



*Universidad Nacional de Córdoba  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Escuela para Graduados*

---



**CALIDAD TECNOLÓGICA DE TRIGOS BLANDOS PARA  
LA OBTENCIÓN DE GALLETITAS. ASOCIACIÓN ENTRE  
LA COMPOSICIÓN GENÉTICA DEL  
GRANO Y LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE SUS  
HARINAS**

**Moiraghi Malena**

Tesis  
Para optar al Grado Académico de  
Doctor en Ciencias Agropecuarias

*Córdoba, 2013*

**CALIDAD TECNOLÓGICA DE TRIGOS BLANDOS PARA LA  
OBTENCIÓN DE GALLETITAS. ASOCIACIÓN ENTRE LA  
COMPOSICIÓN GENÉTICA DEL  
GRANO Y LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE SUS  
HARINAS**

**Malena Moiraghi**

**Comisión Asesora de Tesis**

**Director:** Dra. Gabriela T. Pérez .....

**Asesores:** Dr. Marcelo Helguera (Codirector) .....

Dr. Alberto E. León .....

**Tribunal Examinador de Tesis**

Dr. Alberto E. León .....

Dra. María Cecilia Puppo .....

Dra. Gabriela Tranquilli .....

**Presentación formal académica**

1 de noviembre  
Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Universidad Nacional de Córdoba

## AGRADECIMIENTOS

Me resulta complicado resumir en pocas palabras lo que significa a nivel personal y laboral haber llegado a esta instancia. Son muchas las personas que me ayudaron en este camino donde aprendí un montón de cosas que me permitieron formarme académicamente, pero las que más rescato tienen que ver con mi formación de vida; a todas ellas les corresponden pedacitos de esta tesis.

Hace ya diez años conocí a tres personas maravillosas que marcaron mi rumbo académico. Gracias a Gaby, Beto y Pablo por enseñarme a sentir pasión por la ciencia y por mostrarme que en este ambiente, que yo creía competitivo e individualista, se pueden lograr más y mejores cosas apostando al trabajo en equipo, al compañerismo y al respeto por el otro. Gracias por brindarme sus conocimientos, por su paciencia, por el inigualable ambiente de trabajo que supieron crear desde el principio ya que me hicieron saber que esto es lo que elijo. Todavía recuerdo, como si fuera ayer, a los tres esperando a mi lado, sin almorzar y con hambre, para ver si lográbamos ver las benditas puroindolinas en el gel. Esas y muchas otras son las cosas que me enamoraron de ellos, de su idea de grupo de trabajo y de la actividad científica.

Quiero agradecer especialmente a Gaby, mi mamá académica desde la tesina quien no solo me enseñó casi todo lo que se a nivel científico, sino que siempre me acompañó y me contuvo desde lo humano en su rol de “gallina clueca”, defendiendo y protegiendo a sus pollitos.

A Marcelo Helguera aceptar ser mi co-director de tesis y por, acompañamiento y por brindarme sus conocimientos. Quiero agradecer a Leo Vanzetti y Laura Pflüger por enseñarme y ayudarme con la parte más genética de mi tesis.

Gracias a Manolo por recibirme en España, por sus enseñanzas, pero fundamentalmente por esos dos hermosos meses compartidos que me llenaron de bellos recuerdos y por su amistad.

Quiero agradecer a Lore, Pao, Alicia, y muy especialmente a Euge, que estuvieron conmigo desde el principio del camino, a Mariela, Anedrés, Cristina y Anita que llegaron más tarde, ya que todos me brindaron su apoyo en diferentes modos y momentos siempre

que lo necesité, y especialmente por todos los hermosos momentos compartidos que hicieron del laboratorio un maravilloso lugar de trabajo.

A mi hermanita pequeña y demandante, Belu, por ser tan loquita y cariñosa y hacerme reír mucho. A Tefi, Sole, Pablo y Emiliano que pese al poco tiempo compartido me han brindado su apoyo me han acompañado de diferentes maneras en la última etapa de la tesis.

A las *chiquis del cepro*: Faby, Silvia, Sole, Vale y Vivi, que me acompañaron en una etapa de transición, que me brindaron calor humano y me ayudaron reír a pesar de las inclemencias del trabajo y del clima de las cierras. A Rafa Borneo, que siempre me alentó a huir del cepro, y por los momentos y las charlas compartidas en los helados pasillos ceprocorianos.

No puedo dejar de agradecer más que especialmente a mi hermana del corazón, Gaby. Gracias amiga por compartir cada momento de este camino desde el segundo año de la facu, cuando corría el año 2000. Sin tu cariño y buena onda no sé si hoy estaría en este lugar enterita y feliz. Gracias por ser un pilar donde siempre pude apoyarme, por tus consejos, por las horas de charla, por tus locuras y por los miles y millones de momentos compartidos juntas que siempre voy a llevar en mi corazón.

Al CONICET, la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y a la SECyT- UNC por el apoyo financiero que permitió la realización de esta tesis.

A la Facultad de Ciencias Agropecuarias, por brindarme la posibilidad de desarrollar este trabajo en sus instalaciones.

Por último, quiero agradecer a toda mi familia. A David, Graciela, Analía, Pehuén y Agustín por formar parte de mi vida y acompañarme con su apoyo incansable y su cariño.

A mis hermanas, Laura y Raquel por compartir la vida desde siempre.

Gracias a mis viejos, *los bichos*, por darme todo y más, por sus invalorable enseñanzas de vida, por su apoyo y su amor infinito y por todos los sacrificios que hicieron para que yo pudiera estudiar en la universidad.

A David, mi compañero de vida, mi amigo, mi amor y papá de mi hija, gracias por compartir tu vida conmigo. Gracias por estar siempre, por las charlas y el apoyo durante todos estos años, por enseñarme a ver las cosas de otro modo y a mirar siempre hacia adelante, por confiar y creer en mí y hacer que yo también lo hiciera.

A Lucía por ser mi pequeño sol, mi pequeña luz, mi alegría, mi vida, mi todo...su simple presencia hace que todo sea mágico y maravilloso.

