

## OBTENCIÓN DE UN COMPLEJO OVOALBÚMINA-ANTIOXIDANTES PROVENIENTES DEL TÉ VERDE (*Camellia sinensis*) POR EL MÉTODO DE GELACIÓN IÓNICA

M.M. Gallegos-Garza<sup>\*</sup>, D.L. Lozoya-Castillo, J. Báez-González, Ma.G. Alanís-Guzmán

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Alimentos, Av.  
Universidad s/n, Col. Cd. Universitaria, C.P. 66451, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.  
melissagallegosgarza@hotmail.com

### RESUMEN:

En la obtención de un complejo ovoalbúmina-antioxidantes provenientes del té verde (*Camellia sinensis*) predominan las catequinas, se realizaron pruebas a distintos valores de pH, se obtuvo un mayor porcentaje de encapsulación a pH 4. Se emplearon distintas concentraciones de ovoalbúmina a pH4, obteniéndose una mayor eficiencia con 0.5% p/v de proteína. Esta metodología de encapsulación que se fundamenta en el método de gelación iónica, tiene como beneficio para la industria alimentaria y/o desarrollo de alimentos funcionales, la protección de los antioxidantes por medio de un complejo que se puede utilizar como aditivo en alimentos y evitar la degradación que originan diversos procesos o condiciones de almacenamiento.

### ABSTRACT:

In the obtainment of a complex ovoalbumin-antioxidants from green tea (*Camellia sinensis*) where the catechins are the predominant, we execute different test at different pH levels, where at pH 4 the encapsulation was in biggest percentage, in the same complex were applied different concentrations of ovoalbumin obtaining the best efficiency at 0.5% w/v. This methodology is based in the encapsulation by ionic gelation that have the benefit for the food industry and development of functional foods, the protection of the antioxidants contained in green tea trough a complex that can be used as food additive and prevent the degradation which leads different process or storage conditions.

**Palabras clave:** catequinas, ovoalbúmina, gelación iónica.

**Keywords:** catechins, ovoalbumin, ionic gelation

**Área:** Alimentos Funcionales

### INTRODUCCIÓN

Las hojas del árbol del té contienen una cantidad muy alta de flavonoles, los cuales son derivados de los flavonoides y de estructura monomerica, conocidos como catequinas, y también formas polimerizadas de dichas catequinas. Las principales catequinas que se encuentran presentes en el té verde son la epicatequina, la epigallocatequina, la epicatequina gallato y la epigallocatequina, siendo esta ultima la

más abundante en el té. Una infusión de té a partir de un gramo de hoja de té y 100 mL de agua caliente, proporciona aproximadamente 250-300 mg de material sólido, constituido por 35-45% de catequinas y un 6% de cafeína (Valenzuela, 2004). Las catequinas del té verde pueden sufrir degradación, oxidación, epimerización y polimerización durante el proceso de los alimentos. Varios factores pueden contribuir en el cambio en la estructura de las catequinas del té verde tales como la temperatura, pH de los sistemas, la disponibilidad de oxígeno, la presencia de iones metálicos, así como los ingredientes añadidos. La degradación de las catequinas es más evidente cuando la temperatura es cada vez mayor (Ananingsih *et al.*, 2011). Una manera de proteger la degradación de las catequinas es por medio del método de gelación iónica.

El método de gelación iónica se ha empleado para la microencapsulación de polifenoles, medicamentos para la osteoporosis, pro-bióticos, antibióticos y para la generación de cápsulas biocompatibles de compuestos activos. Sin embargo, uno de sus principales inconvenientes es la alta porosidad del gel formador de la matriz de la microcápsula, lo cual permite la rápida difusión de los compuestos encapsulados. Este problema puede ser resuelto mediante la generación de una matriz gelada a partir de proteínas o mezclas de proteínas y polisacáridos, ya sea mediante calentamiento, entrecruzamiento enzimático o acidificación (Arup, 2011).

