

[entro *de* Investigación en Alimentación  
V Desarrollo, A. C.

**EFEECTO DE DOS SURFACTANTES EN LAS PROPIEDADES  
BIOQUÍMICAS Y FUNCIONALES DE LAS PROTEÍNAS DEL  
GLUTEN**

**POR**

**ALMA BEATRIZ PEREGRINO URIARTE**



TESIS APROBADA POR EL

**AREA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
DE ORIGEN VEGETAL**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN NUTRICION y ALIMENTO**



## CONTENIDO

	Página
LISTA DE TABLAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	4
Surfactantes Utilizados en Panificación	4
Definición y Propiedades de los Surfactantes	4
Tipos y Dosis de Surfactantes	5
Efectos Mejoradores de los Surfactantes	7
Propiedades Funcionales de la Masa	7
Características del Pan	8
Proceso de Envejecimiento del Pan	9
Calidad de las Harinas Panificables	10
Proteínas de las Harinas de Trigo	10
Clasificación	10
Características	11
Albúminas y Globulinas	11
Gliadinas	12
Gluteninas	12
Funcionalidad	13
Interacciones de los Surfactantes con los Principales Componentes de la Harina de Trigo	13
Proteínas del Gluten	14
Almidón	17
MATERIALES Y METODOS	19
Materiales	19
Selección de las Harinas	19
Surfactantes	19

Metodología	20
Composición Química de las Harinas	20
Evaluación de las Propiedades Funcionales	20
Farinogramas	20
Extensogramas	21
Alveogramas	22
Pruebas de Panificación	23
Separación del Gluten	23
Extracción de las Proteínas	23
Evaluación de las Propiedades Bioquímicas de las Proteínas	24
Pruebas Electroforéticas	24
Diseño Experimental	27
RESULTADOS Y DISCUSION	28
Propiedades Funcionales	28
Farinogramas	28
Extensogramas	30
Alveogramas	30
Pruebas de Panificación	33
Efectos en la Solubilidad de las Proteínas	33
Propiedades Bioquímicas de las Proteínas del Gluten	36
Pruebas Electroforéticas	36
CONCLUSIONES	40
LITERATURA CITADA	42
APENDICE	50

## LISTA DE TABLAS

Tabla #		Página
1.	Interacciones de los glicolípidos con las principales macromoléculas de la harina de trigo.	16
2.	Características farinográficas de las harinas con y sin surfactantes.	29
3.	Características extensográficas de las harinas con y sin surfactantes.	31
4.	Características alveográficas de las harinas con y sin surfactantes.	32
5.	Volumen específico de los panes con y sin surfactantes.	34

## LISTA DE FIGURAS

Figura #		Página
1.	Estructuras químicas de los surfactantes más utilizados en panificación.	6
2.	Efecto de los surfactantes en la concentración de los extractos de globulinas.	35
3.	Electroforegramas de los extractos salinos. A) Con SDS y B) Con LiDS.	37

## RESUMEN

El efecto de dos surfactantes, estearil-2-lactilato de sodio (SSL, por sus siglas en inglés) y monoglicéridos destilados (DMG), sobre algunas propiedades funcionales y bioquímicas de las proteínas del gluten (globulinas, gliadinas y gluteninas) fue determinado en dos tipos de harina. Las técnicas de evaluación incluyeron pruebas reológicas y de panificación con medición del volumen del pan y estudios electroforéticos (SDS-PAGE). Las dos harinas seleccionadas (fuerte y débil) presentaron una diferencia de 2.7% (b.s.) en el contenido de proteína. El porcentaje de absorción de agua de las harinas presentó una disminución sólo significativa con la adición de SSL a la harina fuerte. El SSL tuvo un marcado efecto mejorador sobre la estabilidad (E) y la tolerancia al amasado en ambas harinas. En la harina débil, la E aumentó de 4.45 a 12 min y el índice de tolerancia al amasado (ITA) disminuyó de 60.0 a 2.0 UB; en la harina fuerte la E aumentó de 12 a 28.8 min y el ITA disminuyó de 19.0 a 7.0 UB. Los DMG tuvieron un efecto nulo en las características farinográficas en ambos tipos de harina. En la evaluación extensográfica se observó una disminución significativa en la resistencia a la extensión al añadir SSL a la harina fuerte, mientras que los DMG presentaron un efecto adverso al aumentar este parámetro en las dos harinas; la extensibilidad y la fuerza de ambas harinas no se afectaron con la adición de ningún surfactante. El volumen específico de los panes presentó un aumento significativo sólo con SSL, de 3.85 a 4.43 cm<sup>3</sup>/g y de 4.41 a 5.29 cm<sup>3</sup>/g para las harinas débil y fuerte, respectivamente. Se observaron cambios en el patrón electroforético de las proteínas solubles en solución salina de las dos harinas por efecto del SSL, pero no por efecto de los DMG. Los patrones electroforéticos de las gliadinas y las gluteninas aparentemente no se afectaron con ninguno de los dos surfactantes, pero es necesario optimizar las condiciones de extracción y de las pruebas electroforéticas para estas proteínas.

proteínas solubles en solución salina de las dos harinas por efecto del SSL, pero no por efecto de los DMG. Los patrones electroforéticos de las gliadinas y las gluteninas aparentemente no se afectaron con ninguno de los dos surfactantes, pero es necesario optimizar las condiciones de extracción y de las pruebas electroforéticas para estas proteínas. Se concluye que el SSL interacciona con las globulinas ya que su solubilidad se vio afectada, demostrándose esto mediante la disminución de la concentración de los extractos y por los cambios observados en los patrones electroforéticos,

## INTRODUCCION

Para solucionar algunos problemas tecnológicos que se presentan durante el proceso de panificación se han usado amplia y exitosamente los surfactantes (Becher y Webster, 1979; Knightly, 1988). Estos compuestos pueden actuar como acondicionadores de la masa, facilitando su manejo y procesamiento y mejorando las características de los productos, así como retardando el proceso de envejecimiento del pan (Joensson y Toernaes, 1987). Uno de los surfactantes acondicionadores de la masa más usados es el estearil-2-lactilato de sodio o SSL, mientras que los monoglicéridos destilados o DMG tienen un efecto más pronunciado para retardar el proceso de envejecimiento (Junge *et al.*, 1981; Matz, 1972).

Los efectos de los surfactantes acondicionadores de la masa sobre las propiedades funcionales, durante las etapas de amasado y fermentación, incluyen un posible aumento en la absorción de agua, un mejoramiento en la tolerancia al amasado y un aumento de la extensibilidad, la estabilidad y la capacidad de retención de gas (Junge *et al.*, 1981; Matz, 1972). No obstante, el mecanismo de acción exacto de estos compuestos no es conocido, aunque existen evidencias de



que reaccionan con las proteínas del gluten y alteran su estructura de manera similar a la de los lípidos de la harina (Tamstorf *et al.*, 1986).

Varios investigadores (Chung y Tsen, 1975a,b,c y 1977; Chung *et al.*, 1978 y 1981) llevaron a cabo estudios aplicando la extracción de los surfactantes añadidos a masa panaria con solventes de distinta polaridad y realizando su identificación y cuantificación mediante cromatografía de capa fina. Por otra parte, determinaron el efecto de los surfactantes presentes en la masa panaria en la extracción de las proteínas del gluten solubles en ácido acético 0.05 N. Además, realizaron la filtración en gel de las gluteninas midiendo la absorbancia de las fracciones a 280 nm. Los resultados de estos estudios han arrojado evidencias de que los surfactantes acondicionadores de la masa se unen a las proteínas del gluten promoviendo un mejoramiento de las propiedades de panificación.

Entre las metodologías más utilizadas para estudiar las propiedades bioquímicas de las proteínas del gluten se encuentran los métodos electroforéticos, los cuales han aportado abundante información sobre los pesos moleculares de gliadinas y gluteninas, así como del número de subunidades presentes (Bietz y Wall, 1980; Ng y Bushuk, 1987).

Por otro lado, se ha aceptado que el efecto de los monoglicéridos en el retraso del desarrollo de firmeza de la miga se debe principalmente a su interacción

con la fracción de almidón de la masa, mediante la formación de complejos con amilosa y amilopectina (Knightly, 1988).

En base a lo anterior, el objetivo general del presente estudio fue: Determinar el efecto de SSL y de DMG sobre algunas propiedades funcionales y bioquímicas de las proteínas del gluten (globulinas, gliadinas y gluteninas). Los objetivos específicos fueron: 1) Determinar el efecto de SSL y de DMG en las propiedades funcionales de dos harinas (de alta y baja calidad panadera), mediante pruebas reológicas y de panificación; y 2) determinar el efecto de estos surfactantes en el patrón de proteínas extraídas del gluten (globulinas, gliadinas y gluteninas), utilizando electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes y reductoras (SDS-PAGE).

## ANTECEDENTES

### Surfactantes Utilizados en Panificación

#### **Definición y Propiedades de los Surfactantes**

Los surfactantes o emulsificantes son sustancias que facilitan la formación de sistemas finamente dispersos, mediante la disminución de la tensión superficial entre dos fases inmiscibles. Estos compuestos desarrollan barreras estéricas o eléctricas que impiden la unión de las partículas dispersas. Por lo tanto, su función principal es la estabilización de emulsiones (Matz, 1972; Pomeranz, 1985).

La característica común de los surfactantes es la presencia de un grupo hidrofílico (soluble en soluciones acuosas) y un grupo lipofílico (soluble en lípidos) en una misma molécula. Los surfactantes se clasifican de acuerdo a las características moleculares de sus grupos terminales en aniónicos, catiónicos, anfotéricos y no iónicos. La variación en la funcionalidad entre los surfactantes se debe a la potencia relativa de los dos tipos de regiones, a su relación espacial y al tamaño de la molécula completa, entre otros factores (Pomeranz, 1985).

