



PELÍCULAS BIODEGRADABLES DE PROTEÍNAS DE HEZ DE MALTA CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Janina L. Proaño¹

¹Instituto de Tecnología de Alimentos, CONICET- Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, 1° de Mayo 3250, (3000) Santa Fe, República Argentina.

Directora: Drago, Silvina R.

Codirectora: Mauri, Adriana N.

Área: Ingeniería

Palabras claves: películas biodegradables, proteínas de hez de malta, bioactividad

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el área de envases para alimentos o productos farmacéuticos debe responder a las nuevas exigencias ambientales y permitir un fácil manejo. Un ejemplo de esto son las películas que pueden ser comestibles y biodegradables. En particular, se observó que las películas de proteínas exhiben bajos valores de permeabilidad al vapor de agua (Bourtoom, 2008) y buen rendimiento mecánico debido a la naturaleza hidrófila de las proteínas en comparación con otras macromoléculas y a su capacidad para formar redes tridimensionales estabilizadas y reforzadas por enlaces de hidrógeno, interacciones hidrófobas y enlaces disulfuro, lo que permite la creación de enlaces intermoleculares y matrices cohesivas (Benbettaieb y col., 2016; Gutiérrez y col., 2015).

Por otra parte, la hez de malta es un subproducto de la industria cervecera que hasta el momento ha sido utilizado básicamente en la alimentación animal debido a su alto contenido de proteínas y fibra. Sin embargo, las proteínas podrían utilizarse para la fabricación de películas biodegradables, y además, pueden aportar compuestos con propiedades antioxidantes capaces de mantener la calidad del producto y extender su vida útil.

OBJETIVOS

Estudiar las propiedades filmogénicas de las proteínas de la hez de malta y evaluar el efecto antioxidante y propiedades estructurales a diferentes concentraciones de plastificante.

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

Director/a: Drago, Silvina R.

METODOLOGÍA

Materiales: La hez de malta (HM) fue proporcionada por la cervecera Santa Fe. Su composición en base seca fue: proteínas: $26,52 \pm 0,37 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, fibra dietaria total: $60,77 \pm 2,39 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, cenizas: $3,82 \pm 0,14 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ y lípidos: $9,10 \pm 0,06 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. La obtención de concentrados proteicos de hez de malta, se obtuvo acorde a Viera y col., (2014), su composición en base seca: proteína del $57,73 \pm 0,94 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, cenizas $14,02 \pm 0,44 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, hidratos de carbono: $7,67 \pm 0,15 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, compuestos fenólicos $17,33 \pm 0,15 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, grasa $2,5 \pm 0,08 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$

Obtención de películas: Las películas fueron elaborados por *casting* con soluciones de proteína ($7,5 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$) a pH 2, 8, 11, utilizando como plastificante ($0,25 \text{ g } \text{plastificante } \text{g}^{-1} \text{ sólidos}$): glicerol, tween 20 o polietilenglicol-400 (PEG) y se secaron en estufa con convección forzada (Yamato, DKN600, Estados Unidos) a 60°C durante 3 horas. Las películas obtenidas se acondicionaron a 20°C y 58% HR (en un desecador contenido una solución saturadas de NaBr) durante 72 horas previo a su caracterización. Posteriormente se seleccionaron las condiciones de pH 2 y PEG para evaluar el efecto del nivel del plastificante (de 0 a $0,25 \text{ g } \text{PEG } \text{g}^{-1} \text{ sólidos}$), obteniéndose las películas F_0 , $F_{0.05}$, $F_{0.10}$, $F_{0.15}$, $F_{0.20}$, $F_{0.25}$.

Caracterización de las películas: El contenido de agua de las películas se determinó según la norma ASTM D644-94. El espesor se midió con un calibre digital SC 117 (Schwyz, Suiza) y las propiedades ópticas fueron determinadas utilizando un colorímetro Minolta Chroma meter CR 400, Minolta Chroma Co. (Osaka, Japón).

