GRASAS Y ACEITES, 58 (3),
JULIO-SEPTIEMBRE, 289-296, 2007,
ISSN: 0017-3495

Influencia del pH y de la fuerza iónica sobre la gelificación térmica de proteínas de la yema de huevo

Por, **José A. Carmona[1], Felipe Cordobés[1]*, Antonio Guerrero[1], Inmaculada Martínez[2]** y **Pedro Partal[2]**

[1]Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Sevilla, Facultad de Química. Sevilla 41012, España. Teléfono: +34 954557179. Fax: +34 954556447. e-mail: fcordobe@us.es
[2]Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Huelva, Facultad de ciencias Experimentales, Campus del Carmen, 21071 Huelva, España.

RESUMEN

Influencia del pH y de la fuerza iónica sobre la gelificación térmica de proteínas de la yema de huevo.

En este trabajo se estudiaron las transiciones térmicas de la yema de huevo usando técnicas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) y ensayos viscoelásticos lineales, más concretamente, ensayos de cizalla oscilatoria de baja amplitud (SAOS). Se analizó la influencia de la composición (pH, concentración de electrolito y tipo). Los resultados obtenidos mediante calorimetría diferencial de barrido sugieren una continua evolución en el proceso de desnaturalización de la proteína, el cual depende de variables como el pH y la concentración de electrolito. Los ensayos calorimétricos se complementan con los reológicos. Así, la realización de rampas de temperatura usando medidas "in situ" de cizalla oscilatoria, permite determinar la evolución de las funciones viscoelásticas durante el proceso de gelificación, poniéndose de manifiesto un notable incremento de dichas funciones, que va a depender del pH, fuerza iónica y tipo de electrolito. Los ensayos de cizalla oscilatoria fueron igualmente empleados para la obtención de los espectros mecánicos de las dispersiones y geles de yema de huevo en función de su composición. La influencia del pH y fuerza iónica sobre las propiedades viscoelásticas lineales puede ser explicada a partir del modelo de formación de geles para proteínas globulares.

PALABRAS-CLAVE: Calorimetría diferencial de barrido – Gelificación – Ph – Viscoelasticidad lineal – Yema de huevo.

SUMMARY

Influence of pH and ionic strength on the thermal-induced transitions of egg yolk dispersions.

Thermal-induced transitions of egg yolk were studied by using Differential Scanning Calorimetry (DSC) and temperature controlled Small Amplitude Oscillatory Shear (SAOS). The influence of composition (pH and electrolyte concentration and type) was analyzed. The results obtained under DSC measurements suggest a continuous evolution in protein denaturation which depends on pH and salt content. Slope temperature measured by SAOS allowed the analysis of the evolution of the viscoelasticity functions during the gelification process. Viscoelasticity functions showed a dramatic increase and were affected by the pH, ionic strength and salt type. SAOS was also used to obtain the mechanical spectra of egg yolk dispersions and gels as a function of composition. The influence of pH and ionic strength on linear viscoelastic properties and microstructure may be explained in terms of the model for the formation of gel networks of globular proteins.

KEY-WORDS: Differential scanning calorimetry – Egg yolk – Gelation – Linear viscoelasticity – pH.

1. INTRODUCCIÓN

La yema de huevo se emplea comúnmente en la formulación de una amplia variedad de productos de confitería y panadería, tales como mayonesas, salsas, cremas, tortillas, natillas, etc. El motivo fundamental de su amplio uso se debe a las características sensoriales particulares que la yema de huevo proporciona a los alimentos, a lo que se une además su alto valor nutricional y excelente funcionalidad, en lo cual las proteínas juegan un papel esencial. La tendencia de las proteínas de la yema para formar entramados estructurales al someterse a tratamientos térmicos, es un buen ejemplo de característica funcional de la yema de huevo. En un trabajo anterior se estudió la influencia que ejerce sobre las propiedades viscoelásticas de la yema de huevo la aplicación de tratamientos térmicos, observándose la existencia de una transición sol-gel detectada mediante ensayos viscoelásticos lineales (Cordobés et al., 2004). La descripción de dichos resultados se realizó fundamentándose en los mecanismos de formación de geles de proteínas globulares obtenidos por calentamiento. Dicho mecanismo ha sido recientemente revisado por Clark (1998) y se compone de las siguientes etapas: modificación del sistema proteico, agregación de las moléculas de proteína parcialmente desnaturalizadas y asociación de agregados. Sin embargo, debe considerarse la estructura característica de la yema de huevo en la descripción del proceso de gelificación de las proteínas de la yema. La yema de huevo no es una simple solución de proteínas, sino que tanto en un sentido funcional como químico, las proteínas de la yema deben considerarse junto a los lípidos, con los que forman unos complejos denominados lipoproteínas. La yema de huevo está

constituida por una dispersión líquida formada por el plasma (75-81%) y los gránulos (19-25%). El plasma se compone de un 85% de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y un 15% de livetinas. Las LDL son micelas esféricas recubiertas de lípidos no polares (triglicéridos, colesterol, y ésteres de colesterol), rodeados por una capa de fosfolípidos y apoproteínas (Martin et al., 1964). Los gránulos se componen de un 70% de lipoproteínas de alta densidad (HDL), 16% de fosvitina y 12% de LDL (Burley y Cook, 1961). Por tanto, la superficie de micelas y gránulos, están dominadas por las proteínas, las cuales son las responsables de las propiedades funcionales y la estabilidad de la yema de huevo nativa. Recientemente, Kiosseoglou (2003) ha puesto de manifiesto que la gelificación de la yema de huevo puede ser descrita como un proceso en el que la desnaturalización térmica de moléculas de proteínas estables produce la desestabilización de dichas partículas, las cuales dan lugar a la formación de un entramado entre partículas.