El proceso de microencapsulación por el método de gelación iónica muestra la necesidad de obtener una matriz gelada para la micropartícula de baja porosidad, a partir de proteínas o mezclas de proteínas con polisacáridos, bajo condiciones que impliquen calentamiento o acidificación del medio para su obtención (Aude, 2011). En esta investigación se tiene por objetivo la elaboración de un complejo ovoalbúmina-antioxidantes, en especial catequinas, de un extracto de té verde (*Camellia sinensis*) para la protección de dichos antioxidantes, contra la degradación durante su procesamiento en la industria alimentaria.

### **MATERIALES Y METODOS**

Té verde (*Camellia sinensis*) adquirido un supermercado local, marca INFUSIONATÉ<sup>®</sup>, ovoalbúmina en polvo marca San Juan, Quercetina grado analítico marca sigma, agua destilada.

#### **Extracción de catequinas del Té verde**

La extracción se llevó a cabo con una proporción de 1.6% (p/v) de hojas de té a temperatura de ebullición por un tiempo de 30 minutos, posteriormente se colaron las hojas de té presentes en la solución. El extracto se enfrió a temperatura ambiente.

#### **Curva de calibración de quercetina**

Se elaboró una curva de calibración de la solución patrón quercetina (452 ppm) donde se pesó 0.0113 g de quercetina en 25 mL de agua destilada disolviendo por medio de ultrasonido con un sonicador (OMNI-INC<sup>®</sup>) a una frecuencia de 20kHz a una amplitud del 50% por 10 minutos. Con la solución madre se prepararon 5 diferentes concentraciones en un intervalo de 10 a 30 ppm. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de  $\lambda_{\text{máx}}$  de 371 nm en un espectrofotómetro UV/Vis. (Genesys 5, Spectronic, Rochester, N.Y., EUA). Se midió el contenido de quercetina a cada extracto de té verde (INFUSIONATÉ<sup>®</sup>); de los cual se leyó la absorbancia utilizando un factor de dilución correspondiente para que la lectura se encuentre dentro del rango correspondiente a la curva de calibración.

### **Encapsulación por el método de gelación iónica**

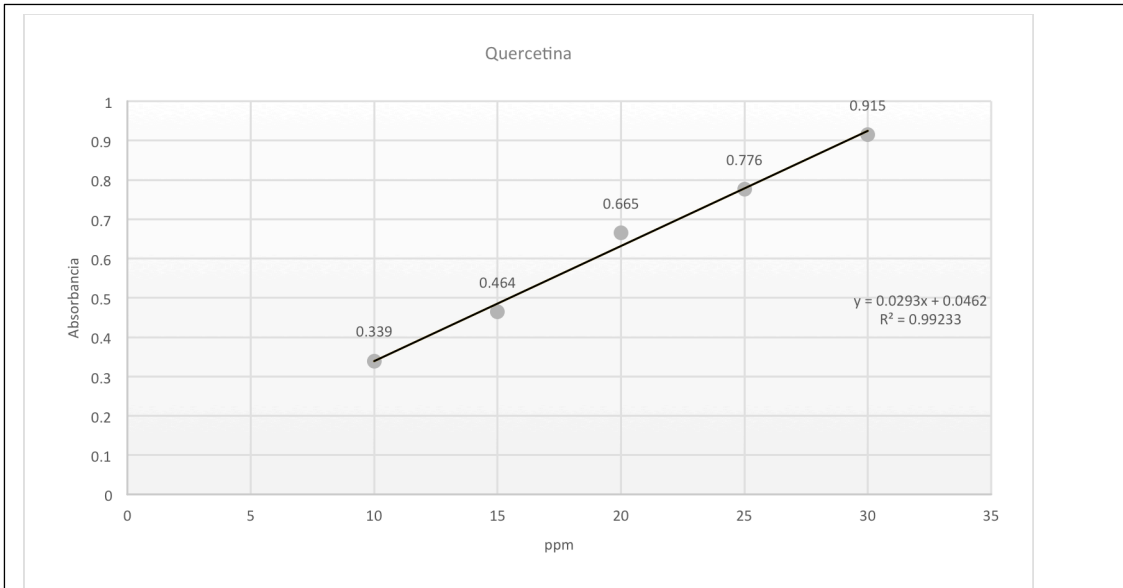
Al extracto elaborado, se le agrego un 0.5% p/v de ovoalbúmina y este se colocó en la propela IKA Eurostar 60 digital (Ika Works, Inc., Wilmington, VA. EUA) a 800 rpm. Seguido esto se realizaron pruebas a distintos valores de pH, al obtener el óptimo, se modificó el pH de la solución con HCl 1N. Con un potenciómetro (Hanna Instruments<sup>®</sup>, modelo pH211) y se pasó a la centrifuga (spectrafuge 6C) a 6,000 rpm por 20 minutos. Al sobrenadante se le tomaron lecturas de la absorbancia para calcular la eficiencia del complejo ovoalbúmina-catequina. El precipitado obtenido se colocó en una estufa a 70°C por 24 horas para obtener el complejo en polvo. A partir de otros extractos realizados con esta misma metodología se evaluador distintas concentraciones de ovoalbúmina (1% y 6% p/v) para evaluar el rendimiento.