## **DEDICATORIA**

*A Enrique, Nely,  
David y Lucía*

## RESUMEN

El objetivo de la tesis fue evaluar la calidad galletitera de 44 líneas de trigos blandos y estudiar su asociación con la composición físico-química de las harinas y la composición molecular de las proteínas del grano. Se encontró una gran variación anual y genotípica en la textura de los granos, la composición físico-química y la calidad galletitera de las harinas. El Factor Galletita (FG) osciló entre 5,03 y 7,86. El FG correlacionó significativamente ( $p < 0,05$ ) con el tamaño de partícula de la harina (PSA) ( $r = -0,31$ ), el contenido de almidón dañado (AD) ( $r = -0,46$ ), de pentosanos solubles ( $r = -0,67$ ) y totales ( $r = -0,41$ ), mientras que no mostró asociación significativa con el contenido de proteínas ni el gluten. Se encontró una asociación fuerte y negativa entre el FG y los SRC de sacarosa ( $r = -0,73$ ) carbonato ( $r = -0,53$ ) y agua ( $r = -0,66$ ). Los alelos de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D*, y la translocación del centeno tuvieron un efecto significativo sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y sobre su perfil de capacidad de retención de solventes (SRC). La presencia del alelo nulo para el locus *Glu-A1* tuvo un efecto positivo sobre el FG y mostró los mayores valores (7,10), mientras que la presencia de ambas translocaciones del centeno, 1BL/1RS y 1AL/1RS, mostraron un efecto negativo. El mayor FG se obtuvo con la siguiente combinación de gluteninas y secalinas: *Glu-A1*= nulo, *Glu-B1*= 7+8, *Glu-D1*= 2+12 y sin secalinas. Los tres cultivares que presentaron dicha combinación fueron el 19, el 44 y el 47. Se desarrollaron dos ecuaciones para predecir el FG de trigos blandos: una utilizando la composición de las HMW-GS, y la otra usando parámetros físico-químicos de las harinas, donde los mejores predictores del factor galletita fueron: PSA, AD y SRC sacarosa. La composición del almidón presentó variabilidad únicamente entre genotipos, mientras que las propiedades térmicas y de *pasting* también variaron entre años de cosecha. El FG se relacionó con % Vol A ( $r = 0,35$ ), To ( $r = 0,52$ ) y con diversos parámetros del RVA, mostrando un efecto del almidón sobre la calidad galletitera de trigos blandos. Los resultados indican que la composición alélica de las proteínas del grano y las propiedades físico-químicas de las harinas pueden ser herramientas útiles en los programas de mejoramiento a la hora de seleccionar trigos blandos con buena aptitud galletitera.

**Palabras clave.** Trigos blandos, HMW-GS, secalinas, calidad galletitera, almidón.

## ABSTRACT

The aim of the present work was to evaluate the cookie-making performance of flours from a set of 44 soft wheat lines and study their relationship with flour physicochemical composition, HMW-G composition and wheat-rye translocations. There was an important variation between genotypes and crop years on composition and cookie quality. Cookie factor (CF) values were 5.03–7.86. Particle size average (PSA) ( $r = -0.31$ ), damaged starch (DS) ( $r = -0.46$ ) and soluble (WSP) ( $r = -0.67$ ) and total pentosans (TP) ( $r = -0.41$ ) were significantly associated to CF, while protein content and gluten did not exhibit any significant correlation. High and significant negative correlations between sucrose SRC ( $r = -0.73$ ), water SRC ( $r = -0.66$ ), carbonate SRC ( $r = -0.53$ ), and CF were found. Flours with the best cookie quality produced cookies with the highest CF and lowest firmness, and had the lowest DS, TP, WSP content, and sucrose SRC values. Alleles encoded at *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci showed a significant effect on physicochemical flour properties and SRC profile. The null allele at *Glu-A1* locus presented the highest cookie factor observed (7.10). 1BL/1RS and 1AL/1RS rye translocations had a negative influence on CF. Genotypes with no rye translocations presented flours with higher CF. The combination of glutenins and secalins with the highest cookie factor was: *Glu-A1*= null, *Glu-B1*= 7+8, *Glu-D1*= 2+12 and no secalins. There were three genotypes with that combination: lines 19, 44 and 47. Two prediction equations to estimate the CF were developed: one using the HMW-GS composition and the other using physicochemical flour parameters, where SRC suc, SRC carb, water soluble pentosans, damaged starch and protein resulted in better CF predictors. Starch composition varied between genotypes, whereas thermal and pasting properties also varied between crop years. CF was related with % Vol A ( $r = 0.35$ ), To ( $r = 0.52$ ), and several parameters of pasting profile, showing an effect of starch properties of soft wheat on the cookie quality of their flour. All this data suggest that the grain protein allelic composition and physicochemical flour properties can be useful tools to select soft wheat on breeding programs.

**Key words:** Soft wheat, HMW-GS, secalins, cookie quality, starch.

# TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
LISTA DE TABLAS .....	X
LISTA DE FIGURAS .....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS Y/O SIMBOLOS .....	XIV
<b>CAPITULO 1.....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCION GENERAL.....</b>	<b>2</b>
GENERALIDADES SOBRE EL TRIGO .....	2
GRANO DE TRIGO .....	3
Textura del grano.....	5
Harina de trigo .....	7
PROTEÍNAS .....	8
Gluteninas .....	10
Gliadinas.....	13
ESTRUCTURA DEL GLUTEN .....	14
GENETICA DE LAS GLUTENINAS .....	18
TRANSLOCACION DEL CENTENO .....	20
ALMIDÓN .....	21
Propiedades funcionales del almidón .....	23
PENTOSANOS .....	26
LIPIDOS .....	27
GALLETITAS.....	28
Calidad galletitera.....	32
El rol del almidón .....	33
El rol de las proteínas .....	34
El rol de los pentosanos.....	35
TRIGO BLANDO EN ARGENTINA.....	36
HIPÓTESIS .....	38
OBJETIVOS .....	39
<b>CAPITULO 2. ....</b>	<b>40</b>
<b>MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>41</b>
MATERIAL .....	41
CARACTERIZACION MOLECULAR .....	42
Extracción de ADN.....	42
Puroindolinas ( <i>Pina-D1 Y Pinb-D1</i> ).....	43
Proteínas de reserva .....	44
OBTENCION DE HARINAS .....	45
Dureza del grano .....	46
Tamaño de partícula de la harina.....	46
COMPOSICIÓN Y CALIDAD DE LAS HARINAS .....	46
Humedad .....	46
Proteínas .....	46
Gluten.....	47
Pentosanos .....	47
Pentosanos totales.....	48

