

ID  
27092



**UNIVERSIDAD DE SONORA**  
**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO EN ALIMENTOS**  
**Programa de Posgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos**

"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

**Especialidad en Almacenamiento y Procesamiento de Granos**

**Influencia de la Concentración de Albúminas en las Propiedades  
Reológicas y Calidad de Panificación de Harina de Trigo**

**TESIS**

**Como requisito parcial para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**Presenta:**

**Q.A. Gloria Elizabeth Mayboca Lucero**

**Hermosillo, Sonora**

**Abril de 2013**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"

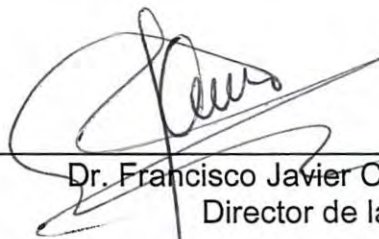


Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## APROBACIÓN

### Influencia de la Concentración de Albúminas en las Propiedades Reológicas y Calidad de Panificación de Harina de Trigo

**Q.A. Gloria Elizabeth Mayboca Lucero**



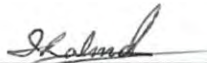
---

Dr. Francisco Javier Cinco Moroyoqui  
Director de la tesis



---

Dra. Ofelia Rouzaud Sandez  
Secretario



---

Dra. Alma Rosa Islas Rubio  
Vocal



---

Dra. María Guadalupe Salazar García  
Vocal

## DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Ciencias de los Alimentos** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador de Programa del Posgrado.

Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente



---

**Q.A. Gloria Elizabeth Mayboca Lucero**

Autor



---

**Dra. Rosario Maribel Robles Sánchez**  
Coordinadora del Programa de Posgrado  
en Ciencias y Tecnología de Alimentos



## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por permitirme llegar hasta donde me encuentro ahora.

A la **Universidad de Sonora**, especialmente al **Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos** por darme la oportunidad de iniciar y finalmente concluir esta etapa de mi formación académica.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico brindado.

Al **Dr. Francisco Javier Cinco Moroyoqui**, por su gran ayuda, disposición y sobre todo su paciencia a lo largo de todo este trabajo de investigación. Además le agradezco de todo corazón sus consejos tanto laborales como personales.

A los integrantes de mi comité de tesis **Dra. María Guadalupe Salazar García, Dra. Ofelia Rouzaud Sandez y Dra. Alma Rosa Islas Rubio**, por sus opiniones y sugerencias que contribuyen a mejorar este trabajo.

A los integrantes del **Área de Bioquímica** del **DIPA**, tanto maestros como estudiantes.

**Muchas Gracias!!!**

## DEDICATORIA

Agradezco a mis padres **Gloria Elizabeth** y **Manuel Angel** por darme la vida, por cada momento que paso a su lado. Los quiero mucho.

Agradezco a mis hermanos **Manuel Enrique** y **Ana Bertha** por todo lo que hemos compartido juntos y que seguiremos estando siempre unidos

Agradezco a mi **Abue Queta**, por todo su apoyo y amor incondicional. Por estar siempre a nuestro lado.

A mis suegros **Elisa** y **Ramón Angel**, por todo su apoyo. Muchas gracias.

Agradezco a todas las personas que me apoyaron a lo largo de mis estudios y que no menciono, gracias por su apoyo y consejos.

A **Ivonne**, **Pablo** y **Nadia** por su gran apoyo tanto académico como personal, y por todos los momentos que hemos compartido.

Agradezco, sobre todo a las personas que más amo mi hija **Alejandra Elizabeth** y mi esposo **Angel Abraham**. Por ustedes mis logros y mis ganas de seguir. Los AMO.

*Con todo mi cariño, para ustedes mi logro...*

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	ix
<b>RESUMEN</b> .....	x
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
Aspectos Generales del Trigo.....	4
Proteínas del Trigo.....	5
Albúminas.....	8
Generalidades de Albúminas de Trigo.....	10
Coagulación de las Albúminas de Trigo por Calor.....	14
Albúminas de Trigo en la Panificación.....	15
Estudios de Fraccionación y Reconstitución de las Proteínas de Trigo..	17
<b>HIPÓTESIS</b> .....	19
<b>OBJETIVOS</b> .....	20
Objetivo General.....	20
Objetivos Específicos.....	20
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	21
Parte I: Caracterización de Albúminas de Trigo.....	21

Extracción de las Albúminas de Harina de Trigo.....	21
Determinación del Punto Isoeléctrico de las Albúminas de Trigo.....	23
Cromatografía de Filtración en Gel.....	23
Análisis Electroforético.....	24
Electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones nativas (ND-PAGE).....	24
Electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones disociantes (SDS-PAGE).....	25
Detección de proteína por tinción de plata.....	25
Tinción con azul de Coomassie 0.1%.....	25
Coagulación por Calor de las Albúminas de Trigo.....	26
Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB).....	27
Parte II: Preparación de Harina sin Albúmina y Reconstitución de Harinas.....	28
Obtención de Harina Libre de Albúminas.....	28
Determinación de Proteína por Hartree (1974).....	28
Reconstitución de Harinas.....	29
Análisis Químicos.....	31
Análisis Mixográfico.....	31
Volumen de Pan.....	32



Capacidad de Absorción de Agua de la Harina sin Reconstituir y las Harinas Reconstituidas.....	32
Cromatografía Líquida de Alta Resolución-Exclusión Molecular.....	32
Análisis Estadístico.....	33
<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES.....</b>	<b>34</b>
Parte I: Fraccionamiento Proteínico y Caracterización Electroforética de las Albúminas de Harina de Trigo.....	34
Contenido de Humedad y Proteína.....	35
Determinación de Peso Molecular.....	35
Determinación de Punto Isoeléctrico.....	39
Efecto de la Temperatura en la Coagulación por Calor de las Albúminas de Trigo.....	41
Propiedades Térmicas de las Albúminas.....	45
Parte II: Comportamiento Reológico y Calidad Panadera de las Harinas Reconstituidas.....	49
Reología de la Masa de Harinas Reconstituidas y sin Reconstituir.....	49
Capacidad de Absorción de Agua.....	53
Determinación del Volumen Específico del Pan.....	53
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>61</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>62</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>63</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Diagrama de flujo de la fraccionación de la harina de trigo.....	22
2	Electroforesis disociante para (a) Marcador de peso molecular, (b) Extracto de albúminas totales.....	37
3	Filtración en gel de albúminas de trigo en Bio Gel P-100. Recuadro: curva estándar de proteínas de peso molecular conocido.....	38
4	Perfil electroforético (SDS-PAGE) de albúminas de trigo precipitadas a diferentes valores de pH.....	42
5	Análisis electroforético bajo condiciones disociantes de un extracto de albúminas de trigo sometido a distintas temperaturas y tiempos.....	44
6	Termograma obtenido para albúminas totales liofilizadas. Círculo rojo; transición de albúmina entre 50-60°C.....	47
7	Mixogramas de (a) harina control, (b) reconstitución al 100% de albúmina, (c) reconstitución al 75% de albúmina, (d) reconstitución al 50% de albúmina, (e) reconstitución al 25% y (f) harina sin albúmina.....	52

8	Influencia de la fracción albúmina en la características físicas de hogazas de pan de harina de trigo.....	57
9	Corte transversal de hogazas de pan. (a) Pan control (b) pan sin albúminas.....	59
10	Corte transversal de hogazas de pan. De izquierda a derecha: pan control, HR 100%, HR 75%, HR 50%, HR 25% y HR 0%.....	61

## LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Descripción general de los diferentes grupos de proteínas de trigo.....	6
2	Composición de aminoácidos de las fracciones de proteína de trigo.....	12
3	Cantidades añadidas de albúmina liofilizada a la harina sin albúmina.....	30
4	Determinación de humedad y proteína para cada reconstitución..	36
5	Valores de entalpía ( $\Delta H$ ) y temperatura de desnaturalización máxima ( $T_{max}$ ) de harina control, harina sin albúmina y harinas reconstituidas.....	48
6	Características físicas de la harina control y harina sin albúmina.....	50
7	Tiempos óptimos de amasado determinados mediante el Mixógrafo National (National MFC, CO. Lincoln, Nebr) para harinas reconstituidas y la cantidad de agua absorbida para cada una.....	54
8	Determinación de peso y volumen de las hogazas de pan.....	56



## RESUMEN

Las albúminas son principalmente enzimas y constituyen una fracción minoritaria de las proteínas de la harina de trigo, son proteínas solubles en agua. Las albúminas del trigo no están bien caracterizadas y existe poca información de cómo ésta fracción afecta el proceso de elaboración del pan. El objetivo del presente trabajo consistió en extraer las albúminas de la harina de trigo, estudiar y evaluar algunas de sus propiedades fisicoquímicas, así como evaluar el efecto de su adición en la reconstitución de harinas y su impacto en la calidad reológica de la masa y el pan. Para ello, se realizó un experimento dividido en dos partes, en la parte I se trabajó con harina comercial, a la cual se realizó una extracción de las albúminas basada en su solubilidad en agua para posteriormente liofilizar y almacenar la proteína a 4°C, y en la parte II se realizó una reconstitución de harinas, pruebas reológicas y de panificación. En la parte I, se realizó una caracterización de las albúminas de trigo en fresco. En estas condiciones, el punto isoeléctrico (pI) de la proteína fue 6.5, el cual no coincide con el reportado en la literatura en el rango de 4.1-4.8, sin embargo, este resultado se utilizó como punto de partida para conocer características importantes de la proteína y relacionarlas con los resultados obtenidos en las diferentes pruebas. La cromatografía de filtración en gel se utilizó para calcular los pesos moleculares aproximados de las albúminas con las que se trabajó, obteniendo valores que se encuentran dentro del rango de los 4-60 kDa.

Fueron determinadas las propiedades térmicas de las albúminas por calorimetría diferencial de barrido (CDB), donde se registraron picos endotérmicos para la albúmina de 84°C, mientras que para la harina sin albúmina fue de 81°C; las entalpías de transición ( $\Delta H$ ) de la proteína oscilaron alrededor de 24.4 y 69.3 J/g, respectivamente. La capacidad de coagulación de las albúminas fue evaluada mediante un perfil electroforético en el que se observó que a 70°C la fracción de albúminas de alto peso molecular reacciona a los 5 min de aplicado el tratamiento térmico. En la parte II, se realizó la preparación de las harinas reconstituidas con diferentes niveles de reconstitución (100, 75, 50, 25 y 0% de albúmina). Las harinas obtenidas se evaluaron con el mixógrafo para determinar el efecto de la adición de albúmina en diferentes niveles de reconstitución en función del tiempo óptimo de amasado (TAO), estabilidad y tolerancia al amasado. Se realizó una prueba de capacidad de absorción de agua para conocer la naturaleza de absorción de las harinas reconstituidas y ajustar las cantidades de agua para obtener una masa con buena consistencia. Finalmente, se realizó una prueba de panificación y se midió el volumen del pan, que al compararlo con el pan control, fue menor y fue disminuyendo conforme la concentración de albúmina fue menor. Los resultados se compararon con el pan control obteniendo como resultado una disminución en el volumen del pan a menor concentración de albúmina, además de una mala calidad de la miga. El presente estudio demuestra que la fracción proteica albúmina desempeña un papel importante en las propiedades reológicas de la masa de trigo. Adicionalmente, la presencia de las albúminas es importante en las propiedades estructurales de la miga y, en consecuencia, en el volumen del pan.

## INTRODUCCIÓN

Durante el proceso de producción de pan, la composición de las proteínas del trigo desempeña un papel muy importante en las propiedades funcionales del producto final, así mismo, las proteínas determinan el comportamiento reológico y la calidad de las mismas. Generalmente, es aceptado que la fracción de las proteínas del gluten (gluteninas y gliadinas) son las que determina el potencial panificable de la harina de trigo.

Las proteínas de almacenamiento del trigo, como de otros cereales, contienen albúminas y globulinas, también llamadas proteínas solubles, porque son fácilmente extraíbles de la harina usando agua y soluciones de cloruro de sodio. Las albúminas (solubles en agua) y las globulinas (solubles en soluciones salinas) conforman aproximadamente del 10-20% del total de las proteínas contenidas en las harinas de trigo (Merlino *et al.*, 2009).

Pence y Elder (1953) fueron los primeros en mostrar que las albúminas de trigo son un grupo heterogéneo de proteínas con propiedades de solubilidad similares. Desde ese tiempo los estudios de electroforesis y filtración en gel confirman la heterogeneidad de las albúminas de trigo (Minetti *et al.*, 1975).



Cuando una preparación de un extracto típico de albúmina es sometida a filtración en gel se puede observar pesos moleculares aparentes de 60, 24 y 12 kDa (Deponte *et al.*, 1976). Sin embargo, los polipéptidos en la harina de trigo de las fracciones de albúminas son muy heterogéneos en tamaño, pero los de bajo peso molecular son los componentes más abundantes (Osvald *et al.*, 2009). Los miembros del grupo de peso molecular de 60 kDa son albúminas que se agregan para formar proteínas heterotetraméricas. Así mismo, el grupo de proteínas de peso molecular cercano a 12 kDa se compone de albúminas monoméricas entre las cuales se describe una isoforma con movilidad electroforética de 0.28. Los miembros del grupo de 24 kDa se conocen como homodímeros y la mayoría de ellos se caracterizan en base a su movilidad electroforética (*Rf*) y se indican como 0.19, 0.36, 0.38 y 0.53 (Zoccatelli *et al.*, 2007). Es importante hacer notar que las albúminas (principalmente las  $\beta$ -amilasas) contienen proteínas que se producen como polímeros estabilizados por enlaces disulfuro entre cadenas (Veraverbeke and Delcour, 2002).

