



17, 18 y 19 de octubre de 2018

### 27. Agro alimentos

# Obtención de micropartículas biopoliméricas a partir de geles ácidos de caseinato de sodio bovino y goma tara

Nielsen, Nadia Sol; Hidalgo, María Eugenia nadiasol.nsn@gmail.com; maruhidalgo80@yahoo.com.ar Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas Universidad Nacional de Rosario

#### Resumen

En este trabajo se estudió la incompatibilidad termodinámica entre la goma tara (GT) y el caseinato de sodio (NaCAS), se evaluó el efecto de la GT sobre las características texturales de geles ácidos de NaCAS y se analizó la microestructura y la formación de micropartículas biopoliméricas. La interacción entre GT y NaCAS generó diferentes grados de compatibilidad termodinámica. La firmeza (F) de los geles aumentó con la concentración de NaCAS. La fuerza de quiebre (FQ) aumentó con la concentración de NaCAS pero disminuyó a medida que la concentración de GT y/o cantidad de glucono-δ-lactona (GDL) adicionada aumentó. A medida que la concentración de GT aumentó, la red de gel presentó poros de mayor tamaño. Cuando la concentración de GT fue 0,2% o mayor, se observó la aparición de microestructuras proteicas esféricas, que se formarían por una competencia entre la cinética de separación de fases segregativa y la gelación ácida.

Palabras Claves: proteína láctea, hidrocoloide, gelación ácida, separación de fases segregativa, micropartículas

### Introducción

Los alimentos contienen proteínas (PT) y polisacáridos (PS) en forma de mezclas multicomponentes, siendo difícil identificar el papel individual de cada biopolímero en términos de sus propiedades funcionales, responsables de otorgar las características de estructura, textura y estabilidad <sup>1</sup>. Dichas propiedades funcionales se ven afectadas por la interacción entre los biopolímeros y con otros componentes del sistema. Por lo tanto, el estudio de las interacciones en mezclas PT-PS y su adecuada formulación contribuiría a la elaboración de productos con características reológicas, de textura y microestructuras especiales. Por otro lado, la limitada compatibilidad termodinámica entre ellos puede ser explotada para la obtención de micropartículas, controlando el tamaño de los agregados mediante la selección del PS, la temperatura (T) y las concentraciones relativas de PT y PS <sup>2</sup>.

Un proceso utilizado por la industria alimentaria es la gelación ácida proteica por adición de GDL <sup>3</sup>. La velocidad del proceso de gelación afecta la dureza y elasticidad del gel formado <sup>4</sup>.







A 100 AÑOS DE LA REFORMA UNIVERSITARIA: SABER TE HACE LIBRE

Universidad Nacional de Cuyo | Mendoza | Argentina

17, 18 y 19 de octubre de 2018

Si el sistema está formado por PT y PS, la presencia de dichos PS genera modificaciones en la cinética de formación de los geles proteicos lo que conduce a la obtención de geles con características microestructurales y texturales diferentes debido a la competencia entre el proceso de gelación y la microseparación de fases generada por la incompatibilidad termodinámica entre los biopolímeros en determinadas relaciones de concentración <sup>5</sup>. Por lo tanto, la composición de la mezcla PT-PS con la cual se forman los geles determinará una microestructura y textura particular de los mismos debido a la posible formación de micropartículas en estos sistemas mixtos <sup>6</sup>.

Las caseínas (CN) son importantes ingredientes alimenticios debido a sus propiedades nutricionales y funcionales. Las distintas fracciones de las CN constituyen el mayor componente proteico de la leche bovina <sup>7</sup>. Uno de sus derivados, el caseinato de sodio (NaCAS), es ampliamente utilizado como aditivo alimentario debido a sus propiedades de emulsificación, texturización y gelación <sup>8</sup>.

La goma tara (GT) es un galactomanano que crece en Salta y Jujuy y que se dispersa e hidrata en agua fría o caliente, formando soluciones muy viscosas <sup>9</sup>. Por ello, puede ser utilizada por la industria alimentaria como agente estabilizante, emulsificante y espesante, y para evitar efectos no deseables en productos elaborados (sinéresis) <sup>10</sup>.