Pentosanos solubles .....	48
Almidón dañado .....	49
Índice de retención de agua alcalina (IRAA) .....	50
Perfil de capacidad de retención de solvente (SRC) .....	50
<b>CARACTERIZACIÓN DEL ALMIDÓN .....</b>	<b>51</b>
Amilosa .....	51
Distribución de tamaño de gránulos de almidón .....	53
Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	53
Perfil de viscosidad (RVA) .....	54
<b>ELABORACION DE GALLETITAS .....</b>	<b>56</b>
Factor Galletita.....	57
Textura .....	57
Color .....	58
<b>ANALISIS ESTADISTICO.....</b>	<b>59</b>
<b>CAPITULO 3. ....</b>	<b>61</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
<b>PRIMERA ETAPA.....</b>	<b>62</b>
<b>VARIABILIDAD GENETICA DE LAS DISTINTAS LÍNEAS DE TRIGO BLANDO</b>	
.....	62
<b>CARACTERIZACIÓN DE LOS TRIGOS (COSECHA 2006) .....</b>	<b>69</b>
Determinación de la composición físico-química de las harinas .....	71
Pruebas de predicción .....	75
Calidad galletitera.....	77
<b>RELACIÓN ENTRE LOS COMPONENTES DE LAS HARINAS Y SU CALIDAD</b>	
<b>GALLETITERA .....</b>	<b>80</b>
Aptitud galletitera de las harinas .....	85
<b>SEGUNDA ETAPA.....</b>	<b>87</b>
Variaciones ambientales entre ambos años de cosecha .....	88
<b>CARACTERIZACIÓN DE LOS TRIGOS BLANDOS, SUS HARINAS Y SU</b>	
<b>CALIDAD GALLETITERA (COSECHAS 2006 y 2007) .....</b>	<b>89</b>
<b>RELACIÓN ENTRE LOS COMPONENTES DE LAS HARINAS Y SU CALIDAD</b>	
<b>GALLETITERA .....</b>	<b>93</b>
<b>INFLUENCIA DE LA VARIACIÓN ALÉLICA DE LAS HMG-GS Y LAS</b>	
<b>SECALINAS SOBRE LA COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS HARINAS Y</b>	
<b>SU LA CALIDAD GALLETITERA .....</b>	<b>97</b>
<b>ALMIDÓN .....</b>	<b>110</b>
Composicion y tamaño de granulos .....	111
Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	118
Perfil de viscosidad .....	126
<b>CAPITULO 4. ....</b>	<b>135</b>
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>136</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>143</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.1.</b> Intervalos de variación en la concentración de los principales componentes del trigo (Matz 1999).....	8
<b>Tabla 2.1.</b> Entrada, nombre y origen, de los 44 genotipos de trigo.....	41
<b>Tabla 3.1.</b> Composición de los 44 genotipos de trigo en cuanto a: subunidades de gluteninas de alto peso molecular, secalinas y puroindolina.....	63
<b>Tabla 3.2.</b> Frecuencias observadas para los distintos <i>loci</i> de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) y secalinas.....	67
<b>Tabla 3.3.</b> Combinación alelica observada para los tres <i>locus</i> de gluteninas de alto peso molecular y las secalinas.....	69
<b>Tabla 3.4.</b> Valores medio, máximo y mínimo del Índice de tamaño de partícula (PSI) y la calificación de dureza según la AACC.....	70
<b>Tabla 3.5.</b> Valores máximo, mínimo, medio y desviación estándar (DE) de: tamaño de partícula de harina (PSA), proteínas, gluten húmedo, gluten seco, índice de gluten, almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS) y pentosanos totales (PT).....	71
<b>Tabla 3.6.</b> Valores mínimo, máximo, medio y desviación estándar (DE) del Índice de retención de agua alcalina (IRAA) y el perfil de capacidad de retención de solventes (SRC).....	75
<b>Tabla 3.7.</b> Valores mínimo, máximo, medio y desviación estándar (DE) de: factor galletita (FG), textura y color de las galletitas.....	79
<b>Tabla 3.8.</b> Coeficientes de correlación.....	81
<b>Tabla 3.9.</b> Análisis de la varianza de los conglomerados.....	86
<b>Tabla 3.10.</b> Valores máximo, mínimo y promedio de tamaño de partícula de harina (PSA), contenido de proteínas, almidón dañado (AD) y pentosanos solubles (PS) totales (PT), perfil de capacidad de retención de solventes (SRC), factor galletita (FG), textura y color de las galletitas.....	90
<b>Tabla 3.11.</b> Los 10 valores más altos de factor galletita (FG) que se obtuvieron con los trigos de la cosecha 2006 y 2007.....	93
<b>Tabla 3.12.</b> Coeficientes de correlación.....	94
<b>Tabla 3.13.</b> Efecto de las diferentes subunidades de gluteninas de alto peso molecular del locus <i>Glu-A1</i> sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera.....	99

<b>Tabla 3.14.</b> Efecto de las diferentes subunidades de gluteninas de alto peso molecular del <i>locus Glu-B1</i> sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera.....	100
<b>Tabla 3.15.</b> Efecto de las diferentes subunidades de gluteninas de alto peso molecular del <i>locus Glu-D1</i> sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera.....	101
<b>Tabla 3.16.</b> Efecto de las diferentes secalinas provenientes de la translocación del centeno sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera.....	101
<b>Tabla 3.17.</b> Efecto de las <i>Glu-A1</i> y secalinas sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera.....	104
<b>Tabla 3.18.</b> Efecto de las <i>Glu-B1</i> y <i>Glu-D1</i> sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera.....	105
<b>Tabla 3.19.</b> Factor galletita promedio de cada conglomerado y genotipos que lo conforman.....	107
<b>Tabla 3.20.</b> Valores máximo, mínimo y promedio de tamaño de contenido de amilosa y la distribución de volúmenes de gránulos de almidón.....	111
<b>Tabla 3.21.</b> Coeficientes de correlación.....	116
<b>Tabla 3.22.</b> Valores rango, promedio y desviación estándar de los parámetros de la calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	119
<b>Tabla 3.23.</b> Coeficientes de correlación.....	121
<b>Tabla 3.24.</b> Coeficientes de correlación de los parámetros de perfil térmico de las harinas y la distribución de tamaño de gránulos de almidón.....	125
<b>Tabla 3.25.</b> Valores rango, promedio y desviación estándar de los parámetros del perfil de viscosidad de las harinas obtenidos mediante el análisis del RVA.....	128
<b>Tabla 3.26.</b> Coeficientes de correlación.....	129
<b>Tabla 3.27.</b> Coeficientes de correlación entre la distribución de tamaño de los gránulos de almidón y los valores de DSC con los parámetros de perfil de viscosidad de las harinas.....	131

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Producción mundial de cereales y oleaginosas 2011/2012 (F.A.O.).....	2
<b>Figura 1.2.</b> Gráfica de la Alimentación Saludable (Guías Alimentarias para la Población Argentina, 2000).....	3
<b>Figura 1.3.</b> Grano de trigo.....	4
<b>Figura 1.4.</b> SDS-PAGE de proteínas poliméricas (Gianibelli <i>et al.</i> , 2001).....	11
<b>Figura 1.5.</b> Modelo estructural de una subunidad de glutenina de alto peso molecular (HMW-GS) (Shewry <i>et al.</i> , 1989).....	12
<b>Figura 1.6.</b> Esquema general de la estructura de la red de gluten.....	16
<b>Figura 1.7.</b> Modelo estructural del ordenamiento de las gluteninas antes (A) y después (B) de la extensión.....	17
<b>Figura 1.8.</b> Variación alélica de las HMW-GS para los tres <i>locus</i> ( <i>Glu-A1</i> , <i>Glu-B1</i> , <i>Glu-D1</i> ), y su relación con la calidad panadera (Payne <i>et al.</i> , 1984) basado en su fraccionamiento por SDS-PAGE.....	19
<b>Figura 1.9.</b> Regiones amorfas y cristalinas del almidón.....	22
<b>Figura 1.10.</b> Hinchamiento, ruptura y dispersión de los gránulos de almidón durante la gelatinización (adaptado de BeMiller y Whistler, 1996).....	24
<b>Figura 1.11.</b> Esquema de retrogradación de la amilosa (Haralampu, 2000) .....	25
<b>Figura 1.12.</b> Elementos estructurales de los arabinoxilanos.....	27
<b>Figura 1.13.</b> Estructura de la masa de galletitas dulces en forma de emulsión de lípidos en una solución saturada de sacarosa (gris), con una matriz que consiste en partículas dispersas de proteínas ( ), gránulos de almidón (○) y partículas de harina (●), con partículas alargadas de grasa (Pareyt y Delcour, 2008).....	31
<b>Figura 2.1:</b> Registro de una corrida de DSC y sus principales indicadores: To (temperatura de inicio de la gelatinización, Tp (temperatura de pico), Tc (temperatura de finalización) y ΔH (entalpía de gelatinización).....	53
<b>Figura 2.2:</b> Curva de RVA tipo y sus principales indicadores (Newport Scientific, 1998).....	55
<b>Figura 3.1.</b> Electroforesis en gel de agarosa de productos de PCR luego de la amplificación con los <i>primers Pina-DIF</i> y <i>PinA-DIR</i> para <i>Pina</i> y los <i>primers Pinb-DIF</i> y <i>Pinb-DIR</i> para <i>Pinb</i> .....	64

