

## INTERACCIÓN HIDROCOLOIDE-GLUTEN EN MASA PANARIA EVALUADA A TRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA FT-RAMAN Y ELECTROFORESIS SDS-PAGE

CORREA, M. Jimena (1), FERRER, Evelina (2), AÑÓN, M. Cristina (1), FERRERO, Cristina. (1)

(1) CIDCA - Fac. Ciencias Exactas-UNLP- CCT La Plata (CONICET) 47 Y 116 (1900) La Plata (2) CEQUINOR-Fac. Ciencias Exactas-UNLP-CCT La Plata (CONICET) 47 y 115 (1900) La Plata, Argentina  
[mjcorrea@biol.unlp.edu.ar](mailto:mjcorrea@biol.unlp.edu.ar)

### Introducción

Los hidrocoloides son aditivos que pueden ser empleados para mejorar la calidad panadera de una harina. El efecto que ejercen dependerá, además de la concentración, de su estructura química. En este trabajo se estudió el efecto de celulosas modificadas y pectinas sobre las características microestructurales de masa de trigo.

**Palabras clave:** FT-Raman, electroforesis SDS-PAGE, gluten, celulosas modificadas, pectinas.

### Materiales y métodos

#### Materiales

Se emplearon harina de trigo 000 (Molino Campódonico S.A., La Plata) y los siguientes hidrocoloides: celulosa microcristalina (MCC), carboximetilcelulosa (CMC), dos tipos de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC F 4M y F50) y pectinas de bajo grado de esterificación y amidada (PBM) y de alto grado de esterificación (PAM). Las celulosas se emplearon al 1,5% y las pectinas al 2 %. Las masas se prepararon sin y con NaCl (2%).

#### Métodos

##### Preparación de la masa

Los ingredientes fueron mezclados en seco en una amasadora planetaria (Kenwood, Italia), se agregó el agua (según farinograma) y se amasó el tiempo de desarrollo farinográfico. Las masas se liofilizaron. Se emplearon como controles masas sin hidrocoloide, sin y con NaCl.

##### FT-Raman

Los espectros FT-Raman fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker IFS 113 FT-IR (Ettlingen, Alemania) equipado con un láser Nd: YAG de 1064 nm. Los espectros fueron registrados a temperatura ambiente, con una resolución de  $6 \text{ cm}^{-1}$  y resultaron del promedio de 1000 escaneos. Se determinaron la forma y posición de las bandas por el método de la segunda derivada, asumiendo una mezcla inicial de curvas Lorentzianas y Gaussianas con una anchura de banda (FWHH) entre  $6-8 \text{ cm}^{-1}$ . Los cálculos se realizaron con los programas Grams/32 (Galáctica Industries Corporation, Estados Unidos) y OPUS 4.0 (Bruker Optics, Alemania). Las asignaciones se basaron en Tu (1982), Herrero (2008)

y Ngarize (2004). Los resultados corresponden al promedio de dos muestras. Para cada formulación se preparó un control de almidón con KBr, de forma tal que el contenido de almidón fuera igual al presente en la masa.

### **Electroforesis SDS-PAGE**

Se realizó una extracción secuencial de las distintas fracciones proteicas a partir de masa liofilizada. Luego de extraer las albúminas y globulinas (con agua y buffer Tris- HCl 50 mM (pH 7,8) con KCl 100 mM y EDTA 5 mM, respectivamente), la fracción de gliadinas se extrajo con 1-propanol 50% y la de gluteninas con ácido acético 0,1M. Se realizaron electroforesis con los extractos en propanol 50% y ácido acético, utilizando un equipo Mini-Protean III (BIO-RAD, Inglaterra). La concentración de acrilamida/bisacrilamida fue de 12% y 4% para el gel separador y el apilador, respectivamente. Los geles se fijaron y tñieron con Coomassie blue R-250. Las masas moleculares fueron determinadas con el programa Sigma Gel versión 1.0 (Jandel Scientific, Estados Unidos).