Las propiedades mecánicas se determinaron de acuerdo con la norma ASTM D882-02, (2004) empleando un texturómetro TA.XT2i, Stable Micro Systems (Inglaterra).

Las propiedades de barrera se determinaron según el método ASTM E96-00, (2004); la permeabilidad al vapor de agua, la solubilidad y la opacidad, según Cian y col., (2014).

Las propiedades antioxidantes se determinaron mediante la inhibición del radical ABTS+ (expresado como equivalentes de Trolox, TEAC), el poder reductor y la inhibición de la oxidación del β -caroteno mediada por radicales lipídicos, de acuerdo Cian y col., (2015). Además, se evaluaron las características estructurales de los films usando ATR-FTIR (Shimadzu, model IR Prestige 21) y Rayos X (Shimadzu DX-1 difractometer).

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

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES

Al evaluar el efecto del pH, se observó que solo a pH 2 se formaron películas. Los concentrados proteicos de HM tienen menor solubilidad a pH ácido que alcalino, lo que indica una mayor interacción de proteínas a bajos pHs, lo que podría favorecer la formación de los films. A su vez, las películas proteicas mostraron una gran sensibilidad al agua, probablemente debido a su naturaleza hidrofílica. En cuanto al plastificante, se observó que las películas fueron más fuertes de apariencia homogénea, flexibles a la manipulación, fáciles de desprender de la superficie sobre la que se formaron, solo en presencia de PEG, que es una molécula hidrofílica relativamente pequeña que puede ser fácilmente compatible con las proteínas de hez de malta. Además, tiene bajo peso molecular tiene alta polaridad y solubilidad, que favorecen la interacción con las cadenas de la proteína (Turhan y col., 2001). Entonces, las formuladas a pH 2 con PEG presentaron una apariencia interesante para seguir evaluándolas.

Todas las películas elaboradas con PEG presentaron una coloración amarronada, típica del concentrado proteico, y una apariencia homogénea. Fueron flexibles a la manipulación y fáciles de desprender de la superficie sobre la cual se formaron (Figura 1).

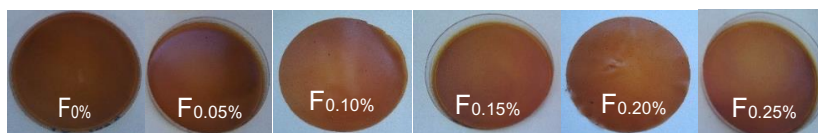


Figura 1. Películas obtenidas a diferentes concentraciones de PEG.

La Tabla 1 muestra el efecto de la concentración del PEG sobre las propiedades de los films. El espesor fue menor en las películas con agregado de PEG, excepto para $F_{0.10}$, que fue mayor. Al aumentar la concentración de PEG en la formulación se registró un incremento en el contenido de humedad de las películas, así como también en su solubilidad. Una alta solubilidad indica una pobre resistencia al agua, siendo una propiedad ventajosa si se pretende utilizar como vehículo de compuestos bioactivos o durante la cocción de productos envueltos en películas.

Tabla 1. Propiedades de las películas de hez de malta a diferentes concentraciones de PEG.

	Espesor (μm)	Humedad ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$)	Solubilidad ($\text{g } /100\text{g}$)	ΔE^*	Permeabilidad ($\text{gH}_2\text{O}/\text{Pa.s.m}^{-1}$)
F_0	$95,60 \pm 3,02^d$	$9,56 \pm 0,37^a$	-	$62,47 \pm 0,26^{ab}$	-
$F_{0.05}$	$83,10 \pm 3,26^a$	$9,54 \pm 0,24^a$	$70,40 \pm 0,67^a$	$61,44 \pm 1,15^a$	-
$F_{0.10}$	$106,84 \pm 2,89^e$	$9,70 \pm 0,20^a$	$71,51 \pm 2,13^a$	$66,45 \pm 0,92^c$	$8,49 \times 10^{-11} a$
$F_{0.15}$	$88,30 \pm 2,91^c$	$12,05 \pm 0,43^b$	$77,47 \pm 1,88^b$	$65,33 \pm 0,64^c$	$1,07 \times 10^{-10} b$
$F_{0.20}$	$85,81 \pm 2,52^b$	$11,97 \pm 0,15^b$	$88,58 \pm 2,01^c$	$63,48 \pm 0,25^b$	$1,16 \times 10^{-10} b$
$F_{0.25}$	$85,57 \pm 2,28^b$	$14,81 \pm 0,40^c$	$89,78 \pm 1,17^c$	$62,15 \pm 0,81^{ab}$	-