<b>Figura 3.2.</b> Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de las gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS).....	65
<b>Figura 3.3.</b> Electroforesis ácida en gel de poliacrilamida (A-PAGE).....	66
<b>Figura 3.4.</b> Fotografía de las galletitas realizadas con tres de las líneas de trigo estudiadas (línea 25, FG: 5,03; línea 21, FG: 6,22; línea 44, FG: 7,56).....	78
<b>Figura 3.5.</b> Dendrograma.....	86
<b>Figura 3.6.</b> Biplot del análisis de Componentes Principales de los trigos en base a las 22 combinaciones alélicas encontradas. Los rayos representan las distintas variables evaluadas. ....	97
<b>Figura 3.7.</b> Fotografía de las galletitas realizadas con tres de las líneas de trigo estudiadas. ....	103
<b>Figura 3.8.</b> Dendrograma.....	106
<b>Figura 3.9.</b> Distribución bimodal de tamaño de gránulos de típica almidón de trigo.....	113
<b>Figura 3.10.</b> Termograma típico de una harina de trigo obtenido por calorimetría diferencial de barrido.....	119
<b>Figura 3.11.</b> Biplot del análisis de Componentes Principales de los trigos. Los puntos representan a los 44 genotipos y los rayos a las distintas variables evaluadas.....	132
<b>Figura 3.12.</b> Biplot del análisis de Componentes Principales de los trigos. Los puntos representan a los 44 genotipos y los rayos a las distintas variables evaluadas.....	133

## LISTA DE ABREVIATURAS Y/O SÍMBOLOS

**a:** Equilibrio entre rojo y verde  
**AACC:** American Association of Cereal Chemistry (Asociación Americana de Química de Cereales)  
**AD:** Almidón Dañado  
**ADN:** Acido Desoxirribonucleico  
**ANAVA:** Análisis de la Varianza  
**A-PAGE:** Electroforesis Ácida en Gel de Poliacrilamida  
**b:** equilibrio entre amarillo y el azul  
**BLUP:** Coeficiente de Efectos Aleatorios  
**C.A.A.:** Código Alimentario Argentino  
**CIMMYT:** Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo.  
**Con A:** Concanavalina A  
**cP:** Centipoise  
 **$\Delta H$ :** Entalpía de gelatinización  
 **$\Delta H_r$ :** Entalpía de retrogradación  
 **$\Delta p$ :** Ancho de pico  
**DE:** Desviación Estándar.  
**DMSO:** Dimetilsulfoxido  
**DSC:** Calorimetría Diferencial de Barrido.  
**EDTA:** Acido etilendiaminotetraacético  
**F.A.O.:** Food and Agriculture Organization of the United Nation  
**FG:** Factor Galletita  
**GH:** Gluten Húmedo  
**GI:** Índice de Gluten  
**Gln:** Glicina  
**GOPOD:** Reactivo de Glucosa Oxidasa/Peroxidasa  
**GS:** Gluten Seco  
**Ha:** *Locus Hardness*  
**HMW-GS:** Subunidades de Gluteninas de Alto Peso Molecular  
**IRAA:** Índice de Retención de Agua Alcalina  
**kDa:** Kilodaltons  
**Kg:** Kilogramos  
**L:** Luminosidad  
**LMW-GS:** Subunidades de Gluteninas de Bajo Peso Molecular  
**LSD:** Método de la Mínima Diferencia Significativa  
**M:** Molar  
**mA:** micoamper  
**MANOVA:** Análisis de la Varianza Multivariado  
**mL:** Mililitro  
 **$\mu$ L:** Microlitro  
**MLGM:** Modelo Lineal General y Mixto  
 **$\mu$ m:** Micrómetro  
**mM:** Milimolar  
**MSPE:** Error cuadrático predictivo medio  
**N:** Normal  
**ng:** Nanogramo

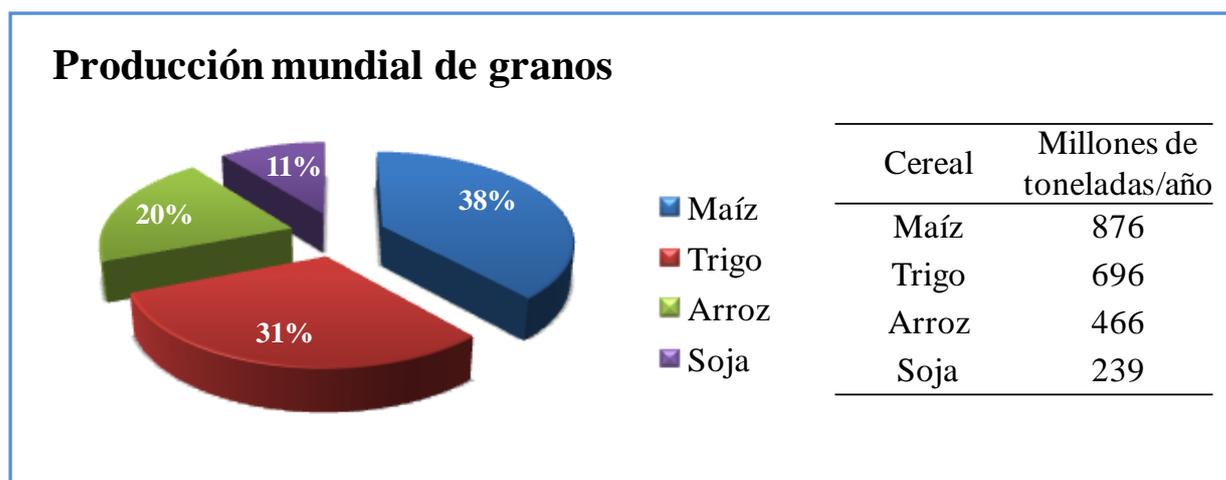
**nm:** Nanómetros  
**p/v:** Peso/volumen  
**v/v:** Volumen/volumen  
**PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa  
**Phe:** Fenilalanina  
**pin A:** Puroindolina A  
**pin B:** Puroindolina B  
**Pin a:** Gen puroindolina A  
**Pin b:** Gen puroindolina B  
**Pro:** Prolina  
**PS:** Pentosanos Solubles  
**PSA:** Análisis de tamaño de Partícula  
**PSI:** Índice de Tamaño de Partícula  
**PT:** Pentosanos Totales  
**ppm:** Partes por millón  
**rpm:** Revoluciones por minuto  
**RVA:** Analizador de Viscosidad  
**SDS:** Dodecil Sufato de Sodio  
**SDS-PAGE:** SDS-Electroforesis en Gel de Poliacrilamida  
**SRC:** Capacidad de Retención de Solventes  
**SRCa:** Capacidad de Retención de Solventes de agua  
**SRCc:** Capacidad de Retención de Solventes de carbonato  
**SRCl:** Capacidad de Retención de Solventes de láctico  
**SRCs:** Capacidad de Retención de Solventes de sacarosa  
**To:** Temperatura de inicio de la gelatinización  
**Tp:** Temperatura de pico de la gelatinización  
**Tc:** Temperatura de finalización de la gelatinización  
**UV:** Ultravioleta

# **CAPÍTULO 1**

# INTRODUCCIÓN GENERAL

## GENERALIDADES SOBRE EL TRIGO

El trigo es uno de los cereales más importante en el mundo en términos de cultivo y alimentación humana. Es el segundo en producción mundial, después del maíz (Figura 1.1) y se encuentra entre los tres cereales que mayor rango geográfico y climático tiene para su producción (FAOSTATS, 2013). Esta amplia adaptación a diversas condiciones ambientales es posible gracias a la gran variabilidad genética existente, con producción de más de 2500 cultivares (Shewry *et al.*, 2003).