En panificación, estos compuestos pueden tener funciones aparentemente no relacionadas a su acción emulsificante (Inglett, 1974; Matz, 1972). El mecanismo

por el que actúan estos compuestos en tales casos no es completamente conocido. Sin embargo, sus efectos de acondicionadores o reforzadores de la masa y ablandadores de la miga son evidentes y su uso es amplio (Haridas Rao, 1990; Inglett, 1974; Pylar, 1972).

### **Tipos y Dosis de Surfactantes**

Del amplio espectro de emulsificantes potenciales, sólo son permitidos aquellos que son fisiológica y toxicológicamente seguros. Estos proveen avances tecnológicos en la producción de alimentos (Pomeranz, 1985).

Entre los surfactantes más utilizados en panificación se encuentran los siguientes: monoglicéridos destilados (DMG), ácido diacetiltartárico esterificado a mono y diglicéridos (DATEM), estearil-2-lactilato de sodio y calcio (SSL y CSL), polioxietilen monoglicéridos, polisorbato 60, estearil fumarato de sodio (SSF) y succinil monoglicéridos (SMG). En la Figura 1 se muestran las estructuras químicas de varios de estos compuestos (Pomeranz, 1985; Stauffer, 1983).

Las dosis de surfactantes normalmente usadas en panificación con resultados satisfactorios varían entre 0.3 y 0.6% en base al peso de la harina, aunque se han obtenido mejores resultados combinando un acondicionador de la masa (DATEM) y un ablandador de la miga (DMG) en proporciones iguales (1%) (Joensson y Toernaes, 1987). El nivel de aplicación en la mayoría de los casos es

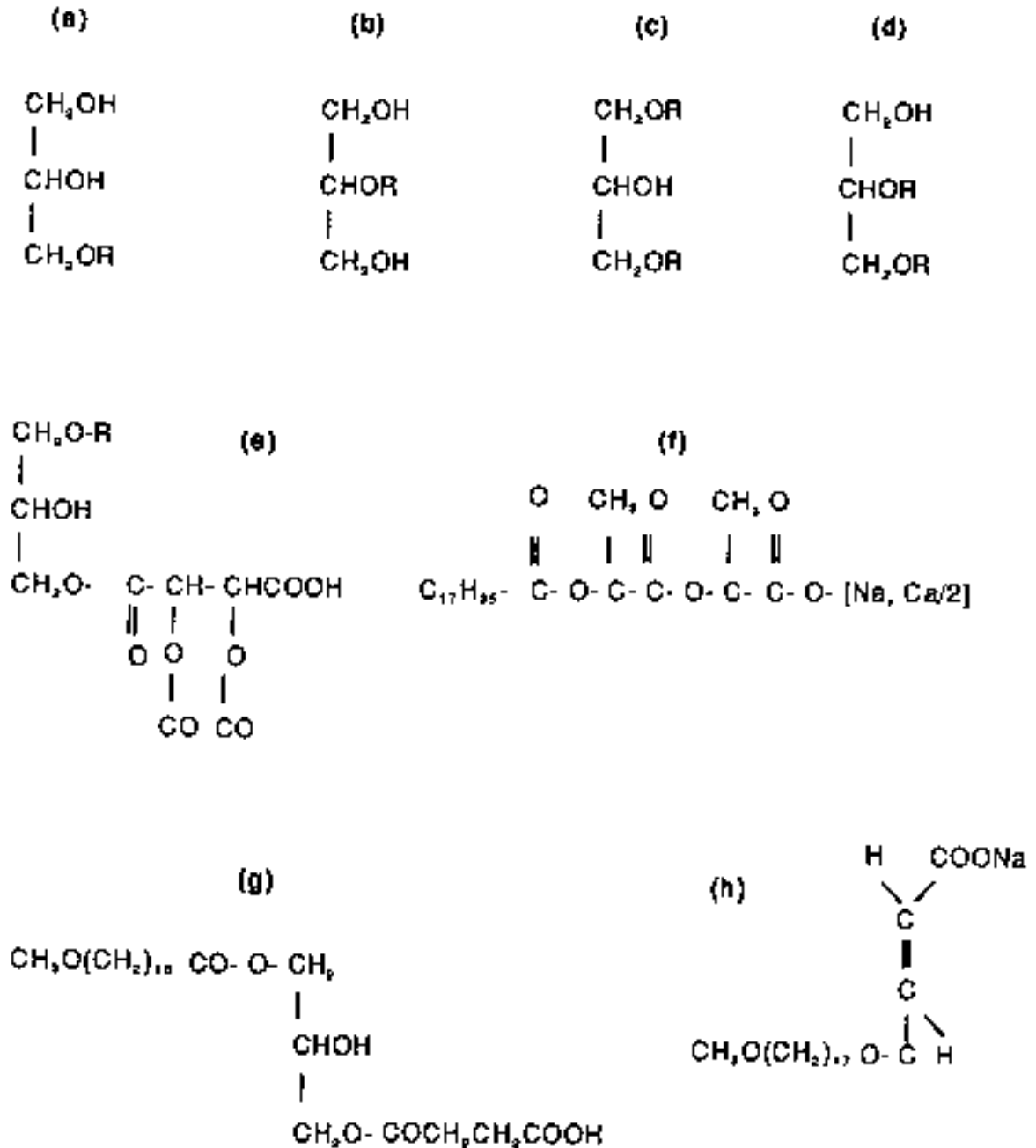


Figura 1. Estructura química de algunos surfactantes utilizados en panificación: (a) 1-monoglicérido; (b) 2-monoglicérido; (c) 1,3-diglicérido; (d) 1,2 diglicérido; (e) Acido diacetiltartárico esterificado a monoglicéridos (DATEM); (f) Estearil-2-lactilato de sodio o calcio; (g) Succinilmonoglicéridos y (h) Estearil fumarato de sodio.

de 0.5% en base al peso de la harina (Pyle, 1972). Es importante señalar que sobrepasar los niveles permitidos para estos ingredientes o usar dosis excesivas puede tener un efecto dañino sobre la masa (Jenkins, 1975).

### Efectos Mejoradores de los Surfactantes

#### **Propiedades Funcionales de la Masa**

La mayoría de los surfactantes que tienen un efecto pronunciado como acondicionadores de la masa son muy hidrofílicos y pueden ser aniónicos (como el SSL) o tener una cadena lateral de polioxietileno (Polisorbato 60) (Stauffer, 1983). Los emulsificantes más usados como acondicionadores de la masa son DATEM, SSL y CSL, sus efectos son multifuncionales en productos de panificación, pero con una función predominando sobre las otras. Sin embargo, el efecto relativo de distintos emulsificantes sobre el volumen del pan varía con el tipo de harina y la técnica de panificación utilizada (Tamstorf *et al.*, 1986).

Las propiedades reológicas de la masa pueden cambiar cuando se añaden surfactantes. En las etapas de amasado y fermentación los efectos son los siguientes: un posible aumento en la absorción de agua, mejora la tolerancia al amasado, aumentan la extensibilidad, la estabilidad y la retención de gas (Junge *et al.*, 1981; Matz, 1972; Tamstorf *et al.*, 1986). Estos efectos son de gran importancia en el proceso de panificación mecanizado. Sin embargo, el efecto benéfico más importante, particularmente del SSL y DATEM, es su capacidad de

mejorar las propiedades de harinas débiles para hacerlas panificables (Haridas Rao, 1990; Inglett, 1974).

Tamstorf y col. (1986) estudiaron el efecto relativo de varios acondicionadores sobre la expansión de la masa durante el horneado. Como tendencia general, todos los aditivos presentaron una misma velocidad en el incremento del volumen de la masa, pero el volumen máximo ocurrió a distintas temperaturas. La masa control (sin surfactante) tuvo una velocidad de expansión mucho más baja, resultando en un bajo volumen final del producto. Estas diferencias se atribuyen a un posible efecto de los surfactantes sobre las propiedades reológicas de la masa.

### **Características del Pan**

En productos de panificación que utilizan levadura, la adición de niveles adecuados de surfactantes resulta en un aumento del volumen del pan, una corteza y miga más tiernas, una estructura de la miga más fina con apariencia más brillante y un retraso en el envejecimiento del producto (Pylar, 1972).

La obtención de una miga más fina se atribuye a que los surfactantes que tienen este efecto disminuyen marcadamente la tensión entre la interfase aire/agua. Esto hace más fácil la subdivisión de las burbujas de aire atrapado durante el

amasado y el formado, debido a que cada burbuja de aire forma un alveolo individual durante la fermentación y el horneado (Junge *et al.*, 1981).

### **Proceso de Envejecimiento del Pan**

El proceso de envejecimiento del pan involucra cambios fisicoquímicos indeseables tanto en el gluten como en el almidón (Krog, 1979). No obstante, el desarrollo de firmeza de la miga es el principal efecto y es debido a la retrogradación o cristalización del almidón (Knightly, 1977).

Actualmente, se acepta que el desarrollo de la firmeza de la miga se debe a la relativamente lenta coacervación de la amilopectina y que esta forma de retrogradación es consecuencia del alineamiento gradual y de la asociación de las ramificaciones a través de puentes de hidrógeno. Sin embargo, la retrogradación completa de amilosa, que ocurre poco después del horneado, hace una contribución importante a la red estructural del producto (Knightly, 1988).

Los surfactantes tienen un efecto retardador del desarrollo de firmeza en la miga. Este efecto está relacionado con la habilidad de estos compuestos para entrar a los gránulos de almidón y formar complejos con amilosa, la cual es incapaz de migrar a la fase acuosa y, por retrogradación, hacer rígida la estructura de la miga (Knightly, 1977).