Los valores son expresados como media \pm desviación estándar. Distintas letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

La permeabilidad al vapor de agua, aumentó al aumentar la concentración de PEG. Los films F_0 , $F_{0.05}$ y $F_{0.25}$ no resistieron la celda de permeación. Estos valores son bajos si se compara con la permeabilidad al agua de otras películas proteicas (Kaewprachu y col., 2016). $F_{0.10}$ y $F_{0.15}$ presentaron alta diferencia de color (ΔE), la adición de PEG induce a los cambios de color dependiendo de su concentración. Teniendo en cuenta el perfil de aminoácidos de los concentrados proteicos de la hez de malta, es posible observar que el 51 % de los aminoácidos son no polares y aromáticos, lo que puede estar involucrado en las buenas propiedades de barrera al vapor de agua de estos films.

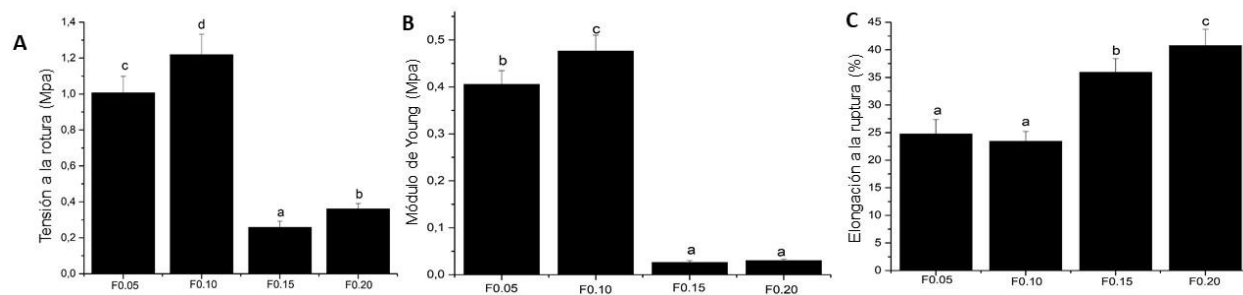


Figura 2. Propiedades Mecánicas: A) Tensión a la rotura (MPa). B) Módulo de Young (MPa). C) Elongación a la rotura (%), de películas. Barras con distintas letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Respecto a las propiedades mecánicas (Figura 2), en las películas con menores concentraciones de plastificante se observó mayor tensión a la rotura (TS) y módulo de Young (EM), y menor elongación (E). Pero a concentraciones superiores a 0,1 g PEG/g de sólidos, TS y EM

disminuyeron significativamente, mientras que E se incrementó con el aumento de la concentración de PEG, siendo el film menos rígido y más elástico. $F_{0.25}$ fue muy higroscópico y no se analizó las propiedades mecánicas.

Las películas presentaron actividad antioxidante medida a través de la inhibición de la oxidación del β -caroteno mediada por radicales lipídicos ($25,3 \pm 4,7$ %) y del poder reductor ($168,96 \pm 1,32$ mg AAC/gb.s), que no dependieron de la concentración del plastificante. Por el contrario, la inhibición del radical ABTS+ se incrementó con la concentración de PEG ($245,16 \pm 1,47^a$, $250,87 \pm 1,09^b$, $256,61 \pm 1,46^c$, $277,01 \pm 1,59^d$, $302,11 \pm 1,52^e$, $318,59 \pm 1,62^f$ $\mu\text{mol Trolox/g b.s.}$) para $F_{0.05}$, $F_{0.10}$, $F_{0.15}$, $F_{0.20}$, $F_{0.25}$, respectivamente.