**Objetivos:** Estudiar la incompatibilidad termodinámica entre la GT y el NaCAS, evaluar el efecto de la GT sobre la formación y las características texturales de geles ácidos de NaCAS y analizar la microestructura de dichos geles y la formación de micropartículas biopoliméricas.

## Materiales y Métodos

## 1.- Preparación de las muestras

El NaCAS, la GT, la GDL y otros reactivos químicos fueron de procedencia comercial y grado alimentario (Svelty, Sigma, Merck, Cicarelli, Nature Gum, G y G Suministros SRL, etc). Las soluciones madre de NaCAS y GT se prepararon separadamente y posteriormente fueron mezcladas.

#### 2.- Incompatibilidad termodinámica

Se obtuvieron los diagramas de fase de mezclas GT-NaCAS en el punto isoiónico del NaCAS (pH 6,98  $\pm$  0,03). Para ello se prepararon sistemas mixtos (2 g finales) variando la concentración de NaCAS ([NaCAS]=0,5-3,0%P/P) manteniendo constante la de GT ([GT]=0,1-0,8%P/P) y viceversa. Los sistemas se incubaron durante 24 y 48hs a 4  $\pm$  1, 25  $\pm$  2 y 36  $\pm$  1 °C. Pasado el tiempo de incubación se analizó la aparición de turbidez y/o separación









17, 18 y 19 de octubre de 2018

de fases por inspección visual. De esta manera fue posible obtener los correspondientes diagramas binodiales <sup>11-13</sup>.

### 3.- Estudio de las propiedades texturales de los geles ácidos

Se prepararon los geles ácidos mixtos en contenedores cilíndricos a 18°C, y se penetraron, en el centro de las muestras, con una sonda de geometría cilíndrica de 2 cm de diámetro, a una velocidad de desplazamiento constante de 1 mm/s. Se utilizó un Analizador de Textura Perten TVT 6700 <sup>14</sup>. Se realizó un diseño factorial de experimentos donde se evaluó la significancia de 3 factores: [NaCAS] (3 y 5% P/P), [GT] (0; 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 y 0,5% P/P) y la cantidad de GDL adicionada variando la relación R (R = fracción en masa de GDL/fracción en masa de NaCAS) según R = 0,25; 0,5 y 0,75. Se realizaron curvas de fuerza vs. desplazamiento y se calcularon dos parámetros o variables respuesta: 1) la fuerza de quiebre (FQ), definida como la fuerza en donde se observa una ruptura significativa del gel y 2) la firmeza (F), definida como la pendiente inicial de los perfiles de penetración obtenidos. Se obtuvieron ecuaciones modelo que permitieron describir y predecir el comportamiento de los sistemas.

## 4.- Microestructura de los geles y obtención de micropartículas

Se seleccionaron algunos sistemas ([NaCAS]=3% P/P, R=0,5 y T = 18°C, [GT]=0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 y 0,5% P/P) que fueron coloreados con Rodamina B roja (0,02mg/mL) y observados en un microscopio confocal Nikon C1 Plus. Las imágenes obtenidas se almacenaron en formato .tiff para su posterior análisis.

## 5.- Análisis estadístico

Las distintas determinaciones se realizaron al menos por triplicado. El análisis de los resultados y la obtención de los gráficos y parámetros o variables respuesta se realizaron mediante el programa Sigma-Plot Versión 10.0. Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el Design Expert Versión 6.0.10. Se realizaron diseños de experimentos factoriales y se analizaron, a través de tablas ANOVA, que factores e interacciones resultaron significativos (p < 0.05).

## Resultados y Discusión

La interacción entre la GT y el NaCAS generó diferentes grados de compatibilidad termodinámica dependiendo de las T y los tiempos de incubación (t<sub>i</sub>). En general, a una dada T, cuando el t<sub>i</sub> aumentó, las zonas de separación de fases segregativa aumentaron. Dicho



