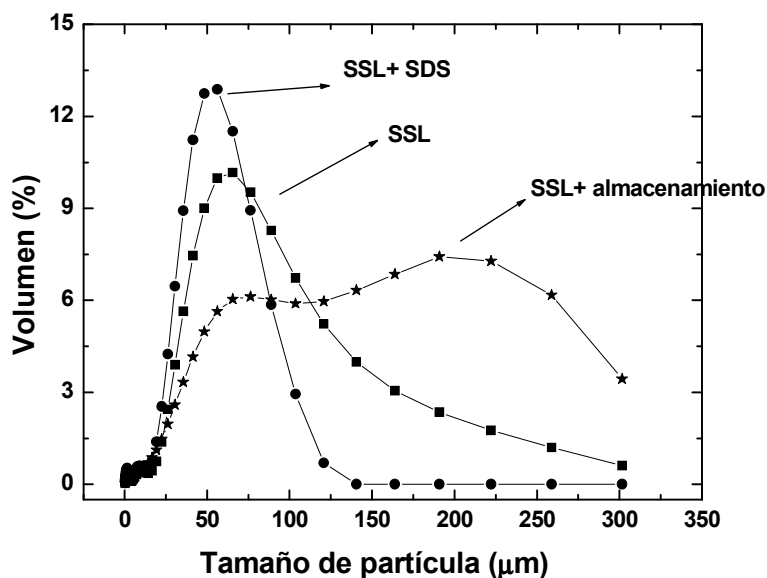


Figura 1. Distribución de tamaño de partícula en volumen de una emulsión elaborada con una dispersión SSL, conteniendo 5 mg/ml de proteína. + SDS: indica la medida en presencia del detergente (disociación de floculos). + almacenamiento: indica la medida en la misma emulsión después de un almacenamiento a T_{amb} durante 8 hs.

Tabla 1. Valores de diámetro promedio de partícula (D_{43}) determinados sin (-) y con SDS (+), grado de floculación estimado a partir de estos valores (GF) y área creada (IAE) en emulsiones o/w preparadas con distintas muestras proteicas de soja.

Muestra	SDS	D_{43} (µm)	GF (%)	IAE (m ² /g)
SSL	-	70,6	55,0	21,3
	+	45,5		
STL	-	35,4	10,7	27,6
	+	32,0		
PSS	-	39,6	0,6	30,8
	+	39,4		
PST	-	37,1	9,2	37,7
	+	34,0		
ANS	-	40,3	3,6	34,4
	+	38,9		

Los valores de IAE (que dan una idea del área creada durante la emulsificación), dieron una información que no coincide con la resultante de las distribuciones de tamaño de partícula en presencia de SDS (**Tabla 1**). El IAE fue mayor en las emulsiones con las proteínas aisladas que con los sueros liofilizados. Entre las proteínas aisladas analizadas, el IAE fue máximo cuando las proteínas se aislaron a partir de un producto tratado térmicamente (suero de tofu), en comparación con las obtenidas desde uno sin tratar (suero de soja), en tanto el IAE del ANS mostró un valor intermedio. La misma tendencia se observó al analizar el IAE cuando se utilizan los sueros liofilizados como agentes emulsificantes; nuevamente este parámetro fue más elevado cuando se utiliza un producto con sus proteínas desnaturalizadas (STL) que cuando se parte de un suero sin tratamiento térmico (Sobral y Wagner 2009). Evidentemente, la desnaturalización provocada por el tratamiento térmico produce una

mejora en la actividad interfacial de las proteínas del suero de soja. Si bien hay evidencias de que el grado de glicosilación y el tipo de hidratos de carbono ligados a las proteínas de suero de tofu modifica sus propiedades emulsionantes (Matemu *et al.* 2009), en nuestro caso, no parece ser un factor determinante dado que PST y PSS presentaron grados similares de glicosilación.

La estabilidad global de las emulsiones se evaluó a partir de los perfiles de backscattering (BS) registrados en el analizador Quick Scan. La modificación de los perfiles en función del tiempo (datos no mostrados) en todas las emulsiones son los típicos de un proceso de separación gravitacional: en la zona inferior del tubo de medida se observa un corrimiento de los perfiles hacia la derecha, atribuible al empobrecimiento de gotas de aceite por migración de las de mayor diámetro hacia la parte superior del tubo; en tanto que en la parte superior se observa la formación de la fase crema con un incremento constante del BS si no hay simultáneamente coalescencia ni colapso de espuma, en caso de que ésta se haya formado durante el proceso de homogenización (Palazolo *et al.* 2005).

