

Evaluación de diferentes biopolímeros e incidencia del pH en el proceso de microencapsulación por coacervación compleja

Jofré, Viviana^{1,3}; Cantoro-Fernandez, Eliana¹; Trillas, Fiamma¹; Assof, Mariela^{1,3}; Fanzone, Martín^{2,3}

¹ Universidad Juan Agustín Maza. Facultad de Farmacia y Bioquímica; ² Universidad Juan Agustín Maza. Facultad de Ingeniería y Enología. Argentina.

³ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Mendoza. Argentina.

INTRODUCCIÓN

La microencapsulación es un método en el cual un material de interés es rodeado por una pared de revestimiento para formar capsulas de tamaños inferiores a 100 micrones. Este ha sido ampliamente utilizado en diversas aplicaciones alimenticias para prolongar propiedades organolépticas (color, sabor) o para proteger ingredientes funcionales químicamente inestables en condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, oxígeno).

Una de las técnicas de microencapsulación aplicadas en alimentos es la **coacervación compleja**. Esta ha sido utilizada para aumentar la vida útil y/o la liberación controlada de componentes nutraceuticos (carotenoides, compuestos fenólicos, ácidos grasos poliinsaturados) empleados para enriquecer alimentos.

La **coacervación compleja** se basa en la atracción electrostática entre dos biopolímeros de cargas opuestas. El principio fundamental para la formación de cargas iónicas de los biopolímeros es la modificación del pH debido a que las moléculas de proteínas tienen carga positiva por debajo de su punto isoeléctrico y carga negativa por encima de él. Por otro lado, los polisacáridos forman complejos electrostáticos cuando están en contacto con proteínas en un intervalo de pH comprendido entre 2 y 5. El grado de ionización de los grupos funcionales de las proteínas (grupo amino) y polisacáridos (grupo carboxilo) depende del pH del medio. En general, cuando una solución de polisacárido (cargada negativamente) se mezcla con una solución de proteína, se reduce el pH por debajo del punto isoeléctrico de la proteína, generándose un aumento de la atracción electrostática entre los compuestos reaccionantes, con el consecuente incremento de la turbidez del medio debido a la formación de coacervatos (microcápsulas). Asimismo, la formación óptima de coacervatos se produce a un valor de pH en el que ambos biopolímeros alcanzan su equivalencia eléctrica (pH óptimo), el cual depende del tipo y relaciones de proteínas y polisacáridos empleados.

OBJETIVO

Evaluar los valores e intervalos de pH óptimo para formar microcápsulas por coacervación compleja empleando diferentes concentraciones y relaciones de biopolímeros.

MATERIALES y MÉTODOS

Para llevar a cabo este estudio se emplearon las proteínas gelatina 50°Bloom (GE50), gelatina 220°Bloom (GE220) (Química Palumbo, Mendoza, Argentina) y proteína aislada de soja (PSI), y los polisacáridos goma arábica (GA), maltodextrina 10DE (MD), carboximetilcelulosa (CMC) y dextrina amarilla (DX) (Química Oeste, Buenos Aires, Argentina). Las soluciones individuales de los diferentes polisacáridos y proteínas (**Tabla 1**) se prepararon disolviendo una masa determinada del biopolímero en agua ultrapura (Simplicity UV, Millipore SAS, Francia) a 50°C, mediante agitación magnética (Decalab, Buenos Aires, Argentina). Posteriormente se dejaron 24 horas en reposo a 4°C para asegurar el completo hinchamiento de los materiales de pared.