Gerrard y Brown (2002) sugieren que las albúminas y las globulinas son específicamente responsables de propiedades de la masa (extensibilidad, viscosidad y capacidad de retención de agua) y la fuerza de la miga, mientras que el volumen está influenciado por las gluteninas de alto peso molecular.

Algunos autores mencionan que probablemente las albúminas de trigo participan en la formación estructural del pan. Sin embargo, de las cuatro fracciones de proteínas contenidas en la harina de trigo, las propiedades funcionales de las albúminas no



han sido estudiadas en detalle, debido a que se cree que no desempeñan un papel crítico en la calidad de panificación de la harina.

El conocimiento de las propiedades tecno-funcionales de las albúminas de trigo es importante debido a que esta información se puede utilizar para el mejoramiento de la calidad de las harinas para panificación mediante la adición de esta proteína como aditivo. Una forma de estudiar estas propiedades es mediante la reconstitución de harinas, las cuales tienen propiedades similares o a veces idénticas a las de las harinas originales, esto para establecer la función de los componentes con los que se reconstituye una harina.

Por lo anterior, la presente investigación basa sus objetivos en harinas reconstituidas para el estudio de las propiedades de la albúmina en las características del producto final (pan).

# REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## Aspectos Generales del Trigo

El trigo pertenece al Género *Triticum*, derivado de la familia de las Gramíneas (*Gramineae*), la más importante del mundo desde los puntos de vista económico y ecológico, que ya la superficie de suelo dedicada al cultivo de las gramíneas es mayor que la suma de todas las demás especies de alimentos cultivados (Serna, 1996); por consiguiente, una deficiencia, incluso pequeña, de la cosecha de cualquiera de ellas puede provocar hambruna e inestabilidad económica en zonas muy amplias.

De este género, al cual pertenece el trigo, se conocen 30 especies. Sin embargo, la especie *Triticum aestivum* L. es la más difundida y apta para la elaboración de productos panificables ya que al ser convertido en harina tiene la capacidad de formar una masa que exhibe las propiedades reológicas necesarias para la producción de pan con levadura (Gianibelli *et al.*, 2001).

No obstante, las propiedades funcionales de la harina están relacionadas con la constitución de sus proteínas y, aunque el contenido total de proteína es un factor importante en el uso final de la harina de trigo, la proporción de cada fracción que se produce en el desarrollo del grano de trigo, es lo que determina la calidad de la

harina. Por esta razón el contenido de proteína así como su calidad son atributos importantes en la composición del trigo, determinando su valor en el mercado y en el proceso (Singh y MacRitchie, 2001).

## Proteínas del Trigo

El estudio científico de las proteínas de cereales se remonta a más de 250 años, con el primer aislamiento del gluten de trigo descrito en 1745. Desde entonces, se han realizado gran cantidad de estudios.

Thomas B. Osborne es considerado como el padre de la química de las proteínas vegetales (Shewry y Halford, 2002) debido a que desarrolló la clasificación para las proteínas de los granos de cereales basado en la secuencia de extracción y diferencia en solubilidad. Osborne clasificó las proteínas de trigo en cuatro diferentes grupos: albúminas (solubles en agua y soluciones diluidas), globulinas (no solubles en agua pero sí en soluciones salinas), prolaminas o gliadinas (solubles en etanol al 70%) y gluteninas (solubles en ácidos diluidos o álcalis) (**Tabla 1**) (Gianibelli *et al.*, 2001; Goesaert *et al.*, 2005). Sin embargo, una fracción significativa de proteínas de trigo se excluye de las fracciones de Osborne debido a que no pueden ser extraídos en los solventes antes mencionados (Goesaert *et al.*, 2005).



**Tabla 1.** Descripción general de los diferentes grupos de proteínas de trigo.

Fracción Osborne	Comportamiento en solubilidad	Composición	Papel biológico	Papel tecnológico
Albúminas	Extraíbles en agua	Proteínas no pertenecientes al gluten (principalmente monoméricas)	Proteínas estructurales y metabólicas	Variable
Globulinas	Extraíbles en soluciones salinas	Proteínas no pertenecientes al gluten (principalmente monoméricas)	Proteínas estructurales y metabólicas	Variable
Gliadinas	Extraíbles en etanol 70%	Proteínas del gluten	Proteínas de almacenamiento de la semilla, tipo prolaminas	Viscosidad a la masa/extensibilidad
Gluteninas	Extraíbles en ácido acético diluido o álcalis	Proteínas del gluten	Proteínas de almacenamiento de la semilla, tipo prolaminas	Elasticidad a la masa/tenacidad
Residuo	Sin extraer	Proteínas del gluten (polímeros de alto peso molecular) y proteínas no poliméricas (triticinas)	Proteínas de almacenamiento de la semilla, tipo prolamina (gluten) y tipo globulina (triticinas)	Variable

Fuente: Goesaert *et al.*, 2005

Es importante hacer notar que las fracciones de Osborne no proporcionan una clara separación entre las proteínas para poder diferenciarlas bioquímicamente, genéticamente o en base a su funcionalidad durante la elaboración del pan (Goesaert *et al.*, 2005). Sin embargo, el conocimiento de las características de solubilidad de las proteínas provee información útil para la optimización de las condiciones de procesamiento; además revela el efecto del tratamiento térmico que podría afectar sus aplicaciones potenciales. La solubilidad además afecta otras propiedades funcionales de las proteínas tales como la capacidad de emulsificación, espumado y formación de geles (Avanza y Añón, 2006).

Existen otros criterios para clasificar a las proteínas del trigo. Uno de ellos, también ampliamente utilizado es desde el punto de vista funcional, dividiéndolas en dos clases principales: proteínas monoméricas y proteínas poliméricas. El grupo de las proteínas monoméricas comprende a las albúminas, globulinas y gliadinas, y dentro de las proteínas poliméricas se encuentran las gluteninas. Sin embargo, las gliadinas son consideradas proteínas de almacenamiento, mientras que las albúminas y globulinas incluyen varias enzimas (Gianibelli *et al.*, 2001).

De las fracciones proteicas de la harina de trigo, las gliadinas y gluteninas son las proteínas más importantes por su contribución a la funcionalidad en la panificación. Las gluteninas proporcionan fuerza y elasticidad, mientras que las gliadinas monoméricas son responsables de la viscosidad de la masa (Vásquez *et al.*, 2009). Generalmente, es aceptado que la fracción de las proteínas del gluten (gluteninas y gliadinas) son las que determinan el potencial panificable de la harina de trigo, ya



que se cree que las albúminas y globulinas no jueguen un papel importante en la panificación. Sin embargo, existen estudios que mencionan que probablemente las albúminas participan en la formación de la estructura del pan, esto sin contar con la gran actividad enzimática que presentan (Veraverbeke y Delcour, 2002), sin embargo, no existen estudios de fraccionación y de reconstitución de albúminas que coadyuven al entendimiento de su funcionalidad en una harina para panificación.

## **Albúminas**

Las albúminas conforman un grupo de proteínas de propiedades similares y composición química análoga que se hallan contenidas en la mayoría de los tejidos animales y en buena parte de los vegetales. Las principales clases de albúminas son la lactoalbúmina, contenida en la leche, la ovoalbúmina, que se encuentra en la clara de huevo y la seroalbúmina de la sangre, y las albúminas vegetales.

La ovoalbúmina es utilizada como material alimenticio por el embrión del ave durante su desarrollo, además, de ser un potente "agente de enlace" en los alimentos. La seroalbúmina representa el 50% de las proteínas sanguíneas; su principal función es la regulación del intercambio de agua entre los tejidos y la sangre por medio de mecanismos osmóticos, es decir, relacionados con la difusión de los líquidos a través de membranas. A una mayor cantidad de seroalbúmina corresponde un porcentaje superior en la retención de agua; por el contrario, una disminución de magnitud apreciable en los niveles de albúmina provoca el paso de agua a los tejidos con lo

cual se origina el edema o inflamación. Otra de las funciones de la seroalbúmina es el transporte de ciertas sustancias a través del torrente sanguíneo.

Por su parte, la lactoalbúmina constituye el sistema enzimático requerido para la síntesis de la lactosa. Las leches de los animales que no presentan esta proteína tampoco contienen lactosa. No posee sulfidrilos libres pero sí cuatro disulfuros que ceden las cistinas, por lo que tiene 2.5 más azufre que la caseína. Posee bajo peso molecular y un alto contenido en triptófano. Se considera que hace mucho tiempo las aves y los bovinos estuvieron unidos por un tronco común genético (no taxonómico) debido a que la secuencia de aminoácidos de esta proteína es semejante a la lisozima del huevo (Brew y Grobler, 1992).

Las albúminas vegetales, por su parte, son una notable fuente de aquellos aminoácidos de los que carecen los animales y que, por consiguiente, deben ser aportados en su dieta.

Muchas de las actividades que realizan las albúminas como enzimas tienen un potencial significado fisiológico, nutricionales, toxicológicos y tecnológicos (Warchalewski y Gralik, 2010). Es por ello, que el conocimiento de las propiedades funcionales y fisicoquímicas de las albúminas provee información útil para la optimización de las condiciones de procesamiento y los efectos negativos que se pueden tener sobre dicho procesamiento en un alimento; por ejemplo, el impacto del tratamiento térmico sobre la albúmina afecta sus propiedades funcionales y fisicoquímicas y con ello sus aplicaciones potenciales. Ejemplo de lo anterior, es la solubilidad la cual influye en otras propiedades funcionales de las proteínas tales



como la capacidad de emulsificación, espumado, formación de geles y la hidrofobicidad (Avanza y Añon, 2006; Hassan *et al.*, 2010).

A continuación se enlistan algunos efectos sobre la salud de las albúminas vegetales, específicamente las del trigo:

- La albúmina de trigo puede ser un alimento funcional útil para mejorar el control glucémico de los diabéticos tipo II, debido a que la  $\alpha$ -amilasa demora la digestión de carbohidratos y la absorción por un mecanismo diferente a la de un inhibidor de  $\alpha$ -glucosidasa (Kodama *et al.*, 2005).
- Recientemente, varios estudios hacen hincapié en el desarrollo de asma del panadero el cual es provocado por este tipo de proteínas solubles (Singh y Skerritt, 2001).

### **Generalidades de las Albúminas de Trigo**

El término “albúminas de trigo” fue introducido por Osborne (1907), con el cual indicaba la fracción de proteína soluble en agua extraída de harina de trigo. Las albúminas, junto con las globulinas, consisten de enzimas, nucleoproteínas y glucoproteínas, las cuales son sustancias biológicamente activas que desempeñan un papel crítico durante la germinación (Serna, 1996). Las albúminas de trigo contienen inhibidores de  $\alpha$ -amilasa y tripsina, precursores de peroxidasas, serina carbopeptidasas y purindolinas (Kumagai, 2010).

Conocidas también como proteínas no pertenecientes al gluten, las albúminas y las globulinas, representan entre un 15-20% del total de la proteína dependiendo del tipo de harina (Goesaert *et al.*, 2005; Zilic *et al.*, 2011a), mientras que las gliadinas y gluteninas representan cerca del 80% (Vásquez *et al.*, 2009). Las albúminas se encuentran principalmente en las capas externas del grano de trigo y en bajas concentraciones en el endospermo (Goesaert *et al.*, 2005).

Nutricionalmente, las albúminas tienen mejor balance de aminoácidos esenciales, comparándola con las proteínas del gluten como se muestra en la **Tabla 2** (Zilic *et al.*, 2011). Es importante hacer notar que los cuatro grupos de proteínas varían considerablemente en su composición de aminoácidos. Todas son ricas en glutamina o asparagina y actúan como fuente de reserva de nitrógeno. A su vez, las gliadinas son pobres en lisina, mientras que las albúminas y las globulinas son más ricas en este aminoácido (Villanueva y Arnao, 2007; Cafaro, 2005; Hassan *et al.*, 2010).

Pence and Elder (1953) encontraron que las albúminas constan de al menos seis componentes individuales de aproximadamente el mismo tamaño molecular pero que difieren en la movilidad electroforética. Estos autores fueron los primeros en mostrar que las albúminas de trigo son un grupo heterogéneo de proteínas con propiedades de solubilidad similares. Desde ese tiempo los estudios de electroforesis y filtración en gel confirman la heterogeneidad de las albúminas de trigo (Minetti *et al.*, 1975).



**Tabla 2.** Composición de aminoácidos de las fracciones de proteína de trigo.

Aminoácidos	Fracción de proteína				
	Albúmina	Globulina	Gliadina	Glutenina 1 <sup>1</sup>	Glutenina 2 <sup>2</sup>
Lisina	4.8	5.1	0.7	1.2	2.1
Histidina	2.2	3.1	1.8	0.9	0.6
Arginina	5.2	10.7	2.0	3.5	4.3
Asparagina	7.7	8.0	2.6	4.0	5.4
Treonina	3.8	3.8	1.7	2.5	3.0
Serina	4.0	4.5	2.9	4.4	3.4
Glutamina	24.6	19.2	42.3	41.7	35.0
Prolina	9.4	4.8	15.0	12.0	9.9
Glicina	4.2	5.4	1.6	3.8	4.9
Alanina	5.1	5.2	1.8	2.4	3.6
Cisteína	2.8	2.2	2.4	1.3	1.0
Valina	6.1	6.5	4.2	3.5	4.7
Metionina	1.9	2.0	1.3	1.3	1.8
Isoleucina	3.3	3.9	3.8	3.4	3.7
Leucina	7.2	7.4	6.6	6.6	7.9
Tirosina	2.6	3.2	2.8	3.2	4.4
Fenilalanina	4.9	4.6	6.0	5.4	4.8

<sup>1</sup> Extraído con ácido acético 0.05 N

<sup>2</sup> Extraído con NaOH 0.05 N

Fuente: Pomeranz, 1988

Por otra parte, las albúminas contienen proteínas que se producen como polímeros estabilizados por enlaces disulfuro entre cadenas (Kawagoe *et al.*, 2005).

