



ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD COLOIDAL Y OXIDATIVA DE EMULSIONES CON ALTO CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS OMEGA-3

Elsa Álvarez Serrano, María Olga Ruiz Pérez, María Teresa Sanz Diez, Sagrario Beltrán Calvo
Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos, Área de Ingeniería Química, Universidad de Burgos
E-mail: [eas0027@alu.ubu.es](mailto: eas0027@alu.ubu.es), [moruiz@ubu.es](mailto: moruiz@ubu.es), [tersanz@ubu.es](mailto: tersanz@ubu.es), [beltran@ubu.es](mailto: beltran@ubu.es)

INTRODUCCIÓN

La estrecha relación entre la alimentación y la salud está haciendo que el consumidor valore de forma muy positiva los alimentos que, además de proporcionar los nutrientes esenciales para la vida, proporcionen sustancias bioactivas naturales. En este sentido, se está investigando en la elaboración de nuevos ingredientes funcionales que puedan utilizarse para reformular y mejorar la calidad del alimento (Delgado-Pando *et al.*, 2010). En concreto, los ácidos grasos omega-3 (AGn-3) son compuestos bioactivos que mejoran el funcionamiento cardiovascular y tienen efectos antiinflamatorios (Lane *et al.*, 2016). Sin embargo, estos AGn-3 son proclives a la oxidación. Una solución para evitar la ingesta de aceites oxidados es su incorporación al alimento en forma de encapsulados. Desde un punto de vista técnico, la emulsificación ultrasónica se presenta como una alternativa competitiva que permite obtener pequeñas gotas de aceite recubiertas por una fina película de agente emulsionante (Lane *et al.*, 2016). De forma clásica, se utilizan los tensioactivos no iónicos como agentes emulsionantes, sin embargo, se recomienda su sustitución por compuestos naturales como las proteínas, que, además de su efecto emulsionante, presentan un alto valor nutricional y múltiples propiedades funcionales (Delgado-Pando *et al.*, 2010).

El objetivo de este estudio fue optimizar la formulación y el proceso de emulsificación de un aceite de sardina (Tabla 1), con alto contenido en AGn-3, utilizando proteínas como agentes emulsionantes. Se ha analizado el efecto del tiempo de ultrasonificación, de la concentración de aceite, del tipo y concentración de proteína y de la adición de aditivos sobre la estabilidad física y oxidativa de la emulsión durante 14 días.

Palabras clave: Proteínas; Encapsulados de ácidos grasos omega-3; Emulsificación ultrasónica; Estabilidad.

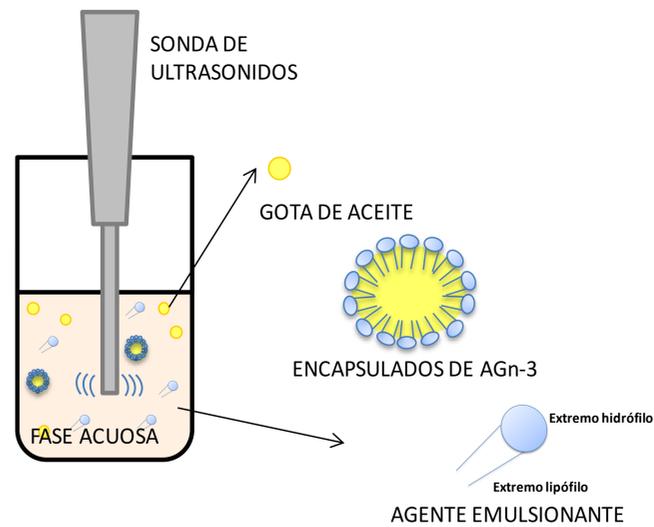


Tabla 1. Perfil de ácidos grasos para el aceite empleado en este trabajo (AOAC, 1995).