Cada uno de los diferentes tratamientos (**Tabla 1**) se realizó por quintuplicado. Estos consistieron en mezclar las soluciones de polisacáridos y proteínas, que se mantuvieron en agitación durante todo el ensayo. En cada estudio se midió el pH inicial (pH₀) de las soluciones. Para estimar el pH óptimo (pH-ópt) y el intervalo de pH óptimo ($\Delta_{\text{pH-ópt}}$) necesarios para lograr la formación y estabilidad de coacervatos, se adicionó gota a gota ácido acético (Merck, Buenos Aires, Argentina) al 1% (V/V), y se extrajeron alícuotas a diferentes valores de pH. Cada alícuota, incluyendo la de pH₀, fue empleada para determinar la turbidez del medio mediante medidas de transmitancia porcentual (T%) a $\lambda = 600$ nm. El pH se midió con pHmetro Altronix TPX1 (Altronix Corp., Nueva York, Estados Unidos) y T%, en espectrofotómetro Perkin-Elmer UV-Visible Model Lambda25 (PerkinElmer, Hartford, CT, Estados Unidos). Los análisis estadísticos se realizaron considerando un nivel de confianza del 95% (ANOVA, Test de Tuckey HD) empleando el software Statgraphics Centurion XVI versión 6.1.11. (Stat Points, Technologies INC, Estados Unidos).

RESULTADOS

En la **Figura 1** se muestra la evolución de T% cuando se modifica el pH de mezclas de soluciones de biopolímeros. En esta Figura se observa que el aumento de la turbidez del medio, cuando se alcanza el pH óptimo de formación de coacervatos (microcápsulas), está influenciado por las diferentes combinaciones de proteínas y polisacáridos.

Los tratamientos (**Tabla 1**) A, B, C, D y J mostraron una disminución promedio del T% de 97% respecto de su valor inicial cuando se alcanzó el pH óptimo de coacervación. Asimismo, los tratamientos E, F, H e I, presentaron una caída promedio de T% comprendido entre el 20% y el 25%. En tanto que los tratamientos G, K y L no presentaron variaciones significativas de T% durante el proceso de coacervación compleja.

En la **Tabla 2** se presentan los valores e intervalos de pH óptimo, y correspondientes valores de T%, cuando se forman los coacervatos. En la **Figura 2** se muestran las diferencias significativas entre los distintos tratamientos en los valores de turbidez del medio cuando se forman microcápsulas por coacervación compleja. Los tratamientos que presentaron mayor eficiencia en producción de microcápsulas fueron A, B, C y D, seguidos por los tratamientos E, F, H, I y J. Mientras que los tratamientos con menor eficiencia fueron G, K y L.

Figura 1: Variación de la turbidez del medio cuando se modifica el pH durante la formación de microcápsulas por coacervación compleja empleando diferentes materiales de pared.

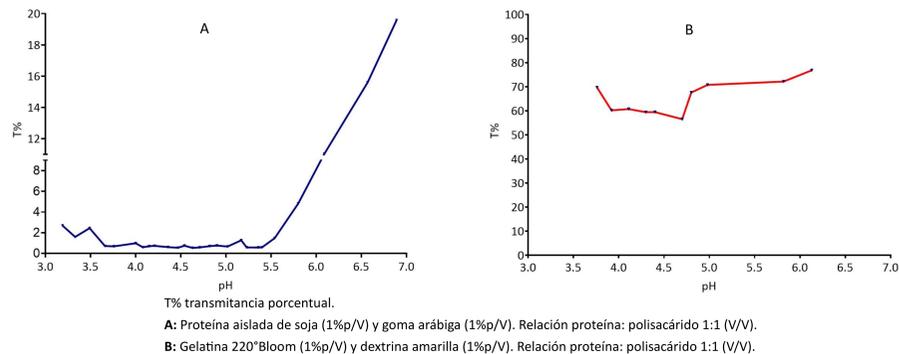
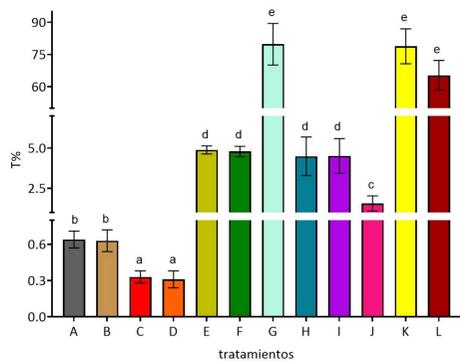


Figura 2: Valores de la turbidez del medio cuando se alcanza el pH óptimo de formación de microcápsulas por coacervación compleja empleando diferentes materiales de pared.