Utilizando la técnica de filtración en gel se ha determinado que las albúminas tienen pesos moleculares aparentes de 60, 24 y 12 kDa (Deponce *et al.*, 1976). Dentro de estos grupos, las albúminas de trigo con pesos moleculares entre los 17-28 kDa son responsables de las diferencias en las características de panificación (Pence *et al.*, 1951). Sin embargo, Rothfus y Kennel (1970) reportaron la primera evidencia de un complejo enzimático insoluble activo de glutenina y  $\beta$ -amilasa. Así mismo, Peruffo *et al.* (1996) encontraron evidencias de los enlaces disulfuro entre la  $\beta$ -amilasa y las gluteninas de bajo peso molecular. Además, la cantidad de  $\beta$ -amilasa está inversamente correlacionada con el tamaño del macropolímero de glutenina (Curioni *et al.*, 1996).

Aunque la mayoría de estas proteínas fisiológicamente activas tienen influencia en las propiedades reológicas y de procesamiento de la harina de trigo, en la actualidad, los beneficios del uso de amilasas, xilanasas, lipoxigenasas, glucoxidasas han estimulado el interés de la industria de la panificación (Zilic *et al.*, 2011b). Desde el punto de vista de la calidad de los alimentos, los efectos potenciales de los productos que se forman durante las reacciones enzimáticas son mucho más importantes que la reacción misma (Zilic *et al.*, 2011a). Aunado a esto, las fracciones de albúminas presentan una buena capacidad de formación de espuma, además de que la albúmina de trigo presenta una mayor digestibilidad de proteína con respecto a aislados de proteínas de trigo (Cafaro, 2005). Gobetti *et al.* (2009) menciona en su

estudio que el alto contenido de albúminas también puede mejorar los aspectos sensoriales del pan, esto se lo atribuyen a las mejoras observadas en la formación de espuma, capacidad de absorción de agua y aceite y la capacidad emulsificante.

### **Coagulación de las Albúminas de Trigo por Calor**

Shomer *et al.* (1995) realizaron estudios sobre coagulación de albúminas y globulinas, donde muestran evidencias de que estas fracciones de proteínas son sensibles a diferentes temperaturas en el rango de 70-120°C. Estas propiedades pueden ser de importancia para el proceso de cocción en que las temperaturas del horno puede llegar a 200-220°C, mientras la temperatura interna de pan es de aproximadamente 100°C. A tales temperaturas las albúminas y globulinas se coagulan y se comportan como agentes de enlace de los componentes del pan. Estudios en tejidos vegetales han demostrado que el calentamiento de las albúminas da lugar a la formación de coágulos con ultraestructuras específicas. Sin embargo, además de la temperatura, existen otros factores que ayudan a la coagulación de estas proteínas, tales como: pH, polisacáridos solubles, entre otros. Es interesante estudiar la sensibilidad térmica de las fracciones de las albúminas del trigo en el intervalo de temperatura de la cocción para explicar su participación en la formación de la estructura de la miga del pan.



## Albúminas de Trigo en la Panificación

El pan es uno de los alimentos más antiguos y básicos de la humanidad. En México, el pan es un alimento que está al alcance de muchos sectores de la población, debido a que puede considerarse que su precio es bajo. La harina de trigo es un ingrediente importante en la elaboración del pan por lo que la disponibilidad de este cereal es un factor determinante para el consumo del pan.

El conocimiento de las propiedades funcionales de las proteínas es esencial para poder emplear las mismas como ingredientes que impartan características deseadas a un alimento. En la práctica, la importancia de las albúminas es en gran parte desconocida. Sin embargo, un papel claramente identificado desempeñado por las albúminas de la harina de trigo en la cocción es la acción de la  $\alpha$ -amilasa sobre el almidón, con la cual se obtiene la generación de maltosa que sirve como azúcar fermentable para la levadura (Stauffer, 2007). Además, éstas desempeñan un papel importante en la formación de la costra del pan debido a que favorecen las reacciones de oscurecimiento no enzimático responsables del color y el aroma típicos de estos productos (Badui, 2006).

Las albúminas de bajo peso molecular ricas en cisteínas posiblemente influyen en las propiedades reológicas de la masa por reacciones de intercambio sulfidrilos/disulfuro con las proteínas del gluten (Veraverbeke and Delcour, 2002).

Es sabido que existe una relación entre la estructura y las propiedades funcionales de una proteína dada, y que la conformación proteica es afectada por el tratamiento



térmico, el cual es un proceso usado con asiduidad en la industria de los alimentos. La intensidad y las consecuencias de la desnaturalización de las proteínas por calor (cambios conformacionales y agregación) depende de numerosos factores como la naturaleza de la proteína, la concentración de la misma, la actividad de agua, el pH, la fuerza iónica y el tiempo y temperatura del tratamiento (Avanza y Añon, 2006).

Shomer *et al.* (1995) sugiere que las propiedades estructurales de las proteínas de la harina se deben a dos agentes principales: agentes coagulables, incluyendo la albúmina soluble y las globulinas, y agentes estructurales, que consta de las gliadinas insolubles y gluteninas.

Pence *et al.* (1951) encontraron que el aislado de la fracción cruda de albúmina es responsable del volumen del pan. En ese estudio, adicionaron a una masa de gluten y almidón una fracción de albúmina cruda y pentosanos observando una respuesta positiva en el volumen del pan y una reducción en el tiempo de mezclado. Posteriormente, Pence (1962) reportó que las albúminas están implicadas en el rendimiento de cocción de las harinas y puede representar una parte significativa de las diferencias en las características al momento de hornear. Sin embargo, la influencia de las albúminas en las propiedades reológicas de la masa no ha sido establecida. Sin embargo, los pentosanos en la fracción cruda de albúmina producen un efecto positivo en el volumen del pan y en los tiempos cortos de mezclado en la masa (Pomeranz, 1988).

Un estudio realizado por Hovart *et al.* (2007) sobre la influencia de albúminas y globulinas en la calidad panificable de harina de trigo (*Triticum aestivum*) mostró que

trigos con menor cantidad de albúminas presentan muy buenas propiedades reológicas y tecnológicas, lo contrario ocurre con aquellas que presentaron alto contenido de proteína. Existen varias pruebas empíricas que se han utilizado para predecir el comportamiento tecnológico y la calidad panadera de las harinas. Generalmente el volumen de pan es considerado el parámetro más importante en la evaluación de la calidad panadera (Islas *et al.*, 2005). Otra manera de estudiar el efecto que tienen las albúminas de trigo en la calidad de panificación de la harina y la relación que hay entre la fracción de la proteína es mediante técnicas de fraccionación y reconstitución de harinas.

### **Estudios de Fraccionación y Reconstitución de las Proteínas de Trigo**

Finney (1943) fue el primero en establecer una metodología para el fraccionamiento y la reconstitución de harina de trigo. La misma técnica se ha utilizado por otros autores en harinas de galletas y tortillas.

Idealmente, los procedimientos de fraccionación y reconstitución contribuyen a la separación de fracciones bien definidas, procesamiento de estas fracciones y así recombinar las fracciones extraídas en harinas denominadas reconstituidas que tienen propiedades similares o a veces idénticas a las de las harinas originales, esto para establecer la función de los componentes con los que se reconstituye una harina (Rogers y Hosenev, 1989).

En una harina reconstituida, es esencial que no se produzcan cambios severos en las propiedades funcionales de los componentes de las harinas derivados del procedimiento de fraccionación. Utilizando procedimientos adecuados, las harinas de trigo se pueden fraccionar en varios componentes según el objeto del estudio, por ejemplo, el almidón, las albúminas, globulinas, gliadinas y gluteninas. La funcionalidad de cada uno de estos componentes se evalúa variando la cantidad de la fracción en la harina. Para verificar que no ha habido ningún cambio de las propiedades funcionales se pueden utilizar dos metodologías: mixogramas y pruebas de panificación (volumen del pan), los cuales deben ser similares a los obtenidas a partir de la harina original (MacRitchie, 1989).

## **HIPÓTESIS**

El conocimiento de las características fisicoquímicas de las albúminas de harina panadera puede explicar, mediante un estudio de reconstitución, el efecto en las propiedades reológicas de la masa y en la calidad del pan.



## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar la influencia de las albúminas del trigo en las propiedades de panificación de harina de trigo panadero.

### **Objetivos Específicos**

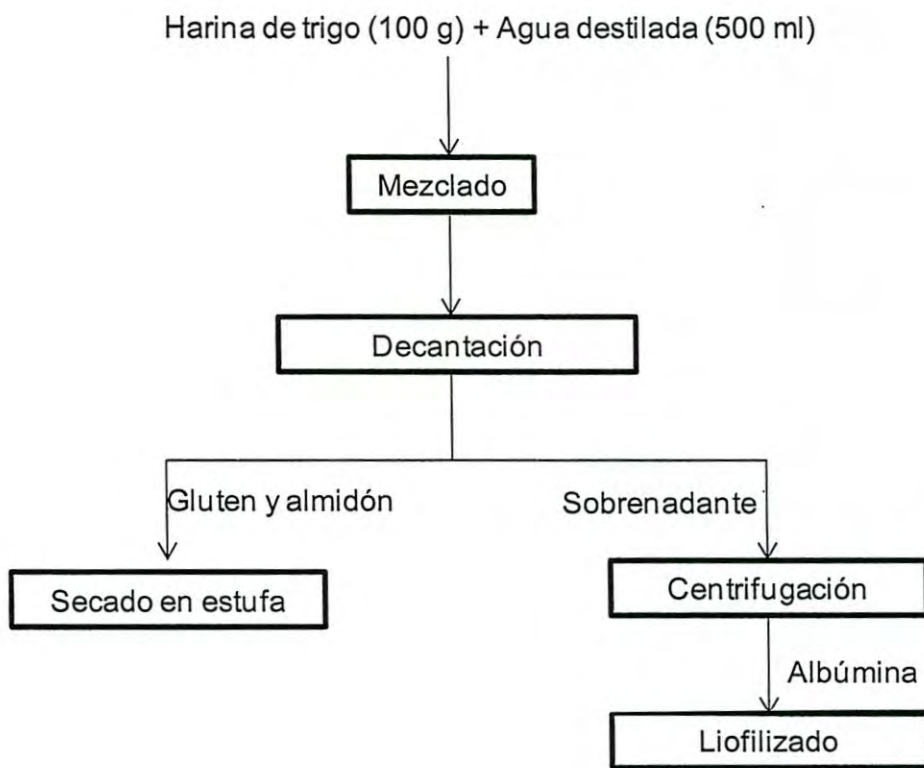
1. Evaluar algunas propiedades fisicoquímicas de las albúminas de trigo aisladas.
2. Evaluar el efecto de la reconstitución de harinas con albúminas y su impacto en la calidad reológica de la masa y el pan.

# MATERIALES Y MÉTODOS

## Parte I: Caracterización de Albúminas de Trigo

### Extracción de Albúminas de la Harina de Trigo

La materia prima fue proporcionada por el Molino La Fama S.A. de C.V. La harina utilizada es una mezcla de 40% de trigo variedad Kronstand y 60% de trigo variedad Tacupeto. La extracción de las albúminas en la harina de trigo se realizó de acuerdo a la clasificación desarrollada por Osborne (1924) con modificaciones menores (**Figura 1**). 100 g de harina de trigo fueron suspendidos en 500 ml de agua tridestilada (1:5). La muestra fue agitada mecánicamente durante 30 min en agitador magnético (CORNING Stirrer/Hot Plate) a nivel de rotación 4. Posteriormente, la muestra fue centrifugada por 30 min a 10,000 g a 4°C en centrifuga (Eppendorf Centrifuge 5804 R). El sobrenadante fue colectado y filtrado a través de papel filtro Whatman No. 42 (Cat No. 1442 125) y liofilizado.



**Figura 1.** Diagrama de flujo de la fraccionación de la harina de trigo.



## **Determinación del Punto Isoeléctrico de las Albúminas de Trigo**

La determinación del punto isoelectrico para las albúminas se realizó según la metodología reportada por Ju *et al.* (2001) con modificaciones. Un volumen de 1 ml del extracto fresco de albúmina fue ajustado a distintos valores de pH (6, 6.5, 7 y 7.5) dejándose reposar toda la noche (12 h) a temperatura de 4°C. Después del reposo, se realizó una centrifugación por 30 min a 10, 000 g. Al sobrenadante se le midió la turbidez con un espectrofotómetro. El pH que dio la turbidez máxima se tomó como el pI. Cada uno de los sobrenadantes de los distintos valores de pH fue analizado mediante electroforesis disociante (SDS-PAGE). La determinación fue realizada por triplicado.

## **Cromatografía de Filtración en Gel**

Fue realizada una cromatografía de filtración en gel para la determinación del peso molecular para el complejo de albúminas, mediante la ecuación:

$$X=(y - b_0)/b_1$$

X= Peso molecular

y= volumen muerto entre volumen vacio

El extracto de albúminas fue analizado empleando Bio Gel P-100 en una columna de 2.5 x 100 cm. La proteína se eluyó con buffer acetato de sodio 0.05 M, pH 5

colectando las fracciones a una velocidad de 4 ml/7 min. La detección de proteína se realizó a 280 nm.

### **Análisis Electroforético**

Fueron realizados análisis electroforéticos para complementar la información proporcionada por la utilización de otras técnicas tales como coagulación por calor de las albúminas, cromatografía de filtración en gel. La información proporcionada mediante esta técnica se basa en la movilidad de la proteína en un campo eléctrico a través de una matriz porosa, la cual finalmente las separa por tamaños moleculares y carga eléctrica. Se utilizaron dos tipos de electroforesis en geles de poliacrilamida: nativa (ND-PAGE) y disociante (SDS-PAGE).

Electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones nativas (ND-PAGE). Para conocer el patrón electroforético de las albúminas obtenidas se empleó el procedimiento recomendado por Laemmli (1972). Una muestra de 100 µg del extracto liofilizado fue resuspendido en 100 µL buffer para muestra (Tris-HCl 62.5 mM, pH 6.8, conteniendo glicerol al 20%). Alícuotas de 20 µL de esta mezcla se aplicaron a un gel de poliacrilamida al 10%. La separación de las proteínas fue realizada aplicando 200 volts y corriente variable durante 1 h utilizando un equipo Mini PROTEAN ® Tetra System (Bio Rad, Richmond, CA). El buffer de separación fue Tris-HCl, conteniendo glicina 192 mM (p/v).

### Electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones disociantes (SDS-PAGE).

Para este tipo de electroforesis se empleó el procedimiento recomendado por Laemmli (1972). De cada uno de los extractos se tomaron alícuotas de 100  $\mu$ L y se combinaron con 100  $\mu$ L de buffer Tris-HCl 62.5 mM, pH 6.8, conteniendo glicerol al 20%, dodecil sulfato de sodio al 2% y  $\beta$ -mercaptoetanol al 5%. Alícuotas de 20  $\mu$ L de esta mezcla se aplicaron a un gel de poliacrilamida. La separación de las proteínas fue realizada aplicando 200 volts y corriente variable durante 45 min en un equipo Mini Protean II Cell (Bio Rad, Richmond, CA). El buffer de separación fue Tris-HCl 25 mM, pH 8.3, conteniendo glicina 192 mM y dodecil sulfato de sodio al 0.1% (p/v). Fueron utilizados marcadores de peso molecular (SDS-PAGE Molecular Weight Standards, Broad Range. Número de catálogo 161-0317).

*Detección de proteína por tinción de plata.* Para teñir las fracciones de albúminas se utilizó la técnica de tinción plata de Blum *et al.* (1987). Una vez realizada la electroforesis la proteína fue fijada con 10% ácido acético y 40% metanol, posterior a esto se tiñó con una solución 0.1% (p/v) de nitrato de plata.

*Tinción con azul de Coomassie al 0.1%.* El gel de poliacrilamida fue colocado en un recipiente conteniendo 0.1% de azul de Coomassie G-250, 50% de metanol y 10% de ácido acético (p/v, v/v, v/v, respectivamente), dejándose en agitación leve por 2 h. Después, el colorante fue eliminado y se agregó una solución acuosa para desteñir conteniendo ácido acético al 10% y metanol al 40%. Para observar las bandas de proteínas, el gel se dejó desteñir por espacio de 1 h, renovando ocasionalmente la



solución de destinción para acelerar la remoción del colorante no unido a las proteínas.

### **Coagulación por Calor de las Albúminas de Trigo**

Los ensayos de coagulación por calor para las albúminas de trigo se realizaron para conocer la capacidad del complejo de albúminas utilizado de formar coágulos, en función del tiempo expuesto a diferentes temperaturas.

Para esta prueba fueron tomados 25 g de harina y solubilizados en 46 mL de buffer de acetato de sodio 0.05 M, pH 5. La harina solubilizada es colocada en agitación por 20 min en una placa de agitación, posteriormente, se centrifugó por 5 min a 5 000 rpm. El sobrenadante, el cual contiene las albúminas de trigo solubilizadas, es tratado para su análisis. El extracto fue colocado en un baño de agua a una temperatura de 100°C. Cada 5 min se fue retirando un tubo, el cual se introdujo a un baño de agua fría. Posteriormente el tubo fue centrifugado a 5000 rpm por un tiempo de 5 min y el sobrenadante fue analizado mediante SDS-PAGE. El mismo procedimiento se realizó para las temperaturas de 30, 40, 50 y 70°C. El análisis fue realizado por triplicado.

## **Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB)**

Se realizó una CDB a las albúminas totales, harinas reconstituidas y harina comercial según lo descrito por León *et al.* (2003). El objetivo de utilizar esta técnica fue para conocer las temperaturas de desnaturalización y las entalpías de las harinas reconstituidas así como de la albúmina liofilizada con el fin de ayudar a dar explicación a lo que ocurren en las pruebas de panificación. Para ello, 3 mg (bs) de muestra (harina estándar, albúminas liofilizadas y harinas reconstituidas) fueron colocaron en una celda calorimétrica de aluminio y colocadas en un calorímetro DSC-8000 (Perkin Elmer 8000, USA). Las muestras fueron escaneadas a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min en el rango de temperatura de 20-130 °C. El análisis de los termogramas fue realizado por el software Pyris. Las muestras fueron analizadas por triplicado.

## **Parte II: Preparación de Harina sin Albúmina, Reconstitución de Harinas y Panificación**

### **Obtención de Harina Libre de Albúminas**

Para la preparación de la harina libre de albúminas se procedió de la siguiente manera, posterior a la extracción de las albúminas totales de harina de trigo, se realizaron cuatro lavados con 500 ml agua destilada. Una vez concluido el cuarto lavado al sobrenadante se le determinó proteína por el método de Hartree (1974), esto para confirmar que no existan trazas de proteína soluble. Posteriormente, la harina fue colocada en una estufa de túnel por aproximadamente 4 h a temperatura ambiente. La muestra seca es molida en un molino para café hasta un polvo fino y tamizado a través de una malla con poro de 2.00 mm para obtener un tamaño de partícula homogéneo. La harina fue almacenada a 4°C.

### **Determinación de Proteína por Hartree (1974)**

Se determinó proteína al extracto de albúminas de trigo de cada lavado en el proceso de extracción de acuerdo a la metodología descrita por Lowry *et al.* (1951) modificada por Hartree (1974). Una alícuota de 100 µl del extracto de albúminas se combinó con 100 µl del reactivo A (conteniendo 2 g de tartrato de sodio y potasio, 100 g de carbonato de sodio, 500 ml de NaOH, aforado a 1000 ml con agua deionizada) y 900 µl de agua, se agitó y se incubó por 10 min a 50°C. Posteriormente, se adicionó el reactivo B (tartrato de sodio y potasio, sulfato de cobre



pentahidratado, disueltos en 90 ml de agua deionizada y 10 ml de NaOH 1N) y es incubado por 10 min a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo, fueron adicionados 3 ml del reactivo C (1 volumen del reactivo Folin-Ciocalteou fue disuelto en 15 volúmenes de agua deionizada), homogenizados e incubados a 50°C por 10 min. La detección de proteína fue realizada a 650 nm.

### **Reconstitución de Harinas**

Se realizó la reconstitución de las harinas sin albúmina utilizando los porcentajes de 0, 25, 50, 75 y 100% de albúmina extraída. En la **Tabla 3** se muestra la cantidad en gramos utilizada para cada una de las reconstituciones. Durante este proceso, se cuidó que las cantidades pesadas fueran exactamente las calculadas para la reconstitución para no afectar los resultados en el análisis mixográfico y pruebas de panificación. Estas cantidades fueron calculadas en base al contenido de proteína en la harina estándar. Una vez incorporada la albúmina en la harina sin albúmina, fue mezclada mecánicamente en agitador de movimiento por 30 min. Las harinas fueron almacenadas a 4°C para su posterior análisis.

**Tabla 3.** Cantidades añadidas de albúmina liofilizada a la harina sin albúmina.

Tratamiento	Descripción	HSA (g)	Albúmina (g)
Harina control	Harina sin tratamiento	-	-
HR <sup>1</sup> 100%	HSA <sup>2</sup> + 100% Alb <sup>3</sup>	9.84	0.16
HR <sup>1</sup> 75%	HSA <sup>2</sup> + 75% Alb <sup>3</sup>	9.88	0.12
HR <sup>1</sup> 50%	HSA <sup>2</sup> + 50% Alb <sup>3</sup>	9.92	0.08
HR <sup>1</sup> 25%	HSA <sup>2</sup> + 25% Alb <sup>3</sup>	9.96	0.04
HR <sup>1</sup> 0%	HSA <sup>2</sup> + 0% Alb <sup>3</sup>	10	0

<sup>1</sup>HR: Harina reconstituida; <sup>2</sup>HSA: Harina sin reconstituir; <sup>3</sup>Alb: albúmina liofilizada  
 Columnas 3 y 4: cantidades en g utilizadas en la reconstitución de 10 g de harina.

## **Análisis Químicos**

Los contenidos de humedad y proteína en la harina estándar y las harinas reconstituidas se determinaron por métodos oficiales (Método 44-19 de la AACC, 1995; Método 46-30 de la AACC, 1995, respectivamente).

## **Análisis Mixográfico**

El análisis mixográfico en la harina estándar y las harinas reconstituidas se realizó por duplicado mediante el método 54-40A de la AACC (1995) con el mixógrafo National (National Manufacturing, INC, NJ) a partir de 10 g de harina (14% b. h.), determinando el tiempo de amasado óptimo (TOA).

## **Volumen de Pan**

Se elaboraron panes mediante el método 10-10B de la AACC (1995) con las siguientes modificaciones; cada una de las harinas (35 g, 14 % b. h.) se mezcló en el mixógrafo National con los demás ingredientes: sal (0.53 g), levadura (0.70 g), azúcar (2.1 g), manteca vegetal (1.2 ml) y agua. La masa fue extendida con rodillos separados 0.119" ó 2.975 mm (premoldeo) y 0.143" ó 3.575 para el primer y segundo ponchado. En este procedimiento las masas fueron colocadas en moldes para hornear de 35 g, fermentadas a  $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$  con una humedad relativa de  $94 \pm 1\%$ , y horneadas por 17 min a  $215^{\circ}\text{C}$ . Al término del horneado, se midió el volumen de cada hogaza de pan mediante el desplazamiento de semillas de colza.



## **Capacidad de Absorción de Agua de la Harina sin Reconstituir y las Harinas Reconstituidas**

Fue utilizada la técnica de Silva-Sánchez *et al.* (2004) con modificaciones, donde se tomó un gramo de las muestras en tubos de centrifuga graduados y se le agregó 5 ml de agua destilada. Posteriormente se agitó vigorosamente durante 15 min en agitador magnético [Marca Vortex Modelo Genie Z, Scientific Industries, New York, USA) a nivel de rotación 4 y se dejó reposar por 30 min. Pasado el tiempo de reposo, las muestras fueron centrifugadas en centrifuga a 5000 g por 30 min. El volumen de agua libre se leyó directamente de la cantidad del tubo, la cantidad registrada fue multiplicada por la densidad del agua para su conversión. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado.

## **Cromatografía Líquida de Alta Resolución-Exclusión Molecular**

Una fracción de pan con distintos tiempos de horneado fue analizada por cromatografía de exclusión molecular utilizando una columna PL aquagel-OH 40 (8 $\mu$ m, 300 x 7.5 mm). Alícuotas de 20  $\mu$ L se inyectaron en la columna y fueron fraccionadas con un flujo isocrático de 1.5 ml/min con ACN conteniendo ácido trifluoroacético al 0.1%. La elución de las fracciones fue de 15 min con un tiempo de equilibrio de 5 min, esto según Mayboca-Lucero y cols. (2010). La detección de las fracciones proteicas se realizó a 214 nm utilizando un detector UV-visible. El procesamiento de los datos fue efectuó por medio del paquete Galaxie Chromatography Data System Version 1.9.3.2.

## **Análisis Estadístico**

Los datos obtenidos serán analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) empleando los procedimientos del programa JMP 5.0.1. La comparación entre medias será determinada utilizando la prueba de Tukey a un nivel de probabilidad de 0.05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Parte I: Caracterización Fisicoquímica las Albúminas de Harina de Trigo

#### Contenido de Humedad y Proteína

Fue determinado el contenido de proteína total presente en la harina de trigo donde se encontró que ésta contenía 11%. Conociendo este dato se realizó una extracción secuencial de albúminas siguiendo el método tradicional de Osborne (1907). Posteriormente, se determinó que el 14.5% corresponde al contenido de albúmina total. Sin embargo, para este último dato es importante considerar que ciertos factores como el tamaño de partícula de la harina, la fuerza de agitación, la relación harina-disolvente o el número de extracciones por etapa, influyen en la proporción de las fracciones extraídas (Gallegos *et al.*, 2004). Lo anterior es importante considerar debido a que se realizaron 4 lavados en la harina probablemente hayan quedado trazas de albúmina, así mismo, en el proceso de lavado seguramente se eliminaron otros componentes solubles tales como pentosanos, entre otros, lo cual es importante tener presente para los posteriores análisis de resultados. Así mismo, el porcentaje de albúmina extraída también se encuentra dentro del rango publicado en la literatura. Este porcentaje es un valor aproximado debido a que no se extrajo el total de la albúmina presente o bien hubo pérdidas durante el proceso de extracción. Ahora bien, el contenido de albúminas va a depender del tipo de trigo y del proceso de elaboración de la harina.



El contenido de humedad de la harina obteniendo como resultado un 14%. Tanto el valor de proteína total como el valor de humedad para esta harina se encuentran dentro del rango aceptado para una harina de trigo (**Tabla 4**).