Tamstorf y col. (1986) compararon los efectos de dos tipos de monoglicéridos en el retraso del desarrollo de firmeza en el pan y encontraron que los monoglicéridos saturados son más efectivos que los insaturados como agentes retardadores del proceso de envejecimiento.

### Calidad de las Harinas Panificables.

La calidad de las harinas panificables depende en gran parte de sus proteínas. Su funcionalidad se debe a las propiedades fundamentales de las distintas proteínas que las componen, a las proporciones relativas de proteínas específicas y a la forma en que interactúan con otras proteínas, con otros constituyentes de la harina y con los ingredientes añadidos. Se ha encontrado que las gluteninas de variedades de trigo de alta calidad tienen un peso molecular promedio mayor que el de gluteninas de trigos de menor calidad; además, que el carácter hidrofóbico de las proteínas del gluten contribuye significativamente a la funcionalidad de la masa (Bushuk, 1985).

### Proteínas de la Harina de Trigo

#### **Clasificación**

Las proteínas de la harina de trigo usualmente son clasificadas de acuerdo a su solubilidad en varios solventes. Tradicionalmente, se usa el procedimiento de clasificación de Osborne, el cual consiste en una extracción secuencial de la harina

con distintos solventes, obteniéndose las proteínas solubles en agua (albúminas), en solución salina (globulinas), en alcohol (gliadinas) y en ácido o álcali (gluteninas) (Kolster y Vereijen, 1993; Pomeranz, 1980a).

La conveniencia de usar la solubilidad como base para la clasificación de las proteínas ha sido muy discutida. Los procedimientos de fraccionamiento basados en las diferencias en la solubilidad son empíricos y las fracciones pueden contener mezclas de proteínas. Sin embargo, estos procedimientos son usados ampliamente ya que no se han desarrollado otros mejores o más aceptables (Pomeranz, 1980a).

### **Características**

Las fracciones de albúminas y globulinas representan cada una aproximadamente el 10% del total de proteínas en la harina y las fracciones de gliadinas y gluteninas aproximadamente 40% cada una (Schofield y Booth, 1983).

Albúminas y Globulinas. Las albúminas y globulinas usualmente no son consideradas como constituyentes del gluten. Sin embargo, algunos investigadores las consideran esenciales debido a que mejoran notablemente su funcionalidad al adsorberse o asociarse fuertemente, pero no covalentemente, a las gliadinas y las gluteninas, con lo cual pueden llegar a afectar el desarrollo y fuerza de la masa mediante intercambio de enlaces disulfuro involucrando grupos tiol endógenos (Bietz y Wall, 1980).

Gliadinas. Existen al menos 46 gliadinas, la mayoría son monoméricas con pesos moleculares de 30 000 a 40 000 Da ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  gliadinas) y de 60 000 a 80 000 Da ( $\omega$  gliadinas) (Bietz y Wall, 1980). Las gliadinas se caracterizan por tener un gran número de grupos amida laterales (aproximadamente un tercio del total de residuos de aminoácidos) y los puentes de hidrógeno que se forman entre ellos contribuyen a la estabilidad de las  $\alpha$ -hélices. Además, poseen cadenas laterales hidrofóbicas con alta probabilidad de tener segmentos de  $\alpha$ -hélices embebidas en regiones hidrofóbicas (Il *et al.*, 1991).

Los residuos de cisteína de las gliadinas forman enlaces disulfuro intramoleculares, los cuales junto con los puentes de hidrógeno contribuyen a la conformación de hoja de las cadenas de proteína (Thalarn y Shewry, 1985; Wall, 1979). Bajos niveles de aminoácidos básicos tales como lisina, arginina, histidina y grupos carboxilo libres hacen que esta fracción o mezcla de proteínas pertenezca al grupo de proteínas con menos carga neta conocidas (Il *et al.*, 1991).

Gluteninas. La fracción de glutenina es compleja, comprende grandes agregados de proteína con pesos moleculares por el rango de millones y consiste de subunidades que están unidas por enlaces disulfuro. Basados en su peso molecular, se distinguen dos clases de subunidades de glutenina: de alto (97-136 kDa) y bajo (31-48 kDa) peso molecular. Las variedades de trigo contienen de tres a cinco subunidades de alto peso molecular (Kolster *et al.*, 1992; Manley *et al.*,

1992) y aproximadamente 15 subunidades de bajo peso molecular (Kolster *et al.*, 1992).

### **Funcionalidad**

Durante el amasado, cuando se añade el agua, las gliadinas y las gluteninas forman un complejo coloidal tenaz conocido como gluten, el cual es el responsable de las propiedades de las harinas panificables como lo es la capacidad de retención de gas (Pomeranz, 1980a). Durante este proceso, las gluteninas pueden interactuar con las gliadinas de bajo peso molecular, albúminas, globulinas y  $\omega$ -gliadinas en al menos tres formas: 1) intercambio de enlaces disulfuro, lo cual puede promover configuraciones más estables al incorporar simultáneamente otros polipéptidos; 2) interacciones covalentes entre grupos de unión previamente inaccesibles; y 3) asociaciones no covalentes mediante uniones hidrofóbicas o puentes de hidrógeno (Bietz y Wall, 1980).

### **Interacciones de los Surfactantes con los Principales Componentes de la Harina de Trigo**

Se ha establecido que los emulsificantes actúan parcialmente sobre la superficie o que interactúan con los componentes de la harina (proteínas, lípidos y carbohidratos). El SSL, un acondicionador multifuncional, interactúa con las proteínas y el almidón, reforzando la red tridimensional formada por proteínas, almidón y lípidos (Haridas Rao, 1990).

## Proteínas del Gluten

La función de los acondicionadores de la masa a nivel molecular no se conoce en detalle. Se han desarrollado varias teorías acerca de su función en la masa. Una de ellas sugiere que la región hidrofóbica de los surfactantes se une a glutenina por medio de enlaces hidrofóbicos entre la cadena hidrocarbonada del surfactante y la región lipofílica de la proteína. Asimismo, los surfactantes aniónicos se pueden unir a gliadina por interacciones electrostáticas entre el grupo polar del surfactante y las regiones polares de la proteína. La unión simultánea de los surfactantes a glutenina y gliadina puede contribuir al efecto reforzador de la masa (Knightly, 1986; Stauffer, 1983; Tamstorf *et al.*, 1986).

Durante la preparación de la masa ocurren interacciones entre el surfactante y las proteínas mediante la formación de enlaces hidrofóbicos, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. El esqueleto básico de la proteína con sus enlaces covalentes no interactúa con los emulsificantes, la interacción predominante es con los grupos laterales de los aminoácidos de la proteína. La naturaleza de los enlaces formados depende de la polaridad de la cadena lateral, la estructura del lípido y el valor de pH del sistema (Meuser, 1979; Schuster, 1984).

La acción de los surfactantes no iónicos es menos entendida. Green (1975) propuso que estos compuestos forman múltiples puentes de hidrógeno con los grupos amida de las proteínas del gluten. Si esto ocurre, la agregación de las

proteínas podría ser estabilizada por una red intermolecular. Möhr y Kroll (1986) encontraron que los surfactantes no iónicos se unen a gliadina mediante una interacción compleja. La interacción del surfactante con glutenina es más débil que aquella con gliadina y es principalmente de carácter hidrofóbico. Entre gliadina y el emulsificante se dan preferentemente interacciones hidrofílicas. Por lo anterior, estos autores recomendaron una mezcla de surfactantes para modificar las propiedades de la masa.

Aunque se ha señalado que el mecanismo de acción exacto de los surfactantes no es conocido, hay evidencias de que estos compuestos interaccionan con las proteínas del gluten de manera similar a la de los lípidos de la harina (Tamstorf *et al.*, 1986). Los lípidos polares libres de la harina, principalmente monogalactosildiglicéridos y digalactosildiglicéridos, pueden unirse a gliadina por enlaces hidrofílicos y a glutenina por enlaces hidrofóbicos. En el gluten no fraccionado, estos lípidos aparentemente se unen a ambos grupos de proteínas al mismo tiempo. El complejo formado posee la capacidad de retención de gas y puede ser descrito como unidades de gliadina y glutenina unidas por lípidos polares (Hoseney *et al.*, 1970).

En la Tabla 1 se presentan los tipos de enlaces que pueden formarse en las interacciones de los glicolípidos con las proteínas del gluten y el almidón, detectados por distintas metodologías (Pomeranz *et al.*, 1980b).

Tabla 1. Interacciones de los glicolípidos con las principales macromoléculas de la harina de trigo.<sup>1</sup>

Método de Estudio	Tipo de enlace entre el glicolípidos y		
	Almidón	Gliadina	Glutenina
Extracción por solventes		Puentes de hidrógeno	Hidrofóbicos
Unión de lípidos	Puentes de hidrógeno		
Infrarrojo	Puentes de hidrógeno	Van der Waals y P. de hidrógeno	Van der Waals y P. de hidrógeno
RMN <sup>2</sup>	P. de hidrógeno y dipolos inducidos		Hidrofóbicos y P. de hidrógeno
Autorradiografía	Interacción fuerte en pan		Interacción en masa
Prueba de panificación		Hidrofóbicos y Puentes de hidrógeno	

<sup>1</sup> Pomeranz *et al.*, 1980b.

<sup>2</sup> Resonancia Magnética Nuclear.

Otra de las teorías se basa en las propiedades físicas de los surfactantes polares. De acuerdo a esto, los surfactantes polares se asocian con la proteína gliadina en estructuras líquidas-cristalinas en la fase acuosa que rodea las burbujas de gas y los gránulos de almidón y, por esto, contribuyen a la extensibilidad de la masa, permitiendo que las burbujas de gas se expandan con el resultante aumento en el volumen de los productos (Stauffer, 1983; Tamstorf *et al.*, 1986).