### **Resultados**

En los espectros FT-Raman se analizó la zona correspondiente a Amida I, donde las bandas del almidón no se superponen con las de proteína. En general, el agregado de hidrocoloide en masas sin sal (Tabla 1) disminuyó la proporción de  $\alpha$ -hélice favoreciéndose el despliegue proteico. Las masas control y con MCC presentaron la estructura más compacta y la masa con CMC la más desplegada, con aumento de estructura al azar y de giros  $\beta$ .

En el control, la adición de NaCl (Tabla 2) disminuyó la proporción de  $\alpha$ -hélice y aumentó la de hoja plegada  $\beta$  paralela y antiparalela. El agregado de celulosas modificadas en presencia de NaCl (Tabla 2) disminuyó el porcentaje de  $\alpha$ -hélice respecto al control. La masa con CMC fue la que mostró la estructura más desplegada, con menor porcentaje de  $\alpha$ -hélice y alta proporción de estructura al azar y giros  $\beta$ .

Los perfiles electroforéticos de los extractos en propanol 50% no mostraron diferencias cualitativas debidos al tipo de hidrocoloide empleado tanto en ausencia (Fig. 2.1) como en presencia de NaCl (Fig. 2.2). En las masas sin NaCl se extrajeron en mayor proporción fracciones más livianas mientras que en presencia de NaCl, fracciones de alta masa molecular y agregados proteicos. En las masas con NaCl se observaron variaciones en la intensidad de bandas con CMC y HPMC F 4M, indicando que la red de gluten formada en cada caso conduce a una diferente labilidad de las polipéptidos frente al solvente de extracción. El perfil electroforético de la fracción proteica soluble en ácido acético 0,1M obtenida de masa sin NaCl (Fig. 2.3) mostró variaciones en la composición (señaladas con flechas) y en la intensidad de las bandas según el hidrocoloide empleado. Los extractos en ácido acético de masas con NaCl (Fig. 2.4) presentaron bandas más débiles que las muestras sin NaCl.

### **Conclusiones**

La espectroscopía FT- Raman permitió observar que los hidrocoloides inducen cambios en la conformación de las proteínas del gluten, los que además dependen de la presencia o ausencia de NaCl. El agregado de hidrocoloides, en todos los casos excepto cuando se agregaron pectinas en presencia de NaCl, disminuyó la proporción de  $\alpha$ -hélice y aumentó la de estructuras menos ordenadas. Las masas con CMC presentaron un mayor

desplegamiento proteico. Los resultados de las electroforesis SDS-PAGE confirmaron que existe un efecto diferencial de los hidrocoloides sobre la masa, dependiente de la presencia o no de NaCl.

### **Referencias**

Herrero, A.M. (2008). Raman spectroscopy a promising technique for quality assessment of meat and fish: A review. *Food Chemistry* 107: 1642–1651.

Ngarize, S., Herman, H., Adams, A., Howell, N. (2004). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6470-6477.

Tu, A.T. (1982). *Raman Spectroscopy en Biology: Principles and Applications*, John Wiley and Sons Inc., New York.