**Figura 1.1.** Producción mundial de cereales y oleaginosas 2011/2012 (F.A.O.)

Todos los trigos pertenecen al género *Triticum* de la familia de las gramíneas, y la mayor parte del trigo utilizado como alimento pertenece a dos especies botánicas, *Triticum aestivum* y *Triticum durum* (Lukow, 2006). Anualmente se producen 100 kg de trigo por cada habitante en el mundo y casi toda su producción se destina a la alimentación humana. Si bien las proteínas del trigo poseen menor valor nutritivo que las de origen animal debido a que son deficientes en lisina, el consumo de cereales es recomendable desde el punto de

vista nutricional, ya que proporcionan a la dieta hidratos de carbono complejos, fibra dietética, minerales y vitaminas del complejo B y son de bajo contenido en grasa; por ello son el primer grupo en el ovalo nutricional (Figura 1.2).



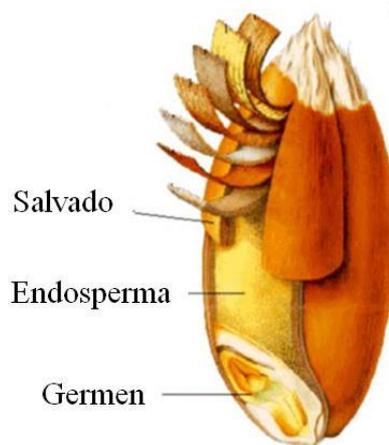
**Figura 1.2.** Gráfica de la Alimentación Saludable (Guías Alimentarias para la Población Argentina, 2000)

En Argentina se producen en promedio 13,3 millones de toneladas anuales de trigo pan, de las cuales unas 5,4 millones de toneladas son molidas; esto representa una producción mensual promedio de 400 mil toneladas de harina. Esta harina se destina principalmente para la elaboración de pan, en segundo lugar se encuentra la producción de galletitas y bizcochos, y el resto se vende y se exporta fraccionada (Lezcano, 2011a).

## GRANO DE TRIGO

El **grano de trigo** al igual que los demás cereales, es una cariósida y se encuentra constituido por tres partes principales: el salvado, el germen o embrión, y el endosperma (Figura 1.3). El **salvado** está constituido por las capas externas del grano (pericarpio,

cubierta de la semilla, epidermis nucelar y capa de aleurona) cuyas células tienen un alto contenido de celulosa y hemicelulosa; estos componentes rodean al endospermo y son eliminados durante la molienda del grano. El **germen** constituye un porcentaje muy pequeño del grano, y es el lugar donde se iniciará una nueva planta. Es relativamente rico en proteínas, azúcares y aceite y por esta razón es eliminado de la harina con el fin de evitar el enranciamiento (Hoseney, 1994). Por último, el **endosperma** cuyas células se encuentran repletas de gránulos de almidón incluidos en una matriz proteica, que está constituida por proteínas de reserva, que en el caso del trigo constituyen el gluten, y por proteínas metabólicamente activas (Pomeranz, 1971).



**Figura 1.3.** Grano de trigo

Las paredes celulares del grano de trigo están formadas por celulosa, hemicelulosas, pentosanos y  $\beta$ -glucanos. El espesor de las paredes celulares varía con la posición en el grano, según los distintos tipos de trigo. Por ejemplo los trigos duros contienen paredes celulares gruesas con gran cantidad de hemicelulosa, que otorga a las harinas capacidad de absorber agua, por lo que son elegidos para la elaboración de pan. Los trigos blandos tienen paredes celulares delgadas, con menor cantidad de hemicelulosa, por lo que su harina no absorbe grandes cantidades de agua (Hoseney, 1994). El contenido y la pared celular de las células del endospermo constituyen la harina blanca.

## TEXTURA DEL GRANO

La textura del grano, es decir su mayor o menor dureza, es una de las principales características para clasificar el trigo y determinar el uso final de sus harinas. La dureza puede ser definida: a) como la resistencia a la deformación o propiedades de fractura, b) el nivel de almidón dañado luego de la molienda (Anjum y Walker, 1991; Glenn *et al.*, 1991; Pomeranz y Williams, 1990) y c) la distribución del tamaño de partícula de la harina, después de la molienda.

La dureza del grano está determinada por la forma en la que sus componentes se encuentran empaquetados en las células del endospermo. Según su textura los trigos pueden dividirse en tres clases principales: blandos y duros hexaploides (*Triticum aestivum L.*) y extra duros tetraploides (*T. durum desf.*) (candeales). En trigos de textura blanda, la adhesión entre los gránulos de almidón y la matriz proteica, es más débil que en los trigos con endospermo de textura dura. En la molienda, la textura del grano afecta los requerimientos de acondicionado, el tamaño de la partícula y la densidad de la harina, el contenido de almidón dañado, la absorción de agua y el rendimiento en el molino (Delwiche, 1993). Generalmente las harinas de trigo duro son de textura tosca, contienen más almidón dañado, el cual tiene mayor capacidad de absorber agua y es fácilmente hidrolizado por las  $\alpha$ -amilasas (presentes en el grano) por lo que aumenta la cantidad de azúcares fermentables por las levaduras; esto es beneficioso para elaborar panes y otros tipos de productos esponjados (Bettge *et al.*, 1995), mientras que las harinas de trigo blando son de textura más fina, poseen gran número de gránulos intactos y son usadas para fabricar galletitas, tortas y otros productos menos esponjados. Las harinas de trigo candeal presentan un incremento adicional de la dureza, esto produce harinas con textura mas tosca denominadas semolinas y altos niveles de almidón dañado, este tipo de harinas es generalmente usado para pastas (Giroux y Morris, 1998).

La interacción entre el almidón y la matriz proteica tiene una gran influencia sobre la calidad y el uso final de los trigos, y se encuentra muy relacionada a la textura o dureza del endosperma (Preston, 1998). Existen dos tipos de proteínas que se encuentran asociadas a los gránulos de almidón, las proteínas de almacenamiento y las proteínas asociadas al gránulo. Dentro de estas últimas se encuentra un complejo de 15kDa denominado friabilinas. Este grupo de proteínas ha sido estudiado por SDS-PAGE y se determinó que los trigos blandos presentaban una importante banda en la zona del gel correspondiente a un tamaño de aproximadamente 15kDa, en trigos duros la banda es débil, y en trigos extra duros tetraploides está ausente (Greenwell y Schofield, 1986; Schofield y Greenwell, 1987). Este complejo proteico regula el grado de adhesión entre los gránulos de almidón y la matriz proteica, y representan la base genética y molecular de la dureza del grano (Morris *et al.*, 1994; Morris, 2002; Hogg *et al.*, 2004). Las friabilinas están constituidas por la puroindolina A (pin A) y la puroindolina B (pin B). Estas proteínas son las responsables de la textura del grano, la cual varía dependiendo de las distintas mutaciones que puedan presentar (Giroux y Morris, 1998).