Las propiedades funcionales de la yema de huevo no han recibido una especial atención en los últimos años, probablemente debido a la alta complejidad de la composición y estructura de la yema (Kiosseoglou, 2003). Durante los últimos años ha crecido el interés por la gelificación de productos derivados de la yema de huevo (Clark, 1998; Gosal y Ross-Murphy, 2000; Nishinari et al., 2000; Clark et al., 2001). Así, Anton y colaboradores han estudiado la funcionalidad de los diferentes componentes del huevo tales como gránulos, plasma y lipoproteínas de baja densidad (Anton et al., 2000; Le Denmat et al., 2000; Anton et al., 2003) incluyendo su capacidad para formar geles mediante la aplicación de un tratamiento térmico. Por otro lado, Kiosseoglou y colaboradores se han centrado en la funcionalidad de concentrados proteicos de yema preparados, por extracción del colesterol y otros lípidos (Paraskevopoulou y Kiosseoglou 1997; Paraskevopoulou et al., 2000; Koidis et al., 2002).

La funcionalidad de las proteínas en un alimento está relacionada con su estructura y propiedades fisicoquímicas siendo una de ellas las propiedades reológicas. Por tanto, el conocimiento de las propiedades fisicoquímicas y funcionales, y como son afectadas por variables tales como pH, interacción con sales y otros componentes del alimento, resulta fundamental para entender el comportamiento de las proteínas en los alimentos. La combinación de diferentes técnicas contribuye a mejorar el conocimiento del comportamiento de las proteínas. Así, las medidas de DSC han demostrado ser muy útiles para el estudio de las transiciones térmicas de proteínas alimentarías, ya que suministran información sobre la conversión del estado nativo al desnaturalizado térmicamente (Fernandez-Martin et al., 1997; Puppo y Añon, 1999a; Sánchez y Burgos, 1997). Dicha conversión está normalmente acompañada por un significante incremento de calor, que se manifiesta en el termograma del DSC como un característico pico endotérmico.

El objetivo de este trabajo fue estudiar los cambios provocados por un tratamiento térmico en dispersiones de yema de huevo, utilizando ensayos viscoelásticos lineales (SAOS) a temperatura controlada y calorimetría diferencial de barrido. El presente trabajo se centra en la influencia que el pH, fuerza iónica y tipo de sal ejercen en las transiciones inducidas térmicamente de la yema de huevo.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materia prima

La yema de huevo fue preparada a partir de huevos frescos comerciales (Huevos Giralda S.A.), categoría A, tamaño grande, de acuerdo al procedimiento de Harrison y Cunningham (1986). La concentración de electrolito fue modificada entre 0 y 10% usando para ello NaCl comercial (Salmar, España) y $CaCl_2$ comercial (Panreac, España). Se estudiaron diferentes valores de pH (desde 6 a 2) mediante adición de $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$ (Panreac, España). El contenido en sólidos se ajusto a 45% en peso mediante adición de agua a la muestra de yema nativa. Con el objeto de estudiar la influencia del tipo de acidulante sobre las propiedades reológicas y las transiciones térmicas de la yema de huevo, además de $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$ se utilizó una disolución de HCl (Panreac, Barcelona) 1M, la cual fue añadida a la dispersión de yema hasta alcanzar el valor de pH deseado.

2.2. Métodos analíticos

Los ensayos de calorimetría diferencial de barrido (DSC) fueron realizados en un calorímetro modelo Q-100 de TA Instruments (Reino Unido). Se llevaron a cabo a una velocidad de calentamiento de 5ºC/min usando cápsulas de aluminio herméticamente selladas. El intervalo de temperatura estudiado fue de 30 °C a 100 °C. Al menos se realizaron dos replicados de cada termograma.

Las medidas viscoelásticas fueron realizadas en reómetros de esfuerzo controlado, Rs100 y Rs150 de ThermoHaake (Alemania), usando sistemas sensores placa-placa con una distancia entre placa y placa de 1 mm y diámetros de 20, 30 y 60 mm. Todas las muestras se mantuvieron en el sistema sensor durante 30 minutos antes de iniciar la medida. Para determinar el intervalo viscoelástico lineal de la muestra se realizó en primer lugar un barrido de esfuerzo a una frecuencia constante de 6,3 rad/s. Todos los ensayos viscoelásticos dinámicos de barrido de frecuencia se llevaron a cabo desde altas a bajas frecuencias y el esfuerzo aplicado siempre fue menor que el valor crítico que determina el final del intervalo viscoelástico lineal.

Un dispositivo Peltier fijado a la parte inferior del sistema sensor se usó para llevar a cabo los ensayos de gelificación a temperatura controlada, obteniéndose las propiedades viscoelásticas de la

muestra. Con el fin de asegurar un correcto control del esfuerzo, éste fue siempre ajustado de forma automática con el fin de mantener la medida dentro de la región de respuesta lineal. El ensayo de gelificación consistió en una rampa de temperatura a una velocidad de calentamiento constante de 0,75 °C/mín y a una frecuencia de 6,3 rad/s, desde 20 °C hasta una temperatura máxima de 90 °C.

Al menos dos replicados fueron realizados para cada medida reológica.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Dispersiones de yema de huevo

En la Figura 1 se muestra la evolución del espectro mecánico en función del pH, el cual se redujo desde el valor correspondiente a la yema nativa por adición de $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$. Los valores de G' y G" a frecuencia constante se representan frente al pH en la Figura 1b. Como puede observarse, las propiedades viscoelásticas lineales de las dispersiones de yema de huevo dependen fuertemente del pH, pudiendo definirse tres regiones claramente diferenciadas:

Región I a $pH < 2,5$. Se observa un comportamiento tipo gel, valores de G' superiores a G", con ligera dependencia de la frecuencia para el módulo de almacenamiento y un mínimo en el módulo de perdidas (Figura 1a).

