



CYTAL-ALACCTA 2019  
Buenos Aires, 20 – 22 noviembre 2019

## **EVALUACION DE LAS PROPIEDADES EMULSIONANTES DE UN CONCENTRADO DE PROTEINAS DE SUERO A FRACCIONES VOLUMETRICAS INTERMEDIAS**

C. A. Ayunta<sup>1</sup>, M. C. Puppo<sup>2</sup>, L. B. Iturriaga<sup>1</sup>

*1 CIBAAL (UNSE-CONICET), Centro de Investigación en Biofísica Aplicada y Alimentos, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Ruta Nacional 9 km 1.125 Villa El Zanjón Santiago del Estero, Argentina*

*2 CIDCA (UNLP-CIC-CONICET), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Calle 47 y 116, La Plata, Buenos Aires, Argentina*

*E-mail: [anabelayunta@gmail.com](mailto:anabelayunta@gmail.com)*

### **Resumen**

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad emulsionante y la estabilidad de emulsiones O/W preparadas a partir de un concentrado de proteínas de suero de leche (CPS) con un contenido de proteínas de 63%. Se prepararon emulsiones con aceite de girasol (natura®) en una dispersión de proteína, se homogeneizó con ULTRA-TURRAX (20.000 rpm, 5 minutos a 25 °C) a pH 7. Se estudió, el efecto de la concentración de proteínas (1%, 2% y 3% (p/v)) y de la fracción volumétrica (0,2, 0,4 y 0,6), en el índice de actividad emulsionante (IAE), índice de estabilidad (IE) e índice de cremado (IC) a 25 °C durante 30 días, evaluando las muestras cada 7 días y a los 60 y 90 días.

Los resultados indicaron que el IAE disminuyó con el aumento de la concentración de CPS y fue ligeramente mayor en las emulsiones con menor fracción volumétrica (0,2). Por otra parte, el IE fue ligeramente mayor para la muestra con fracción volumétrica de 0,6. Se observó una disminución de IE en la muestra con 2% (p/v) de proteínas y con fracciones volumétricas de 0,4 y 0,6.

El IC fue independiente de la concentración de proteínas. Sin embargo, fue menor en las emulsiones con fracción volumétrica 0,6.

Todas las emulsiones, presentaron cremado a partir del día 1 y precipitados de proteína agregada a partir del día 7.

Los resultados indican que el CPS tiene buenas propiedades emulsionantes a bajas concentraciones de proteína a pH 7, ya que las emulsiones preparadas con 1% (p/v) de

proteínas presentaron mayor IAE y menor cantidad de proteína precipitada, para todas las fracciones volumétricas estudiadas.

Palabras Claves: concentrado de proteínas de suero de leche, propiedades emulsionantes.

## **1. Introducción**

Las emulsiones consisten en una dispersión de dos líquidos no miscibles. Las emulsiones O/W están conformadas por una fase continua (agua) y una fase dispersa (aceite) en forma de gotitas. Las emulsiones forman parte de muchos alimentos procesados, como también de productos farmacéuticos, cosméticos, de cuidado personal y agroquímicos.

Son termodinámicamente inestables y, por lo tanto, tienden a desestabilizarse con el tiempo debido a diversos mecanismos fisicoquímicos, que incluyen separación gravitacional, floculación, coalescencia, coalescencia de partículas, maduración de Ostwald y separación de fases (Hiemenz y Rajagopalan; 1997; Israelachvili, 2011; McClements, 2015).

Las proteínas de la leche son moléculas con actividad superficial que se adsorben en la interfaz aceite-agua, disminuyen la tensión interfacial y forman una capa protectora que rodea las gotas de aceite (Walstra, 2002). Estas proteínas en la interfaz también proporcionan fuerzas repulsivas, como las fuerzas estéricas y electrostáticas entre las gotas, que extienden la estabilidad de las gotas de aceite en las emulsiones (Tcholakova, Denkov, Sidzhakova y Campbell, 2006). Las fuerzas de repulsión evitan la unión de las gotas de aceite, prolongando el tiempo de formación de cremado, floculación, coalescencia y la eventual separación de fases de las emulsiones (Loi, Eyres y Birch, 2019)

Los CPS son ampliamente empleados en la industria alimentaria. Se caracterizan por la amplia gama de propiedades funcionales, poseen buena capacidad emulsionante ya que son proteínas globulares, con dominios, en su estructura, lo suficientemente flexibles, que forman películas rápidamente y disminuyen la tensión superficial.