Es generalmente aceptado que la dureza es una cualidad altamente hereditaria y que el fenotipo blando es el carácter dominante (Morrison *et al.*, 1989). En trigo la textura del endosperma es controlada por un gen principal, *Hardness* (Ha), que está ubicado en el brazo corto del cromosoma 5D y posee los genes que codifican para ambas puroindolinas (Law *et al.*, 1978; MacRitchie, 1980). Las puroindolinas son polipéptidos ricos en lisina y contienen un dominio rico en triptófano (Blochet *et al.*, 1993), responsable de la adhesión de estas proteínas a los lípidos de la membrana de los gránulos de almidón (Marion *et al.*, 1994; Greenblatt *et al.*, 1995).

Los trigos blandos poseen la forma salvaje (Ha), o *wild type*, para ambos genes (*Pina-D1a* y *Pinb-D1a*) por lo que tanto pin A como pin B están presentes en el grano, y ambas son totalmente funcionales. En trigos de textura dura el *locus* se encuentra mutado (ha) lo que provoca que, en el grano, alguna de las dos puroindolinas esté ausente o presente cambios estructurales (Gazza *et al.*, 2005; Bhave y Morris, 2008). Los trigos

candeal, o extra duros (*Triticum durum* Desf.  $2n=4x=28$  genoma AABB), carecen del genoma D, por lo que no tienen puroindolinas (Jolly *et al.*, 1993; Morris *et al.*, 1994).

En la actualidad se sabe que los genes *Pina* y *Pinb* tienen diferentes alelos en trigos hexaploides, lo que produce una gran variabilidad en cuanto a la textura de los granos. Hasta la fecha se han reportado 7 alelos para *Pina* y 18 para *Pinb* en *Triticum aestivum* (Morris y Bhave, 2008). Las distintas mutaciones en los genes, *Pina* y *Pinb*, producen variaciones en la funcionalidad de las puroindolinas, lo que afecta de manera significativa la dureza del grano, las propiedades de molienda y el uso de los trigos (Morris, 2002; Hogg *et al.*, 2005; Wanjugi *et al.*, 2007; Martin *et al.*, 2008). Cuando se encuentra presente el alelo *Pina-D1b*, o alelo nulo, la puroindolina A no se transcribe, por lo que no se encuentra en el grano, dando lugar a un fenotipo de textura dura. Este alelo o el alelo *Pinb-D1b* son los más comúnmente encontrados en trigos duros. Este último produce una modificación en el dominio rico en triptófano, el aminoácido glicina se cambia por serina, lo que incrementa la capacidad de unión de la puroindolina B a los lípidos de membrana (Giroux y Morris, 1998). Se ha especulado que la ausencia de pin A (alelo *Pina-D1b*) confiere mayor grado de dureza que mutaciones puntuales presentes en *Pinb* (Morris, 2002). Las líneas de trigo que no tienen la puroindolina A presentan menores valores de PSI, menor rendimiento en la molienda y una mayor capacidad de absorción de agua (Cane *et al.*, 2004; Gale, 2005).

## **HARINA DE TRIGO**

La harina blanca de trigo proviene del endosperma del grano, y su composición química puede variar según el tipo de trigo del que proviene, el cultivar, la zona y las condiciones de cultivo y el año de cosecha. Existe una variación en la composición química de la harina respecto del grano producida durante el proceso de molienda.

La harina de trigo es la única con la habilidad de formar masas cohesivas, capaces de retener gases durante el horneado y dar productos aireados y livianos. Estas propiedades características de la harina de trigo se deben a su composición química, y en especial a sus proteínas y su capacidad de formar gluten. En la Tabla 1.1 se muestran los intervalos típicos de composición del grano de trigo.

**Tabla 1.1.** Intervalos de variación en la concentración de los principales componentes del trigo (Matz, 1999).

<b>Componentes</b>	<b>Composición química del trigo (%)</b>	
	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Almidón	60,0	68,0
Proteínas	7,0	18,0
Cenizas	1,5	2,0
Lípidos	1,5	2,0
Fibra cruda	2,0	2,5
Humedad	8,0	18,0

## **PROTEÍNAS**

El concepto de calidad de un trigo es muy complejo, y se encuentra determinado por diversos parámetros, relacionados en su mayor parte con el contenido de proteínas del grano. Se ha demostrado que a mayor contenido de proteínas de una harina, mayor será el volumen de pan obtenido a partir de ésta, pero en general producen mejores galletitas las harinas con bajo contenido de proteínas (Abboud *et al.*, 1985; León *et al.*; 1996). Pero no sólo la cantidad de proteínas de un trigo es importante, sino también la proporción de los diferentes tipos de proteínas que hay en él. Así en función de esas proporciones, se tendrá un trigo que sea más apto para conseguir harinas que produzcan masas más elásticas y de mayor tenacidad, aptas para la elaboración de productos leudados como el pan o más extensibles, apropiadas para la obtención de galletitas.

Osborne (1907) fue el primero en separar las proteínas del trigo en cuatro fracciones de acuerdo a su solubilidad. Denominó albúminas a las proteínas solubles en agua, globulinas a las proteínas solubles en soluciones salinas diluidas, gliadinas a las solubles en alcohol y gluteninas a las solubles en soluciones ácidas o básicas diluidas.

Las proteínas de trigo se pueden dividir en dos grandes grupos, las proteínas capaces de formar el gluten y aquellas que no lo forman. Las primeras son proteínas de almacenamiento, mientras que entre las proteínas que no forman gluten, se encuentran la mayoría de las enzimas (Pomeranz, 1971).

Las proteínas que **no forman gluten** representan entre un 15-20% del total de las proteínas del trigo, son solubles en soluciones salinas diluidas por lo tanto corresponden a las albúminas y globulinas del fraccionamiento de Osborne (1907). Son proteínas monoméricas, metabólicamente activas y/o estructurales que se ubican en las capas más externas del grano de trigo. Su función en la panificación no está clara aún (Veraverbeke y Delcour, 2002). Estas proteínas poseen un buen balance de aminoácidos, contienen proporciones relativamente altas de lisina, triptofano y metionina; tres aminoácidos que se encuentran en baja proporción en la mayoría de los cereales.

Las gliadinas y gluteninas son proteínas funcionales **formadoras de gluten**, y representan entre el 80-85% del total de las proteínas del trigo (Kasarda *et al.*, 1976). Se encuentran en el endosperma del grano maduro donde forman una matriz continua alrededor de los gránulos de almidón. Las proteínas del gluten son insolubles en agua o en soluciones salinas diluidas y pueden ser divididas en dos grupos de acuerdo a su funcionalidad: las gliadinas monoméricas y las gluteninas poliméricas (extraíbles o no extraíbles). La composición de aminoácidos de gliadinas y gluteninas es similar, se caracterizan por tener altas concentraciones de glutamina (un tercio o más del residuo total de aminoácidos) y de prolina (una séptima parte o más del residuo total de aminoácidos). Las gliadinas y las gluteninas son capaces de polimerizar durante el amasado formando la

red de gluten, de importancia fundamental en la elaboración de pan (Hoseney, 1994). Se considera en general que las gliadinas son las responsables de la viscosidad del gluten, mientras que las gluteninas son las encargadas de conferirle fuerza y elasticidad (Hoseney 1994).