### **Determinación de Peso Molecular**

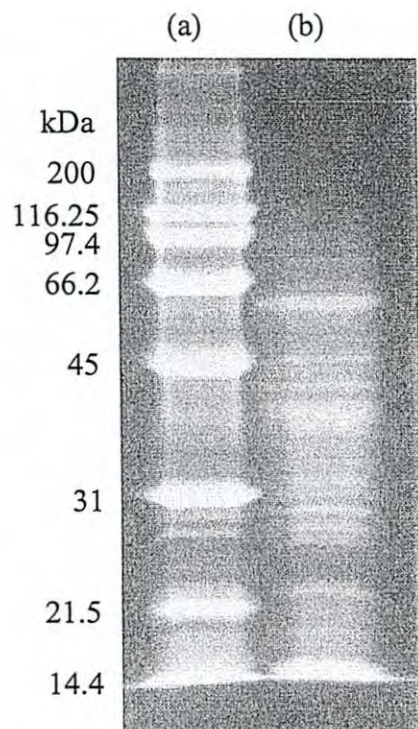
La **Figura 2** muestra una SDS-PAGE para el extracto de albúmina donde se encontró que la fracción proteína extraída se encuentra compuesta por un total de aproximadamente veinte bandas con pesos moleculares entre 14 y 60 kDa comparándola con el marcador de peso molecular. Mediante esta fraccionación de las albúminas de la harina de trigo por SDS-PAGE es posible identificar dos grandes grupos: albúminas de alto peso molecular (AAPM) y las albúminas de bajo peso molecular (ABPM). El cálculo de los pesos moleculares aparentes fue confirmado por cromatografía de filtración en gel (**Figura 4**) donde se observan 3 fracciones de proteínas. Los rangos de pesos moleculares para cada uno son: fracción I 60-40 kDa, fracción II 33-22 kDa y fracción III 15-4 kDa. Estos resultados coinciden con lo reportado por Deponte *et al.* (1976) y Osvald *et al.* (2009), donde aseveran que cuando una preparación de un extracto típico de albúmina es sometida a filtración en gel se puede observar pesos moleculares aparentes de 60, 24 y 12 kDa (Deponte *et al.*, 1976). Los pesos moleculares de 12, 24 y 60 kDa corresponden principalmente a  $\beta$ -amilasas (Gupta *et al.*, 1991; Gianibelli *et al.*, 2001; Veraverbeke and Delcour, 2002) e inhibidores de  $\alpha$ -amilasas. Los inhibidores de  $\alpha$ -amilasas de la familia de 12



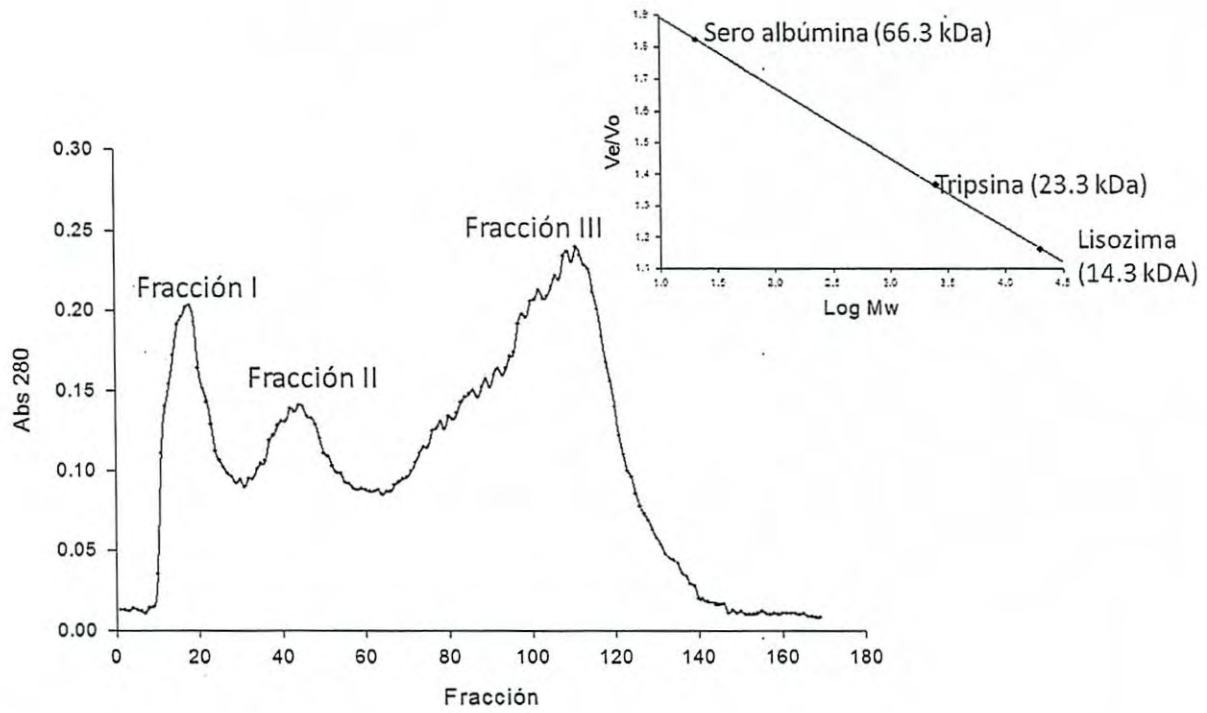
**Tabla 4.** Determinación de humedad y proteína para cada reconstitución.

Tratamiento	Humedad (%)	Proteína (%)
Harina control	14.5	10.3
HR <sup>1</sup> 100%	9.16	11.7
HR <sup>1</sup> 75%	9.01	12.36
HR <sup>1</sup> 50%	9.05	11.45
HR <sup>1</sup> 25%	9.07	10.76
HR <sup>1</sup>	9.08	10.76

HR<sup>1</sup>: Harina reconstituida



**Figura 2.** Electroforesis disociante para (a) Marcador de peso molecular, (b) Extracto de albúminas totales.



**Figura 3.** Filtración en gel de albúminas de trigo en Bio Gel P-100. Recuadro: curva estándar de proteínas de peso molecular conocido.



kDa son monómeros, mientras que los de la familia de 24 kDa son dímeros de 12 kDa (Kumagai, 2010).

Tanto en electroforesis SDS-PAGE como en cromatografía de filtración en gel se muestra que las albúminas de menor peso molecular son las que mayoritariamente se encuentran en el complejo de albúminas, aunque los polipéptidos de las fracciones son muy heterogéneas en tamaño (Osvald *et al.*, 2009). Cabe destacar que se ha mencionado por algunos autores que son las AAPM las que pueden ayudar en el proceso de panificación para la obtención de las características físicas y de calidad.

#### **Determinación de Punto Isoeléctrico**

Por otra parte, el punto isoeléctrico ( $pI$ ) para la albúmina de trigo fue de 6.5, resultado que difiere con lo reportado en la literatura cuyo valor oscila entre 4.1 y 4.9 dependiendo del autor. El  $pI$  es distinto para cada proteína, ya que depende del tipo de aminoácidos que la conforman, lo que a su vez depende de la relación de los grupos carboxilos libres y los grupos aminos ionizados (Vaclavik, 2002), esto sin dejar de lado que cada aminoácido tiene un  $pI$  diferente. Es importante considerar que las albúminas son un grupo heterogéneo de diferentes proteínas, por lo que la diferencia entre el  $pI$  obtenido y el citado en la literatura puede deberse a que alguna de las proteínas que conforman el grupo no se sintetizó durante el llenado del grano de trigo.

Ahora bien, esta característica afecta notablemente en la calidad de panificación debido a que el pH óptimo para la panificación es 5; lo que significa que cuando el pH del sistema de encuentre alrededor del *pI* de la albúmina esta se encontrará con un menor número de cargas que provoquen que la proteína se inactive y no interaccione con otras.

El pH además afecta la capacidad de hidratación y la viscosidad ya que en soluciones de proteínas globulares ésta disminuye conforme el pH decrece hacia el *pI*. La solubilidad de las proteínas también se ve influenciada por el pH, debido a que al ser igual al *pI* de la proteína, pierde su carga eléctrica neta y por lo tanto su solubilidad. Las cadenas proteicas que llevan cargas eléctricas del mismo signo tienden a repelerse, y por lo tanto, a disociarse y desdoblarse (Ávila, 2011).

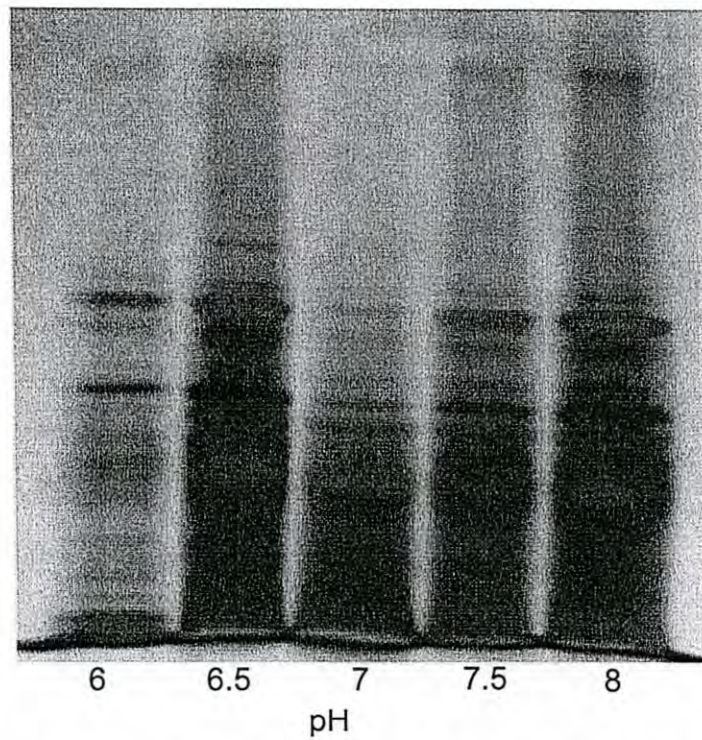
Es importante conocer el punto isoeléctrico de la proteína para saber a qué pH manejar y procesar los alimentos en los que será incorporado ya que este es un factor determinante para las propiedades funcionales tanto tecnológicas como nutricionales (Vaclavik y Christian, 2008).

En la **Figura 4** se muestra el patrón electroforético (SDS-PAGE) de las albúminas precipitadas a diferentes valores de pH, en la que se apreció que a pH 6 se observó una disminución de la concentración de proteína. Lo que significa que a este pH la proteína se encuentra en solución. Pese a que el *pI* determinado espectrofotométricamente fue de 6.5, electroforéticamente se observó que a pH de 7, 7.5 y 8 la concentración de la proteína precipitada aumentó, indicando que a pH superiores a 6.5 la proteína se inactiva.

## **Efecto de la Temperatura en la Coagulación por Calor de las Albúminas de Trigo**

La coagulación se define como la secuencia de reacciones de agregación no ordenada que se producen con la desnaturalización y en las que predominan las reacciones de agregación produciendo con esto cambios en las características funcionales de las proteínas, entre los que se encuentra la pérdida de solubilidad en agua. La mayoría de las proteínas de los alimentos se coagulan con calor y las albúminas no son la excepción. Existen varios estudios que hablan sobre la coagulación de albúminas provenientes de frijol o de garbanzo. Incluso se menciona que los coágulos de las albúminas de trigo son muy similares en apariencia a los de otros tejidos vegetales tales como papas y cascaras de cítricos (Shomer *et al.*, 1995).

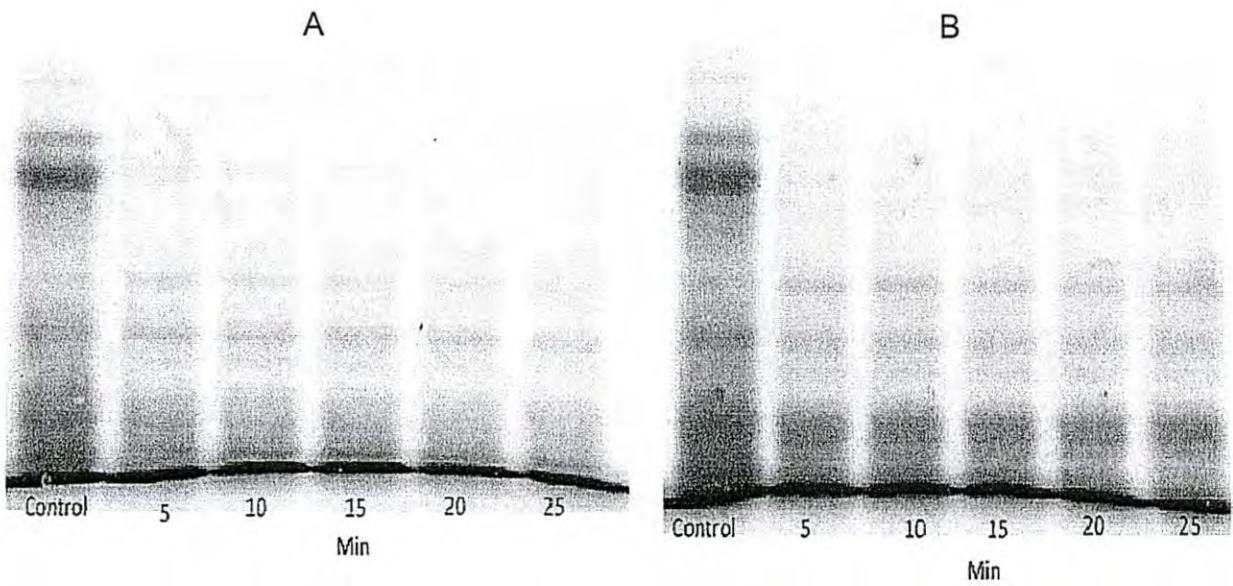




**Figura 4.** Perfil electroforético (SDS-PAGE) de albúminas de trigo precipitadas a diferentes valores de pH.

Las albúminas coagulan durante el procesamiento térmico a que es sometido la masa de harina de trigo por lo que pierden sus propiedades de solubilizarse en soluciones acuosas, es decir no pueden ser extraídas del pan una vez coaguladas debido a que se encuentran formando agregados moleculares muy grandes. La coagulación no es instantánea y requiere tiempo para llevarse a cabo. Aún más, no todas las albúminas coagulan a la misma velocidad, sino que algunas son más reactivas que otras. La pérdida de solubilidad de las distintas albúminas puede ser analizada mediante técnicas electroforéticas. Cuando las albúminas no se han coagulado, pueden ser solubilizadas y separadas por electroforesis. A distintos tiempos de tratamiento térmico, ciertas albúminas no podrán ser extraídas de la masa por lo que no aparecerán en el gel de poliacrilamida utilizado en electroforesis.

