

PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROLIZADOS DE SUERO LÁCTEO EMPLEANDO PROTEASAS DE DIVERSAS FUENTES

Prospitti Anabela^{1,2}, Ambrosi Vanina³,
Polenta Gustavo³; Bruno Mariela^{1,4}

¹Centro de Investigación de Proteínas Vegetales, UNLP, Argentina.

²CICPBA, Argentina.

³Instituto de Tecnología de Alimentos, INTA, Argentina.

⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científica y Tecnológicas, Argentina
brunomariela@biol.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Las proteínas de suero lácteo han sido históricamente consideradas como un producto de desecho de la industria quesera, pero hoy en día los científicos reconocen que los componentes del suero poseen alto valor nutricional y un número de características funcionales y fisiológicas que pueden ser potencialmente útiles en un amplio rango de aplicaciones. La hidrólisis de proteínas del lactosuero puede tener efectos deseables, tales como reducción de la alergenicidad, incremento de la solubilidad y modificación de sus capacidades (de formación de espuma, emulsificante, de gelación). Alternativamente, en estas reacciones hidrolíticas se pueden liberar péptidos bioactivos mediante el uso de peptidasas apropiadas (Giampietro *et al.*, 2001). El propósito de este trabajo fue la preparación y caracterización de hidrolizados de lactosuero empleando varias proteasas comerciales y mezclas de las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon suspensiones de bromelina, papaína, proteinasa N y pancreatina, en buffer fosfato 0,05 M de pH 6,0, que posteriormente fueron diluidas hasta obtener una actividad caseinolítica (Bruno *et al.*, 2010) dentro del rango de 2-3 Ucas/ml. El lactosuero usado como sustrato fue preparado a partir de leche bovina descremada por coagulación con una suspensión de quimosina de 50 IMCU/ml (IMCU: International Milk Clotting Unit). Se ensayaron seis reacciones de hidrólisis con las cuatro proteasas por separado y dos mezclas constituidas por papaína:proteinasa N y papaína:pancreatina (ambas mezclas en proporción 2:8). Las reacciones fueron llevadas a cabo a 45°C, a diferentes tiempos (0, 30, 120 min) con una relación enzima:sustrato de 1:10 y fueron detenidas por tratamiento térmico para inactivar las enzimas (5 min, 100°C). La eficiencia de la hidrólisis fue monitoreada por SDS-PAGE en gel de tricina (Corrons *et al.*, 2012) y determinación del grado de hidrólisis (GH; Adler-Nissen, 1979).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que la papaína puede degradar exhaustivamente la β -lactoglobulina (Figura 1) y que la bromelina lo hace sólo parcialmente (Figura 2), pero que todas las proteasas pueden hidrolizar α -lactoalbúmina (Figuras 1, 2, 3 y 4). El mayor grado de hidrólisis (Tabla 1) se obtuvo utilizando bromelina durante 120 minutos (13.8%). Las mezclas con papaína (Figuras 5 y 6) incrementaron significativamente el grado de hidrólisis (Tabla 1): luego de 120 min de pro-