Región II a $3,5 > pH > 2,5$. Se obtiene una transición de comportamiento tipo fluido a tipo gel. Se produce un corte entre ambas funciones viscoelásticas a una frecuencia (w_c), la cual disminuye al reducirse el pH.

Región III a $6 > pH > 3,5$. Muestra un comportamiento tipo fluido, con valores de G" mayores que G' y fuerte dependencia de la frecuencia, observándose la típica región terminal del espectro (Figura 1a). A estos valores de pH, las proteínas están próximas a su punto isoeléctrico (5,5-5,8), (Kiosseoglou y Sherman, 1983a) por lo que la carga de las proteínas es aproximadamente 0, no existiendo fuerzas repulsivas entre las moléculas.

El comportamiento de las regiones I y II puede explicarse basándose en un aumento de cargas o de la hidrofobocidad superficial de las proteínas cuando el pH disminuye. Este aumento en el número de cargas positivas induce repulsiones electrostáticas, que causan la ruptura de gránulos, lo cual favorece la solubilización de las proteínas (Causeret et al., 1991). Más aun, si el pH está lejos del punto isoeléctrico, las fuerzas repulsivas pueden incluso producir la desnaturalización de las proteínas (Boye et al., 1997a). Ambos efectos, el incremento de las interacciones repulsivas y entre grupos hidrofóbicos debidos a la desnaturalización de las proteínas, puede conducir a la formación de agregados y, eventualmente, al desarrollo de una red elástica.

La Figura 2 muestra el efecto que provoca la adición de NaCl ó $CaCl_2$ a la yema nativa de huevo (45% p/p en sólidos) en sus propiedades viscoelásticas lineales. Como puede observarse, se observa un comportamiento tipo fluido con valores del módulo de pérdidas superiores al módulo de almacenamiento en todo el intervalo de frecuencia estudiado. Este comportamiento es típico de los sistemas con proteínas de yema que mantienen su conformación nativa.

Un incremento en la concentración de sal produce un remarcable incremento en las funciones viscoelásticas G' y G" (aproximadamente dos décadas al 10% de sal). Harrison y Cunningham (1986) observaron un incremento en la viscosidad aparente cuando se añadió un 10% de sal, pero sólo con un factor de 5. Estos autores atribuyen dicho incremento a la asociación de proteínas, provocada por la deshidratación debido a la adición de sal. Además, la adición de sal produce la ruptura de gránulos de la yema proporcionando moléculas de proteína adicionales que mejoran las propiedades funcionales de los alimentos que contienen yema (Kiosseoglou y Sherman, 1983b; Foegeding et al., 2001). Como se observa la Figura 2b las propieda-

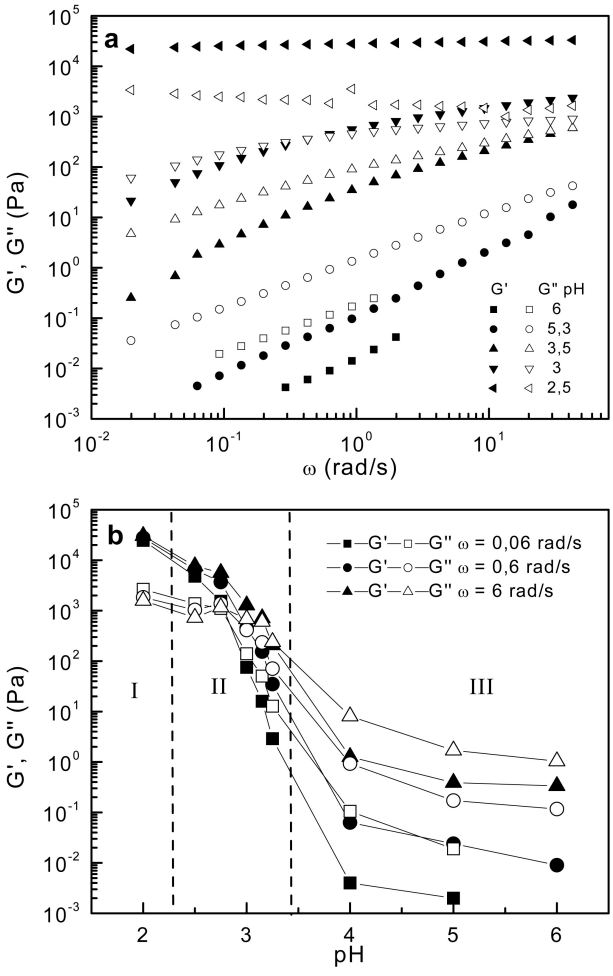

Figura 1
Propiedades viscoelásticas lineales de las dispersiones de yema con un contenido del 45% (p/p) en sólidos.
a) Espectro mecánico en función del pH a 20 °C,
b) Evolución de los módulos viscoelásticos a frecuencia constante en función del pH a 20 °C.

