

INFLUENȚA PROTEINELOR ASUPRA PROPRIETĂȚILOR ELECTROKINETICE ALE EMULSIILOR ALIMENTARE U/A

D. Curchi, R. Sturza

Universitatea Tehnică a Moldovei

INTRODUCERE

Emulsiile alimentare prezintă sisteme sofisticate, în care proprietățile specifice, precum gustul, aroma și compoziția au o importanță deosebită [1].

E bine cunoscut faptul că majoritatea macromoleculor sunt agenți emulsifianți buni, care măresc stabilitatea emulsiilor. În cazul emulsiilor alimentare sunt în special două tipuri de substanțe (proteinele și surfactanții cu masă moleculară mică), care manifestă tendința spre a se acumula la suprafața picăturilor disperse în timpul emulsifierii. Aceste două clase de molecule influențează proprietățile emulsiilor și stabilitatea lor cinetică [2]. Efectele de emulsionare ale proteinelor depind de structura proteinei și sunt influențate de pH, de conținutul de minerale din sistem, concentrația proteinei, temperatura sistemului etc. [3].

Scopul prezentului studiu este de a elucidă influența unor proteine de origine animală asupra proprietăților electrocinetice ale emulsiilor alimentare U/A.

1. PROTEINELE – CA ADAOS LA EMULSIILE ALIMENTARE

Dimensiunile macromoleculor proteice explică caracterul coloidal pronunțat al soluțiilor lor apoase. Prin cercetarea soluțiilor unor proteine s-a stabilit că ele au un șir de proprietăți cu totul specifice. Moleculele de proteine, cu structură în formă de spirală, formează straturi de coeziune mică în comparație cu proteinele globulare care păstrează structura lor terțiară și formează straturi cu viscozitate mai înaltă [4]. Moleculele mici de surfactanți, în concentrații strict determinate pentru a forma un strat monomolecular, pot de asemenea adăuna unii stabilizatori, formând lichide cristaline la interfață sau în faza continuă dintre picăturile de ulei.

În sisteme reale, precum emulsiile lactate, diferența dintre magnitudinea efectelor proprii conduce la concurență în spațiile interfazice dintre componentii proteici din lapte și surfactanții cu masă

moleculară mică, adăunați sau inevitabili prezenți în sistem [5].

În multe sisteme alimentare, cum este, de exemplu, laptele integral sau normalizat, stabilizarea emulsiei de tip U/A este asigurată și de proteinele din membrana globulelor de grăsime. Dacă la un asemenea sistem se adăună un emulgator, acesta reacționează cu filmul proteic din membrana globulelor de grăsime, în funcție de concentrația relativă emulgator/proteină la nivelul interfeței. Când raportul emulgator/proteină este mic, se obține un sinergism, adică se ameliorează stabilitatea emulsiei, de exemplu laptele reconstituit. Când raportul menționat este mare se ajunge la destabilizare datorită desorbției proteinelor din jurul globulelor de grăsime, de exemplu emulsia din mixtul de înghețată [6].

2. MATERIALE ȘI METODE

Inițial au fost preparate emulsii concentrate de tipul U/A, folosind uleiul de răsărită dublu rafinat și dezodorizat, apa distilată și lecitina. Pentru prepararea emulsiilor s-a folosit agitatorul electric (5000 rot/min.), timp de 20-30 min.

La stabilizarea soluțiilor coloidale factorul decisiv îl constituie sarcina electrică, care asigură respingerea electrostatică și împiedică ciocnirile și agregarea particulelor. Mărimea sarcinii va determina atât gradul de respingere, adică stabilitatea relativă a soluțiilor coloidale, cât și viteza, cu care particulele se vor deplasa spre electrodul respectiv, adică "mobilitatea lor electroforetică" în câmpul electric. Potențialul care apare la mișcarea relativă a fazelor în contact se numește potențial electrocinetic (ξ). La trecerea curentului electric prin emulsie contraionii mobili din stratul difuz se îndreaptă către electrodul respectiv, iar particulele încărcate se deplasează în direcția opusă spre celălalt electrod. Potențialul electrocinetic ξ care apare la granița de alunecare a fost calculat conform relației Helmholtz-Smoluchowski [7]:

$$\xi = \frac{\eta \cdot u}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot H}$$

unde: u - este viteza de deplasare a particulelor;
 η - viscozitatea mediului;
 ε - permitivitatea electrică;
 ε_0 - permitivitatea vidului ($8,85 \cdot 10^{-2}$ F/m);
 H - gradientul de potențial.