GRÁFICO 1 - Preparación y caracterización de los hidrolizados de suero lácteo

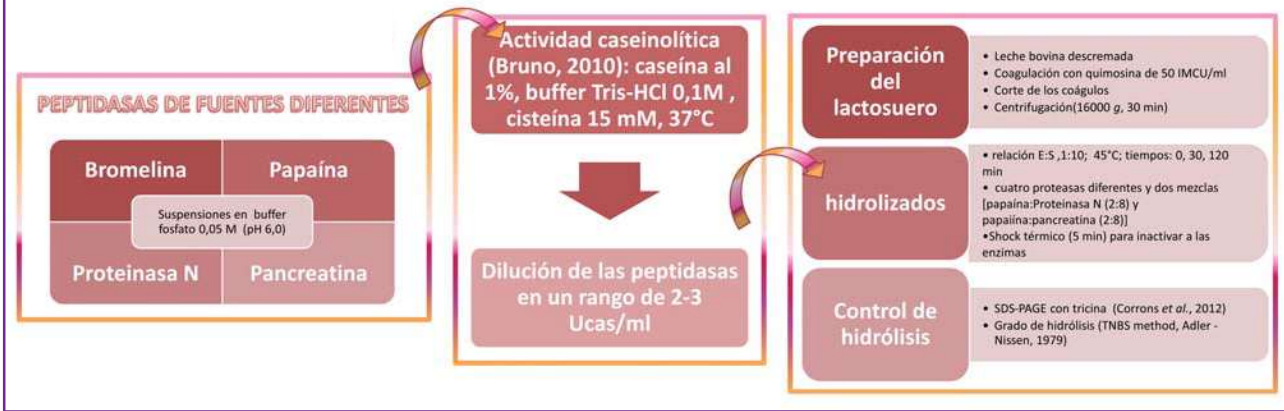


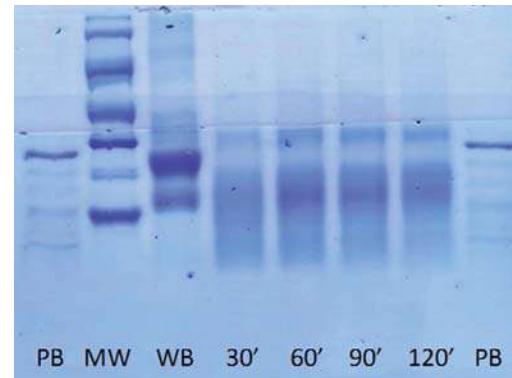
Tabla 1 - Grado de hidrólisis (Método del TNBS)

Peptidasa	GH% 30 min	GH% 120 min
Bromelina	10,6 ± 0,7	13,8 ± 2,9
Proteínasa N	4,5 ± 0,0	8,6 ± 0,0
Pancreatina	2,1 ± 0,0	5,6 ± 0,1
Papaína	3,8 ± 0,0	4,5 ± 0,0
Papaína + Proteínasa N	4,2 ± 0,1	9,0 ± 0,1
Papaína + Pancreatina	6,4 ± 0,1	6,5 ± 0,0

GH% 30 y 120 min: porcentaje de grado de hidrólisis. Datos calculados a partir de una curva de calibración de leucina (0-2,25 mM). Resultados expresados como la media ± desvío standard.

teólisis se obtuvieron valores de GH de 4,5, 5,6 y 8,6 % para papaína, pancreatina y proteínasa N, respectivamente, mientras que las mezclas presentaron valores de GH de 6,5 % (papaína + pancreatina) y 9,0 % (papaína + proteínasa N). Este hecho evidencia la acción sinérgica de dos peptidasas diferentes, aumentando su capacidad hidrolítica sobre las uniones peptídicas del sustrato.

FIGURA 1 - SDS-PAGE de los hidrolizados obtenidos con papaína



PB: blanco de papaína; MW: marcadores de peso molecular (Low Range, Bio-Rad); WB: blanco de lactosuero; 30'-120': hidrolizados de 30 y 120 min.

FRIO-RAF
INSTALACIONES FRIGORÍFICAS

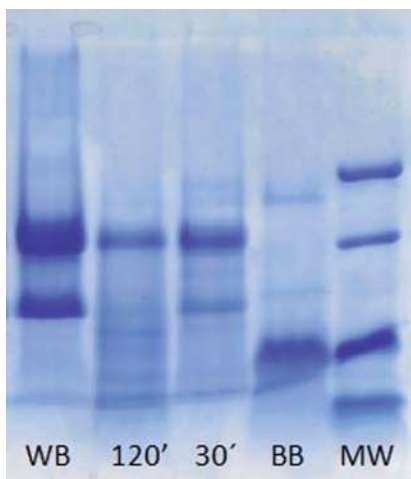
www.frioraf.com
@: info@frioraf.com

NUEVOS SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AIRE DE AREAS CRÍTICAS

DETRÁS DE CADA LOGRO HAY NUEVOS DESAFÍOS... VIGENCIA Y RECONOCIMIENTO

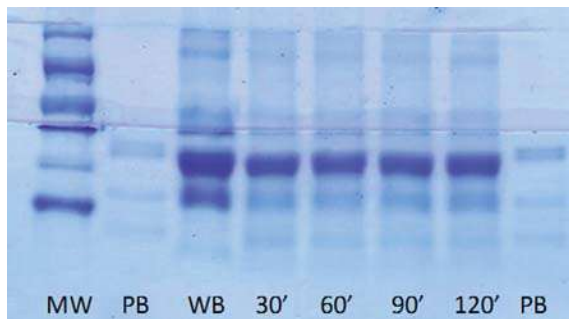
FRIO-RAF S.A.
Lisandro de la Torre 958
(S2300DAT) RAFAELA - SANTA FE
Tel.: (54-3492) 432174