La **Figura 5** muestra el patrón electroforético en condiciones disociantes para los extractos de albúmina sometidos a las temperaturas de 70 y 100°C, en el gel se puede observar que son las albúminas de alto peso molecular las que reaccionan rápidamente, pero no pasa lo mismo con las de menor peso molecular ya que a todas las temperaturas utilizadas aparecen en el patrón electroforético, es decir, no se observaron cambios en su solubilidad. De acuerdo a los resultados obtenidos, las albúminas empiezan a coagularse a 70° C perdiendo su solubilidad, tal como se observó en el patrón electroforético. Estos resultados son similares a las temperaturas reportadas para la albúmina de la clara del huevo (60-64°C) y la albúmina de la leche (70°C).



**Figura 5.** Análisis electroforético bajo condiciones disociantes de un extracto de albúminas de trigo sometido a distintas temperaturas y tiempos. A: temperatura de coagulación de 70°C. B: temperatura de coagulación de 100°C.



Por su parte, a temperaturas de 30, 40 y 50°C no se observó cambios aparentes en solubilidad, es decir, al ser analizado electroforéticamente su patrón no cambió en los distintos tiempos del tratamiento de coagulación.

En los resultados obtenidos se mostró tanto para la temperatura de coagulación de 70°C y de 100°C en el control solo se hacen presentes dos bandas de alto peso molecular, sin embargo, posterior al calentamiento existe la presencia de una tercer banda de alto peso molecular, la cual aparecen durante todo el calentamiento, lo cual indica la formación de un agregado debido al calentamiento.

Shomer *et al.* (1995) describe la importancia para el proceso de cocción de que el horno alcance los 200-220°C para que la temperatura interna del pan sea aproximadamente de 100°C ya que a esta temperatura las albúminas coagulan y se comportan como agentes de unión de los componentes del pan.

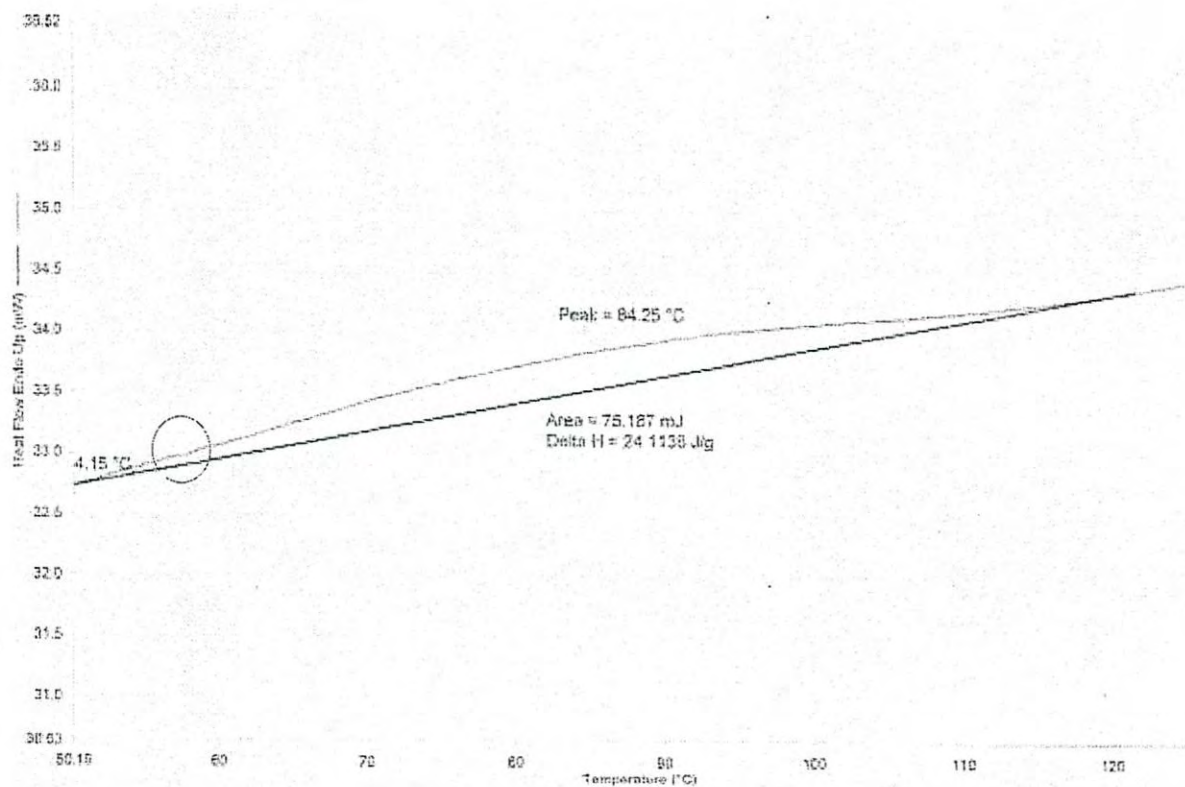
### **Propiedades Térmicas de las Albúminas**

La desnaturalización de las proteínas es muy estudiada por medio de calorimetría diferencial de barrido (DSC), observando la desnaturalización en los picos endotérmicos obtenidos en los termogramas.

La **Figura 6** muestra los cambios que ocurren en la transición de las albúminas totales, donde el termograma mostró un hombro pequeño que pareció corresponder probablemente a la asociación de las mismas albúminas (círculo rojo). Debido a las altas temperatura de desnaturalización que se encontraron (**Tabla 5**) es muy

probable que la conformación de los componentes de estas fracciones esté estabilizada por un gran número de interacciones hidrofóbicas, las cuales son de naturaleza endotérmica y por lo tanto, se requiere una mayor cantidad de energía para su desnaturalización (Gallegos *et al.*, 2004). Este pequeño hombro es también reportado para las albúminas del grano de *Phaseolus lunatus* L. en el artículo de Gallegos *et al.* (2004), sin embargo, ellos reportan que este se puede deber a una asociación de entre globulinas y albúminas debido a que el valor de Td que se reporta para este hombro corresponde al de globulinas.

Los resultados obtenidos contrastan con lo reportado por León *et al.* (2003) donde ellos publican que las albúminas y globulinas poseen picos endotérmicos de 50-55°C con entalpías cerca de 1 J/g.



**Figura 6.** Termograma de albúminas totales liofilizadas. Círculo rojo: transición de albúmina entre 50-60°C.



**Tabla 5.** Valores de ( $\Delta H$ ) y Temperatura de desnaturalización máxima ( $T_{max}$ ) de harina control, harina sin albúmina y harinas reconstituidas.

Tratamiento	$T_o$ (°C)	$T_{max}$ (°C)	$\Delta H$ (J/g)
Harina	54.2±0.05	79.1±0.5	0.9±0.1
Harina sin albúmina	54.9±0.1	81.1±0.1	69.3±0.05
Albúmina	54.5±0.05	84.0±1.6	24.4±0.1
<sup>1</sup> HR1	53.2±0.1	79.7±1.1	19.3±0.07
<sup>2</sup> HR2	54.6±0.08	77.7±0.1	18.1±0.5
<sup>3</sup> HR3	52.2±0.3	78.7±0.3	18.9±0.4
<sup>4</sup> HR4	50.1±0.05	78.4±1.2	17.3±0.7

<sup>1</sup>HR1: Harina reconstituida al 100%, <sup>2</sup>HR2: Harina reconstituida al 75%, <sup>3</sup>HR3: Harina reconstituida al 50%, <sup>4</sup>HR4: Harina reconstituida al 25%.  
Los valores son promedio de 3 repeticiones  $\pm$ Desviación Estándar

## Parte II: Comportamiento Reológico y Calidad Panadera de las Harinas Reconstituidas

### Reología de la Masa de Harinas Reconstituidas y sin Reconstituir

Esta prueba fue realizada para evaluar la resistencia que ofrece la masa al amasado de cada una de las harinas reconstituidas así como de la harina control y la harina sin albúminas, además de conocer el tiempo óptimo de amasado (TOA). Es importante considerar que el porcentaje de proteína está relacionado con la absorción de agua y la tolerancia al amasado.

La capacidad de absorción de agua determinada en el mixógrafo se define como la cantidad de agua requerida para obtener una masa de consistencia óptima. El nivel de agua está influenciado por varios factores, el primero y el más importante es el contenido proteína. Sin embargo, es bien sabido que la capacidad de unión de agua dependerá de la composición de aminoácidos, la conformación de proteínas, pH, y temperatura (Silva-Sánchez *et al.*, 2004). En la **Tabla 6** se muestra la relación que existe entre la proteína contenida en las harinas reconstituidas y la harina sin albúmina con la capacidad de absorción de agua, donde no se observa una relación lineal entre estos parámetros, lo cual puede deberse a que las harinas reconstituidas tuvieron un tratamiento previo en la obtención de la harina sin albúminas y la albúmina aislada. Sin embargo, en la **Tabla 5** se observó que la harina reconstituida

**Tabla 6.** Tiempos óptimos de amasado determinados mediante el Mixógrafo National (National MFC, CO. Lincoln, Nebr) para las harinas reconstituidas.

Tratamiento	Proteína (%)	TOA (min)
Harina control	11	3.5±0 <sup>a</sup>
HR <sup>1</sup> 100%	11.7	9.5±0 <sup>b</sup>
HR <sup>1</sup> 75%	12.36	10±0 <sup>b</sup>
HR <sup>1</sup> 50%	11.45	10.5±0 <sup>b</sup>
HR <sup>1</sup> 25%	10.76	9.50±0.70 <sup>b</sup>
HR <sup>1</sup> 0%	10.76	11.5±0 <sup>b</sup>

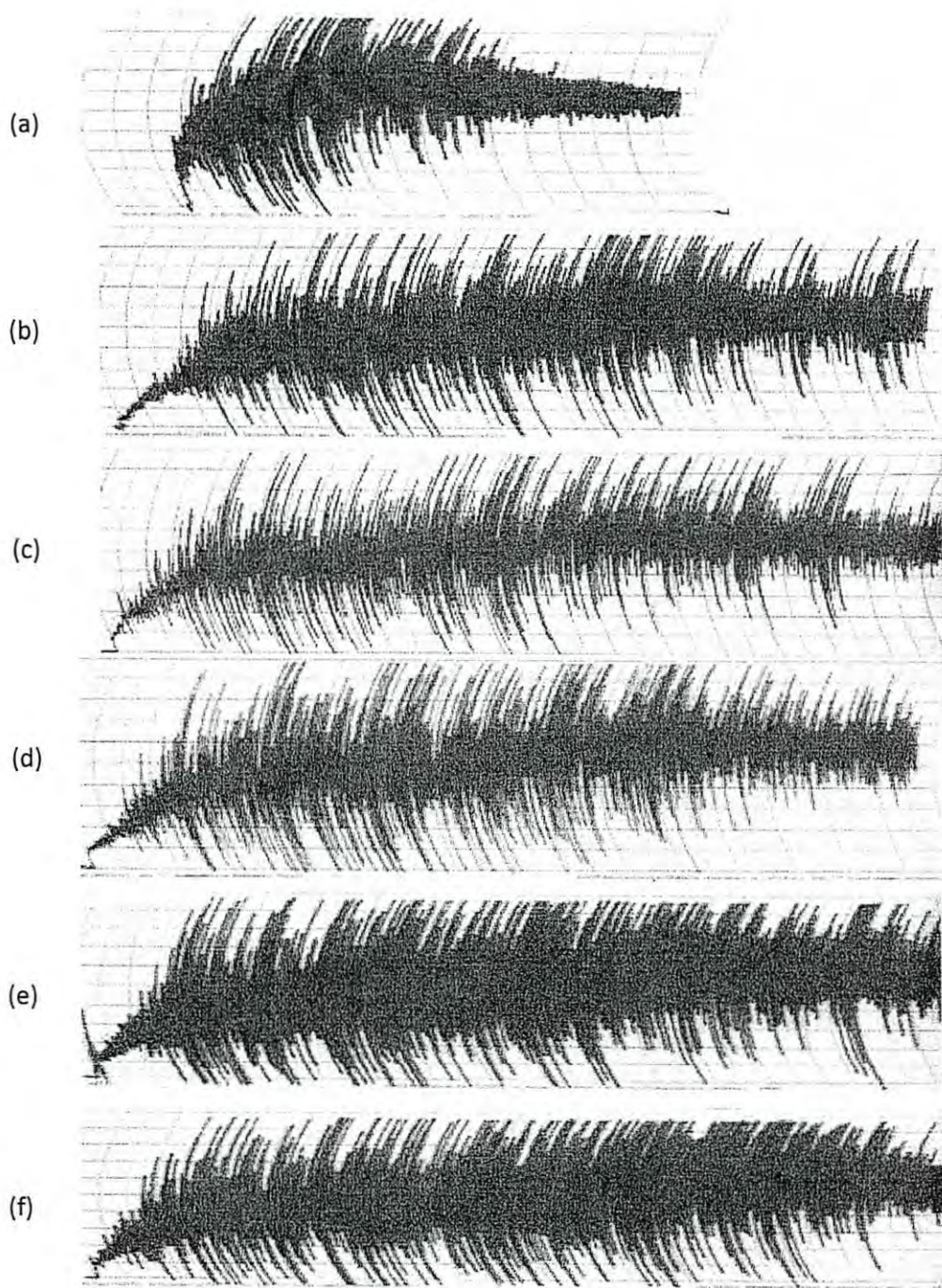
<sup>1</sup>HR: Harina Reconstituida. Los valores son promedios de dos repeticiones ±SD  
Los valores con letra diferente son significativamente diferentes (p<0.05).



al 25% presenta una disminución en su tiempo óptimo de amasado. Cabe destacar que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los cada una de las harinas reconstituidas pero sí con respecto a la harina control.