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad emulsionante de un CPS, en emulsiones (O/W), a fracciones volumétricas bajas e intermedias.

## 2. Materiales y métodos

**2.1. Materiales:** el concentrado de proteínas de suero de leche (CPS) (humedad 4%, proteínas 63%, grasa 9%, lactosa 22,8%, cenizas 3,9%) fue suministrado por ARLA Food (Videbaek, Denmark). Se utilizó aceite de girasol comercial marca natura®.

**2.2. Preparación de las emulsiones:** se prepararon emulsiones con tres concentraciones de CPS (1%, 2% y 3% (p/v)) y a diferentes fracciones volumétricas (0,2; 0,4 y 0,6). Para lo cual, se disolvió el CPS en un buffer fosfato de potasio (10 mM) a pH 7, se dejó reposar en la heladera (4-5 °C) toda la noche, para completar la hidratación. Luego se agregó una cantidad de aceite acorde a la fracción volumétrica (volumen de aceite/volumen total de emulsión) y se homogeneizó en un ULTRA-TURRAX (IKA) a 20.000 rpm durante 5 min a 25 °C.

**2.3. Índice de actividad emulsionante (IAE):** se midió por el método de Pearce y Kinsella (1978), se pesó 0,1 g de emulsión y se agregó 19,9 ml de una solución de SDS 0,1% p/v disuelta en el buffer fosfato pH 7, las diluciones se mantuvieron en un baño termostático (34 °C) y se midió la Absorbancia a 500 nm en un espectrofotómetro Jasco V630.

**2.4. Índice de estabilidad (IE):** las emulsiones se mantuvieron a 4 °C durante 24 h y luego se midió nuevamente la absorbancia por espectrofotometría a 500 nm. El índice de estabilidad se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$IE (h) = \frac{T \times \Delta t}{\Delta T}$$

Dónde:

T: turbidez al tiempo cero

$\Delta T$ : es el cambio en la turbidez durante el periodo de almacenamiento

$\Delta t$ : intervalo de tiempo

**2.5. Índice de cremado (IC):** se colocaron las emulsiones en matraces de 10 ml, se agregó 200  $\mu$ l de azida de sodio (0,1% (p/v)) para su preservación, y se almacenaron en una estufa a 25 °C. Se evaluó el IC durante 30 días, cada 7 días. Se registró la altura del suero (Hs) y la altura total de la emulsión (Ht).

El índice de cremado se calculó como:

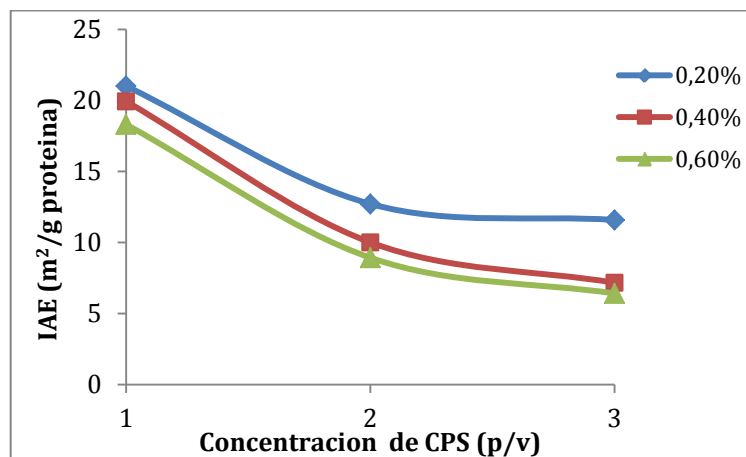
$$IC (\%) = \frac{H_s}{H_t} \times 100$$