Tabla 1

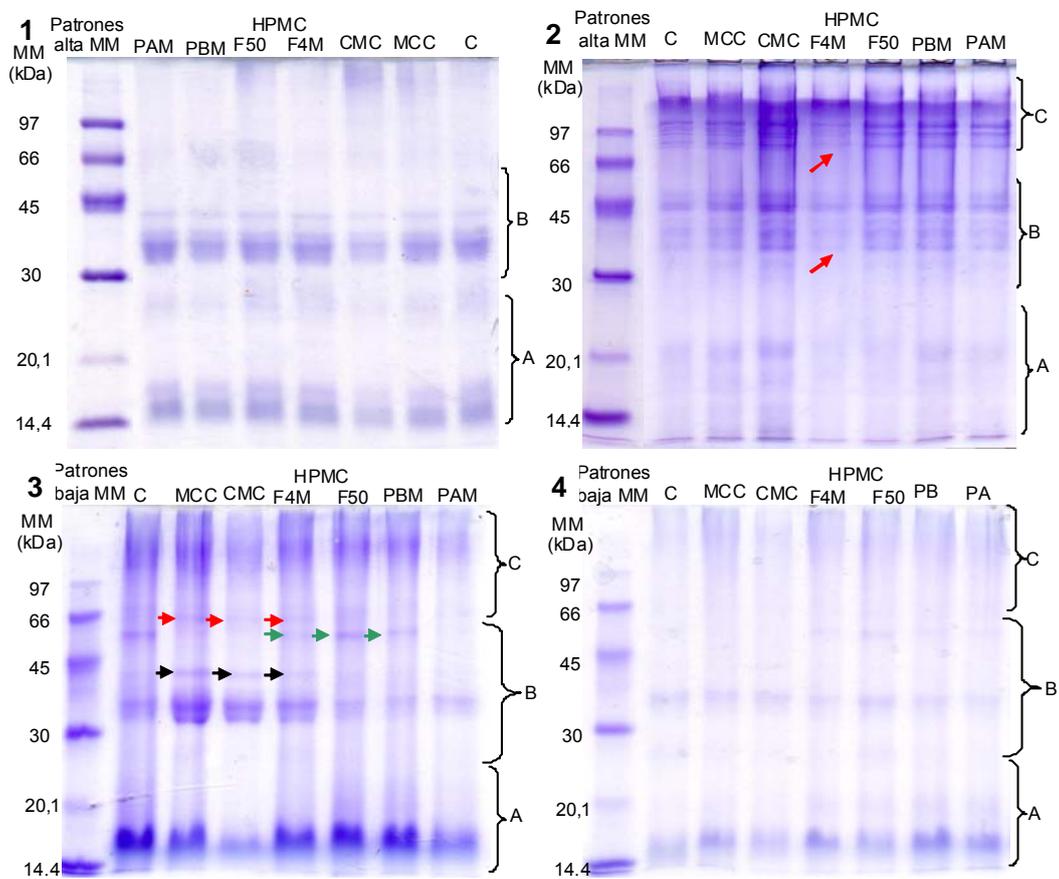
Masas sin NaCl	proporción relativa (%)				
	hoja $\beta$ -antiparalela	giro $\beta$	$\alpha$ -hélice + $\alpha$ -hélice solvatada	al azar	hoja $\beta$ -paralela
Control	14,19	13,25	61,43	7,65	3,52
MCC	26,35	0,88	55,09	11,16	6,39
CMC	6,84	40,65	12,38	36,20	3,79
HPMC F 4M	19,64	12,19	31,64	13,10	23,42
HPMC F 50	26,66	11,64	46,02	5,87	9,76
PAM	22,62	14,50	49,28	9,38	4,20
PBM	24,99	12,98	22,70	17,91	21,45

(DE= 0,6-0,7)

Tabla 2

Masas con NaCl	proporción relativa (%)				
	Hoja $\beta$ -antiparalela	Giro $\beta$	$\alpha$ -hélice + $\alpha$ -hélice solvatada	al azar	Hoja $\beta$ -paralela
Control	28,4	1,20	57,62	-	13,18
MCC	16,18	17,51	17,55	15,46	33,26
CMC	14,66	34,03	8,63	27,58	15,09
HPMC F 4M	11,99	11,19	20,86	27,10	28,87
HPMC F 50	14,91	37,80	31,69	-	15,61
PAM	21,91	4,15	54,64	5,27	14,06
PBM	14,82	10,00	58,01	6,75	10,29

(DE= 0,6-0,7)



**Figura 1.** Extractos obtenidos a partir de: masa sin NaCl con propanol 50 % (1) y con ácido acético 0,1M (3) y masa con NaCl con propanol 50% (2) y ácido acético 0,1M (4). A= albúminas y globulinas; B= gliadinas y LMW-GS; C= subunidades HMW-GS y agregados de HMW-GS. MM= masa molecular.