Como se puede observar, los tiempos de óptimos de amasado (TOA) para las harinas reconstituidas son largos comparándolas con la harina control (**Figura 8**), lo cual puede deberse, tal como se mencionó anteriormente, a la manipulación de la harina sin albúmina y de la albúmina misma. En esta misma figura se observa que cada una de las harinas reconstituidas en sus diferentes niveles son harinas más fuertes que la harina control debido a que presentan tiempos de amasado y altura mayor de la banda mixográfica.

Durante el proceso de mezclado se observó para los tratamientos una consistencia seca en la masa pese a que se ajustaron los valores del agua adicionada a los resultados obtenidos en la prueba de capacidad de absorción de agua (los cuales se presentan más adelante). Lo anterior se atribuye al proceso mediante el cual se obtuvo la harina sin albúmina, es decir, que las proteínas de almacenamiento ya se encuentran formando el gluten y no en su estado nativo.



**Figura 8.** Mixogramas de (a) harina control, (b) reconstitución al 100% de albúmina, (c) reconstitución al 75% de albúmina, (d) reconstitución al 50% de albúmina, (e) reconstitución al 25% y (f) harina sin albúmina.



## **Capacidad de Absorción de Agua**

Las harinas reconstituidas y la harina control fueron analizadas mediante la técnica propuesta por Silva-Sánchez *et al.* (2004) sin obtener variaciones considerables estadísticamente (**Tabla 7**).

La capacidad de absorción de agua de una harina es un criterio de calidad importante para la fabricación de pan y un factor económico significativo. Cuanta más agua puede integrarse en una masa, mayor es el rendimiento de panificación. Además, una carga de agua alta esponja la miga y prolonga el tiempo de frescura al retrasar el endurecimiento del pan.

## **Determinación del Volumen Específico del Pan**

La prueba final para evaluar la calidad de una harina es la prueba de panificación, donde los datos obtenidos de esta prueba son las características de la masa (absorción del agua, características de la miga tales como textura y color, y volumen de pan).



**Tabla 7.** Determinación de capacidad de absorción de agua.

Tratamiento	Cantidad de Agua Absorbida (g H <sub>2</sub> O abs/g muestra)
Harina control	0.80±0
HR <sup>1</sup> 100%	0.93±0.06
HR <sup>1</sup> 75%	0.90±0
HR <sup>1</sup> 50%	0.97±0.06
HR <sup>1</sup> 25%	1.00±0
HR <sup>1</sup> 0%	1.07±0.06

HR<sup>1</sup>: Harina Reconstituida. Los valores son promedios de dos repeticiones ±SD

En la **Tabla 8** se muestra la variación en volumen de cada uno de los panes obtenidos a partir de las harinas reconstituidas. En las harinas reconstituidas del 75% al 0% de albúmina no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Haciendo un análisis general de los datos presentados en la **Tabla 7**, se concluye que los panes elaborados con harinas reconstituidas hasta 75% de albúminas no presentaron diferencias en peso y volumen, así como también en la densidad relativa. Estos resultados pueden sugerir que las albúminas no ejercen influencia en dichos parámetros, y que es posible que su función esté relacionado con otras propiedades, tal vez en la impartición de textura y en los requerimientos de amasado tal como se observó en lo largos tiempos de mezclado registrados en el mixógrafo. De igual forma, el papel de las albúminas en las características de las hogazas de pan es evidente en la formación de alvéolos, los cuales, para formarse, requieren de la interacción simultánea de todos los componentes de la mezcla para soportar las altas presiones del gas que tiende a escaparse durante la panificación. Así, las albúminas aparentemente confieren propiedades estructurales, y su ausencia disminuye la capacidad de retención del gas dando como resultado un producto compacto. Los resultados mostrados en la **Tabla 7** indican que las albúminas no reaccionaron favorablemente para obtener panes similares al control.

El color también es afectado (**Figura 9**), observándose que en el pan control se tiene el color característico del pan, mientras que en el pan sin albúminas se observa un color blanco. Lo anterior puede explicarse a que esta fracción de proteínas desempeña un papel importante en la formación de costra del pan debido a que favorece las reacciones de oscurecimiento no enzimático (Serna, 1996) y al no

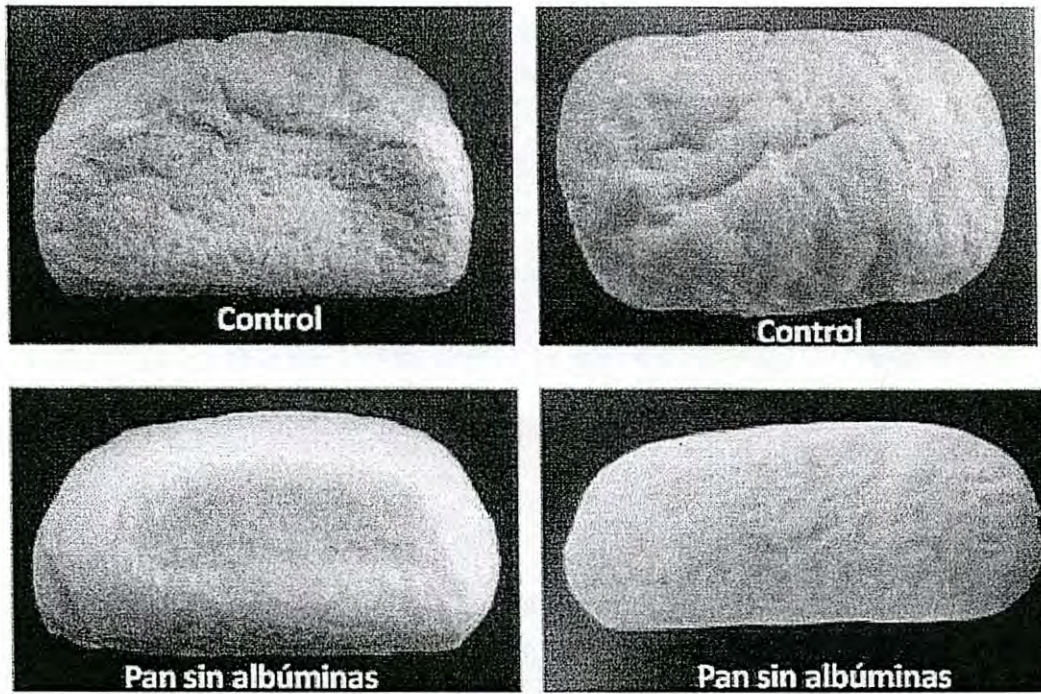
**Tabla 8.** Determinación de peso y volumen de las hogazas de pan<sup>1</sup>.

<b>Tratamiento</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>Volumen (cc)</b>	<b>Densidad Relativa<sup>2</sup></b>
Control	47.5±0.06	117.9±3.5 <sup>a</sup>	0.40
HR 100%	48.5±0.5	118.7±3.5 <sup>b</sup>	0.40
HR 75%	46.8±0.1	115.4±0.0 <sup>b</sup>	0.40
HR 50%	48.8±0.1	118.8±1.4 <sup>b</sup>	0.41
HR 25%	47.1±0.1	114±0.7 <sup>b</sup>	0.41
HR 0%	46.9±0.03	114±0.2 <sup>b</sup>	0.41

<sup>1</sup> Los valores son promedio de 2 repeticiones ±Desviación Estándar

<sup>2</sup>Expresada como peso (g)/volumen (cc)





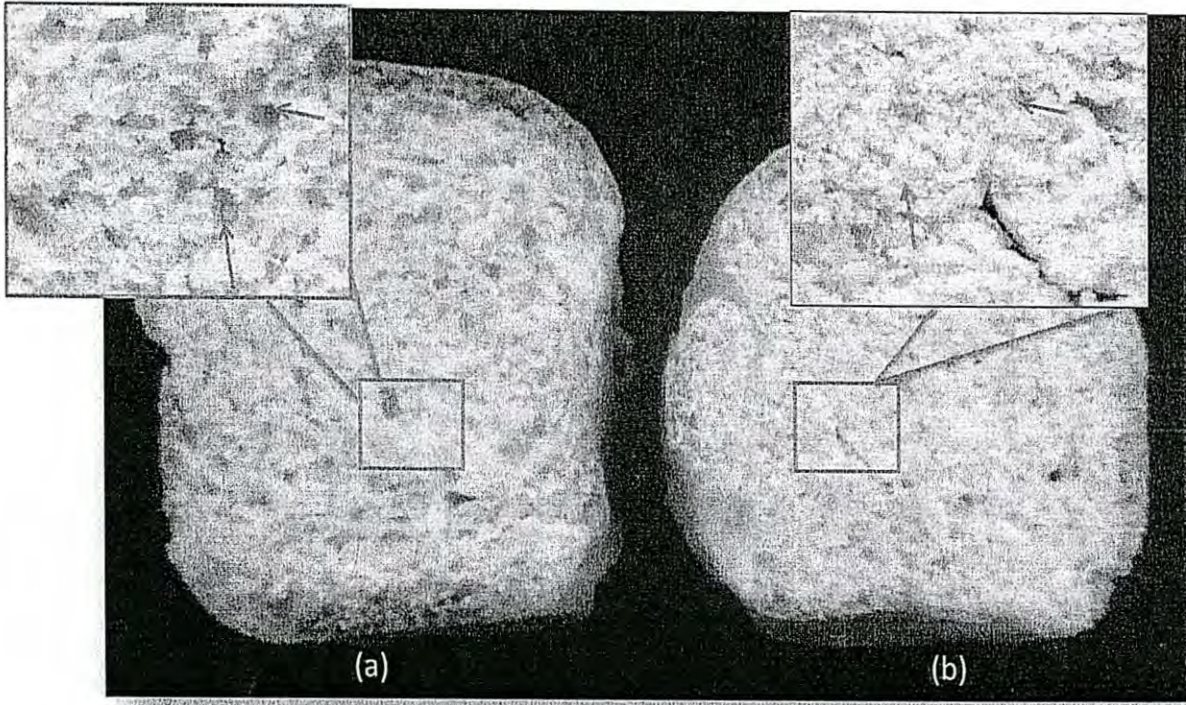
**Figura 8.** Influencia de la fracción albúmina en las características físicas de hogazas de pan de harina de trigo.

encontrarse en su estado nativo las enzimas no actuaron de manera efectiva. Por otro lado, la harina reconstituida sufrió modificaciones por lo que se le puede atribuir esta falta de coloración al proceso de obtención de harina sin albúmina.

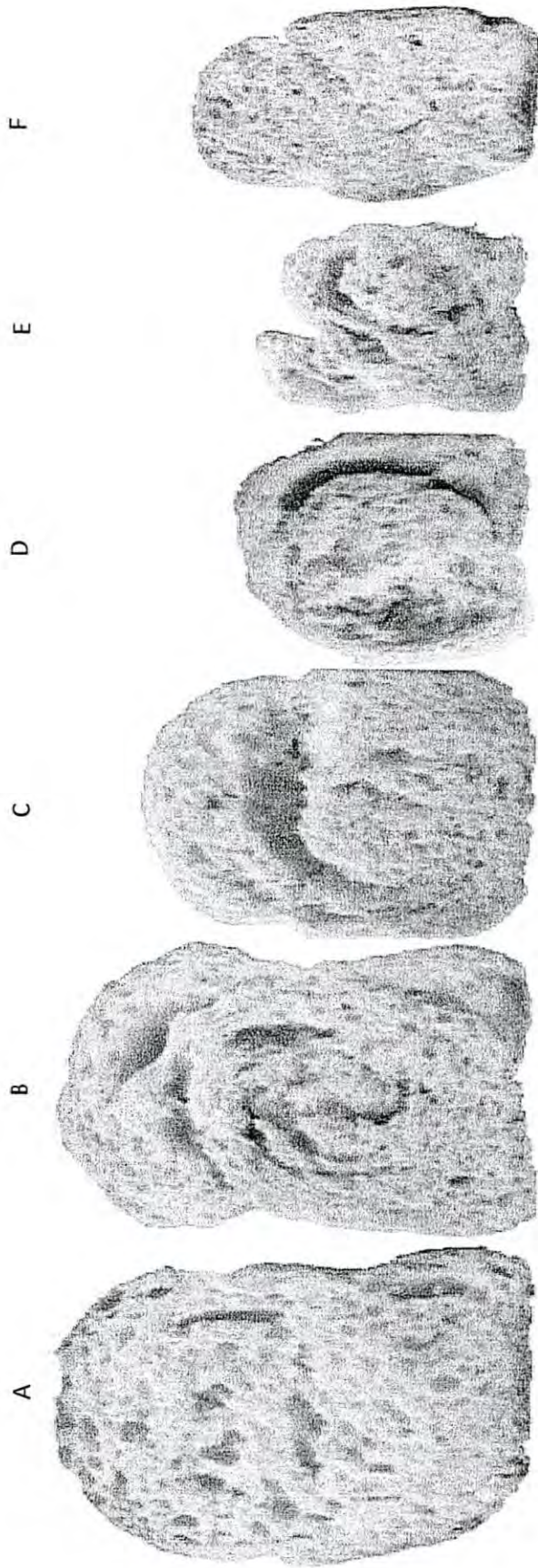
En la **Figura 10** y **Figura 11** se presenta los cortes transversales para los panes obtenidos con las harinas reconstituidas y la harina control. En la **Figura 10** se observa que en el pan de la harina control los alvéolos se encuentran muy bien definidos y en mayor proporción, mientras que en el pan sin albúminas se presenta una miga más compacta y casi sin alveolos, lo cual se puede atribuir a la ausencia de las albúminas ya que éstas ayudan a retener el aire ocluido en la masa.