### **Potencial zeta**

Las mediciones de potencial zeta fueron obtenidas a través de la movilidad electroforética, utilizando el Zetasizer Nanoseries Nano ZS (Malvern Instruments, Worchesire, Inglaterra). Las muestras se diluyeron con agua destilada y cada muestra se midió por triplicado, los valores se presentan como la media  $\pm$  desviación estándar (SD).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El contenido total de catequinas (antioxidantes) se puede determinar a través de la lectura del extracto de té, utilizando la curva calibración de quercetina. La Figura No.1 muestra la curva de calibración y la regresión lineal.



**Figura 1.** Curva de calibración de la solución patrón (quercetina).

La Figura No. 2 muestra la eficiencia de encapsulación de los antioxidantes del extracto de té con la ovoalbúmina en distintos valores de pH (8 a 3). Se puede observar que a medida que disminuye el pH de 8 a 4, se presenta una disminución del color y además en pH 4 existe la formación de un precipitado y el sobrenadante se vuelve traslucido, perdiendo el color amarillo característico de los extractos del té verde.

A pH 3 se presenta poco de precipitado con mayor turbidez debido a que las proteínas comienzan a flocularse, a pH 2 la solución es menos amarilla que a pH 8 y muestra un menor turbidez debido a que la proteína presenta mayor solubilización, característico de soluciones de proteína a pH muy ácidos o muy básicos (Badui, 2006).



**Figura 2** Solución de extracto de Té verde y ovoalbúmina a distintos pH.

Se realizó la medición del potencial z al extracto de té verde y a la ovoalbúmina en donde se obtuvo (-17mV y +5mV) respectivamente, en base a esto podría decirse que existe afinidad entre ambos componentes para la formación del complejo ovoalbúmina-catequina, a pH 4 el potencial zeta fue muy cercano a cero, indicando la mayor interacción entre la proteína y el extracto de té verde.

La eficiencia de encapsulación obtenida al medir el sobrenadante y al utilizar la curva de calibración de la quercetina se obtienen los resultados de la tabla I.