Pentru realizarea electroforezei prin metoda interfeței mobile s-a folosit aparatul Burton. Fiecare mostră U/A a fost diluată în proporție de 1/3 cu apă distilată imediat înaintea măsurărilor [7].

Acumularea proteinelor la suprafața picăturilor disperse în timpul emulsifierii influențează asupra stabilității cinetice și proprietăților electrocinetice ale emulsiilor. În scopul elucidării influenței proteinelor asupra stabilității cinetice a emulsiilor de tipul U/A acestea au fost preparate după aceeași metodă, dar care conțineau concentrații diferite de proteină ($6,7 \cdot 10^{-3}$ – $27,1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml) chimotripsină, albumină de ou și albumină de bovină. Potențialul electrocinetic ξ a acestor sisteme a fost măsurat și calculat după aceeași metodă.

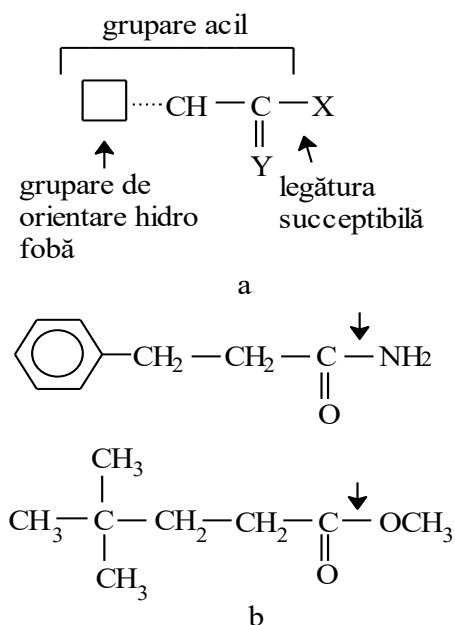


Figura 1. Specificitatea de substrat a chimotripsinei: a-cerințele structurale minime; b-subsrtate sintetice (compuși hidrolizați de către chimo tripsină). → locul în care se produce scindarea

3. REZULTATE ȘI DISCUȚII

Stabilitatea emulsiilor este asigurată, în principal, de doi factori care se manifestă separat sau concomitent, în sensul împiedicării sau întârzierii coagulării: factorul steric și factorul electrostatic [8]. Stabilizarea prin acțiunea factorului steric se manifestă când faza dispersată este protejată de

straturi superficiale de adsorbție. În cazul moleculelor amfifile, cum sunt substanțele tensioactive și proteinele, adsorbția se produce orientat. Monostratul de adsorbție format, la concentrații mai mici decât concentrația de saturare, se găsește într-o stare mezomorfă, și prezintă proprietăți vâsco-elastice, care asigură o anumită mobilitate a moleculelor din strat, deci și posibilitatea refacerii peliculei în locul unde s-a produs o fisură datorită ciocnirii.

Factorul electrostatic este rezultatul apariției sarcinilor electrice la suprafața fazei disperse fie prin formarea stratului dublu electric al miclei, fie prin adsorbție selectivă și atracție electrostatică a ionilor stabilizatori [8,9].

Sarcina micelilor poate fi exprimată prin potențialul ξ , care caracterizează stratul dublu electric al miclei și, deci, determină stabilitatea

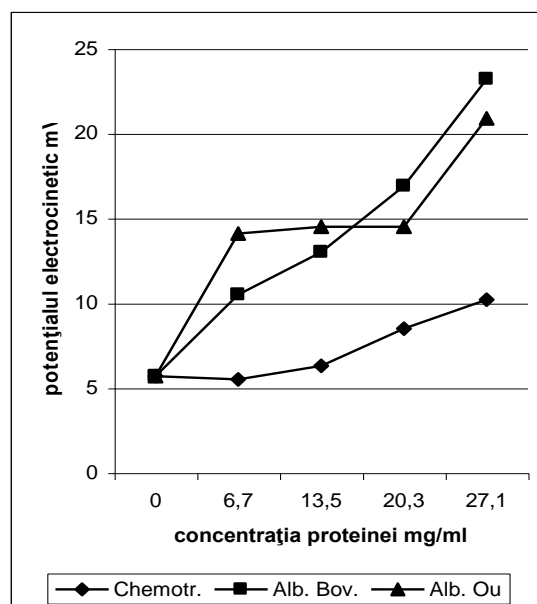


Figura 2. Dependența potențialului electrocinetic de concentrația proteinei

agregativă electrocinetică a sistemului. Adăugarea moleculelor de proteine în emulsii influențează asupra potențialului electrocinetic, în dependență de natura și concentrația proteinei [9].