La cinética de separación gravitacional se evaluó a partir de la variación de los valores promedio de BS en función del tiempo. Como ejemplo se muestra en las **Figuras 2 a y b** las cinéticas para las emulsiones de ANS y PST, respectivamente, a tres niveles de concentración proteica. Los valores de la constante cinética de cremado-floculación (K) para todas las muestras ensayadas se muestran en la **Tabla 2**. Dicha constante cinética adquiere un valor mayor cuando el grado de desestabilización crece (Palazolo *et al.* 2004); en base a esto, el incremento en la concentración de proteína entre 1 y 5 mg/ml condujo a la formación de emulsiones más estables para todas las muestras. El incremento mayor en la cantidad de proteína (de 5 hasta 10 mg proteína/ml en fase acuosa) produjo la desestabilización de las emulsiones elaboradas con sueros o con sus proteínas aisladas, que no se observó en la emulsión ANS. Para las emulsiones preparadas con PSS (sin tratamiento térmico) se postula un mecanismo de desestabilización mediado por flóculos, que se evidencia al tratar dichas emulsiones con SDS. Dicho tratamiento produjo una notable estabilización, la cual se reflejó en una disminución de casi 13 veces en los valores de K. El rol de la floculación en el proceso de separación gravitacional se pudo visualizar por la clarificación de la zona inferior del tubo, lo que indica la participación en la formación de los flóculos tanto de las gotas grandes como de las más pequeñas. El elevado grado de floculación en las emulsiones preparadas con SSL condujo a clarificación tan rápida (3-10 min) que no permitió evaluar la constante K. La estabilidad a la separación gravitacional resulta ser decreciente en el siguiente orden: ANS > PST > PSS > STL >> SSL.

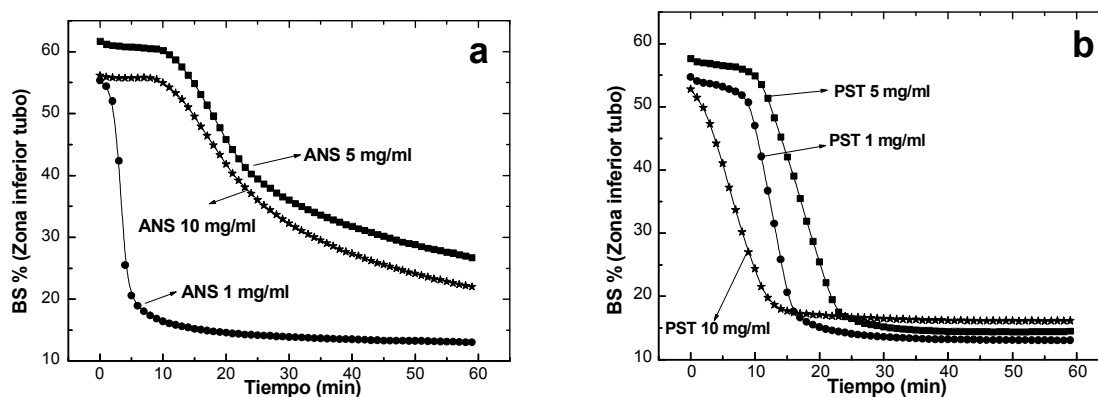


Figura 2. Variación del backscattering promedio (BS_{prom} %) en los perfiles registrados con un analizador óptico vertical (Quick Scan) en la zona inferior del tubo. a: Emulsiones de aislado nativo de soja (ANS); b: Emulsiones de proteína de suero de tofu (PST); en ambos casos las emulsiones fueron preparadas con dispersiones con un contenido de proteína de: 1 mg/ml (●●●●●), 5mg/ml (■●●■) y 10mg/ml (*****).

Tabla 2. Constante cinética de separación gravitacional (K) de emulsiones preparadas con tres niveles de concentración de proteína.