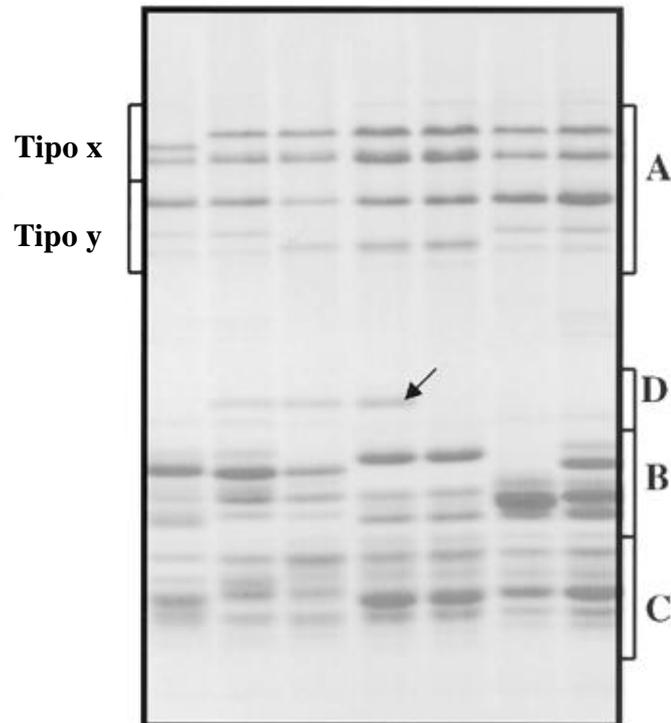
La calidad y cantidad de proteínas del gluten determinan la fuerza de la masa; en general los trigos duros tienen altos contenidos proteicos y gluten fuerte por lo que son utilizados para la elaboración de pan, mientras que los trigos blandos con gluten débil y bajo contenido de proteínas son preferidos en la elaboración de galletitas, donde no es deseable el desarrollo de la red de gluten (Gaines, 1991; Souza *et al.*, 1994).

## **GLUTENINAS**

Las gluteninas se encuentran formando agregados proteicos, unidos por puentes disulfuro (S-S) y fuerzas no covalentes intermoleculares. Payne y Corfield (1979) encontraron que, de acuerdo a su movilidad en geles SDS-PAGE, luego de la reducción de los puentes S-S, las gluteninas se pueden clasificar en cuatro grupos de subunidades denominados: A, B, C y D. El primer grupo con masa molecular aparente entre 80-120 kDa (subunidades de gluteninas de alto peso molecular, HMW-GS); el segundo grupo entre 42-51 kDa, y el grupo C entre 30-40 kDa. Los grupos B, C y D corresponden a las gluteninas de bajo peso molecular (LMW) (Figura 1.4).

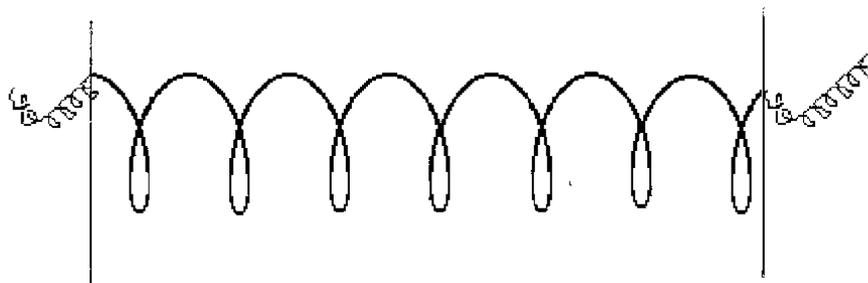
Las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) presentan fuertes similitudes estructurales entre ellas, pero también diferentes características. Una de estas diferencias es el comportamiento en la polimerización y se relaciona con el número de grupos sulfhidrilo. En base a esta diferenciación, las HMW-GS son clasificadas en dos subgrupos: subunidades tipo-x y tipo-y. El dominio N-terminal de las subunidades tipo-x contiene cuatro residuos de cisteínas, mientras que el dominio N-terminal de las

subunidades tipo-y contiene cinco residuos de cisteínas. Además, las subunidades tipo-x tienen una menor movilidad electroforética que las subunidades tipo-y (Figura 1.4) (Tatham, 1995).



**Figura 1.4.** SDS-PAGE de proteínas poliméricas (Gianibelli *et al.*, 2001). Grupo A: subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS), tipo x y tipo y. Grupos B, C y D: subunidades de gluteninas de bajo peso molecular (LMW-GS).

En la Figura 1.5 se muestra un modelo estructural basado en datos espectroscópicos detallados por Shewry *et al.*, (2001). Los estudios muestran a las subunidades de gluteninas de alto peso molecular, como moléculas alargadas que poseen una estructura espiral  $\beta$  en la región central repetitiva. Mientras que los dominios N- y C-terminal poseen una estructura similar a las proteínas globulares, presentado  $\alpha$ -hélices y estructura desordenada. En los dominios terminales se encuentran la mayoría de los residuos de cisteínas que proveen de los sitios para la formación de puentes disulfuros intermoleculares. El dominio central es hidrofílico y los dominios C- y N- terminal son hidrofóbicos.



Dominio N-terminal  
no repetitivo  $\alpha$ -hélice

Dominio central  
repetitivo espiral  $\beta$

I Dominio C-terminal  
no repetitivo  $\alpha$ -hélice

**Figura 1.5.** Modelo estructural de una subunidad de glutenina de alto peso molecular (HMW-GS) (Shewry *et al.*, 1986).

La estructura espiral  $\beta$  de la región central presenta elasticidad intrínseca, pero la contribución a las propiedades elastoméricas del polímero no está aún dilucidada.

Las subunidades de gluteninas de bajo peso molecular (LMW-GS) son un grupo complejo de proteínas que poseen la habilidad de formar enlaces disulfuro, permitiendo su incorporación dentro de los polímeros de gluteninas. La mayoría de las LMW-GS contienen entre siete y ocho residuos de cisteínas (Grosch y Wieser, 1999, Wieser, 2003), seis residuos se encuentran en el dominio C-terminal, y por lo tanto pueden formar puentes S-S intramoleculares. Los residuos de cisteínas adicionales no son capaces de formar puentes disulfuro intramoleculares, probablemente por impedimento estérico, por lo que formarían puentes disulfuro intermoleculares formando agregados proteicos entre ellas y con HMW-GS (Pogna *et al.*, 1994). En general las LMW-GS tipo B actúan como extensores de las cadenas poliméricas crecientes, ya que pueden formar dos puentes disulfuro intermoleculares; mientras que la mayor parte de las LMW-GS tipo C y D actúan como terminadores de las cadenas poliméricas crecientes, ya que solo poseen una cisteína disponible para formar un puente disulfuro intermolecular (Kasarda, 1989). Existe poca información sobre la estructura de LMW-GS. Tatham *et al.*, (1987) propusieron que en el dominio N-terminal se encuentran distribuidas irregularmente estructuras secundarias espiral  $\beta$ , mientras que en el dominios C-terminal predomina la estructura  $\alpha$ -hélice.

Lindsay y Skerit (2000) basado en imágenes de microscopía electrónica de transmisión determinaron que las LMW-GS forman estructuras agrupadas discretas, pero no fue posible determinar si esas asociaciones son covalentes o no covalentes. Aunque las HMW-GS son el grupo principal de proteínas del gluten que determinan las características panaderas de la masa, las LMW-GS también cumplen un importante rol. En general, las LMW-GS se relacionan con la resistencia y la extensibilidad de la masa (Metakovskii *et al.*, 1990; Andrews *et al.*, 1994; Cornish *et al.*, 2001) e incluso algunas formas alélicas causan mayores efectos sobre las propiedades de la masa que las HMW-GS (Payne *et al.*, 1987; Gupta *et al.*, 1989; 1994).