Una din proprietățile cele mai remarcabile ale enzimelor este specificitatea lor de acțiune, conform căreia numai unele substanțe sunt atacate, având loc doar un singur tip de reacție, fără reacții și produși secundari. Situsul său activ prezintă două particularități structurale distincte, o zonă hidrofobă pentru legarea și amplasarea substratului pe situsul activ și o porțiune catalitică responsabilă de eliminarea și transferul grupării acil (figura 1).

În cazul adăugării chimotripsinei în emulsia U/A are loc o scădere inițială a vitezei electroforezei (tabelul 1a) și respectiv a potențialului ξ . Aceasta se explică prin specificitatea de substrat a chimotripsinei. Enzima dată este pentru grupările acil hidrofobe ale lecitinei o transferază mai curând decât strict o peptidază. Cu mărirea concentrației chimotripsinei valoarea potențialului zeta crește, ceea ce ne vorbește despre creșterea stabilității emulsiilor (figura 2).

Proteinele însăși pot interacționa cu grăsimile sau uleiul, cu formarea unui emulgator natural care este un complex lipoproteic[10]. Proprietatea de emulgare a proteinelor rezultă din interacțiunea catenelor laterale nepolare, hidrofobice ale lanțurilor polipeptidice, cu lanțurile hidrocarbonate ale gliceridelor, prin intermediul legăturilor hidrofobice. Complexul format are o activitate de superficială importantă și diminuează tensiunea de interfață .

Tabelul 1. Studiul electroforetic al emulsiilor alimentare U/A cu adaos de proteine

Con. prot.C, mg/ml 10^3	Timpul deplasării graniței s/m ²					Vit. electro for. u, m/s 10^6	Potenți alul ξ mV
	1	2	3	4	med.		
a: chimotripsină							
0	80	65	50	47,5	60,25	16,5	5,7
6,7	60	52,5	60	77,5	62,5	16	5,5
13,5	50	35	60	75	55	18,18	6,3
20,3	30	30	43,3	60	40,82	24,24	8,5
27,1	30	25	36,6	45	34,15	29,3	10,2
b: albumină de bovină							
0	80	65	50	47,5	60,25	16,5	5,7
6,7	10	15	60	47,5	33,12	30,19	10,5
13,5	80	15	36,6	47,5	26,57	37,4	13,0
20,3	5	10	30	37,5	20,62	48,5	16,9
27,1	5	5	25	25	15	66,6	23,2
b: albumină de ou							
0	80	65	50	47,5	60,25	16,5	5,7
6,7	10	10	33,3	45	24,57	40,4	14,1
13,5	8	15	33,3	40	24,07	41,5	14,5
20,3	6	10	45	37,5	24,12	41,6	14,5
27,1	6	5	23,3	32,5	16,7	59,8	20,9
Tensiunea la electrozi E=120V; Deplasarea graniței a=0,1*10 ² m; Distanța între electrozi L=0,03m							

Albuminele sunt proteine solubile în apă, fiecare moleculă de albumină înconjurându-se de un înveliș de molecule de apă, care conferă stabilitate dispersiei coloidale. Astfel, în emulsii au fost incorporate albumina de ou și albumina de bovină. S-a constatat că adaosul acestor proteine are un impact pozitiv asupra stabilității relative ale emulsiilor (tabelul 1b,c). Odată cu mărirea concentrației proteinei potențialul electrocinetic crește semnificativ (figura 2). Valorile lui sunt determinate de valorile magnitudinii punctelor izoelectrice ale proteinelor imobilizate în faza apoasă [10].

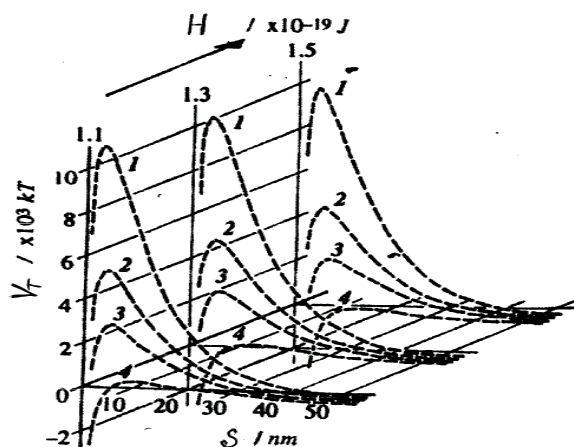
Activitatea superficială a proteinelor constă în formarea unui strat adsorbit pe suprafața internă a globulelor de ulei, astfel moleculele proteinei adsorbite joacă un rol important în menținerea sarcinii superficiale a globulelor. În scopul