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Índice de actividad emulsionante (IAE)

La Figura 1 presenta las curvas de IAE ( $\text{m}^2/\text{g}$  de proteína) de las emulsiones en función de la concentración de CPS. El IAE mide la habilidad de las proteínas para dispersar la fase lipídica, y estima el tamaño de partícula dispersa basado en el área interfacial (calculada vía turbidez) por unidad de proteína (Singh, 2003). En la Figura 1 se puede observar IAE disminuyó con el aumento de la concentración de CPS, este resultado es contradictorio a lo que se esperaría, ya que se estima que a mayor concentración de proteínas mayor es el área interfacial. Esto podría deberse a que al aumentar la concentración de CPS, aumenta el contenido no solo de proteínas sino que también de cenizas, lactosa y lípidos. Algunos autores señalan que a mayor contenido de lípidos, las propiedades emulsionantes de los CPS, son más pobres ya que. Los lípidos alterarían el balance hidrofílico e hidrofóbico de las proteínas séricas (Patel y Kilara, 1990; Vaghela y Kilara, 1996). Se podría decir que es posible obtener emulsiones con buen IAE a bajas concentraciones de CPS. Ya que las proteínas séricas son eficientes en crear emulsiones estables, incluso a pequeñas concentraciones, empleando habitualmente alrededor del 1 al 3% de concentración de proteína para estabilizar emulsiones (Damodaran, 2005).

Por otra parte, con respecto a la fracción volumétrica de las emulsiones, se observa que el IAE fue ligeramente mayor en las emulsiones con menor fracción volumétrica (0,2), ya que hay menos aceite para dispersar.

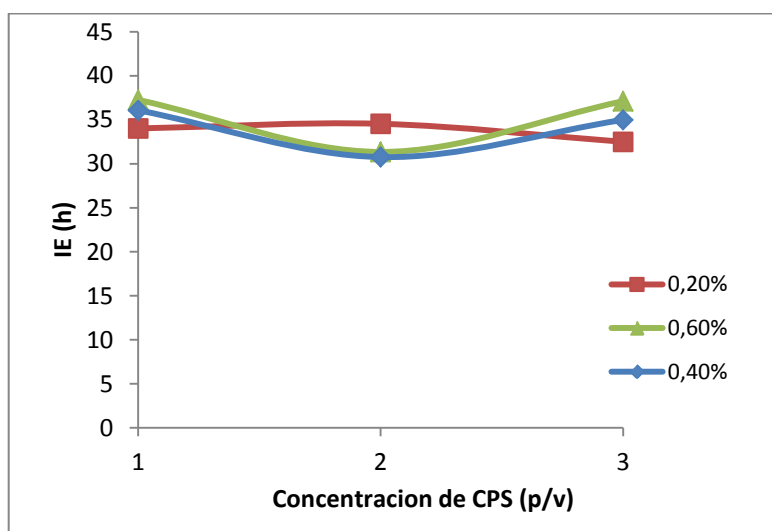


**Figura 1:** IAE de emulsiones O/W en función de la concentración de CPS a diferentes fracciones volumétricas.

### 3.2. Índice de la estabilidad (IE)

En la Figura 2 se observa el índice de la estabilidad (IE) en h, en función de la concentración de CPS. El IE fue más alto a concentraciones de CPS de 1 y 3% (p/v) en las emulsiones con fracción volumétrica de 0,4 y 0,6, sin embargo, se observó un mínimo en el IE a 2 % de CPS. En las emulsiones con fracciones volumétricas de 0,2 el IE fue prácticamente independiente de la concentración de CPS.

El hecho de que no haya correlación entre IAE y IE, podría deberse a que no solo el área de la fase dispersa influye en la estabilidad, sino que también influyen otros factores como las fuerzas repulsivas entre las moléculas de proteínas.