Ácido graso		(%)
Mirístico	C14:0	7,6
Palmitico	C16:0	18,1
Esteárico	C18:0	3,6
Palmitoleico	C16:1n-7	8,9
Oleico	C18:1n-9	10,0
Vaccenico	C18:1n-7	3,8
Cis-Linoleico (LA)	C18:2n-6	2,5
α-Linolenico (ALA)	C18:3n-3	1,1
Esteriádónico	C18:4n-3	3,6
Eicosatrienoico	C20:3n-3	1,7
Eicosapentaenoico (EPA)	C20:5n-3	25,9
Docosapentaenoico (DPA)	C22:5n-3	2,7
Docosahexaenoico (DHA)	C22:6n-3	10,6

RESULTADOS

La emulsificación se realizó por ultrasonificación (Fisher Scientific 75042, 20 kHz, 40% de amplitud, 500 W) durante 300-1200 s. Todas las muestras se formularon utilizando como fase continua distintas disoluciones acuosas de proteína (seroalbúmina bovina (SAB), beta-lactoglobulina (β-Ig) y caseinato sódico (NaC)). Se muestran a continuación los resultados del estudio del efecto del tipo de proteína, de la relación proteína/aceite (1-12%/1-4%) y de la presencia de α-tocoferol sobre la estabilidad de las emulsiones durante 14 días.

Selección del agente emulsionante

El potencial Zeta para todas las emulsiones de la Tabla 2 fue negativo, con valores comprendidos entre -56 y -19 mV. La carga negativa de los encapsulados fue más elevada para las estructuras formadas con NaC (de -41 mV a -56 mV) que para las obtenidas con SAB (-30 mV) o β-Ig (de -35 mV a -19 mV), indicando que los encapsulados de NaC tienen menor tendencia a la desestabilización por fenómenos de coalescencia y floculación.

Las muestras de la Tabla 2 formuladas con un 1-3% de NaC, 1% de SAB y con 1.5-3% de β-Ig proporcionaron emulsiones físicamente estables durante 14 días. Además, el $D_{3,2}$ fue significativamente menor al utilizar una concentración del 2% de NaC (Figura 1). Con estos resultados se seleccionó NaC como agente emulsionante y una concentración del 2% de NaC para formulaciones con un 1% de aceite.

Tabla 2. Formulación y resultados experimentales del $D_{3,2}$ a diferentes tiempos de almacenamiento (2 h, 7 días y 14 días) para emulsiones a pH = 7,4 con un 1% de aceite y un 1-4% de proteína.

Proteína (% peso)	$D_{3,2}$ (2 h) (nm)	$D_{3,2}$ (7 días) (nm)	$D_{3,2}$ (14 días) (nm)	
NaC	1	439 ^A	364 ^A	406 ^B
	2	191 ^B	200 ^B	205 ^B
	3	286 ^C	269 ^C	296 ^C
	4	272 ^D	336 ^E	397 ^E
SAB	1	231 ^F	250 ^F	240 ^F
	2	247 ^G	255 ^G	224 ^H
	3	277 ^I	241 ^J	210 ^K
	4	288 ^L	294 ^M	256 ^N
β-Ig	1	446 ^O	424 ^O	406 ^P
	1,5	321 ^Q	325 ^Q	312 ^Q
	2	346 ^R	342 ^R	347 ^R
3	308 ^S	303 ^S	308 ^S	

*Letras diferentes en los valores $D_{3,2}$ indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$).



Figura 1. Fotografía de la emulsión formulada con un 1% de aceite y un 2% de NaC después de 14 días de almacenamiento.

Efecto de la relación Caseinato Sódico/Aceite

Se prepararon emulsiones con distinta concentración de aceite (1-4%) y de caseinato sódico (1-12%).

El $D_{3,2}$ fue significativamente menor para las formulaciones que presentaron una relación NaC/aceite = 2/1 ($191,0 \pm 0,6$ nm), 12/2 ($225,0 \pm 1,2$) y 12/4 (235 ± 1 nm). Estas tres emulsiones presentaron una distribución de tamaños de gota monomodal (Figura 2) y fueron físicamente estables durante 14 días.

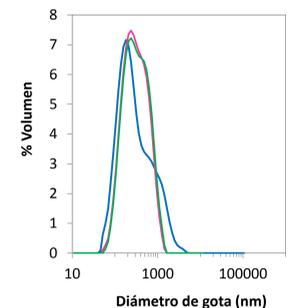


Figura 2. Distribución de tamaños de gota para emulsiones formuladas con una relación NaC/aceite = 2/1 (línea azul), 12/2 (línea rosa) y 12/4 (línea verde).