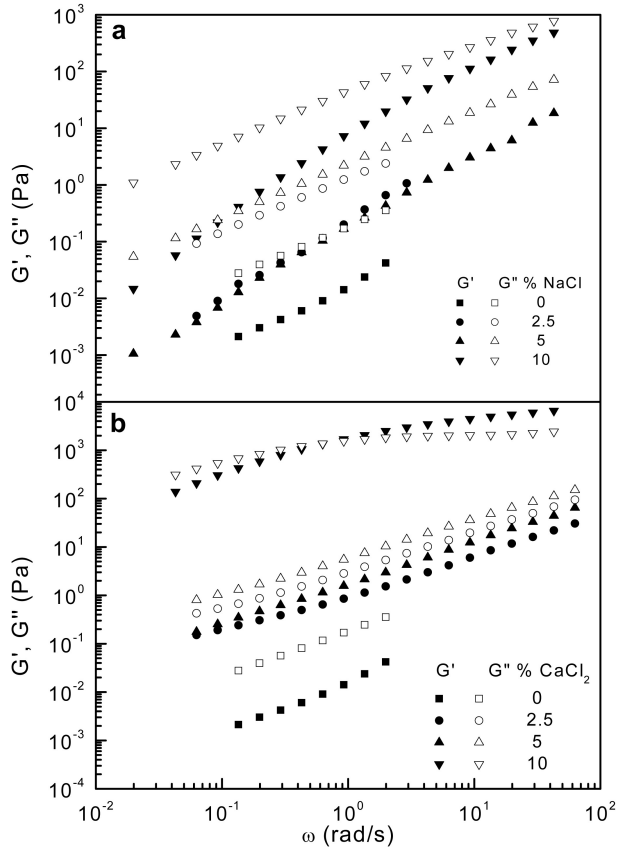

Figura 2
Evolución de las funciones viscoelásticas lineales de las dispersiones de yema con un contenido del 45% (p/p) en sólidos a) influencia de la concentración de NaCl, b) influencia de la concentración de $CaCl_2$.

des viscoelásticas lineales de la yema se ven más afectadas, al añadir las mismas cantidades de otro electrolito, $CaCl_2$. A baja concentración de $CaCl_2$ las dispersiones de yema presentan un comportamiento tipo fluido. Sólo para concentraciones del 10% de $CaCl_2$ se produce un cambio reseñable en las propiedades viscoelásticas existiendo un cruce entre G´y G" a una frecuencia $w_c = 0{,}62$ rad/s.

Por lo tanto, puede concluirse que, un incremento de la fuerza iónica produce un aumento en ambos módulos viscoelásticos, aunque no se ha observado un aumento de las características elásticas de las dispersiones, excepto para la que presenta el mayor valor de fuerza iónica.

La habilidad de los electrolitos para influir en la conformación de las proteínas globulares depende de la concentración y/o de la fuerza iónica de la sal (Shenstone, 1968). A fuerza iónica baja, la influencia que la sal ejerce sobre la estructura de la proteína está gobernada por interacciones de carácter electrostático. A fuerzas iónicas altas, la habilidad de las sales para estabilizar la estructura de las proteínas se relaciona con la hidratación preferente de éstas como consecuencia de la alteración del agua que rodea a la proteína provocada por la sal (Harrison y Cunningham, 1986). Las interacciones proteína-proteína se favorecen frente a las proteínas-disolvente a altas concentraciones de sal debido a la escasez de suficientes moléculas de agua, lo cual puede producir la agregación de moléculas de proteínas tal como fue indicado por Puppo y Añon (1999a) para las dispersiones de proteínas de soja.

3.2. Gelificación térmica: influencia del pH y del contenido en sal

En un trabajo anterior se estudió la influencia de la velocidad de calentamiento sobre la gelificación de yema de huevo mediante calorimetría diferencial de barrido. Estos resultados revelaron la existencia de un pico endotérmico irreversible y una transición vítrea reversible para una dispersión de yema de huevo con una concentración del 45% (p/p) en sólidos (Cordobés et al., 2004).

La Figura 3 muestra los resultados obtenidos para los ensayos calorimétricos de una dispersión de yema de huevo al 45% (p/p) en sólidos a diferentes valores de pH y concentraciones de NaCl ó $CaCl_2$. Puede observarse un pico endotérmico, el cual se relaciona con una temperatura de desnaturalización (82,5 °C, para pH = 6). La presencia de sales produce un incremento aparente en la temperatura de desnaturalización tal como indica Puppo y Añon (1999b) para proteínas de soja. Según Nishinari et al. (2000), este efecto indica que un incremento en el contenido de sal tiende a estabilizar las moléculas de proteínas, conduciendo a una desaparición del pico endotérmico al aumentar la fuerza iónica. Así, en el intervalo de temperatura estudiado, el pico endotérmico desaparece cuando se reduce el pH por debajo de 4. Estos resultados surgieren que al alejarse de pH del punto isoeléctrico (5,5-5,8,) (Kiosseoglou y Sherman, 1983a), se produce la desnaturalización parcial de las proteínas de la yema huevo, lo que coincide con la existencia de un punto de corte entre los módulos viscoelásticos (Figura 1 y Figura 2).

En la Figura 4 se muestra la evolución de las funciones viscoelásticas a frecuencia constante de dispersiones de yema de huevo al ser sometidas a tratamiento térmico. De acuerdo con Ross-Murphy (1991), la gelificación por calentamiento requiere una concentración mínima de moléculas de proteína para formar un gel, así como un mínimo tiempo crítico y una temperatura mínima crítica. En dicha figura puede observarse que la concentración seleccionada para este estudio (45% p/p) está claramente por encima del valor crítico. En un estudio previo (Cordobés et al., 2004), se pudieron observar tres regiones diferentes, cuando dispersiones de yema de huevo a pH próximos al punto isoeléctrico y baja fuerza iónica, se sometían a un aumento de temperatura. Dichas tres regiones aparecen en la Figura 4. En la primera región, se observa un comportamiento tipo fluido, caracterizado por una disminución de las propiedades viscoelásticas, a temperaturas moderadas previo a la desnaturalización de la proteína. El punto gel se localizó en la segunda región en la que se produce un drástico in-