### 3.3. Índice de cremado (IC)

El (%) IC provee información indirecta sobre el grado de agregación de las gotas de una emulsión: cuanto mayor es la agregación, más rápido será el cremado.

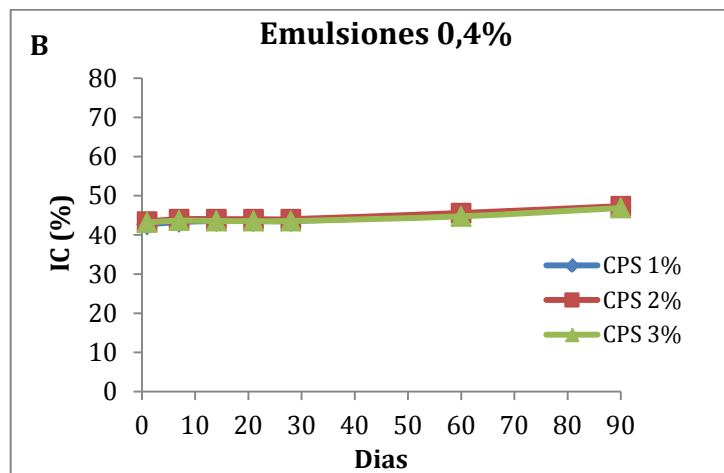
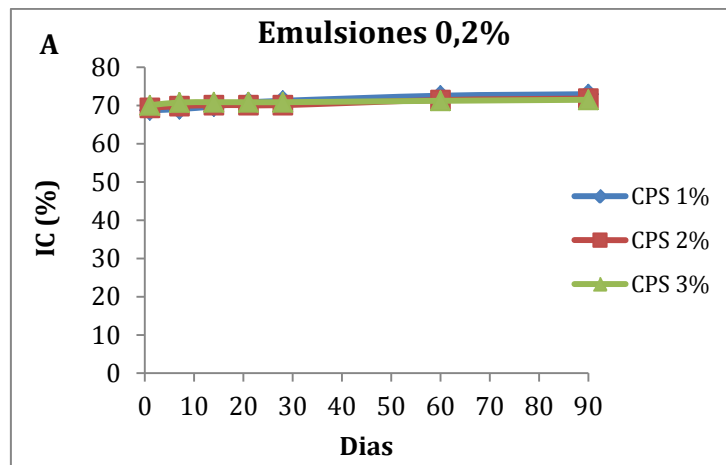
El índice de cremado (% IC) se ha utilizado para indicar la susceptibilidad de las gotitas de aceite al cremado y a la coalescencia inducida por la fuerza gravitatoria y para determinar la resistencia de la membrana o película que rodea a la gota a la ruptura durante un cierto período de tiempo (McClements, 1999b; Pearce & Kinsella, 1978).

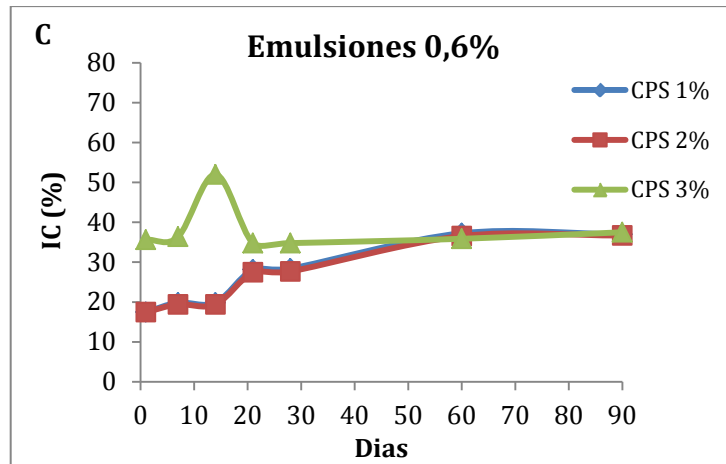
En la Figura 3 se muestra el IC de las emulsiones en función de los días de almacenamiento. El IC se mantuvo prácticamente constante durante los 90 días, en las emulsiones de fracción volumétrica 0,2 y 0,4%, en las tres concentraciones de CPS. En las emulsiones con fracciones volumétrica de 0,6, se observó un aumento en el IC hasta los 30 días en las emulsiones preparadas con 1 y 2 % de CPS. En las emulsiones con 3%

de CPS, se observó un máximo en el IC a los 14 días de almacenamiento, disminuyó a los 21 días y luego se mantuvo constante hasta los 90 días.