FIGURA 2 - SDS-PAGE de los hidrolizados obtenidos con bromelina



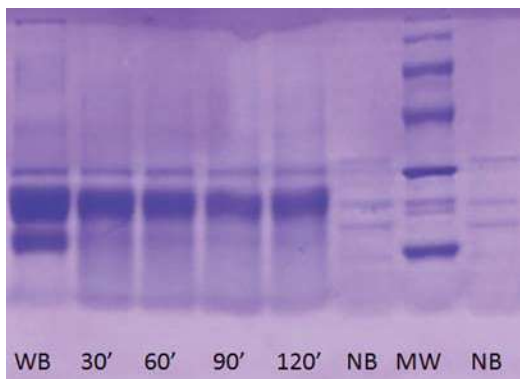
WB: blanco de lactosuero; 30'-120': hidrolizados de 30 y 120 min; BB: blanco de bromelina; MW: marcadores de peso molecular (multiptide, Bio-Rad).

FIGURA 3 - SDS-PAGE de los hidrolizados obtenidos con pancreatina



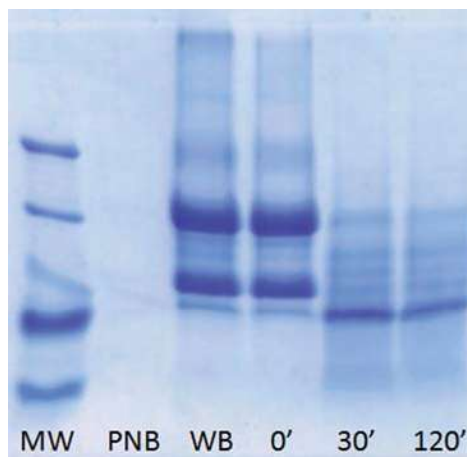
MW: marcadores de peso molecular (Low Range, Bio-Rad); WB: blanco de lactosuero; 30'-120': hidrolizados de 30 y 120 min; PB: blanco de pancreatina.

FIGURA 4 - SDS-PAGE de los hidrolizados obtenidos con proteinasa N.



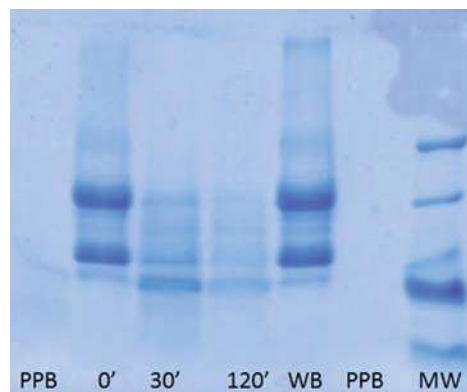
WB: blanco de lactosuero; 30'-120': hidrolizados de 30 y 120 min; NB: blanco de proteinasa N; MW: marcadores de peso molecular (Low Range, Bio-Rad).

FIGURA 5 - SDS-PAGE de los hidrolizados obtenidos con papaína + proteinasa N (2:8)



MW: marcadores de peso molecular (multiptide, Bio-Rad); PNB: blanco de papaína +proteínasa N; WB: blanco de lactosuero; 0': enzimas preinactivadas + blanco de lactosuero; 30'-120': hidrolizados de 30 y 120 min.

FIGURA 6 - SDS-PAGE de los hidrolizados obtenidos con papaína + pancreatina (2:8)



PPB: blanco de papaína + pancreatina; 0': enzimas preinactivadas + blanco de lactosuero; 30'-120': hidrolizados de 30 y 120 min; WB: blanco de lactosuero; MW: marcadores de peso molecular (multiptide, Bio-Rad).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adler-Nissen, J. (1979). Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(6), 1256-1262.
- Bruno, M. A., Lazza, C. M., Errasti, M. E., López, L. M., Caffini, N. O., & Pardo, M. F. (2010). Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from *Bromelia hieronymi* fruits. *LWT-Food Science and Technology*, 43(4), 695-701.
- Corrons, M. A., Bertucci, J. I., Liggieri, C. S., López, L. M. I., & Bruno, M. A. (2012). Milk clotting activity and production of bioactive peptides from whey using *Maclura pomifera* proteases. *LWT-Food Science and Technology*, 47(1), 103-109.
- Giampietro, P. G., Kjellman, N. I. M., Oldaeus, G., Wouters•Wesseling, W., & Businco, L. (2001). Hypoallergenicity of an extensively hydrolyzed whey formula. *Pediatric allergy and immunology*, 12(2), 83-86.