Más recientemente, Hammer y col. (1990) usaron un sistema modelo para medir la tensión superficial de mezclas de proteínas y lípidos e investigar, bajo condiciones estrictamente controladas, las interacciones entre gliadinas aisladas y algunos lípidos de la harina de trigo. Ellos detectaron la presencia de interacciones entre diglicéridos y monogalactosildiglicéridos con todas las gliadinas estudiadas; mientras que no observaron interacciones entre estas proteínas y los monoglicéridos.

## Almidón

Algunos emulsificantes, principalmente los monoglicéridos, forman complejos con el almidón, particularmente con amilosa. En la década de los 70's se creía que el almidón gelatinizaba antes de la formación del complejo. La explicación fue sujeta a continuo debate y las opiniones estuvieron a favor de la formación de un tipo de clatrato, con la molécula larga de amilosa enrollada alrededor de una molécula



extendida de emulsificante (Matz, 1972). Sin embargo, más recientemente se ha aceptado que este tipo de surfactantes forma complejos tanto con amilosa como con amilopectina (Knightly, 1988).

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

#### **Selección de las Harinas**

Se seleccionaron dos harinas de trigo comerciales para panificación, una de alta calidad o fuerte (F) y otra de baja calidad o débil (D), en base a pruebas reológicas que se realizaron en un Farinógrafo (Tipo FAVR-2, C.W. Brabender Instruments, Inc., Hackensack, NJ, USA) y en un Alveógrafo (Tipo MA-82, M. Chopin & Cie, Boulogne, Francia).

#### **Surfactantes**

Se seleccionaron dos de los surfactantes mas utilizados en panificación: uno aniónico, el estearil-2-lactilato de sodio o SSL (marca comercial Emplex, American Ingredients Company, Kansas City, MO, USA) y otro no iónico, los monoglicéridos destilados o DMG (Myverol Mighty Soft, Eastman Chemical Products Inc., Kingsport, TN, USA). Ambos compuestos, de alto grado de pureza (>90%), se aplicaron individualmente en dosis fijas de 0.5% en base al peso de la harina y se incorporaron al iniciar el amasado.

## Metodología

### **Composición Química de las Harinas**

A las harinas seleccionadas se les determinó por triplicado, mediante los métodos oficiales lo siguiente: humedad (Método 44-15A; AACC, 1976), proteína (N X 5.7)(Método 46-12; AACC, 1976), extracto etéreo (éter etílico) (Método 30-25; AACC, 1976) y cenizas (Método 08-12; AACC, 1976).

De la caracterización química parcial se obtuvieron los siguientes datos (14% base húmeda): 9.20% de proteína, 1.32% de extracto etéreo y 0.50% de cenizas para la harina débil; y 10.75% de humedad, 11.55% de proteína, 1.22% de extracto etéreo y 0.42% de cenizas para la harina fuerte.

### **Evaluación de las Propiedades Funcionales**

Las pruebas reológicas realizadas a las harinas con y sin surfactante incluyeron farinogramas, alveogramas y extensogramas, los cuales a continuación se especifican (ver Apéndice):

Farinogramas. Se llevaron a cabo aplicando el método 54-21 de la AACC (1976) por el procedimiento de peso de harina constante (300 g) y se determinaron los siguientes factores:

a) **Porcentaje de absorción de agua** (14% base húmeda). Es el porcentaje de agua necesario para lograr la consistencia óptima de la masa (curva centrada en las 500 Unidades Brabender o UB).

b) **Tiempo de desarrollo o tiempo pico**, es el tiempo en minutos comprendido entre el inicio de la prueba (al añadir el agua) y el punto máximo de la curva centrada en las 500 UB.

c) **Estabilidad**, se define como la diferencia de tiempo, en minutos, entre el punto en el que la parte superior de la curva alcanza una consistencia de 500 UB y el punto en que ésta sale de la línea de 500 UB. Este valor da una indicación general de la tolerancia de la harina al amasado.

d) **Índice de Tolerancia al Amasado**, es la diferencia en la consistencia (en UB) entre el pico máximo de la curva y la consistencia de la masa medida cinco minutos después (Shuey, 1984).

Extensogramas. Se utilizó un Extensógrafo (C. W. Brabender Instruments Inc., Hackensack, NJ, USA) conforme al método 54-12 de la AACC (1976), con la finalidad de obtener la siguiente información:

- 1) Extensibilidad de la masa, medida como la longitud total de la curva (en mm).
- 2) Resistencia a la extensión, obtenida como la altura máxima de la curva (en UB) a los cinco minutos de iniciar el extensograma.
- 3) Fuerza de la masa, representada por el área total bajo la curva expresada en  $\text{cm}^2$ .
- 4) **Relación Resistencia/Extensibilidad**. Es de importancia decisiva para predecir el comportamiento de la harina.

**Alveogramas** Este ensayo se realizó en un Alveógrafo Chopin MA-82, para obtener información adicional sobre la **extensibilidad**, resistencia a la extensión y fuerza de la harina, siguiendo las instrucciones del manual proporcionado por el fabricante. La información proporcionada está estrechamente relacionada con la del extensógrafo y los parámetros obtenidos son:

**P** = Sobrepresión máxima que está relacionada con la resistencia de la masa a la deformación; es la media de las ordenadas máximas medidas en mm y multiplicada por 1.1.

**L** = Abscisa media a la ruptura expresada en mm, relacionada con la elasticidad de la masa, se mide sobre la línea cero desde el origen de la curva hasta el punto que corresponda perpendicularmente al punto donde cae la presión debido a la ruptura de la burbuja de masa.

**G** = Índice de hinchamiento, leído en las tablas, de acuerdo a la abscisa media a la ruptura que corresponda.

**P/L** = Relación de configuración de la curva.

**W** = Trabajo de deformación de un gramo de masa, expresado en julios x  $10^{-4}$ . Se calcula con la siguiente fórmula:  $W = 1.32 \times V/L \times S$ ,

donde:

**V** = Volumen del aire en  $\text{mm}^3$ , igual a  $G^2$ .

**S** = Área bajo la curva, en  $\text{cm}^2$ .

### **Pruebas de Panificación**

Se llevaron a cabo por el método oficial (Método 10-10; AACC, 1976). En esta prueba se adicionó  $\alpha$ -amilasa (0.07% base seca a la harina débil y 0.10% b. s. a la harina fuerte) para igualar la actividad diastásica de ambas harinas en el rango de viscosidad máxima adecuado para panificación (300-700 UB), según la viscosidad obtenida en el Amilógrafo o Viscógrafo "E" (Modelo No. 8025, C. W. Brabender Instruments Inc., Hackensack, NJ, USA). A los panes obtenidos se les determinó el peso (g) y el volumen ( $\text{cm}^3$ ) por desplazamiento de semillas de nabo (Paredes-López *et al.*, 1987), para posteriormente calcular el volumen específico.

### **Separación del Gluten**

Se prepararon masas con y sin surfactante en el farinógrafo a una consistencia estándar (500 UB), se tomaron porciones de 100 g, se lavaron manualmente en una corriente de agua destilada a 15°C (MacRitchie, 1984) durante 15 minutos y se dejaron reposar por 2 horas a temperatura ambiente. Los glútenes obtenidos se congelaron a -40°C para posteriormente liofilizarlos (Esparza, 1988) y pulverizarlos manualmente en un mortero.

### **Extracción de las Proteínas**

Primeramente se extrajeron dos veces las globulinas en una solución de NaCl al 5% durante 2.5 y 1 horas, respectivamente, con agitación magnética a 4°C (Esparza, 1988); los sobrenadantes se separaron después de centrifugar en una

Centrífuga Clínica IEC (Serie No. 4282 4317, International Equipment Co., A division of Damon, Needham Hts., MA, USA) a velocidad 5 por 20 minutos. Del residuo obtenido, se extrajeron dos veces las gliadinas con dioxano al 40%, grado reactivo Merck, (Popineau y Godon, 1982) o con etanol al 70% (Kazemie y Bushuk, 1990) durante 16 y 2 horas a 4°C, respectivamente (Esparza, 1986); después de la centrifugación, el residuo que contenía las gluteninas se disolvió parcialmente en ácido acético 0.05 N con agitación magnética durante 16-20 horas. A todos los extractos se les midió absorbancia a 280 nm en un espectrofotómetro Spectronic 21D Milton Roy y se determinó la concentración de proteína por el método del ácido bicinónico, utilizando seroalbúmina de bovino como estándar (Deutscher, 1990).

### **Evaluación de las Propiedades Bioquímicas de las Proteínas**

Pruebas Electroforéticas. Las globulinas, gliadinas y gluteninas extraídas de los glútenes con y sin surfactante se sometieron a electroforesis en condiciones desnaturalizantes y reductoras utilizando dodecil sulfato de sodio o SDS y 2-mercaptoetanol (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). Se utilizó un gel discontinuo de gradiente de poliacrilamida (Sigma) del 10 al 18% (Laemmli, 1970; Ng y Bushuk, 1987).

La composición, en porcentaje, de los geles superior o de concentración e inferior o de separación se señala a continuación:

	<u>Gel Superior</u>	<u>Gel Inferior</u>	
		<u>10%</u>	<u>18%</u>
Acrilamida:Bisacrilamida (29.2%:0.8%).	13.1	33.33	60.0
Buffer Tris:HCl 1.5 M, pH 8.8	---	25.5	25.5
Buffer Tris:HCl 0.5 M, pH 6.8	24.8	---	---
SDS al 20%	1.0	0.5	0.5
Persulfato de amonio al 10%	0.5	0.5	0.5
N,N,N',N'-Tetrametiletildiamina	0.05	0.033	0.033
Agua bidestilada	60.5	40.0	13.33

En este análisis se usó una cámara vertical BRL (Belhesda Research Laboratories, Gailesburg, MD, USA) y se llenaron los depósitos inferior y superior con un buffer Tris 0.025 M, Glicina 0.192 M, SDS 0.1%, pH 8.3. Los extractos de proteínas tratados previamente con un volumen igual de buffer muestra 2X (125 mM Tris-HCl, 4% SDS, 20% Glicerol, 10% 2-Mercaptoetanol, 0.05% Azul de Bromofenol, pH 6.8) y los estándares fueron calentados en agua hirviendo por 5 minutos y enfriados en hielo.