elucidării impactului proteinelor asupra stabilității sistemului s-a făcut o încercare de a estima energia potențială totală V_T a interacțiilor între globulele de ulei, ca fiind o funcție de separare H a planului de alunecare conform teoriei clasice DLVO [11] :

$$V_T = 2\pi\epsilon_0\epsilon r\zeta^2 \ln[1+\exp(-kH)] - rA/12H,$$

unde ϵ_0 și ϵ prezintă respectiv permeabilitatea în vid și în mediul de dispersie, r este raza medie a globulelor de grăsime, determinată anterior [12] , A este constanta lui Hamaker, iar k este parametrul Debye-Hückel.

În figura 3 este prezentată variația energiei potențiale totale a interacțiilor dintre globulele dispersate în lipsa și în prezența proteinelor.



- 1-fără adaos de proteină
 2-chimotripsină
 3-albumină de ou
 4-albumină de bovină

Figura 3. Efectul imobilizării proteinelor în interiorul fazei apoase a sistemelor U/A asupra interacțiilor totale între globulele de ulei.

S-a constatat, că adăugarea proteinelor conduce la scăderea energiei potențiale totale a sistemului în ordinea : albumină de bovină - albumină de ou -chimotripsină, contribuind astfel la stabilizarea emulsiei. Valoarea constantei Hamaker A ar putea fi estimată ca fiind $1,3 \cdot 10^{-19}$ J pentru sistemul examinat, ceea ce corelează cu datele bibliografice [5].

CONCLUZII

S-a studiat influența proteinelor (chimotripsină, albumină de bovină și albumină de ou) asupra proprietăților electrocinetice ale emulsiilor alimentare U/A.

S-au preparat emulsiile îmbogățite cu proteine, concentrația cărora a variat de la $6,7 \cdot 10^{-3}$ până la $27,1 \cdot 10^{-3}$ mg/ml. A fost calculat potențialul electrocinetic ξ și s-a studiat dependența lui de concentrația proteinei. Odată cu mărirea concentrației proteinei crește valoarea potențialului ξ și scade energia potențială totală a sistemului. Astfel adăosul de proteine la emulsiile U/A conduce la mărirea stabilității emulsiilor în ordinea:

albumină de bovină - albumină de ou - chimotripsină.

Bibliografie

1. Shinoda, K., Friberg, S. *Emulsions and Solubilization*. J. Wiley, Interscience, New York, 1986.
2. Friberg, S. *Food Emulsions*, New York, 1976.
3. Castle, J., Murray, B.S. *Mixed proteins films adsorbed at the oil-water interface*. In: *Protein at Interfaces: Physico-chemical and Biochemical Studies*, 1987, ACS Symp. Ser. 343, American Chemical Society, Washington D.C., 118-134.
4. Fleer, G.I., Scheutjens, J.M. *Interaction between adsorbed layers of macromolecules*. *J. Colloid Interface Sci.*, 1986, 111:504-515.
5. Sachio Mattsumoto. *Proteins and Sugars in Water/Oil/Water Emulsions*. In: *Electrical Phenomena at interface*, New-Zork, 1998, 595-620
6. Sturza, R., Curchi, D. *Contributions to the oil-in water food emulsion's researches* *Annals of West University of Timișoara, series Chemistry 12 (1)* (2003).
7. Клейтон, Ф., *Эмульсии*, Москва, 1972.
8. Fisher, L.R., Parker, N.S. *Effect of surfactants on the interactions between emulsion droplets*. In: *Advances in Food Emulsions and Foams*, Elsevier Applied Science, London, 1989, 315-353.
9. Hunter R.J., *Zeta Potential in Colloid Science*, London, 1981.
10. Ueda, K., Matsumoto, S. *An aspect of proteins in dispersed globules of W/O/W emulsions*, 7th *Int. Conf. on Surface and Colloid Sci.*, Compiègne, France, 1991.
11. Anderson, A.W. *Physical Chemistry of Surfaces*, J. Wiley, Interscience, New York, 1990.
12. Sturza, R., Curchi, D., *Studiul emulsiilor alimentare U/A îmbogățite cu fier*. *Meridian Ingineresc*, nr.3, 2003, p.55-58.