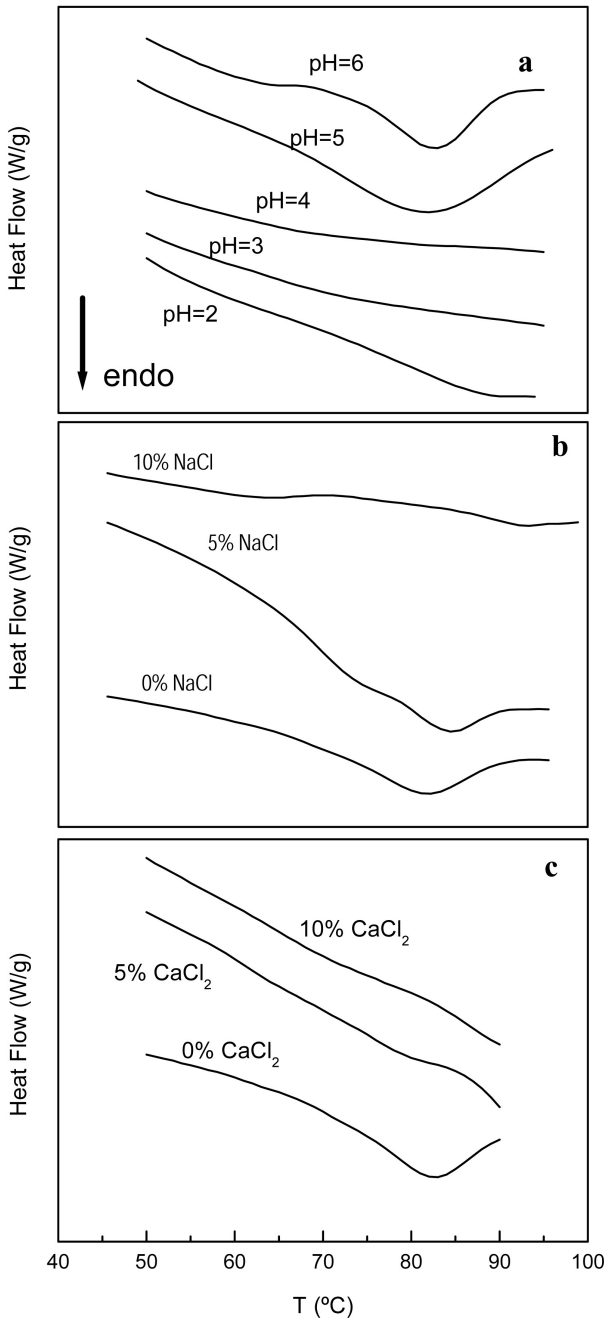

Figura 3
Termogramas de sistemas de yema de huevo con un contenido en sólidos del 45% (p/p) a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min. (a) en función del pH, (b) en función de la concentración de NaCl, a pH = 6 (c) en función de la concentración de $CaCl_2$, a pH = 6.

cremento de ambos módulos viscoelásticos. Tras esta región generalmente aparece una tercera, en la que se produce una remarcable reducción en el crecimiento de la pendiente de G' y G" y que deriva, finalmente, a una zona de valores constantes de G' y G", la cual corresponde con el total desarrollo del gel. El comportamiento anteriormente indicado puede ser explicado en términos del mecanismo de gelificación de proteínas (Clark, 1998): Dicho mecanismo puede dividirse en tres etapas a) cambio en el sistema proteico desde el estado nativo a un estado desnaturalizado, b) agregación parcial de las proteínas, y c) asociación de los agregados de proteína. A la hora de aplicar este mecanismo de gelificación de proteínas a la yema de huevo debe tenerse en cuenta que la mayoría de las proteínas de la yema están organizadas en estructuras micelares y granulares junto con moléculas de lípidos polares y no polares, donde éstos últimos están encerrados dentro del núcleo de las partículas. Finalmente, se produce la formación de un entramado tipo gel entre las partículas (Kiosseoglou, 2003). Las transiciones anteriormente mencionadas están fuertemente influenciadas por el pH, fuerza iónica y tipo de sal. Como puede observarse en la Figura 4a, una reducción en el pH conlleva una notable disminución en la temperatura de cruce de los módulos viscoelásticos. La desaparición de dicho cruce se produce cuando el pH se reduce a su valor mínimo y los valores de los módulos viscoelástico llegan a sus máximos. Como se describió anteriormente, si el pH está alejado del punto isoeléctrico (e.j. pH = 2), las fuerzas repulsivas pueden producir la desnaturalización de las proteínas (Boye et al., 1997b). De ahí, que las rampas de temperatura realizadas a pH = 2 muestren siempre resultados correspondientes a la zona gel, incluso a temperatura ambiente. La adición de NaCl (Figura 4b) produce una anticipación del punto de corte, y por consiguiente en el punto gel, siendo una consecuencia del efecto que el incremento en la concentración de NaCl ejerce sobre las propiedades viscoelásticas de las dispersiones de yema (Figura 2). Puede observarse en la Figura 4 como, desde el inicio de los ensayos de gelificación, las dispersiones muestran un alto grado de interacciones proteína-proteína, las cuales aumentan al hacerlo el contenido de sal. Por otro lado, la adición de sal además produce un menor incremento en G' y G" durante la transición sol-gel inducida por calentamiento, produciendo una disminución en la intensidad del proceso de formación del gel. El anteriormente mencionado aumento de estabilidad de las moléculas de proteínas (Nishinari et al., 2000) puede ser el responsable de este efecto. Así, sales neutrales como el NaCl que favorecen el efecto «salting-out» a concentraciones por encima 0,15M y en las cercanías del punto isoeléctrico, estabilizan la proteína por un reforzamiento de las interacciones hidrofóbicas entre moléculas, disminuyendo además su solubilidad (Puppo y Añon, 1998). Un aumento en la concentración en $CaCl_2$ provoca una translación del punto de corte hacía valores menores de temperatura. Sin embargo, dicho incremento produce el efecto opuesto en la segunda y tercera región del ensayo de gelificación, dando lugar el tratamiento térmico a una gelificación más rápida al aumentar la concentración de electrolito, alcanzándose la región plateau para G' y G" se alcanza a temperaturas menores (Figura 4c). El $CaCl_2$, una sal divalente, es una excepción en el efecto "salting-out" de la series de Hofmeister (1888). Así, el ión Ca^{+2} puede interactuar con el agua, alterando el agua que rodea a la proteína y favoreciendo su