Para estimar los pesos moleculares de las proteínas extraídas se utilizaron las siguientes proteínas patrón o estándares de Sigma y Bio-Rad (Richmond, CA, USA): miosina (200,000 Da),  $\beta$ -galactosidasa (116,250 Da), fosforilasa b (97,400 Da), seroalbúmina de bovino (66,200 Da), ovalbúmina (45,000 Da), anhidrasa carbónica (31,000 Da), inhibidor de tripsina de soya (21,500 Da) y lisozima (14,400 Da).

La corrida se llevó a cabo a corriente constante, de 10 - 30 mA durante toda la noche o hasta que el azul de Bromofenol salió del gel. Los geles se tiñeron con azul brillante de Coomasie R-250 al 0.125% en solución fijadora de metanol:ácido acético:agua (50:10:40) durante toda la noche y se destiñeron en la misma solución pero sin el colorante.

El tratamiento de las proteínas con SDS teóricamente provoca una disociación de moléculas unidas no covalentemente. Se sustituyó este compuesto por un detergente menos fuerte como es el dodecil sulfato de litio (LiDS), ya que en un estudio realizado por Sinclair y col. (1981), este compuesto permitió la retención del complejo proteína-grupo heme del citocromo P-450 en aproximadamente un 50%. En el presente estudio se quería mantener los posibles complejos formados entre las proteínas y los surfactantes adicionados.

## **Diseño Experimental**

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con 3 repeticiones por tratamiento, a excepción del farinógrafo con 5. Se tuvieron 3 tratamientos por cada tipo de harina (de alta y baja calidad panadera): harina sin surfactante, harina con 0.5% de SSL y harina con 0.5% de DMG. El análisis estadístico de las variables medidas en las pruebas reológicas y de panificación se realizó de forma independiente para cada harina e incluyó análisis de varianza de las medias de los tratamientos y Prueba de Rango Múltiple de Duncan para comparar las medias con un nivel de significancia de 0.05 (SAS, 1991).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se determinó el efecto del SSL y de los DMG en dos tipos de harinas para panificación: una de baja calidad o débil (D) y otra de alta calidad o fuerte (F) sobre las propiedades funcionales y bioquímicas de las proteínas del gluten. A continuación se presentan y discuten los resultados obtenidos en este estudio.

### Propiedades Funcionales

#### Farinogramas

De manera similar a lo reportado para SSL por Chung y Tsen (1975c), se obtuvo una disminución en el porcentaje de absorción de agua de las dos harinas, tanto con SSL como con DMG, sin embargo, esta disminución fue estadísticamente significativa ( $\alpha=0.05$ ) sólo al adicionar SSL a la harina F (Tabla 2). En cuanto al tiempo de desarrollo de la masa, se tuvo una disminución significativa con SSL mientras que con DMG se registró un aumento, el cual sólo fue significativo para la harina D. Para la estabilidad de la masa se tuvo un aumento significativo con la adición de SSL en ambas harinas, mientras que con la de DMG no hubo efecto con respecto a la harina sin surfactante. El efecto de SSL en la estabilidad se reflejó en el índice de tolerancia al amasado el cual disminuyó significativamente, esto indica

**Tabla 2. Características farinográficas de las harinas con y sin Surfactantes<sup>1</sup>**

Tratamiento	%AA	TD	E	ITA
Harina Débil	61.04 <sup>a</sup>	3.55 <sup>b</sup>	4.45 <sup>b</sup>	60.00 <sup>a</sup>
Harina Débil/SSL	60.08 <sup>a</sup>	2.05 <sup>c</sup>	12.00 <sup>a</sup>	2.00 <sup>b</sup>
Harina Débil/DMG	60.92 <sup>a</sup>	4.40 <sup>a</sup>	4.50 <sup>b</sup>	60.00 <sup>a</sup>
Harina Fuerte	61.87 <sup>a</sup>	5.90 <sup>a</sup>	12.00 <sup>b</sup>	19.00 <sup>a</sup>
Harina Fuerte/SSL	60.87 <sup>b</sup>	3.10 <sup>b</sup>	28.80 <sup>a</sup>	7.00 <sup>b</sup>
Harina Fuerte/DMG	61.49 <sup>ab</sup>	6.35 <sup>a</sup>	12.60 <sup>b</sup>	18.00 <sup>a</sup>

%AA= % Absorción de agua; TD= Tiempo de desarrollo, min; E= Estabilidad, Unidades Brabender; ITA= Índice de Tolerancia al amasado, UB.

<sup>1</sup> Datos con distinta letra dentro de cada columna y para cada harina son diferentes significativamente. Pruebas de rango múltiple de Duncan,  $\alpha=0.05$ ,  $r=5$ .

un aumento en la tolerancia al amasado. Estos últimos resultados concuerdan con los reportados por Chung y Tsen (1975c) para SSL.

### **Extensogramas**

A diferencia de lo reportado en la literatura, referente a que algunos surfactantes pueden aumentar la extensibilidad de la masa (Junge *et al.*, 1981; Tamstorf *et al.*, 1986), en los resultados obtenidos en el extensógrafo (Tabla 3) se detectó un efecto adverso al adicionar DMG en ambas harinas, es decir, aumentó la resistencia a la extensión, mientras que no hubo ningún efecto en la extensibilidad ni en la fuerza de la harina (representada por el área bajo la curva) con ninguno de los dos surfactantes.

### **Alveogramas**

A diferencia de lo esperado, en los resultados alveográficos (Tabla 4) no hubo cambio significativo por efecto de SSL ni de DMG en la extensibilidad (L) ni en la fuerza de la masa (W), en ninguna de las dos harinas. En cuanto a la lonicidad (P) se registró un aumento significativo al adicionar SSL a la harina F pero no tuvo efecto en la harina D.

**Tabla 3. Características extensográficas de las harinas con y sin surfactantes<sup>1</sup>**

Tratamiento	RE (UB)	EXT (mm)	RE/EXT	A (cm <sup>2</sup> )
Harina Débil	211.67 <sup>b</sup>	164.17 <sup>ab</sup>	1.29 <sup>b</sup>	57.03 <sup>a</sup>
Harina Débil/SSL	227.50 <sup>b</sup>	168.67 <sup>a</sup>	1.35 <sup>b</sup>	65.17 <sup>a</sup>
Harina Débil/DMG	285.83 <sup>a</sup>	155.33 <sup>b</sup>	1.84 <sup>a</sup>	69.87 <sup>a</sup>
Harina Fuerte	327.50 <sup>b</sup>	195.67 <sup>a</sup>	1.69 <sup>a</sup>	117.77 <sup>a</sup>
Harina Fuerte/SSL	280.00 <sup>c</sup>	216.67 <sup>a</sup>	1.29 <sup>b</sup>	119.23 <sup>a</sup>
Harina Fuerte/DMG	359.17 <sup>a</sup>	191.67 <sup>a</sup>	1.88 <sup>a</sup>	127.03 <sup>a</sup>

RE= Resistencia a la extensión; EX= Extensibilidad; A= Area bajo la curva.

<sup>1</sup> Datos con distinta letra dentro de cada columna y para cada harina son diferentes significativamente. Prueba de rango múltiple de Duncan,  $\alpha=0.05$ ,  $r=3$ .

**Tabla 4. Características alveográficas de las harinas con y sin surfactantes<sup>1</sup>**

Tratamiento	P (mm)	L (mm)	P/L	W (julios x 10 <sup>-4</sup> )
Harina Débil	72.33 <sup>a</sup>	52.00 <sup>a</sup>	1.40 <sup>a</sup>	128.47 <sup>a</sup>
Harina Débil/SSL	73.67 <sup>a</sup>	52.33 <sup>a</sup>	1.43 <sup>a</sup>	125.57 <sup>a</sup>
Harina Débil/DMG	73.33 <sup>a</sup>	42.33 <sup>a</sup>	1.76 <sup>a</sup>	107.97 <sup>a</sup>
Harina Fuerte	64.33 <sup>b</sup>	77.33 <sup>a</sup>	0.93 <sup>a</sup>	186.37 <sup>a</sup>
Harina Fuerte/SSL	69.67 <sup>a</sup>	82.00 <sup>a</sup>	0.85 <sup>a</sup>	198.87 <sup>a</sup>
Harina Fuerte/DMG	66.67 <sup>ab</sup>	73.33 <sup>a</sup>	0.93 <sup>a</sup>	182.30 <sup>a</sup>

P= Sobrepresión máxima, L= Abscisa media a la ruptura, W= Traba o de deformación de un gramo de masa.

<sup>1</sup>Datos con distinta letra dentro de cada columna y para cada harina son diferentes significativamente. Prueba de rango múltiple de Duncan,  $\alpha = 0.05$ ,  $r=3$ .

## **Pruebas de Panificación**

Como puede observarse en la Tabla 5, los panes de las harinas con SSL presentaron un volumen específico significativamente mayor a los de las harinas sin este surfactante para ambos tipos de harina; mientras que el aumento en el volumen específico de los panes con DMG no fue significativo con respecto al control. Estos efectos positivos en el volumen específico de los panes con SSL coinciden con los resultados farinográficos, en donde se observó un mejoramiento sustancial de las propiedades reológicas al agregar este surfactante.