Tratamientos: ver **Tabla 1**.

T% transmitancia porcentual cuando se alcanza el pH óptimo de formación de microcápsulas.

Letras minúsculas sobre barras indican diferencias significativas entre tratamientos (Test de Tuckey HD, $\alpha=0.05$).

Tabla 2: Valores e intervalos de pH óptimo (pH-ópt) y transmitancia porcentual (T%) obtenidos en diferentes tratamientos para la obtención de microcápsulas por coacervación compleja.

| Tratamiento* | pH ₀ ¹ | pH-ópt. | $\Delta_{\text{pH-ópt}}$ ² | T% ³ |
|--------------|------------------------------|---------|---------------------------------------|------------------------|
| A | 6.89 | 5.50 | 5.50-3.50 | 0.64 (± 0.07) b |
| B | 7.05 | 5.45 | 5.45-3.40 | 0.63 (± 0.09) b |
| C | 8.08 | 4.60 | 4.60-3.60 | 0.33 (± 0.05) a |
| D | 8.06 | 4.55 | 4.55-3.60 | 0.31 (± 0.07) a |
| E | 7.78 | 4.35 | 4.35-3.73 | 4.89 (± 0.25) d |
| F | 7.68 | 4.40 | 4.40-3.71 | 4.79 (± 0.32) d |
| G | 6.95 | 5.09 | 5.09-4.65 | 79.79 (± 9.68) e |
| H | 5.62 | 4.43 | 4.43-4.03 | 4.49 (± 1.20) d |
| I | 5.73 | 4.45 | 4.45-4.07 | 4.51 (± 1.08) d |
| J | 5.63 | 4.42 | 4.42-3.82 | 1.56 (± 0.47) c |
| K | 7.97 | 4.88 | 4.88-4.55 | 79.15 (± 8.29) e |
| L | 7.01 | 4.71 | 4.71-3.92 | 65.34 (± 6.89) e |

* Ver **Tabla 1**

¹ pH₀ es el pH inicial de la mezcla de biopolímeros.

² $\Delta_{\text{pH-ópt}}$ intervalo de pH donde los valores de transmitancia porcentual (T%) se mantuvieron sin diferencias significativas.

³ Valor promedio de 5 réplicas, desviación estándar entre paréntesis. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (Test de Tuckey HD, $\alpha=0.05$)

CONCLUSIONES

- Las diferentes relaciones de biopolímeros no incidieron significativamente en los valores de pH óptimo (pH-ópt) ni en los intervalos de pH óptimo ($\Delta_{\text{pH-ópt}}$) en los cuales se forman y se mantienen estables las microcápsulas obtenidas por coacervación compleja.
- Independientemente del polisacárido empleado, la proteína aislada de soja (SPI) mostró mayor eficiencia para formar microcápsulas por coacervación compleja que las gelatinas (GE50 y GE220).
- La mayor eficiencia en el proceso de obtención de microcápsulas por coacervación compleja se logró por la combinación proteína aislada de soja-maltodextrina (SPI-MD), seguida por proteína aislada de soja-goma arábica (SPI-GA).
- La mayor estabilidad de microcápsulas obtenidas por coacervación compleja se alcanzó con la combinación proteína aislada de soja-goma arábica (SPI-GA) que presentó un intervalo de pH óptimo ($\Delta_{\text{pH-ópt}}$) 1.9 veces superior al presentado por la combinación proteína aislada de soja-maltodextrina (SPI-MD).
- La menor eficiencia en el proceso de obtención de microcápsulas por coacervación compleja se logró por la combinación gelatina-dextrina amarilla (GE220-DX), gelatina-maltodextrina (GE220-MD) y proteína aislada de soja-dextrina amarilla (SPI-DX).