En la **Figura 11** se observa como varía el tamaño del pan en la prueba de panificación, sin embargo, esto se debe a la manipulación previa que ha sufrido la harina.





**Figura 10.** Corte transversal de hogazas de pan. (a) Pan control (b) pan sin albúminas.



**Figura 11.** Corte transversal de hogazas de pan. A: pan control, B: HR 100%, C: HR 75%, D: HR 50%, E: HR 25% y F: HR 0%.



## CONCLUSIONES

1. La calorimetría diferencial de barrido muestra altas temperaturas de desnaturalización de las albúminas totales, sin embargo, la formación de complejos proteicos requieren temperaturas más elevadas de desnaturalización.
2. Durante la extracción de albúminas es posible que se haya formado gluten lo cual posiblemente limitó, al momento de reconstituir las harinas, su interacción con las albúminas.
3. Los mixogramas mostraron largos tiempos de mezclado posiblemente a la presencia de agregados proteicos como el gluten. Esto sugiere que las albúminas agregadas a las harinas reconstituidas no reaccionaron químicamente durante el mezclado.
4. Siendo las albúminas solubles en agua, ésta es mejor distribuida y retenida químicamente por los distintos componentes de la mezcla. El menor peso de la hogaza de pan sin albúminas podría explicar la importancia de las albúminas en la retención de agua en el producto.

## RECOMENDACIONES

1. Dar tratamiento a las albúminas de trigo inmediatamente ya que estas reaccionan en un lapso de tiempo corto (aproximadamente 3 horas). Por lo que se sugiere que la liofilización sea inmediatamente después de la extracción de las proteínas.
2. Si se van a utilizar las albúminas de trigo en fresco, es decir, en solución, realizar los análisis a temperatura de 4°C para no desnaturalizar la proteína.
3. Para efectos de investigación, utilizar cantidades pequeñas de harina para realizar las extracciones de albúmina ya que entre mayor harina se utilice para menor es el rendimiento.

## REFERENCIAS

- American Association of Cereal Chemists. 1995. Approved Methods of the AACC, 9<sup>th</sup> Ed. The Association: St. Paul, MN. Methods 44-19, 46-30, 54-40A y 10-10B.
- Avanza, M. C. y Añon, M. C. 2006. Efecto del tratamiento térmico en las propiedades fisicoquímicas de albúminas y globulinas de *Amaranthus Hypochondriacus*. Universidad Nacional del Noreste. Argentina. Documento [PDF] recuperado 2011.
- Ávila, Z. C. 2011. Determinación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales del aislado e hidrolizado enzimático de la proteína de soya a escala piloto, para aplicación en alimentos. Documento digital recuperado [PDF]: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4300/1/CD-3502.pdf>
- Badui, D. S. 2006. Química de los alimentos. Cuarta Edición. Ed. Pearson Educación. México.
- Brew, K y Grobler, J.A. 1992.  $\alpha$ -Lactalbumin. Advanced Dairy Chemistry. proteins, vol. 1. Ed. P.F. Fox. pp. 191-229.
- Blum H., Beier H., y Gross H.J. 1987. Improved silver staining of plant proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gels. Electrophoresis 8:93-99.
- Cafaro, M. J. 2005. Inducción a la senescencia en plantas de trigo y arroz. Tesinas de Belgrado. Universidad de Belgrado, Argentina. Documento [PDF] recuperado en: [http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/175\\_cafaro.pdf](http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/175_cafaro.pdf)
- Curioni, A., Pogna, N. E. y Peruffo, A. D. B. 1996. The quantity of bound beta-amylases is related to the size of gluten polymers. Pages 307-311 in: Gluten 96. C. W. Wrigley, ed. RACI: Melbourne, Australia.
- Deponte, R., Parlamenti, R., Petrucci, T., Silano, V. y Tomasi, M. 1976. Albumin  $\alpha$ -amylase inhibitor families from wheat flour. Cereal Chemistry 53(5):805-820.
- Finney, K. F. 1943. Fractionating and reconstituting techniques as tools in wheat flour research. Cereal Chem. 20: 381-396.
- Gallegos, T. S., Pacheco, A. J., Betancur, A. D. y Chel, G. L. 2004. Extracción y caracterización de las fracciones proteínicas solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. Archivos latinoamericanos de nutrición. 54 (1): 81-88.
- Graßberger, A., Schieberle, P. y Koehler, P. 2003. Fractionation and reconstitution of wheat flour- effect on dough rheology and baking. Eur Food Res Technol 216:204-211.



- Gerrard, J. A. y Brown, P. K. 2002. Protein cross-linking in food: mechanisms, consequences, applications. International Congress Series 1245:211-215.
- Gianibelli, M. C., Larroque, O. R., MacRitchie, F. y Wringley, C.W. 2001. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm protein. Review Online. Documento [PDF] recuperado en: <http://www.aaccnet.org/cerealchemistry/freearticle/gianibelli.pdf>
- Gobbetti, M., Giuseppe, R. C., Coda, R., De Angelis, M., Di Cagno, R. y Carnevali, P. 2009. Long-term fungal inhibitory activity of water-soubke extract from *Amaranthus ssp.* Seeds during storage of gluten-free and wheat flour breads. International Journal of Food Microbiology. 131:189-196.
- Goesaert, H., Veraberbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K. y Delcour, J. A. 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. Trends in Foos Science & Technlogy, 16: 12-30.
- Gupta, R. B., y MacRitchie. F. 1991. A rapid one-step one-dimensional SDS-PAGE procedure for analysis of subunit composition of glutenin in wheat. J. Cereal Sci. 14:105-109.
- Hartree E. F. 1972. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal Biochem. 48(2):422-427.
- Hassan, H., Afify, A., Basayiony, A., y Ahmed, G. 2010. Nutritional and functional properties of defatted wheat protein isolates. Aust. J. Basic & Appl. Sci., 4(2): 348-358.
- Hovart, D., Gordana, S., Drezner, K. y Dvojkovic. 2007. The influence of albumins and globulins on bread-making quality of wheat (*Triticum aestivum* L.). Agronomski Glasnik.
- Islas, R. A., MacRitchie, F., Gandikota, S. y Hou, G. 2005. Relaciones de la composición proteínica y mediciones reológicas en masa con la calidad panadera de harinas de trigo. Rev. Fitotec. Mex. 28(3):243-251.
- Ju, Z. Y., Hettiarachchy, N. y Rath, N. 2001. Extraction, Denaturation and Hydrophobic Properties of Rice Flour Proteins. *J Food Sci* 66(2):229-232.
- Kawagoe, Y., Suzuki, K., Tasaki, M., Yasuda, H., Akagi, K., Katoh, E., Nishizawa, N.K., Ogawa, M. y Takaiwa, F.. 2005. The critical role of disulfide bond formation in protein sorting in the endosperm of rice. Plant Cell 17:1141-1153.
- Kodama, T., Miyazaki, T., Kitamura, I., Suzuki, Y., Namba, J. y Torikai, Y. 2005. Effect of single and long-term administration of wheat albumin on blood glucose control: randomized controlled clinical trials. Eur J Clin Nutr. 2005; 59:384-392

- Kumagai, H. 2010. Wheat proteins and peptides. Bioactive proteins and peptides as Functional foods and nutraceuticals. Chapter 20.
- Laemmli, U.K. 1972. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680.
- León, A., Rosell, C. y Benedito de Barber, C. 2003. A differential scanning calorimetry study of wheat proteins. *Eur Food Res Technol* 217:13-16.
- López, J. E. 2013. Levadura y Fermentación. Documento recuperado 2013 [PPT]
- Lowe, B. 2012. Coagulation of Proteins. Tomado de Lowe, B. *Experimental Cookery from the Chemical and Physical Standpoint*. [<http://chestofbooks.com/food/science/Experimental-Cookery/Coagulation-Of-Proteins.html>]
- MacRitchie, F. 1989. Baking Quality of Wheat Flours. Fractionation and reconstitution techniques. *Advances in food research*. Vol 29 pag216
- Mayboca-Lucero, G. E., Cinco-Moroyoqui, F.J, Ocaño-Higuera, V.M, Ruiz-Bernal, A. y Quizán-Plata, T. 2010. Cambios en Solubilidad de las Proteínas de Trigo Ocasionado por el Tratamiento Térmico en Pan. Tesis de licenciatura.
- Merlino, M., Leroy, P., Chambon, C. y Branlard, G. 2009. Mapping and proteomic analysis of albumin and globulin proteins in hexaploid wheat kernels. *Theor Appl Genet* 118:1321-1337
- Minetti, M., Morisi, G., Silano, V. y Accardi, N. 1975. Albumin pools with different extraction behaviors in wheat seed. *Cereal Chem.* 52: 298
- Osborne, T. B. 1907. The protein of the wheat kernel. *Carnegie Inst. Wash. Pub.* 84. Tomado de Minetti *et al.*, 1975.
- Oszvald, M., Tamás, C., Rakszegi, M., Tömösközi, S., Békés, F. y Tamás, L. 2009. Effects of incorporated amaranth albumins on the functional properties of wheat dough. *J Sci Food Agric.* 89:882-889.
- Pence, J. W. 1962. The flour proteins. *Cereal Sci.* 7:178-180, 208. Tomado de: Hosney *et al.*, 1969.
- Pence, J. W., y Elder, A. H. 1953. The albumin and globulin proteins of wheat. *Cereal Chem.* 30:275-287. Tomado de Hosney *et al.*, 1969.
- Pence, J. W., Elder, A. H., y Mecham, D. K. 1951. Some effects of soluble flour components on baking behavior. *Cereal Chem.* 28:94-104. Tomado de Hosney *et al.*, 1969.



Peruffo, A. D. B., Pogna, N. E., y Curioni, A. 1996. Evidence for the presence of disulphide bonds between beta-amylase and low molecular weight glutenin subunits. Pages 312-315 in: *Gluten 96*. C. W. Wrigley, ed. RACI: Melbourne, Australia

Pomeranz, Y. 1988. *Wheat: Chemistry and Technology*. American Association of Cereal Chemists, Inc. Volume I.

Rogers, D. E. y Hosenev, R. C. 1989. A fractionation and reconstitution method for saltine cracker flours. *Cereal Chem* 66(1):3-6.

Rothfus, J. y Kennel, S. J. 1970. Properties of wheat beta-amylase adsorbed on glutenin. *Cereal Chem.* 47:140-146.

Serna, S.S.O. 1996. *Química, almacenamiento e industrialización de los cereales*. AGT editor, México, D.F.

Shewry, P. y Halford, N. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J Exp Bot* 53: 947-958.

Shomer, I., Lookhart, G., Salomon, R. y Vasiliver, R., Bean, S. 1995. Heat coagulation of wheat flour albumins and globulins, their structure and temperature fractionation. *J of Cereal Sci* 22:237-249.

Silva-Sánchez, C., González-Castañeda, J., De León-Rodríguez, A. y Barba de la Rosa, A. P. 2004. Functional and Rheological Properties of Amaranth Albumins Extrated From Two Mexican Varieties. *Plant Foods for Human Nutrition*. 59:169-174.

Singh, H., y MacRitchie, F. 2001. Use of sonication to probe wheat gluten structure. *Cereal Chem.* 78(5): 526-529.

Singh, H., y MacRitchie, F. 2001. Use of sonication to probe wheat gluten structure. *Cereal Chem.* 78(5): 526-529.

Singh, J. y Skerritt, J. 2001. Chromosomal control of albumins and globulins in wheat grain assessed using different fractionation procedures. *J of Cereal Sci* 33:163-181

Stauffer, C. E. 2007. *Principles of Dough Formation*. Chapter 11 of *Technology of breadmaking*.

Vaclavik, V. 2002. *Fundamentos de Ciencia de los Alimentos*. 1ra edición. Editorial Acibia, S.S., Zaragoza, España. Pp 133-147.

Vaclavik, V., Christian, E. W. 2008. *Essential of Food Science*. Thrid Edition. Springer. Libro en línea recupedado de: <http://books.google.com.mx/books?id=iCCsvwZrguUC&pg=PA152&lpg=PA152&dq=i+soelectric+point+in+food+proteins&source=bl&ots=AbVeybDA1v&sig=EMyPjoDg>



Vásquez, L. F., Camacho, C. M. A., Granados, N. M. C., Silva, E. B. A. y Islas, R. A. R. 2009. Propiedades reológicas y composición proteica: parámetros de calidad en harinas de líneas experimentales de trigo.

Veraverbeke, W. S. y Delcour, J. A. 2002. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 42(3): 179-208.

Villanueva, O. y Arnao, I. 2007. Purificación de una proteína de 35 kDa rica en lisina, la fracción albúmina de *Amaranthus caudatus* (kiwicha). *An Fac Med Lima* 68(4):344-350.

Warchalewski, J. y Gralik, J. 2010. Influence of microwave heating on biological activities and Electrophoretic pattern of albumin fraction of wheat grain. *Cereal Chem.* 87:35-41.

Žilić, S., Barać, M., Pešić, M., Dodig, D., Hadži-Tašković, V., Janković, M. y Mladenović, S. 2011a. Genetic variability of albumin-globulin content, and lipoxygenase, peroxidase activities among bread and durum wheat genotypes. *Genetika* 43(3): 503-516.

Žilić, S., Barać, M., Pešić, M., Dodig, D. y Ignjatović-Mičić, D. 2011b. Characterization of protein from grain of different bread and durum wheat genotypes. *Int. J. Mol. Sci.* 12:5878-5894.

Zoccatelli, G., Dalla, P. C., Mosconi, S., Consolini, M., Veneri, G., Chignola, R., Peruffo, A. y Rizzi, C. 2007. Full-fledged proteomic analysis of bioactive wheat amylase inhibitors by a 3-D analytical technique: Identification of new heterodimeric aggregation states. *Electrophoresis* 28:460-466.