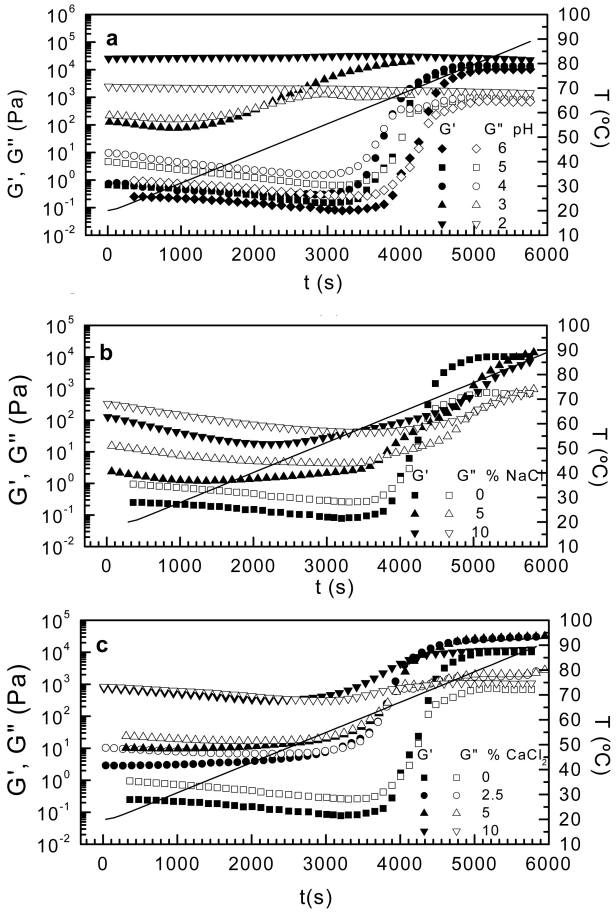

Figura 4
Rampas de temperatura a frecuencia constante, 0.63 rad/s, y velocidad de calentamiento constante de 0.75 °C/min, para sistemas de yema de huevo (45% (p/p)). a) influencia del pH, b) influencia de la concentración de NaCl, a pH = 6 y c) influencia de la concentración de $CaCl_2$, a pH = 6.

agregación. Los iones afectan a la conformación de la proteína o bien mediante interacciones electrostáticas con los grupos cargados y los grupos polares de proteína o por interacciones hidrofóbicas entre moléculas de proteína (Damodaran y Kinsella, 1982). En este último caso, la sal induce cambios en la estructura del agua (desestabilización de los puentes de hidrógeno) debido a la interacción ión-dipolo que puede alterar el grado de hidratación así como la orientación de las moléculas de agua que rodean los residuos no polares de cadenas de polipéptidos (Damodaran y Kinsella, 1982; Puppo y Añon, 1998).

En la Figura 5 se presenta los valores de las funciones viscoelásticas de dispersiones de yema de huevo a diferentes pH sometidas a calentamiento. Puede observarse que para todos los sistemas estudiados se obtiene un comportamiento tipo gel, así como una disminución en las propiedades viscoelásticas cuando el pH se reduce desde el valor nativo, alcanzándose un valor mínimo a pH=3. Este efecto sugiere que el gel formado mediante calentamiento muestra diferencias apreciables dependiendo de su pH.

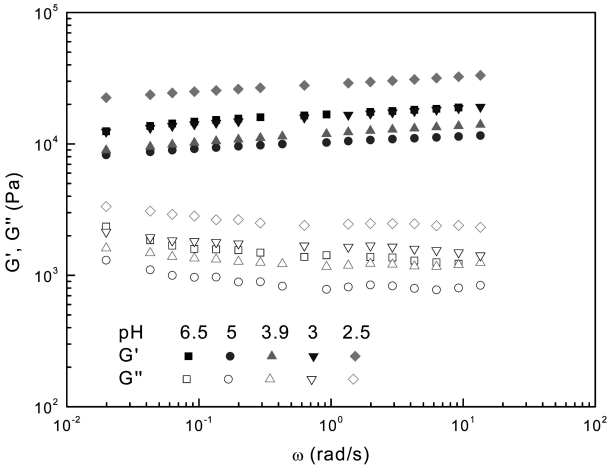

Figura 5
Espectros mecánicos de geles de yema de huevo con un contenido en solidos del 45% (p/p) en función del pH.

3.3. Influencia del tipo de acidulante

Con el objeto de estudiar la influencia del tipo de acidificante usado sobre la gelificación térmica de dispersiones de yema de huevo, se prepararon dispersiones de yema de huevo a pH igual a 3 usando $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$ y HCl.