### **Efectos en la Solubilidad de las Proteínas**

Al medir la absorbancia a 280 nm de los extractos en solución salina, se observó una tendencia a la disminución de la concentración de las globulinas en los tratamientos con SSL en las dos harinas (Figura 2). Esto podría indicar que el SSL está interaccionando con ellas de tal manera que afecta su solubilidad. La concentración de los extractos salinos de masas de ambas harinas con DMG fueron iguales a los controles respectivos o mayores a los tratamientos con SSL.

Por otra parte, no se detectó un efecto consistente en la concentración de los extractos de gliadinas y de gluteninas. En su estudio, Chung y Tsen (1975a) encontraron que la adición de SSL provocó una disminución de la solubilidad de las



**Tabla 5. Volumen específico de los panes con y sin surfactantes<sup>1</sup>**

Tratamiento	Harina D	Harina F
Sin surfactante	3.85 <sup>b</sup>	4.41 <sup>b</sup>
Con SSL	4.43 <sup>a</sup>	5.29 <sup>a</sup>
Con DMG	4.10 <sup>ab</sup>	4.60 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Datos con distinta letra dentro de cada columna son diferentes significativamente.

Prueba de rango múltiple de Duncan,  $\alpha=0.05$ ,  $r=3$ .

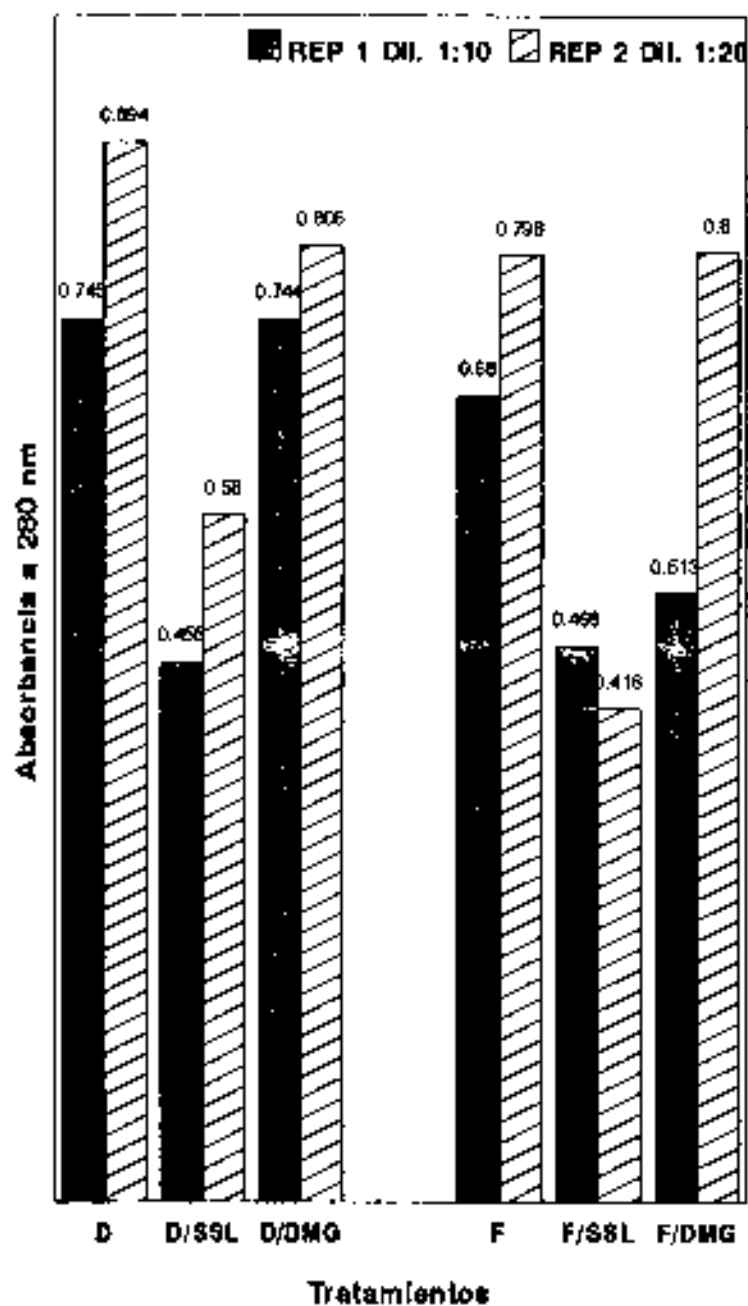


Figura 2. Efecto de los surfactantes en la concentración de los extractos de globulinas.

proteínas extraídas con ácido acético 0.05 N sin previa extracción salina, sin embargo, no es posible saber si ese efecto ocurrió sobre las gluteninas o las globulinas que no se extrajeron previamente y que pudieron haberse extraído en la solución de ácido acético.

### Propiedades Bioquímicas de las Proteínas del Glutén

#### **Pruebas Electroforéticas**

Las pruebas electroforéticas en condiciones desnaturalizantes y reductoras (SDS-PAGE) para las proteínas solubles en solución salina, presentaron cambios en el patrón de proteínas por efecto del SSL con respecto al control en ambas harinas (Figura 3, A y B). La intensidad de las bandas cercanas a un peso molecular de 86 kDa disminuyó, mientras que la de las próximas a 31 kDa aumentó cuando se cargaron 60  $\mu$ g de proteína por pozo. Fullington (1974) encontró que, al adicionar SSL a un extracto de proteínas solubles en agua, se formó un fuerte complejo y sugirió que el estearil-2-lactilato de sodio o de calcio en una masa puede actuar como agente de unión entre los lípidos emulsificados y las proteínas de la harina. En el presente estudio, la solubilidad de las globulinas fue afectada al adicionar el SSL, indicando una probable interacción entre este surfactante y las globulinas, lo cual posiblemente redujo la concentración de proteína en los extractos y produjo los cambios observados en el patrón electroforético.

KDa

200

116  
97

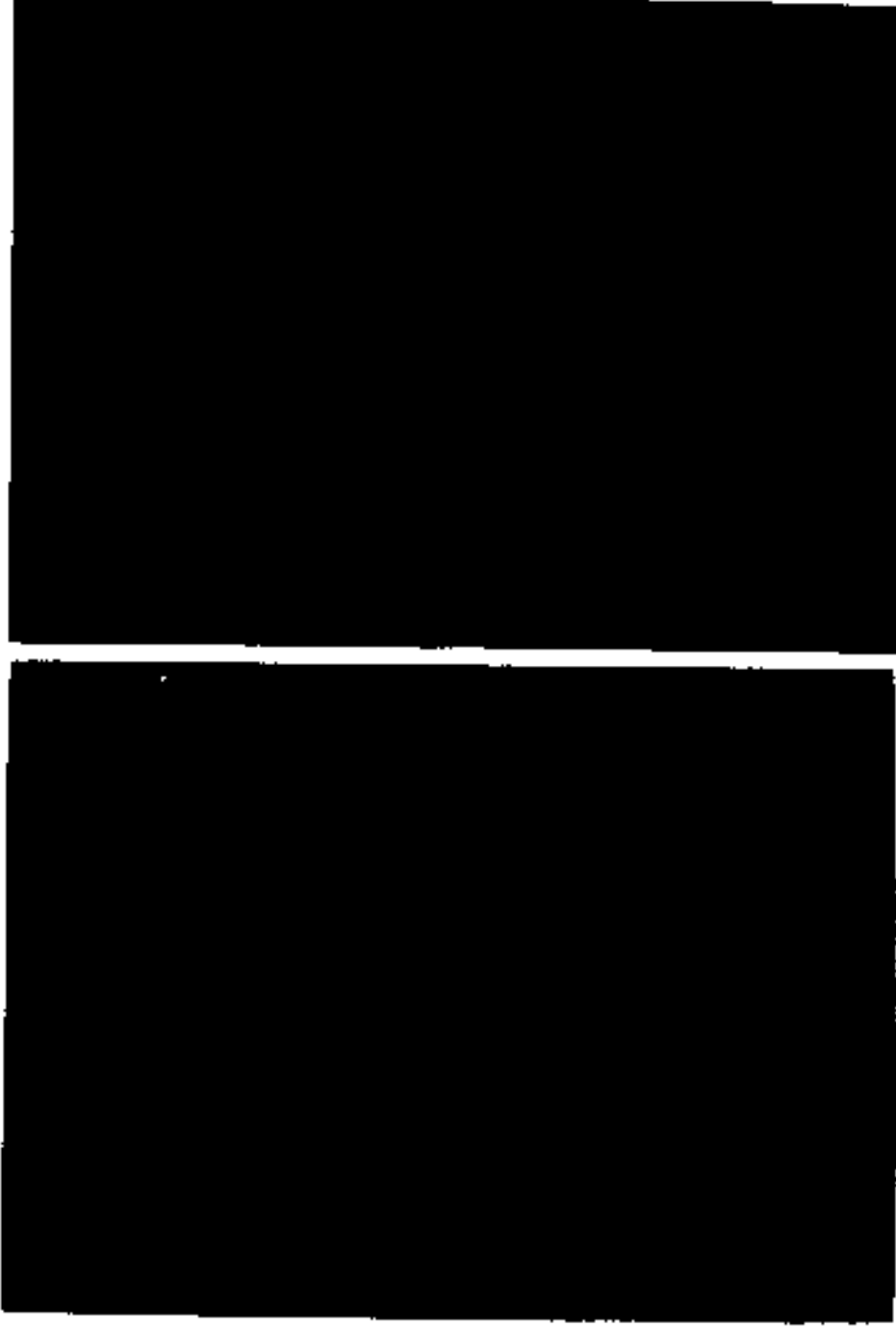
66

45

31

21

14



1 2 3 4 5 6 7 8 1 2 3 4 5 6 7 8

A

B

Figura 3. Electroforesis de los extractos salinos. A) Con SDS, y B) Con LiDS. Los números corresponden a: 1) Estándares de proteínas de pesos moleculares altos, 2) Estándares de proteínas de pesos moleculares bajos; 3) Harina D sin surfactante; 4) Harina D con SSL; 5) Harina D con DMG; 6) Harina F sin surfactante; 7) Harina F con SSL; 8) Harina F con DMG

Por otra parte, no se encontró ningún efecto sobre el patrón de proteínas solubles en solución salina debido a la adición de DMG con respecto al control (Figura 3, A y B), esto último concuerda con lo reportado por Kovács y cols. (1992) en cuyo estudio no se encontraron efectos en el patrón electroforético de las globulinas por la adición de monoglicéridos y diglicéridos a harina de trigo para elaborar pasta.