Los resultados de los rayos X, mostraron un patrón amorfo propio de las películas. Los espectros de ATR-FTIR mostraron que la concentración de plastificante influyó en la formación de las estructuras secundarias de las proteínas, las películas mostraron: 17,9 a 24,9 % de alfa-hélice, 8,04 - 14,6 % de giros beta, 5,4 - 7,0 % hoja beta, 6,9 - 14,85 % *random coils*, dependiendo de la concentración del plastificante, aunque sin una tendencia en particular.

La formulación con 0,1 g PEG g^{-1} sólidos pareciera ser la más promisoría, teniendo en cuenta las propiedades de barrera, antioxidantes y mecánicas. Estos resultados muestran la posibilidad de aprovechar el concentrado obtenido a partir de la hez de malta para obtener películas con propiedades antioxidantes, orientada a solucionar los problemas que presentan los productos susceptibles de sufrir oxidación.

Estas películas se elaboraron con proteínas extraídas de un subproducto agroindustrial producido en grandes cantidades en la región, permitiendo obtener un material con capacidad antioxidante, proporcionando una fuente más económica para la producción de envases activos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Benbettaieb, N., Gay, J., Karbowiak, T., Debeaufort, F.** 2016. Tuning the Functional Properties of Polysaccharide-Protein Bio-Based Edible Films by Chemical, Enzymatic, and Physical Cross-Linking. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(4), 739–752. doi:10.1111/1541-4337.12210
- Bourtoom, T.** 2008. Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*, 15(3):237-248.
- Cian, R., Salgado, P., Drago, S., Mauri, A.** 2014. Effect of glycerol and Ca^{+2} addition on physicochemical properties of edible carrageenan/porphyran-based films obtained from the red alga, *Pyropiacolumbina*. *J Appl Phycol*. 27(4), 1699–1708. doi: 10.1007/s10811-014-0449-5
- Cian, R., Garzón A., Ancona, B., Guerrero, C., Drago, R.** 2015. Hydrolyzates from *Pyropiacolumbina* seaweed have antiplatelet aggregation, antioxidant and ACE I inhibitory peptides which maintain bioactivity after simulated gastrointestinal digestion. *LWT. Food Science and Technology*, 64(2), 881–888. doi:10.1016/j.lwt.2015.06.043.
- Gutiérrez, J., Morales, J., Tapia, S., Pérez, E., Famá, L.** 2015. Corn Starch 80:20 “Waxy”:Regular, “Native” and Phosphated, as Bio-Matrixes for Edible Films. *Procedia Materials Science*, 8, 304–310. doi:10.1016/j.mspro.2015.04.077
- Kaewprachu, P., Osako, K., Benjakul, S., Tongdeesoontorn, W., Rawdkuen, S.** 2016. Biodegradable Protein-based Films and Their Properties: A Comparative Study. *Packaging Technology and Science*, 29(2), 77–90. doi:10.1002/pts.2183
- Turhan, N., Sahbaz, F., Güner, A.** 2001. A spectrophotometric study of hydrogen bonding in methylcellulose-based edible films plasticized by polyethylene glycol. *Journal of Food Science*, 66(1), 59–62.
- Vieira, E., Rocha, M., Coelho, E., Pinho, O., Saraiva, A., Ferreira, I., Coimbra, A.** 2014. Valuation of brewer's spent grain using a fully recyclable integrated process for extraction of proteins and arabinoxylans. *Industrial Crops and Products*, 52, 136–143. doi:10.1016/j.indcrop.2013.10.012