

## **EFFECTO DEL PH Y LA CONCENTRACIÓN DE BIOPOLÍMEROS EN LAS PROPIEDADES INTERFACIALES DE SISTEMAS MIXTOS FORMADOS POR PROTEÍNAS DE HEZ DE MALTA Y CARRAGENINAS**

**Proaño, Janina** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Instituto de Tecnología de Alimentos, CONICET- UNL*

Directora: Drago, Silvina R. <sup>1</sup>

Coautor: Pérez, Adrián <sup>1</sup>

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Proteínas de hez de malta, Dinámica de tensión interfacial, Reología interfacial

### **INTRODUCCIÓN**

Las necesidades industriales, sociales y económicas han aumentado el interés por el diseño e innovación de alimentos formulados con proteínas vegetales y el aprovechamiento de subproductos o residuos de la industria. Actualmente las proteínas de hez de malta (PHM), principal subproducto de la industria cervecera ha llamado la atención debido a sus propiedades biofuncionales y tecnológicas, como ser las propiedades de superficie, principalmente capacidad emulsionante y espumante. Las espumas son dispersiones de gas en una fase continua líquida, que al formarse a partir de la incorporación de aire a una solución que contiene tensioactivos espumantes, se crean nuevas áreas interfaciales. Dado que las soluciones acuosas proteicas tienen la capacidad de formar espumas, según la cinética de adsorción de las proteínas sobre la interfase aire-agua (Ganzevles y col., 2006), la investigación basada en PHM se ha focalizado en examinar la propiedad espumante. Sin embargo, no se ha encontrado información relacionada al respecto en sistemas mixtos con polisacáridos; de cómo afectan el pH y la concentración relativa de los biopolímeros en la adsorción de las PHM y de los sistemas mixtos sobre la interfase aire-agua.

### **OBJETIVO**

Evaluar el efecto del pH y la concentración relativa de biopolímeros sobre la dinámica de adsorción interfacial de PHM, utilizando  $\iota$ -iota carragenina como moduladora del proceso de espumado.

Título del proyecto: "Revalorización de subproductos de la industria cervecera. Extracción, propiedades tecno y biofuncionales y aplicaciones para la industria alimentaria de proteínas, carbohidratos no digeribles y compuestos fenólicos presentes en la hez de malta". Instrumento: PICT-2879 Año convocatoria: 2016 Organismo financiador: FONCYT Directora: Drago, Silvina R.
--

## METODOLOGÍA

**Materiales:** El concentrado de proteínas de hez de malta (PHM) fue obtenido de acuerdo a Proaño y col., (2020). Su composición fue 57,11 g 100 g<sup>-1</sup> de proteína en base seca y 4,9 g 100 g<sup>-1</sup> de humedad. La carragenina ι-iota (CR) (Santiagel KHG 30) fue suministrada por Cargill. Su composición fue: 68 g 100 g<sup>-1</sup> de carbohidratos, 8 g 100g<sup>-1</sup> de humedad. Otros reactivos utilizados fueron de grado analítico y marca Cicarelli (San Lorenzo, Santa Fe, Argentina).

**Preparación de los sistemas PHM:CR:** Las soluciones acuosas de PHM se preparó a una concentración de 0,1 g 100g<sup>-1</sup>. Los sistemas mixtos se prepararon en el día mezclando dispersiones de PHM y CR en cantidades adecuadas hasta alcanzar la concentración relativa deseada ( $R_{\text{PHM:CR}}$ ) 2:1 y 4:1, manteniendo constante la concentración de PHM, y luego se agitaron durante 30 min. Para evaluar el efecto del pH en las interacciones PHM y PHM:CR los sistemas se ajustaron a pH 2, 3, 4 utilizando HCL 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

**Medición de las propiedades dinámicas de superficie:** Las propiedades interfaciales de PHM y  $R_{\text{PHM:CR}}$ , fueron analizados por tensiometría de gota pendiente según Pérez y col., (2009). Se determinaron la evolución de la presión superficial ( $\pi$ , mN/m) y las propiedades reológicas dilatacionales superficiales (módulo dilatacional (E)), de las películas adsorbidas sobre la interfase aire-agua a los 180 min de análisis. Las mediciones se realizaron por duplicado a 25°C.

Para la obtención de la constante de difusión ( $k_{\text{dif}}$ ) se utilizó la ecuación de Ward y Tordai, (1946) que fue modificada por Pérez y col., (2009) para correlacionar el cambio de presión superficial con el tiempo.

