

# MODIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES ESPUMANTES DE PROTEÍNAS DEL SUERO DULCE DE QUESERÍA RECONSTITUIDO MEDIANTE HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA CON SERIN-ENDOPROTEASAS

Griselda Ballerini; Marta Ortega; Virginia Giordanengo; Carlos Delpiano

Centro de investigación y desarrollo en tecnología de los alimentos (CIDTA). UTN FRRo. Zeballos 1341. (2000) Rosario. Santa Fe. E-mail: [gballerini@ciudad.com.ar](mailto:gballerini@ciudad.com.ar)

## Introducción

Durante mucho tiempo, el lactosuero bovino fue un residuo altamente contaminante y de difícil eliminación. A través de la hidrólisis enzimática de concentrado de proteínas del lactosuero (WPC) se puede aprovechar este residuo y obtener aditivos alimentarios que además de su aporte nutricional poseen propiedades espumantes mejoradas respecto del sustrato original.

## Objetivos

Analizar la capacidad espumante y la estabilidad de las espumas obtenidas de hidrolizados de WPC utilizando dos serín endo proteasas, una de calidad analítica (tripsina) y otra comercial de calidad alimentaria (Alcalase<sup>®</sup> 2,4 L FG).

## Metodología

Se utilizó WPC 80% para preparar soluciones al 5% (P/V) en buffer fosfato 50 mM, pH 8,0 (solución madre)

Hidrólisis con tripsina: Muestras de solución madre se hidrolizaron con tripsina. Relación enzima / sustrato (E/S) igual a 1/150. Temperatura de incubación 37 °C. La hidrólisis se detuvo a los 30, 60, 120, 180 y 300 min por calentamiento de la solución respectiva a 80 °C durante 5 min y posterior enfriamiento a temperatura ambiente.

Hidrólisis con Alcalase<sup>®</sup> 2,4 L FG: Muestras de solución madre se hidrolizaron con Alcalase. Relación E/S igual a 1/280. Temperatura de incubación 50 °C. La hidrólisis se detuvo a los 5, 10, 15, 30 y 60 min por calentamiento de la solución respectiva a 90 °C durante 15 min y posterior enfriamiento a temperatura ambiente.

En ambas hidrólisis las muestras fueron reservadas para análisis posteriores: Grado de hidrólisis (GH%), electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) y propiedades espumantes (PE).

GH%: Se determinaron los grupos  $\alpha$ -amino libres mediante la lectura de absorbancia a 340 nm del cromóforo formado por la reacción del ácido trinitrobencenosulfónico (TNBS) con los grupos aminos primarios.

SDS-PAGE: La concentración de los geles de apilamiento fue de 10% y la de los geles de resolución 15%. Las corridas se hicieron a voltaje constante de 125 V durante 90 min. Las imágenes digitalizadas de los geles teñidos con Coomassie Brilliant Blue, fueron analizadas con software específico para determinar los perfiles proteicos.

PE: Se utilizó el método de burbujeo para la obtención de las espumas. 10 mL de cada hidrolizado se diluyeron al 3 % (P/V) en buffer fosfato 20 mM, pH 7,0. La solución obtenida se dispensó en un cilindro de acrílico de 5 cm de diámetro y 35 cm de altura al que se adosó una regla graduada; en su base se adaptó un vidrio sinterizado a través del cual se insufló aire a caudal constante igual a 8 mL/s hasta que la espuma alcanzó una altura de 25 cm. El tiempo que la espuma tardó en llegar al enrase prefijado se tomó como parámetro de capacidad espumante (CE) y el tiempo en el que la espuma disminuyó su altura a la mitad ( $t_{1/2}$ ) como parámetro de estabilidad.

## Resultados

El análisis de los geles electroforéticos mostró una disminución, sostenida en el tiempo, de las concentraciones de  $\beta$ -Lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina, compuestos de pesos moleculares (PM) comprendidos entre 30 y 60 kDa y los de PM superiores a 60 kDa. Éstos últimos habían quedado retenidos en los respectivos geles de apilamiento cuando se analizaron cortos tiempos de hidrólisis (inferiores a 15 min hidrolizando con Alcalase e inferiores a 60 min hidrolizando con tripsina). Los resultados mostraron una mayor capacidad de hidrólisis usando Alcalase.

Con los datos de GH%, que se obtuvieron por triplicado, se logró un buen ajuste ( $p < 0,05$ ) a hipérbolas de dos parámetros, las que resultaron asintóticas a 21,7% (hidrólisis con tripsina) y 58,3% (hidrólisis con Alcalase). El GH% alcanzado con tripsina fue aproximadamente 14% para el máximo tiempo de hidrólisis ensayado (300 min) mientras que cuando se trabajó con Alcalase se obtuvo aproximadamente el 45% para el máximo tiempo de hidrólisis ensayado (60 min).

No se consiguieron variaciones estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) en los datos de capacidad espumante obtenidos de los ensayos realizados sobre los hidrolizados con ambas enzimas.

Los datos de  $t_{1/2}$  se obtuvieron por triplicado. Para todos los tiempos de hidrólisis con tripsina mostraron ser mayores que los de la muestra sin tratar ( $t_{0,1/2}$  aproximado 300 s). La mayor estabilidad de las espumas, que triplicó la de la muestra sin tratar, se alcanzó a los 120 min de hidrólisis, GH% aproximado de 11%. Para la hidrólisis con Alcalase, la estabilidad de las espumas permaneció superior a la de la muestra sin tratar hasta aproximadamente los 30 min de hidrólisis, luego de lo cual las espumas se tornaron menos estables que la muestra sin tratar. La mayor estabilidad de las espumas se obtuvo con 15 min de hidrólisis (GH% aproximados de 27%) y alcanzó a duplicar la estabilidad de las espumas de la muestra sin tratar.

## Conclusiones

La enzima Alcalase<sup>®</sup> 2,4 L FG hidrolizó más enérgicamente que la tripsina.

No se observaron variaciones en la CE para ningún tiempo de hidrólisis ni enzima utilizada.

La ES se vio mejorada respecto de la muestra sin tratar, para todos los tiempos de hidrólisis utilizando tripsina y hasta los 30 min en el caso de los hidrolizados con Alcalase<sup>®</sup> 2,4 L FG.

A pesar de que las espumas formadas con hidrolizados de WPC utilizando Alcalase<sup>®</sup> 2,4 L FG fueron menos estables que sus homólogas usando tripsina, la velocidad de hidrólisis utilizando Alcalase<sup>®</sup> 2,4 L FG, su fácil asequibilidad y menor costo hacen de esta enzima una muy buena opción para la obtención industrial de hidrolizados de WPC con estabilidad espumante mejorada

## Referencias

- 1- Adler-Nissen, J. (1979) Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 27, 1256-1262.
- 2- Foegeding, E.A.; Davis, J.P.; Doucet, D.; Mc Guffey, M.K. (2002) Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 151-159.
- 3- Korhonen, H., Pihlanto-Leppälä, A., Ramantamäki, P. y Tupasela, T. (1998) The functional and biological properties of whey proteins: prospects for the development of functional foods. *Agricultural Research Centre of Finland*, 7, 283-296.
- 4- Mota, M.V.T.; Ferreira, I.M.P.L.V.O.; Oliveira, M.B.P.; Rocha, C.; Teixeira, J.A.; Torres, D.; Gonçalves, M.P. (2006) Trypsin hydrolysis of whey protein concentrates: Characterization using multivariate data analysis. *Food Chemistry*, 94, 278-286.