Emulsión formulada con NaC/Aceite = 2/1

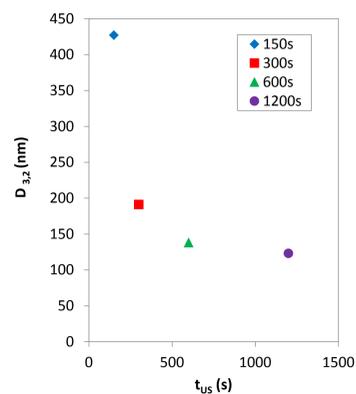


Figura 3. Efecto del tiempo de ultrasonidos (150-1500 s) sobre el $D_{3,2}$ para la emulsión formulada con un 2% de NaC y un 1% de aceite

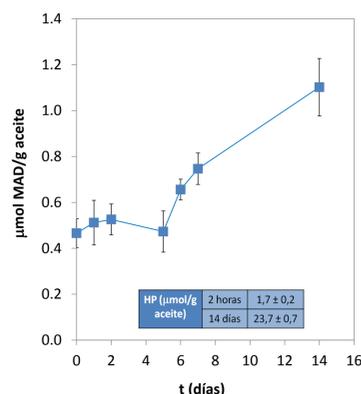


Figura 4. Concentración de productos de oxidación para la emulsión (2% de NaC y un 1% de aceite) almacenada durante 14 días.

Como se muestra en la Figura 3, un aumento del tiempo de ultrasonificación (t_{US}), produce una reducción significativa del $D_{3,2}$. Así, el tiempo de operación es un factor clave a optimizar debido a su efecto en la homogeneidad y polidispersión de la emulsión.

La evaluación de la estabilidad oxidativa se llevó a cabo utilizando 60 ml de emulsión que se almacenó en ausencia de luz a 25 ± 1 °C. Se determinaron los hidroperóxidos lipídicos (HP) por el método de Wu *et al.*, 2016 y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) por el método de Elías *et al.*, 2005. A pesar de los buenos resultados de estabilidad coloidal de la emulsión, en la Figura 4 se observa que hay un desarrollo de productos de oxidación primaria (hidroperóxidos lipídicos) y secundaria (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico), tras el quinto día de almacenamiento.

Emulsión con α-tocoferol

La incorporación de α-tocoferol (Figura 5) en la emulsión hizo necesario aumentar la relación NaC/aceite (= 4/1) y el tiempo de ultrasonificación a 1200 s para lograr obtener emulsiones coloidalmente estables, con un valor de $D_{3,2}$ próximo a 200 nm.

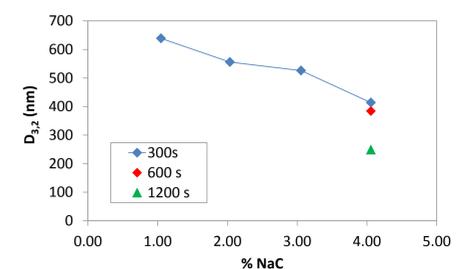


Figura 5. Resultados del $D_{3,2}$ a distintos t_{US} (300-1200 s) para emulsiones formuladas con un 1-4% de NaC, un 1% de aceite y 30 mg de α-tocoferol/g aceite.

REFERENCIAS

- Delgado-Pando G., Cofrades S., Ruiz-Capillas C., Solas M. T., Jiménez-Colmenero F. 2010. Healthier lipid combination oil-in-water emulsions prepared with various protein systems: An approach for development of functional meat products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 112: 791-801.
- Lane K. E., Li W., Smith C.J., Derbyshire E.J. 2016. The development of vegetarian omega-3 oil in water nanoemulsions suitable for integration into functional food products. *J. Funct. Foods* 23: 306-314.
- Eratte D., Wang B., Dowling K., Barrow C. J., and Adhikari B. P. 2014. Complex coacervation with whey protein isolate and gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. *Foods Funct.* 5: 2743-2750.
- AOAC (1995), Official Method 991.39. Fatty acids in encapsulated fish oils and fish oil methyl and ethyl esters gas chromatographic method.
- Elías R. J., McClements D. J., and E. A. Decker E. A. 2005. Antioxidant activity of cysteine, tryptophan, and methionine residues in continuous phase β-lactoglobulin in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 53: 10248-10253.
- Wu Q., Uluata S., Cui L., Wang C., McClements J., Decker E. A. 2016. Physical and oxidation stability of self-emulsifying krill oil-in-water emulsions. *Food Funct.* 57: 6014-6020.