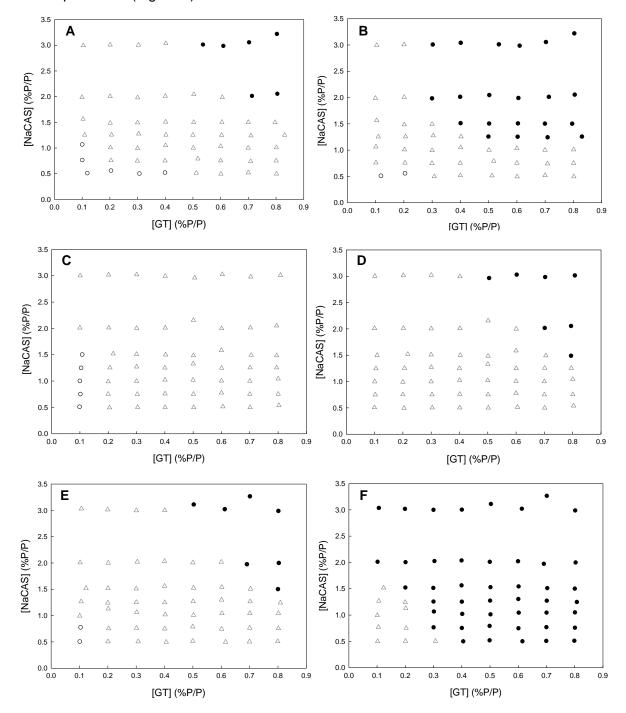






17, 18 y 19 de octubre de 2018

comportamiento se observó a altas concentraciones de GT y NaCAS. De esta manera, fue posible determinar la relación de concentración de GT y NaCAS donde existe o no separación de fases por incompatibilidad termodinámica que puede ser explotada para la obtención de micropartículas (Figura 1).



**Figura 1**. Diagramas de fases para los sistemas binarios GT-NaCAS luego de 24hs (A, C y E) y 48hs (B, D y F) a 4  $\pm$  1° C (A y B), 25  $\pm$  2 ° C (C y D) y 36  $\pm$  1 ° C (E y F). Símbolos: ( $\circ$ ) una fase, ( $\Delta$ ) una fase turbia, ( $\bullet$ ) dos fases.









17, 18 y 19 de octubre de 2018

En la Figura 2 se muestra un modelo de las curvas de fuerza vs. desplazamiento obtenidas para las muestras durante los ensayos de textura y se indica cómo se determinaron los parámetros estudiados.

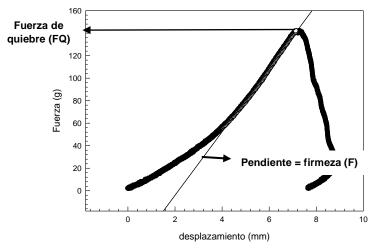


Figura 2. Curva de fuerza vs desplazamiento modelo obtenida en los ensayos de textura.

El análisis de las propiedades texturales de los geles ácidos mixtos mostró que la F dependió linealmente de la concentración de NaCAS presente en los sistemas (p < 0,0065). La misma aumentó conforme aumentó la concentración proteica. El resto de los factores no fueron estadísticamente significativos (p > 0,05). La ecuación 1 muestra el comportamiento de F respecto de la concentración de NaCAS en unidades codificadas ( $r^2 = 0,80$ ).

$$F = 41,85 + 11,91 [NaCAS]$$
 (1)

Respecto a la FQ se observó que las tres variables analizadas fueron significativas (p < 0,0005). La FQ aumentó conforme aumentó la concentración de NaCAS pero disminuyó a medida que la concentración de GT y/o R aumentó. La ecuación 2 muestra el comportamiento de FQ respecto a la concentración de NaCAS, concentración de GT y el R en unidades codificadas ( $r^2 = 0,81$ ).

$$FQ = 122,55 + 55,86 [NaCAS] - 46,01 [GT] - 51,89 R$$
 (2)

Los geles obtenidos en presencia de concentraciones mayores de GT fueron menos firmes que aquellos obtenidos en ausencia del polisacárido y por ende se necesitó menos fuerza de quiebre para romperlos. Por otro lado, al aumentar la cantidad de GDL adicionada, la velocidad de acidificación del sistema aumentó y por ende los geles se formaron más rápidamente sin que se establezcan nuevas interacciones entre los componentes del sistema.









17, 18 y 19 de octubre de 2018

Como consecuencia, estos geles fueron más débiles y se necesitaron menos fuerza de quiebre para romperse.

Cuando la concentración de GT fue igual o superior a 0,2%P/P no se formaron geles firmes y por ende no se obtuvieron parámetros de textura asociados. Este comportamiento es lógico ya que en presencia de altas concentraciones de ambos biopolímeros se produce una separación de fases segregativa (Figura 1) que compite con el proceso de gelación ácida proteica.