Basándonos en los resultados obtenidos por Sinclair y col. (1981), en donde se logró la retención de aproximadamente el 50% del complejo proteína-grupo heme del citocromo P-450 al sustituir el SDS por LIDS en los análisis electroforéticos, se decidió probar esta sustitución en nuestro estudio con la finalidad de mantener los posibles complejos formados entre los surfactantes añadidos a la masa panaria y las proteínas del gluten. Los resultados electroforéticos obtenidos de estos experimentos no presentaron cambios que indicaran que el uso del detergente más fuerte (SDS) estuviera interfiriendo o destruyendo alguna posible interacción de los surfactantes con las globulinas extraídas del gluten. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que el LIDS sea lo suficientemente agresivo para producir el mismo efecto que el SDS en nuestro sistema de estudio, a diferencia de lo reportado por Sinclair y col. (1981).

En lo que respecta a extracción de las gliadinas, no funcionó adecuadamente el dioxano al 40% utilizado como solvente, a diferencia de lo reportado por Popineau y Godon (1982); ya que este solvente extrajo además de gliadinas otras proteínas, observándose en los geles bandas de proteínas de pesos moleculares correspondientes a subunidades de gluteninas. Por lo tanto, se seleccionó el etanol al 70% como solvente para extraer las gliadinas con mayor grado de pureza.

En las pruebas electroforéticas realizadas a gliadinas y gluteninas no se observó un efecto aparente en los patrones de proteínas debido a la adición de los surfactantes. No obstante, cabe señalar que no fue posible obtener una buena separación y resolución de las bandas de proteínas, por lo que es necesario continuar trabajando en la búsqueda de las mejores condiciones tanto en los procesos de extracción de las proteínas como en las pruebas electroforéticas.

Aunque no fue posible concluir si hubo o no un efecto de los surfactantes sobre las gliadinas y las gluteninas, de existir una interacción que no afecte su solubilidad, tal vez no se podría detectar directamente mediante electroforesis, ya que las condiciones utilizadas en el tratamiento de las muestras (desnaturalización y reducción) podrían alterar o anular cualquier tipo de unión entre las moléculas (Kovács *et al.*, 1992).

## CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas reológicas y de panificación, se puede concluir que la adición del SSL tuvo un efecto positivo significativo en las características farinográficas de ambas harinas: tiempo de desarrollo de la masa, estabilidad e índice de tolerancia al amasado; así como en el volumen del pan.

La adición de DMG no tuvo efecto positivo significativo sobre las propiedades funcionales de ninguna de las dos harinas.

En cuanto a la concentración de las proteínas obtenidas de los extractos en solución salina (globulinas), se observó una tendencia a la disminución en los tratamientos con SSL en las dos harinas, pero no hubo efecto por la adición de DMG. No se detectó un efecto consistente en la concentración de gliadinas y gluteninas en los extractos obtenidos de las harinas tratadas con SSL o con DMG.

Las pruebas electroforéticas en condiciones desnaturizantes (SDS-PAGE) para las proteínas solubles en solución salina presentaron cambios en el patrón de proteínas por efecto del SSL, pero no de los DMG.

Con respecto a gliadinas y gluteninas no es posible concluir si hubo o no efecto ya que es necesario continuar trabajando en los procesos de extracción de las gliadinas y las gluteninas, así como en las condiciones de las pruebas electroforéticas hasta obtener geles con una mejor resolución de los polipéptidos.



## LITERATURA CITADA

- AACC. 1976. *Approved Methods of the AACC*. American Association of Cereal Chemists. Métodos 08-12, 10-10, 30-25, 44-15A, 46-12, 54-12 y 54-21. St. Paul, MN, USA.
- Becher, P. y Webster, E. H. 1979. The effect of surface-active agents on the rheology of bread and dough. Pág. 315-323 en "Food Texture and Rheology". P. Sherman (Ed.). Academic Press. London, Great Britain.
- Bietz, J. A. y Wall J. S. 1980. Identity of high molecular weight gliadin and ethanol-soluble glutenin subunits of wheat: Relation to gluten structure. *Cereal Chemistry* 57(6):415-421.
- Bushuk, W. 1985. Flour proteins: Structure and functionality in dough and bread. *Cereal Foods World* 30 (7): 447-451.
- Chung, O. K. y Tsen, C. C. 1975a. Changes in lipid binding and protein extractability during dough mixing in presence of surfactants. *Cereal Chemistry* 52:549- 560.
- Chung, O. K. y Tsen, C. C. 1975b. Distribution of lipids in acid-soluble protein components as affected by dough-mixing and surfactants. *Cereal Chemistry* 52:823-832.

- Chung O. K. y Tsen, C. C. 1975c. Functional properties of surfactants in breadmaking. I. Roles of surfactants in relation to flour constituents in a dough system. *Cereal Chemistry* 52:832-843.
- Chung, O. K. y Tsen, C. C. 1977. Functional properties of surfactants in breadmaking. II. Composition of lipids associated with doughs containing various levels of surfactants. *Cereal Chemistry* 52:857-864.
- Chung, O. K., Pomeranz, Y. y Finney, F. 1978. Wheat flour lipids in breadmaking. *Cereal Chemistry* 55(5):598-618.
- Chung, O. K., Tsen, C. C. y Robinson, R. J. 1981. Functional properties of surfactants in breadmaking. III. Effects of surfactants and soy flour on lipid binding in breads. *Cereal Chemistry* 58(3):220-226.
- Deutscher, M. P. (Ed.). 1990. "Guide to Protein Purification". *Methods in Enzymology*. Vol. 182. Academic Press, Inc. California, U. S. A.
- Esparza Lozano, M. 1988. Estudios sobre el Papel del Gluten de Trigo en el Proceso de Panificación, Influencia del Proceso de Obtención del Gluten y Efectos de su Adición a Niveles Crecientes sobre la Masa Panaria y el Pan. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Valencia, España.
- Fullington, J. G. 1974. A protein from wheat flour that binds calcium and stearoyl-2-lactylate ions. *Cereal Chemistry* 51(2):250-261.

- Green, F. D. 1975. On the mechanism of the functionality of surfactant dough conditioners. *Bakers Digest*. 49(3):18-26.
- Hammer, R. J., van Cort, M. G., Garritsen, A., Weegels, P.L. y Prielo, J. A. 1990. New methods to understand interactions in wheat flour doughs. Interactions between gliadins and flour lipids. Pág. 296 en "Gluten Proteins 1990". W. Bushuk y R. Tkachuk (Eds.). AACC, Minnesota, U. S. A.
- Haridas Rao, P. 1990. Recent developments in the use of shortenings and surfactants in bread making. *Indian Food Industry*, March-April: 28-32.
- Hoseney, R. C., Finney, K. F., Shogren, M. D. y Pomeranz, Y. 1969. Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. II. Role of water-solubles. *Cereal Chemistry* 46:117-125.
- Hoseney, R. C., Finney, K. F. y Pomeranz, Y. 1970. Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. VI. Gliadin-lipid-glutenin interaction in wheat gluten. *Cereal Chemistry* 47:135-140.
- Il, B., Daun, H. y Gilbert, S. G. 1991. Water sorption of gliadin. *J. of Food Science* 58(2):510-512.
- Inglott, G. E. 1974. "Wheat: Production and Utilization". The Avi Publishing Company, Inc. Connecticut, U.S.A. P. 273-275.
- Jenkins, S. 1975. "Bakery Technology. Book 1. Bread". Lester and Orpen Limited. Toronto, Canada.

- Joensson, T. y Toarnaes, H. 1987. The effect of selected surfactants on bread crumb softness and its measurement. *Cereal Foods World* 32(7):482-485.
- Junge, R. C., Hosenev, R. C. y Varriano-Marston, E. 1981. Effect of surfactants on air incorporation in dough and the crumb grain of bread. *Cereal Chemistry* 58(4):338-342.
- Kazemie, M. y Bushuk, W. 1990. Identification of a unique group of high molecular weigh proteins in some wheat varieties. *Cereal Chemistry* 67(2):148-150.
- Knightly, W. H. 1977. The Staling of Bread. A review. *Bakers Digest*. 51(5):52-61.
- Knightly, W. H. 1988. Surfactants in baked foods: Current practice and future trends. *Cereal Foods World* 33(5):405-412.
- Kolster, P., Krechting, C. F. y van Gelder, W. M. J. 1992. Quantification of individual high molecular weight subunits of wheat glutenin using SDS-PAGE and scanning densitometry. *J. of Cereal Science* 15:49-61.
- Kolster, P. y Vereijen, J. M. 1993. Evaluating HMW glutenin subunits to improve bread-making quality of wheat. *Cereal Foods World* 38(2):76-82.
- Kovács, E., Vámos-Kardos, E. Kiss-Laszlavik, M. y Pallagi, E. 1992. Effects of emulsifiers on the properties of pasta products. *Acta Alimentaria* 21(3-4):205-217.