**Análisis estadístico:** Se realizó el test de ANOVA para determinar diferencias significativas entre muestras ( $p < 0,05$ ) y el test de LSD al 95% de confianza, utilizando el Software Statgraphics Centurion XV.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la constante de difusión ( $k_{\text{dif}}$ ), penetración ( $k_p$ ), reordenamiento ( $k_r$ ) módulo dilatacional (E) de las películas adsorbidas sobre la interfase aire-agua de los diferentes sistemas evaluados.

El agregado de CR en los sistemas mixtos provocó una disminución significativa de la velocidad de difusión, en comparación con la PHM sola. Además, se observó una menor velocidad a pH 2 y 3 en relación a pH 4.

Este comportamiento puede asociarse a una menor disponibilidad de la PHM para su adsorción debido a la formación de complejos electrostáticos solubles PHM-CR en la subfase acuosa. La formación de estos complejos reduce la velocidad de difusión hacia la interfase aire-agua y como consecuencia podría afectar la adsorción de la proteína (Pérez y col., 2009). En estudios anteriores se analizó el efecto del pH y de la  $R_{\text{PHM:CR}}$  de biopolímeros sobre el potencial  $\zeta$  y tamaño de partícula de los sistemas mixtos PHM:CR en medio acuoso (datos no mostrados) y los resultados evidenciaron la formación de estos complejos electrostáticos PHM-CR que fueron de mayor tamaño en el entorno del pI de la proteína (pH 2,9). De esta manera, a mayor tamaño del complejo menor sería la capacidad de difundir a la interfase, lo que se manifiesta a pHs entre 2 - 3.

Con respecto a la penetración y el reordenamiento de la PHM en la interfase, la presencia de CR disminuyó las constantes de velocidad de ambos fenómenos ( $k_p$  y  $k_r$ ) en comparación con la PHM sola, posiblemente debido a que los complejos electrostáticos adsorbidos podrían retardar la exposición de segmentos hidrofóbicos de PHM a nivel de la interfase aire-agua, entreteniendo la penetración. En relación a esto, se observó que en los sistemas mixtos hubo una correlación significativa ( $p < 0,05$ ) entre la hidrofobicidad superficial (datos no mostrados)

y la  $\pi$  ( $R^2$ : 0,77). Además, la velocidad de penetración se correlacionó significativamente con el tamaño de la partícula ( $R^2$ : 0,64). La presencia de agregados de alto peso molecular en PHM dificultarían la penetración y el reordenamiento, pues mayores tamaños moleculares aumentan la energía de la barrera de adsorción (Carp y col., 2001).

**Tabla 1.** Efecto del pH y la concentración relativa de biopolímeros  $R_{(PHM:CR)}$  sobre la constante de difusión ( $k_{dif}$ ), penetración ( $k_p$ ), reordenamiento ( $k_r$ ) módulo dilatacional ( $E$ ) de películas adsorbidas de PHM sobre la interfase aire – agua. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	pH	$R_{(PHM:CR)}$	$k_p$ ( $s^{-1}$ )	$k_r$ ( $s^{-1}$ )	$k_{dif}$ ( $mN/m.s^{-0.5}$ )	$E$ ( $mN/m$ )
PHM	2		2,59E-04(0,998) <sup>a</sup>	4,76E-04 (0,993) <sup>a</sup>	1,01±0,00 <sup>e</sup>	35,56±0,40 <sup>a</sup>
	3		2,55E-04(0,999) <sup>b</sup>	3,67E-04 (0,997) <sup>b</sup>	0,86±0,03 <sup>bc</sup>	36,23±0,23 <sup>a</sup>
	4		2,52E-04(0,999) <sup>c</sup>	3,58E-04 (0,996) <sup>b</sup>	0,95±0,01 <sup>d</sup>	47,54±0,53 <sup>d</sup>
SM*	2	21	7,12E-06 (0,999) <sup>d</sup>	9,74E-06 (0,997) <sup>c</sup>	0,80±0,01 <sup>ab</sup>	43,00±0,92 <sup>c</sup>
	3	21	7,56E-06 (0,999) <sup>d</sup>	1,04E-05 (0,998) <sup>c</sup>	0,78±0,02 <sup>a</sup>	39,60±0,32 <sup>b</sup>
	4	21	7,44E-06(0,999) <sup>d</sup>	1,06E-05 (0,997) <sup>c</sup>	0,91±0,02 <sup>cd</sup>	50,27±0,53 <sup>e</sup>
	2	41	7,13E-06 (0,999) <sup>d</sup>	1,14E-05 (0,985) <sup>c</sup>	0,79±0,01 <sup>a</sup>	40,75±0,54 <sup>b</sup>
	3	41	7,21E-06 (0,999) <sup>d</sup>	1,29E-05 (0,996) <sup>c</sup>	0,80±0,03 <sup>ab</sup>	52,99±0,96 <sup>f</sup>
	4	41	7,63E-06 (0,999) <sup>d</sup>	1,50E-05 (0,997) <sup>c</sup>	0,89±0,06 <sup>cd</sup>	65,65±1,09 <sup>g</sup>