A modo de ejemplo, en la Figura 3 se pueden observar imágenes de los geles ácidos mixtos obtenidos en los contenedores cilíndricos correspondientes (Figura 3 A), antes de que el gel sea penetrado por la geometría del texturómetro (Figura 3 B) y posterior al ensayo de penetración donde se puede visualizar parte del gel roto y adherido a la geometría (Figura 3 C).

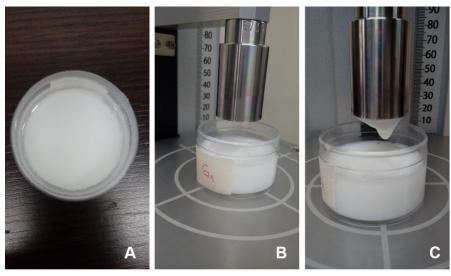


Figura 3. (A) Gel ácido mixto en el contenedor cilíndrico antes del ensayo; (B) Imagen del gel y la geometría del texturómetro antes del ensayo; (C) Imagen del gel y la geometría del texturómetro luego del ensayo de penetración.

En la Figura 4 se observan las imágenes obtenidas en los ensayos de microscopía confocal. A medida que aumentó la concentración de GT adicionada, la red proteica o gel presentó poros de mayor tamaño. Estos resultados coinciden con lo observado en los ensayos de textura, donde la FQ de los geles disminuye al aumentar la cantidad de GT añadida. Cuando la concentración de GT fue 0,2%P/P o mayor, se observó la aparición de microestructuras proteicas esféricas y no una red tridimensional de gel. Estas microestructuras se formarían debido a la competencia que se da entre la cinética de separación de fases y la gelación ácida a alta relación de concentraciones de ambos biopolímeros. La presencia de estas





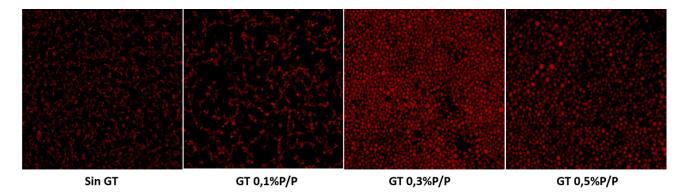






17, 18 y 19 de octubre de 2018

microestructuras o micropartículas limitaría la formación de la red proteica otorgando características microestructurales y texturales diferenciadas.



**Figura 4**. Imágenes confocales de los geles ácidos en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de GT. Concentración NaCAS = 3%P/P, R = 0,5 y T = 18°C

#### **Conclusiones**

La presencia de GT afectó la formación y microestructura de los geles ácidos proteicos y, a una determinada relación de concentraciones, se obtuvieron micropartículas proteicas a partir de las cuales se podrían obtener geles ácidos con características microestructurales y texturales diferenciadas. Estas micropartículas se formarían debido a una competencia que se da entre la cinética de separación de fases y el proceso de gelación ácida proteica.

# Bibliografía

- 1. Dickinson, Trends in Food Science & Technology, 1998. **9** 347-354.
- 2. Pilosof. in *II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. 2006.
- 3. Braga, et al., International Dairy Journal, 2006. **16** 389-398.
- 4. Cavallieri and da Cunha, Food Hydrocolloids, 2008. **22** 439-448.
- 5. Hidalgo, et al., Food Biophysics, 2015. **10** 181-194.
- 6. Martinez, 2010, Universidad de Buenos Aires: Buenos Aires.
- 7. Walstra, et al., Dairy chemistry and physics 1984, New York, USA: John Wiley & Sons. 467.
- 8. Kinsella and Morr, C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1984. **21** 197-262.
- 9. Daas, et al., Carbohydrate Research, 2000. **329** 609-619.
- 10. Daas, et al., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. **50** 4282-4289.
- 11. Spyropoulos, et al., Food Hydrocolloids, 2010. **24** 217–226.
- 12. Bourriot, et al., International Dairy Journal, 1999. **9** 353-357.
- 13. Rediguieri, et al., Biomacromolecules, 2007. 8 3345-3354.
- 14. Funami, Food Hydrocolloids, 2011. **25** 1904-1914.