**Tabla I.** Eficiencia de encapsulación a distintos pH con 0.5% de ovoalbúmina

<b>pH</b>	<b>Sobrenadante (µg/mL)</b>	<b>Eficiencia</b>
<b>2</b>	52.12	38%
<b>3</b>	51.44	69%
<b>4</b>	40.79	75%
<b>5</b>	42.57	73%
<b>8</b>	67.55	58%

La mayor eficiencia se obtiene a pH4, lo que corrobora la tendencia mostrada en la figura 2. También se obtuvo un mayor precipitado y mayor eficiencia de encapsulación. Quesada (2007) menciona que toda proteína, al encontrarse en una solución a un pH por debajo de su punto isoeléctrico, tiene carga positiva y reacciona con aniones de otros compuestos. La ovoalbúmina tiene un punto isoeléctrico alrededor de 4.7. Si a una solución de dicha proteína se le agrega un ácido, el pH disminuye y los aniones reaccionan con la ovoalbúmina; el producto es insoluble en la solución y precipita (Quesada, 2007), debido a la formación de este precipitado se establece que la mayor eficiencia obtenida fue en este valor de pH. La tabla II muestra los resultados el complejo ovoalbúmina-antioxidantes a pH 4 y diferentes concentraciones de la proteína.

**Tabla II.** Eficiencia de encapsulación a distintos porcentajes de ovoalbúmina a pH 4

<b>Cantidad de ovoalbúmina</b>	<b>Eficiencia total de catequinas encapsuladas</b>
<b>0.5%</b>	75%
<b>1%</b>	37%
<b>6%</b>	35%

Se obtuvo una eficiencia utilizando 0.5% de ovoalbúmina, a concentraciones mayores la eficiencia disminuye drásticamente, ya que al aumentar dicha concentración la solución se sobresatura e incrementa la interacción entre las proteínas disminuyendo la capacidad de formar complejos con las moléculas antioxidantes del té.

La cantidad de catequinas y demás compuestos fenólicos que puedan interactuar con la proteína es dependiente de los sitios de unión libres en determinada cantidad de proteína, se tenía como hipótesis que al agregar mayor cantidad de proteína, esta formaría complejo con mayor cantidad de catequinas, sin embargo resulto todo lo contrario, esto guarda relación con lo que establece (Casaos, 2014), en el momento en el que se alcanza un estado de sobresaturación, termodinámicamente inestable, las moléculas de la proteína, en exceso, se separan de la fase acuosa y pasan a la fase sólida, hasta llegar a un equilibrio entre las dos fases. Por lo tanto la proteína interactúa consigo misma y no con las catequinas o demás compuestos fenólicos presentes en los extractos de Té verde (*Camellia sinensis*).

## BIBLIOGRAFÍA

- Ananingsih, V.; Sharma, A. and Zhou, W.. 2011. Green tea catechins during food processing and storage. *Food Research International* [Online]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691100161X>
- ARUP NAG; KYOUNG-SIK HAN; HARJINDER SINGH: "Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum", *INTERNATIONAL DAIRY JOURNAL*, vol. 21, no. 2011, pages 247 - 253, XP028364173, DOI: doi:10.1016/j.idairyj.2010.11.002
- AUDE MUNIN; FLORENCE EDWARDS-LEVY: "Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review", *PHARMACEUTICS*, vol. 3, 2011, pages 793 – 829
- Badui Dergal, S. 2006. Química de los alimentos. 4ta edición. Editorial Pearson: México.
- Casaos Aznar José Emilio. 2014. Cristalización y difracción de rayos X para la resolución de estructuras de proteínas y complejos proteicos. Estudio del papel de los residuos E413, R422 y R430 en el proceso de oligomerización de la enzima AIF mediante cristalografía de rayos X. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular Universidad de Zaragoza. Pag. 5
- Quesada Mora Silvia. 2007. Manual de experimentos de laboratorio para bioquímica. Editorial EUNED. San José, Costa Rica. p. 29
- Valenzuela B. Alfonso. 2004. EL CONSUMO TE Y LA SALUD: CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES BENEFICAS DE ESTA BEBIDA MILENARIA. Laboratorio de Lípidos y Antioxidantes, Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos, Universidad de Chile. Santiago, Chile. Rev Chil Nutr Vol.31, No.2