El IC (%) fue independiente de la concentración de CPS en las emulsiones con fracción volumétrica de 0,2 y 0,4%. Mientras que las emulsiones con mayor fracción volumétrica (0,6%) hubo diferencias entre las concentraciones de CPS en los primeros 30 días de almacenamientos. En general el IC fue más bajo en emulsiones con mayor fracción volumétrica (0,6%).

Todas las emulsiones, presentaron cremado a partir del día 1 y precipitados de proteína agregada a partir del día 7, lo cual podría deberse a una insolubilización de las proteínas en la fase acuosa. Se observó coalescencia en las muestras con 1 % (p/v) de proteínas para fracciones volumétricas de 0,2 y 0,6, a partir del día 21 y del día 7, respectivamente.





**Figura 3:** Evolución del índice de cremado (IC) en función del tiempo de las emulsiones a diferentes fracciones volumétricas: A) 0,2%, B) 0,4% y C) 0,6%.



**Figura 4:** Fotografías de la evolución de las emulsiones a distintos días de almacenamiento. A)  $\Phi=0,2\%$ , B)  $\Phi=0,4\%$  y C)  $\Phi=0,6\%$ , para las tres concentraciones de CPS, 1%, 2% y 3% de izquierda a derecha.

#### 4. Conclusiones

Los resultados indican que el CPS tiene buena capacidad emulsionante, incluso a bajas concentraciones a pH 7, ya que las emulsiones preparadas con 1% (p/v) de proteínas presentaron mayor IAE y elevado IE, para todas las fracciones volumétricas estudiadas. Sin embargo se observó precipitación de proteínas, principalmente en emulsiones de menor fracción volumétrica (0,2).

#### 5. Agradecimientos

Los autores agradecen a la Unidad Ejecutora Centro de Investigación en Biofísica Aplicada y Alimentos CIBAAL (CONICET –UNSE) y el apoyo financiero del CONICET.

#### 6. Referencias

- Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70(3), 54-66.
- Hiemenz PC, Rajagopalan R. *Principles of colloid and surface chemistry*. Third edition ed. New York: Marcel Dekker; 1997.
- Israelachvili J. *Intermolecular and surface forces*. Third Edition. London, UK: Academic Press; 2011.
- Loi, C. C., Eyres, G. T. Birch, E. J. (2019). Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil in- water emulsion. *Food Research International*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.026>.
- McClements D. J. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. Third edition ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2015.
- Patel, M.T. & Kilara, A. (1990). Studies on whey protein concentrate. 2. Foaming and emulsifying properties and their relationships with physicochemical properties. *Journal of Dairy Science*, 73(10), 2731-2740.
- Pearce, K.N. & Kinsella, J.E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716-723.
- Tcholakova, S., Denkov, N. D., Sidzhakova, D., & Campbell, B. (2006). Effect of thermal treatment, ionic strength, and pH on the short-term and long-term coalescence stability of  $\beta$ - lactoglobulin emulsions. *Langmuir*, 22 (14), 6042-6052.



Singh, H. (2003). Milk proteins: Functional properties. En H. Roginski, J.W. Fuquay, & P.F. Fox, Encyclopedia of dairy sciences (Vol. 3) (1976-1982). Londres: Academic Press (Elsevier Science).

Vaghela, M.N. & Kilara, A. (1996). Foaming and emulsifying properties of whey protein concentrates as affected by lipid composition. *Journal of Food Science*, 61(2), 275-280.

Walstra, P. (2002). *Physical Chemistry of Foods*. New York: 592 Marcel Dekker.