\*SM: Sistemas mixtos PHM:CR

En relación al reordenamiento, los valores de  $k_r$  de la PHM fueron mayores que en los sistemas mixtos, posiblemente debido a una mayor exposición e interacciones entre los grupos hidrofóbicos de la proteína desdoblada en la interfase. Baeza y col., (2006) estudiaron las propiedades interfaciales de diversos tipos de polisacáridos (entre ellos  $\lambda$ -CR) con la  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg) a una concentración 0,1 a 0,5% y reportaron que la presencia de CR disminuyó la constante de la tasa de reordenamiento ( $k_r$ ) de moléculas  $\beta$ -lg en la interfase de  $1,16 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  para una película  $\beta$ -lg a un promedio de  $4,10^{-4} \text{ min}^{-1}$  para los sistemas mixtos. Esto fue atribuido a la implicación de algunos segmentos de la cadena proteica en las interacciones electrostáticas con  $\lambda$ -CR, lo que pudo interferir con las interacciones entre las moléculas  $\beta$ -lg y resultó en una disminución de los valores de  $k_r$  de la proteína adsorbida.

Por otro lado, se aplicó reología dilatacional superficial para examinar los cambios de presión interfacial como resultado de cambios en el área interfacial. El agregado de CR confirmó características principalmente elásticas a las películas interfaciales, ya que los valores del módulo de dilatación dinámica ( $E$ ) y del componente real o elasticidad ( $E'$ ) fueron similares (no se muestran los valores de  $E''$ ). En general, el agregado de CR incrementó los valores de  $E$  respecto a la PHM sola. Estos resultados sugieren que el uso de sistemas mixtos con CR podría incrementar la capacidad espumante de la PHM. Además, los valores de  $E$  se incrementaron a medida que el pH aumentó.

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se concluye que la PHM sola presentó mayor velocidad de adsorción a la interfase en comparación con los sistemas mixtos, pero menores propiedades viscoelásticas, lo que indicaría que una espuma realizada a partir de dicha proteína presentaría una baja estabilidad. En los sistemas mixtos, las interacciones macromoleculares entre las PHM y  $R_{(PHM:CR)}$  en la subfase acuosa podrían ejercer una importante influencia sobre la magnitud de la difusión de las PHM hacia la interfase aire-agua. Sin embargo, el aumento de la viscoelasticidad de los sistemas mixtos evidenciados a través del módulo elástico permitiría obtener espumas de mayor estabilidad.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Baeza, R., Pilosof, A. M. R., Sanchez, C. C., & Rodríguez Patino, J. M.** (2006). Adsorption and Rheological properties of Biopolymers at the Air-Water Interface. *American Institute of Chemical Engineers*, 52(7), 2627–2638. <https://doi.org/10.1002/aic>
- Carp, D. J.** (2001). Formación y estabilidad de espumas de proteínas de soja: efecto de la desnaturalización térmica y de la interacción con polisacáridos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_3333\\_Carp.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3333_Carp.pdf)
- Ganzevles, R. A., Cohen Stuart, M. A., Vliet, T. van, & de Jongh, H. H. J.** (2006). Use of polysaccharides to control protein adsorption to the air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 20(6), 872–878. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.08.009>
- Perez, A. A., Carrara, C. R., Sánchez, C. C., Rodríguez Patino, J. M., & Santiago, L. G.** (2009). Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. *Food Chemistry*, 116(1), 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.017>
- Proaño, J. L., Salgado, P. R., Cian, R. E., Mauri, A. N., & Drago, S. R.** (2020). Physical, structural and antioxidant properties of brewer's spent grain protein films. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10597>
- Ward, A. F. H., & Tordai, L.** (1946). Time dependence of boundary tensions of solutions I. *Journal of Chemical Physics*, 14, 353–361.