Puede observarse en la Figura 6a como la dispersión preparada con HCl presenta menores valores de G' y G", así como un mayor valor de la frecuencia de cruce (42,81 Rad/s para el HCl y 1,98 para el $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$). Dicho sistema, por tanto, presenta un espectro mecánico más cercano a la región terminal. Una posible explicación es que el uso de $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$ como agente acidificante provoca una mayor agregación y, por tanto, la formación de agregados de un mayor tamaño tal como ha sido puesto de manifiesto por Resch et al. (2005) para dispersiones de b-lactoglobulina. Esta mayor tendencia de los iones citratos para disminuir la solubilidad de la proteína fue documentada por Hofmeister (1888) quien encontró el citrato de sodio como el más efectivo agente «salting-out» en su estudio sobre la influencia de varias sales sobre la solubilidad de euloglobulinas. Por tanto, los cambios observados por la utilización de $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$ pueden deberse a una mayor alteración de la solubilidad de la proteína responsable de una mayor agregación. En la figura 6b puede observarse las rampas de temperatura de los sistemas citados anteriormente. Puede observarse como los valores lineales de G' y G" son independientes del tipo de acidulante usado, lo cual también fue observado para geles de b-lactoglobulina (Foegeding et al., 2001). También se observa como no existen diferencias apreciables en la temperatura en la que aparece la frecuencia w_c. Foegeding et al. (2001) han observado un similar comportamiento para geles de b-lactoglobulina, no encontrando influencias del tipo de acidulante utilizado.

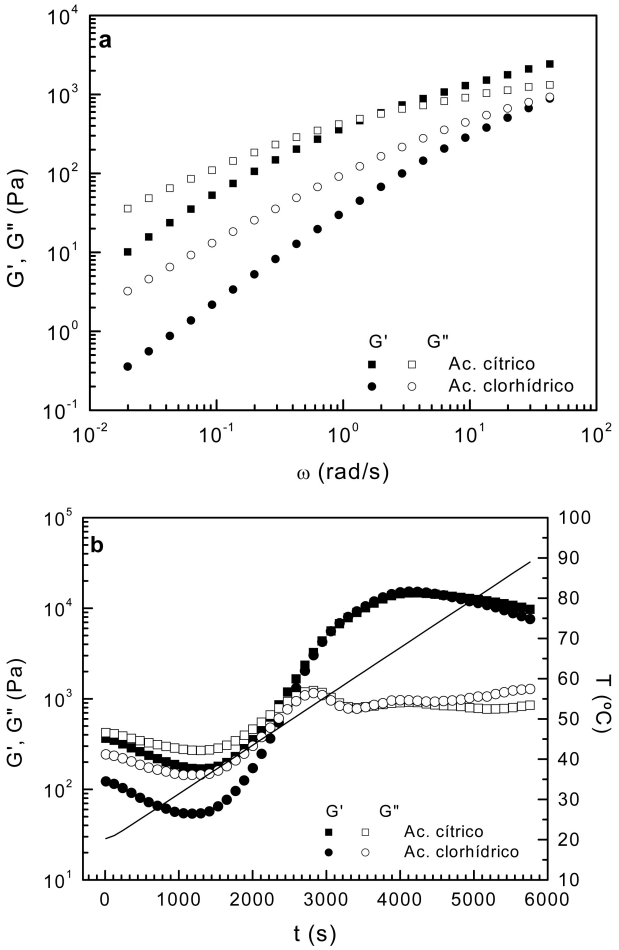

Figura 6
Influencia del tipo de acidificante sobre las propiedades viscoelásticas lineales de las dispersiones de yema con un contenido del 45% (p/p) en sólidos, pH = 3 a) Espectro mecánico en función del tipo de acidificante, a 20 °C, b) Rampas de temperatura a frecuencia constante, 0,63 rad/s, y velocidad de calentamiento constante de 0,75 °C/min.

4. CONCLUSIONES

La yema de huevo es un sistema complejo en el que sus propiedades físico-químicas pueden ser alteradas cuando lo son las condiciones del medio (pH y fuerza iónica). Tanto el pH como la fuerza iónica no sólo influyen en la yema nativa, sino que también lo hacen en el proceso de calentamiento que conduce a la formación de un gel a partir de una dispersión de yema de huevo.

Una reducción del pH produce una importante alteración en sus propiedades viscoelásticas, observándose un cambio de un comportamiento tipo fluido a otro tipo gel. Este hecho puede explicarse por un aumento de las interacciones electrostáticas que pueden conducir a la desnaturalización de proteínas y, posteriormente, a la formación y crecimiento de agregados que pueden conducir a la formación de una estructura tipo gel. Los resultados obtenidos muestran que es necesario un cierto valor de fuerza iónica (alrededor de 0,15 M) para que se produzcan cambios significativos que provoquen agregación de moléculas de proteína. Por debajo de ese valor, un aumento de la fuerza iónica sólo se traduce en un aumento de las funciones viscoelásticas del sistema.

Por lo que respecta a la influencia de las condiciones del medio en el procesado térmico, sólo se ha observado un anticipación de la transición sol-gel cuando el pH disminuye y la fuerza iónica aumenta.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte de un proyecto de investigación patrocinado CICYT (ALI 99-0502) y el MCYT-FEDER programa (AGL2002-01106). Los autores agradecen su sopote económico.

BIBLIOGRAFÍA

Anton M, Beaumal V, Gandermer G. 2000. Adsorption of the oil-water interface and emulsifying properties of native granules from egg yolk: effect o aggregate state. *Food Hydrocolloids* **14**, 385-393.

Anton M, Martinet V, Dalgalarrondo M, Beaumal V, David-Briand E, Rabesona H. 2003. Chemical and structural characterization of low-density lipoproteins purified from hen egg yolk. *Food Chem.* **83**, 175-183.