Muestra	Concentración proteica (g/l)	Agregado de SDS	K ($\times 10^3$) (min^{-1})
ANS	1	-	1,82
	5	-	0,38
	10	-	0,47
STL	1	-	5,84
	5	-	2,77
	10	-	3,11
PST	1	-	2,33
	5	-	0,92
	10	-	2,06
PSS	1	-	2,47
	5	-	1,56
	10	-	6,64
	10	+	0,50

Al analizar el porcentaje de aceite separado (% AS) como consecuencia de la coalescencia inducida por centrifugación, se pudo corroborar que las emulsiones preparadas con ANS son muy estables, dando valores de AS de $1,15 \pm 0,39$; $0,53 \pm 0,28$ y $0,12 \pm 0,05$ % para 1, 5 y 10 mg proteína/ml, respectivamente. Si se comparan estos valores con los determinados en las emulsiones de sueros de soja o de sus proteínas aisladas (**Figura 3**), queda claro que: a) las proteínas desnaturalizadas y ricas en calcio presentes en PST tienen la capacidad de estructurar la película interfacial que rodea a las gotas, y dar una estabilidad a la coalescencia similar a las proteínas de reserva del aislado nativo, aun a concentraciones proteicas tan bajas como 1 mg/ml; b) en la muestra PSS y en mayor grado en los sueros STL y SSL se observa una fuerte influencia de la concentración proteica sobre la estabilidad, requiriéndose concentraciones de proteína superiores a 5 mg/ml para lograr reducir el aceite separado a valores inferiores a 2 %. A la misma concentración proteica, las emulsiones preparadas con estas muestras resultaron con una estabilidad a la separación de aceite, con el mismo orden que el observado para IAE y para la estabilidad a la separación gravitacional.

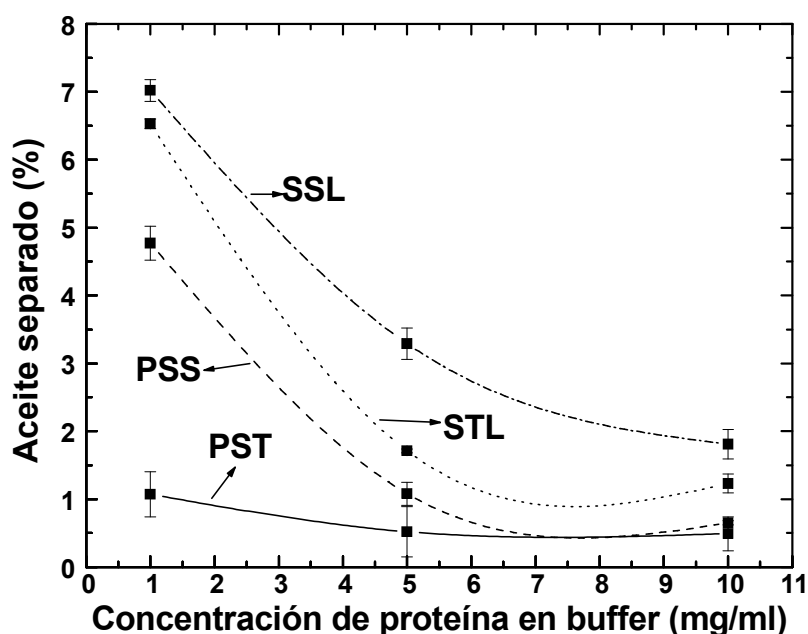


Figura 3. Cuantificación del aceite separado de emulsiones conteniendo 1, 5 y 10 mg/ml de proteína en la fase acuosa. (—): proteína de suero de tofu; (----): proteína de suero de soja; (.....): suero de tofu liofilizado y (-·-·-·-): Suero de soja liofilizado.

CONCLUSIONES

Las proteínas de suero de soja son mejores agentes emulsificantes cuando se encuentran aisladas. La presencia de componentes no proteicos en los sueros, tales como oligosacáridos y sales, reduce la actividad emulsionante de dichas proteínas y ejerce un efecto desestabilizante una vez que las emulsiones están formadas.

Las emulsiones preparadas con el subproducto industrial proveniente de la fabricación del tofu (suero de tofu) son más estables que las preparadas con el suero de soja obtenido en el laboratorio.