- Krog, N. 1979. Function of Emulsifiers in Relation to Food Texture. Cap. 16 en "Rheology and Texture in Food Quality". J.M. DeMan, P.W. Voisey, V.F. Rasper y D.W. Stanley (Eds.). The Avi Publishing Company, Inc. Connecticut, U.S.A. Pág. 507-534.
- Laemmli, V.K. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680-685.
- MacRitchie, F. 1984. Baking quality of wheat flours. Pág. 201 en "Advances in Food Research". Vol. 29. Chichester, C. O., Mraak, E. M. y Schweigert, B. S. (Eds.). Academic Press, Inc. Florida, U. S. A.
- Manley, M., Randall, P. G. y McGill, A. E. J. 1992. The predictions of wheat properties of South African Wheat Cultivars by SDS-PAGE analysis of HMW glutenin subunits. J. of Cereal Science 15:39-47.
- Matz, S. A. 1972. Bakery Technology and Engineering. 2nd. ed. The Avi Publishing Company, Inc. Connecticut, U.S.A. p.76-79.
- Meuser, F. 1979. Darstellung der chemischen und phisikalischen Wirkungsweise von Emulgeatoren. Mühle Mischfuttertechn. 116(38):515-520. Citado por Kovács, E., Vámos-Kardos, E. Kiss-Laszlavik, M. y Pallagi, E. 1992. Effects of emulsifiers on the properties of pasta products. Acta Alimentaria 21(3-4):205-217.

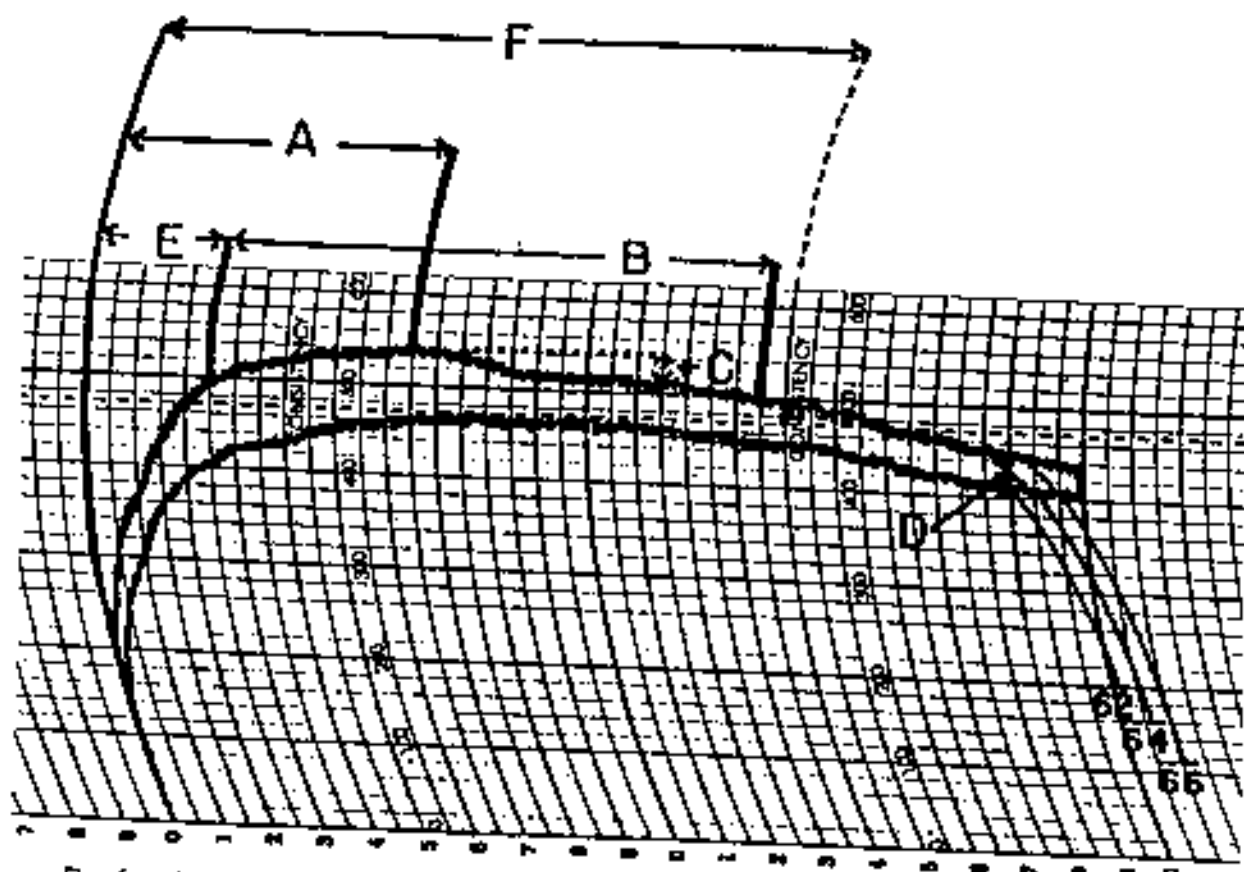
- Mohr, B. & Kroll, J. 1986. Modelluntersuchungen zu Wechselwirkung zwischen Eiweiss und Emulgator. *Lebensmittelindustrie* 33 (1):17-20. Citado por Kovács, E., Vámos-Kardos, E. Kiss-Laszlavik, M. y Pallagi, E. 1992. Effects of emulsifiers on the properties of pasta products. *Acta Alimentaria* 21(3-4):205-217.
- Ng, P. K. W. y Bushuk, W. 1987. Glutenin of Marquis wheat as a reference for estimating molecular weights of glutenin subunits by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Cereal Chemistry* 64(4):324-327.
- Parades-López, O., Barba-Rosa, A. P. y González-Castañeda, J. 1987. Physicochemical and functional properties of Mexican wheat flours for bread making. *Cereal Foods World* 32(9):602-608.
- Pomeranz, Y. 1971. Glycolipid-protein interaction in bread making. *Bakers Digest* 45(1):26-31 y 58.
- Pomeranz, Y. 1980a. Molecular approach to breadmaking: An update and new perspectives. *Bakers Digest* 54(1):20-27.
- Pomeranz, Y. 1980b. Molecular approach to breadmaking -An update and new perspectives (continued from de february issue). *Bakers Digest* 54(2):12-25.
- Pomeranz, Y. 1985. "Functional Properties of Food Components". *Food Science and Technology. A series of Monographs*. Academic Press, Inc. Florida, U.S.A. Pág. 336-376.

- Popineau, Y. y Godon, B. 1982. Surface hydrophobicity of gliadin components. *Cereal Chemistry* 59(1):55-62.
- Pyle, E. J. 1972. "Baking. Science and Technology". Vol 1. The Bakers Digest. Siebel Publishing Company. Illinois, U.S.A.
- S. A. S. 1991. Statistical Analytical System. SAS/STAT User's Guide Release. 6.03 Edition. SAS Institute, Inc. Cary, N. C. , U. S. A.
- Schofield, J. D. y Booth, M. R. 1983. Wheat proteins and their technological significance. En "Developments in Food Proteins", Vol. 2. B. J. F. Hudson (Ed.). Applied Science Publishers, London. Citado por Kolster, P. y Vereljen, J. M. 1993. Evaluating HMW glutenin subunits to improve bread-making quality of wheat. *Cereal Foods World* 38(2):76-82.
- Shuey, W.C. 1984. Interpretation of the Farinogram. Cap. V en "The Farinograph Handbook". 3rd. ed. B.L. D'Appolonia and W.H. Kuerth (Eds.). AACC, U.S.A.
- Sinclair, J. F., Healey, J. F., McAllister, R., Bonkowsky, H. R. y Sinclair, P. R. 1981. Improved retention of heme with increased retention resolution of microsomal proteins in polyacrylamide gel electrophoresis. *Analytical Biochemistry* 114:316-321.

- Slauffer, C.E. 1983. Dough Conditioners. *Cereal Foods World*. 28(12):729-730.
- Schuster, G. 1984. Emulgeator in brot- und kleingebäck. *Z. Lebensmittel Unters. u.-Forsch.*, 179, 190-196. Citado por Kovács, E., Vámos-Kardos, E. Kiss-Laszlavik, M. y Pallagi, E. 1992. Effects of emulsifiers on the properties of pasta products. *Acta Alimentaria* 21(3-4):205-217.
- Tamstorf S., Jonsson, T. y Krog, N. 1986. The role of fats and emulsifiers. Cap. 6 en "Chemistry and Physics of Baking". Special Publication No. 56. J. M. V. Blanshard, P.J. Frazier y T. Galliard (Eds.). The Royal Society of Chemistry. London, Great Britain. Pág. 75-88.
- Tatham, A. S. y Shewry, P. R. 1985. The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of alpha, beta, gamma and omega gliadins. *J. Cereal Science* 3:103 citado por Il, B., Daun, H. y Gilbert, S. G. 1991. Water sorption of gliadin. *J. of Food Science* 56(2):510-512.
- Wall, J. S. 1979. The role of wheat proteins in determining baking quality. En "Recent Advances in the Biochemistry of Cereals. Laidman, D. L. y Jones, R. G. (Eds.). Academic Press, New York citado por Il, B., Daun, H. y Gilbert, S. G. 1991. Water sorption of gliadin. *J. of Food Science* 56(2):510-512.



## APENDICE



Parámetros comúnmente utilizados para interpretar un farinograma: Tiempo de desarrollo (A), estabilidad (B), Índice de tolerancia al amasado (C), valor del viscosímetro (D), tiempo de llegada (E), tiempo de partida (E + B), Tiempo de rompimiento (F).