Boye IJ, Ma CY, Harwalkar VR. 1997a. Food Proteins and their Applications, en Damodaran S., Paraf A. (Eds.), 25-56. Marcel Dekker., New York.

Boye JI, Alli I, Ismail AA. 1997b. Use of differential scanning calorimetry and infrared spectroscopy in the study of thermal and structural stability of lactalbumin, A and B. *J. Agric. Food Chem* **45**, 1116-1125.

Burley RW, Cook WH. 1961. Isolation and composition of avian egg yolk granules and their constituents alfa- and beta-lipovitelins. *Can. J. Biochem. Physiol.* **39**, 1295-1307.

Causeret D, Matringe E, Lorient D. 1991. Ionic strength and pH effects on composition and microstructure of yolk granules. *J. Food Sci.* **56**, 1532-1536.

Clark AH. 1998. Gelation of Globular Proteins, en Hill SE., Ledward DA., Mitchell JR. (Ed.) *Functional Properties of Food Macromolecules*, 2nd Ed., 77-142. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg.

Clark AH, Kavanagh GM, Ross-Murphy SB. 2001. Globular protein gelation-theory and experiment. *Food Hydrocollids* **15**, 383-400.

Cordobés F, Partal P, Guerrero A. 2004. Rheology and microstructure of heat-induced egg yolk gels. *Rheol. Acta* **43** (2), 184-195.

Damodaran S, Kinsella JE. 1982. Food Protein Deterioration: Mechanisms and Function ality, en Cherry JP. (Ed.) *ACS Symp Ser.* **206**, 327. Amer. Chem. Soc., Washington DC.

Fernández-Martín F, Fernández P, Carballo J, Jiménez Colmenero F. 1997. Pressure/Heat combinations on pork meat batters: protein thermal behavior and product rheolog ical properties. *J. Agr. Food Chem.* **45**, 4440-4445.

Foegeding EA, Davis JP, Doucet D, McGuffey MK. 2001. Advances in modifying and understanding whey protein functionality. *Trends Food Sci. Technol.* **13**, 151-159.

Gosal WS, Ross-Murphy SB. 2000. Globular protein gelation. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **5**, 209-215.

Harrison LJ, Cunningham FE. 1986. Influence of frozen storage time on properties of salted yolk and its functionality in mayonnaise. *J. Food Quality* **9**, 167-174.

Hofmeister F. 1888. Zur lehre von der wirkung der salze. II. *Arch. Exp. Pathol. Pharmakol.* **24**, 247-260.

Kiosseoglou VD, Sherman P. 1983a. The influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of O/W emulsions and mayonnaise. *Colloid Polym. Sci.* **261**, 502-507.

Kiosseoglou VD, Sherman P. 1983b. The rheological conditions associated with judgment of pourability and spreadability of salad dressing. *J. Tex. Stu.* **14**, 277-282.

Kiosseoglou VD. 2003. Functional properties of egg yolk. Proceedings of the Xth European Symposium on the quality of eggs and egg products, France, **3**, 302-311.

Koidis A, Paraskevopoulou A, Kiosseoglou V. 2002. Fracture and textural properties of low fat egg yolk gels containing emulsion droplets. *Food Hydrocolloids* **16**, 673-678.

Le Denmat M, Anton M, Beaumal V. 2000. Characterisation of emulsion properties and of interface composition in O/W emulsion prepared with hen egg yolk, plasma and granules. *Food Hydrocolloids* **14**, 539-549.

Martin WG, Augustyniak J, Cook WH. 1964. Fractionation and characterizacion of the low-density lipoproteins of hen´s egg yolk. *Biochimica et Biophysica Acta* **84**, 714-720.

Nishinari K, Zhang HB, Ikeda S. 2000. Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **5**, 195-201.

Paraskevopoulou A, Kiosseoglou V. 1997. Texture profile analysis of heat-formed gels and cakes prepared with low cholesterol egg yolk concentrates. *J. Food Sci.* **62**, 208-211.

Paraskevopoulou A, Kiosseoglou V, Alevisopoulos S, Kasapis S. 2000. Small deformation measurements of single and mixed gels of low cholesterol yolk and egg white. *J. Texture Studies* **31**, 225-44.

Puppo MC, Añon MC. 1998. Structural properties of heat-induced soy protein gels as affected by ionic strength and pH. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 3583-3589.

Puppo MC, Añon MC. 1999a. Soybean protein dispersions at acid pH thermal and rheological properties. *J. Food Sci.* **64**, 50-56.

Puppo MC, Añon MC. 1999b. Rheological properties of acidic soybean protein gels: salt addition effect. *Food Hydrocolloid* **13**, 167-176.

Resch JJ, Daubert CR, Foegeding EA. 2005. Beta-Lactoglobulin gelation and derivatization: effect of acidulant selection and heating conditions. *J. Food Sci.* **70**, C79-C86.

Ross-Murphy SB. 1991. Physical gelation of synthetic and biological macromolecules, en DeRossi D, Kajiwara K, Osada Y, Yamauchi A (Eds.) *Polymer Gels: Fundamentals and Biomedical Applications*, 21-40. Plenum Press, New York.

Sánchez C, Burgos J. 1997. Gelation of sunflower globulin hydrolysates:rheological and calorimetric studies. *J. Agr. Food Chem.* **45**, 2407-2412.

Shenstone FS. 1968. The gross composition, chemistry, and physicalchemical basis organization of the yolk and white, en Carter TC. (Eds.) *Egg Quality: A study of the Hen's Egg*, 26-66. Oliver and Boyd., Edinburgh.

Recibido: 31/1/07
Aceptado: 27/3/07