Las proteínas aisladas a partir del suero de tofu dan emulsiones más estables que las aisladas a partir del suero de soja, debido a que están desnaturalizadas térmicamente y tienen alto contenido de calcio, cambios generados como parte del procesamiento industrial.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo dado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) por los subsidios PICT 2002-09-10768 y PICTO-UNQ 2006-36473 y en forma especial, el apoyo financiero de la Universidad Nacional de La Plata y la Universidad Nacional de Quilmes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antón M, Beaumal V, Brossard C, Llamas G, LeDenmat M. 2002. Droplet flocculation and physical stability of oil-in-water emulsions prepared with hen egg yolk. En: Anton M, editor. Food emulsions and dispersions. Kerala: Research Signpost. pag 15-28.

Cheftel JC, Cuq JL, Lorient D. 1989. Proteínas Alimentarias. Bioquímica. Propiedades Funcionales. Valor Nutritivo. Modificaciones Químicas. Zaragoza: Editorial Acribia. pag 257-275.

Dubois M, Gilles KH, Hamilton J, Rebers F, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 349–356.

Espinosa-Martos I, Préstamo G, Rupérez P. 2006. Composición y Propiedades del Suero de Soja, un subproducto de la elaboración del tofu. Alimentaria, marzo: 72-73.

Espinosa-Martos I, Rúperéz P. 2006. Soybean oligosaccharides. Potential as new ingredients in functional food. Nutrición Hospitalaria, 21: 92-96

Genta ML., Álvarez N. 2006. CET Revista de Ciencias Exactas e Ingeniería (On line) Extensión 28, 1

Harms-Ringdahl M, Forsberg J, Fedorcsák I, Ehrenberg L. 1979. Trypsin inhibitory activity of a polypeptide isolated from red kidney beans that also enhances lymphocyte stimulation. Biochemical and Biophysical Research Communications, 86: 492-499.

Kennedy AR 1993. Anticarcinogenic activity of protease inhibitors. En: Troll W, Kennedy A, editores. Protease inhibitors as cancer chemopreventive agents. New York: Plenum Press. pag 9-64

Kishi K, Inoue G. 1987. Improvement of nutritional quality. En: Inoue G, editor. Soy protein in human nutrition. Osaka: International Symposium pag. 45-57.

Lin P, Ng. TB. 2008. A stable trypsin inhibitor from chinese dull black soybeans with potentially exploitable activities. Process Biochemistry, 43: 993-998.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Rondall, RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 193: 265–275.

Matemu, AO, Kayahara H, Murasawa H, Nakamura S. 2009. Importance of size and charge of carbohydrate chains in the preparation of functional glycoproteins with excellent emulsifying properties from tofu whey. Food Chemistry, 114: 1328-1334.

- Mitidieri FE, Wagner JR. 2002. Coalescence of o/w emulsions stabilized by whey and isolate soybean proteins. Influence of thermal denaturation, salt addition and competitive interfacial adsorption. *Food Research International*, 35:547-557
- Palanuwech J, Potineni R, Roberts RF, Coupland JN. 2003. A method to determine free fat in emulsions. *Food Hydrocolloids*, 17: 55-62.
- Palazolo GG, Sorgentini DA, Wagner JR. 2004. Emulsifying properties and surface behavior of native and denatured whey soy proteins in comparison with other proteins. Creaming stability of oil-in-water emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81: 625-632.
- Palazolo GG, Sorgentini DA, Wagner JR. 2005. Coalescence and flocculation in o/w emulsions of native and denatured whey soy proteins in comparison with soy protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 19: 595-604.
- Pearce KN, Kinsella JE. 1978. Emulsifying properties of food proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26: 716-723.
- Pearson AM. 1983. Soy proteins. En: Hudson BJB, editor. *Developments in Food Protein* second edition. Londres: Applied Science Publications. pag 67-108.
- Sobral PA, Wagner JR. 2009. Relación entre la composición y la actividad antitriptica de sueros de soja y el comportamiento térmico de sus proteínas Aisladas. *Información Tecnológica*, 20 (5): en prensa.
- Sorgentini DA, Wagner JR. 1999. Comparative study of structural characteristics and thermal behavior of whey and isolate soybean proteins. *Journal of Food Biochemistry*, 23: 489-507.
- Sorgentini DA, Wagner JR. 2002. Comparative study of foaming properties of whey and isolate soybean proteins. *Food Research International*, 35: 721-729.
- Thanasukarn P, Pongsawatmanit R, McClements DJ. 2004. Influence of emulsifier type on freeze-thaw stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 18: 1033-1043.
- Tomomatsu H. 1994. Health effects of oligosaccharides. *Food Technology*, october: 61-65.