## GLIADINAS

Como se mencionó anteriormente, las gliadinas son mayormente proteínas monoméricas ricas en glutamina y prolina, y además poseen un bajo nivel de aminoácidos cargados. Constituyen un tercio de las proteínas de la harina (Lindahl, 1990) y son clasificadas en  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas en base a su movilidad en electroforesis a pH ácido (Shewry *et al.*, 1986). Estas proteínas poseen una masa molecular entre 30-80 kDa y están formadas por un dominio no repetitivo rico en estructura secundaria  $\alpha$ -hélice y por un dominio repetitivo heterogéneo rico en estructura espiral  $\beta$  (Tatham y Shewry, 1995).

Las  $\alpha$ - y  $\beta$ -gliadinas están estrechamente relacionadas y se suele referir a ambas como gliadinas tipo- $\alpha$ . Las  $\gamma$ - y  $\omega$ -gliadinas son estructuralmente distintas (Shewry y Tatham, 1990). Las  $\alpha$ - y  $\gamma$ -gliadinas son proteínas monoméricas y consisten de 250 a 300 residuos de amino ácidos. Poseen un dominio N-terminal repetitivo que representa entre 1/3 y 1/2 de la secuencia de la proteína, que es rica en residuos de prolina y glutamina, y un dominio C-terminal no repetitivo que posee residuos de cisteínas (Shewry y Tatham, 1990). Las  $\omega$ -gliadinas están formadas por aproximadamente 350 residuos de aminoácidos y contienen repeticiones sucesivas de un octapeptido (Pro.Gln.Gln.Pro.Phe.Pro.Gln.Gln) y no contienen residuos de cisteína, por lo que están limitadas para formar interacciones

covalentes en la masa (Tatham, 1995). Las  $\gamma$ -gliadinas poseen ocho residuos de cisteínas que se encuentran localizados en el dominio C-terminal y forman cuatro enlaces disulfuro intramoleculares, por lo que no son capaces de formar nuevos enlaces covalentes con otras proteínas del gluten. Las  $\alpha$ -gliadinas poseen seis residuos de cisteínas igualmente ubicados como en las  $\gamma$ -gliadinas que forman tres enlaces disulfuro también intermolecularmente. Sin embargo, estos enlaces disulfuro son importantes para retener el plegado de la estructura de las gliadinas que determina la naturaleza de las interacciones no covalentes con la red de gluteninas (Wrigley *et al.*, 1998).

## **ESTRUCTURA DEL GLUTEN**

Las particulares propiedades de la harina de trigo que le permiten formar una masa cohesiva son derivadas de las proteínas presentes en el gluten. Las propiedades reológicas de la masa son gobernadas por la estructura del gluten y las interacciones que se establecen entre las proteínas que lo componen, particularmente entre los polímeros de gluteninas unidos por enlaces disulfuro (Lindsay y Skerritt, 1999).

El gluten es definido como un gel formado por las proteínas de almacenamiento del grano de trigo cuando se trabaja mecánicamente una mezcla de harina y agua. Las proteínas que lo forman se encuentran localizadas en cuerpos proteicos en el endosperma del grano. Durante el amasado se produce la ruptura de estos cuerpos y su hidratación, formando una red tridimensional continua en donde se encuentra embebido el almidón. Las interacciones de tipo covalentes y no covalentes entre los polipéptidos más grandes que forman la masa producen una matriz elástica y extensible.

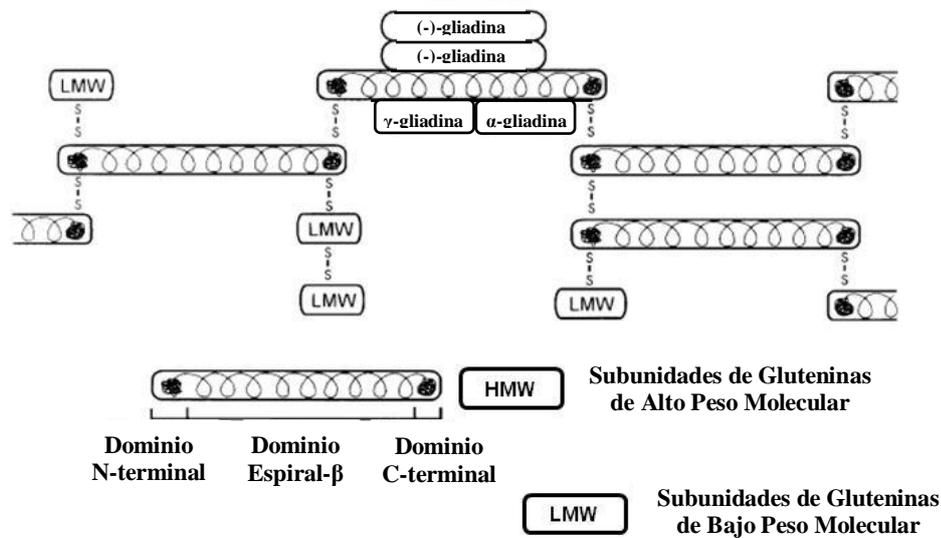
Cómo ya se mencionó anteriormente, las subunidades de glutenina de alto peso molecular están presentes en forma de polímeros (macropolímero de gluteninas). La importancia de tales polímeros en determinar la viscoelasticidad del gluten ha sido

apreciada durante muchos años, aunque su tamaño, complejidad y baja solubilidad limita el estudio detallado. La importancia de los puentes disulfuro en estabilizar estos polímeros ha sido extensamente demostrada. Hay evidencia de la formación de puentes disulfuro intermoleculares entre gluteninas de alto peso molecular, y de estas con LMW-GS (Shewry y Thatham, 1997; Kasarda, 1999). Los enlaces disulfuro son entonces considerados esenciales para la viscoelasticidad del gluten.

La composición de aminoácidos de las proteínas del gluten muestra que aproximadamente la mitad de los constituyentes son glutamina y prolina, por lo que hay gran cantidad de puentes de hidrógeno en el sistema. Otro aporte importante son las interacciones hidrofóbicas, ya que aproximadamente el 35% de los aminoácidos poseen cadenas laterales de naturaleza hidrofóbica (Hoseney, 1994).

En la Figura 1.6 se presenta un esquema de la estructura del gluten (Shewry *et al.*, 2001) en el cual las gluteninas de alto peso molecular forman la columna vertebral del polímero, estas HMW-GS se encuentran unidas entre sí a través de puentes disulfuro intermoleculares ubicados en los extremos. Esta columna vertebral de gluteninas de alto peso molecular sirve de base para que se unan a ella las subunidades de bajo peso molecular (LMW-GS) mediante puentes disulfuro formando puntos de ramificación.

Las gliadinas, consideradas tradicionalmente por contribuir a la viscosidad del gluten, interactúan principalmente con los polímeros de gluteninas mediante interacciones no covalentes. En el dominio central de las HMW-GS ocurren fuertes interacciones puentes de hidrógeno probablemente entre las amidas de los residuos de glutamina. Estas interacciones son muy importantes porque contribuyen a la viscoelasticidad de la masa (Ewart, 1989; Jeffrey y Saenger, 1994; Belton, 1999).

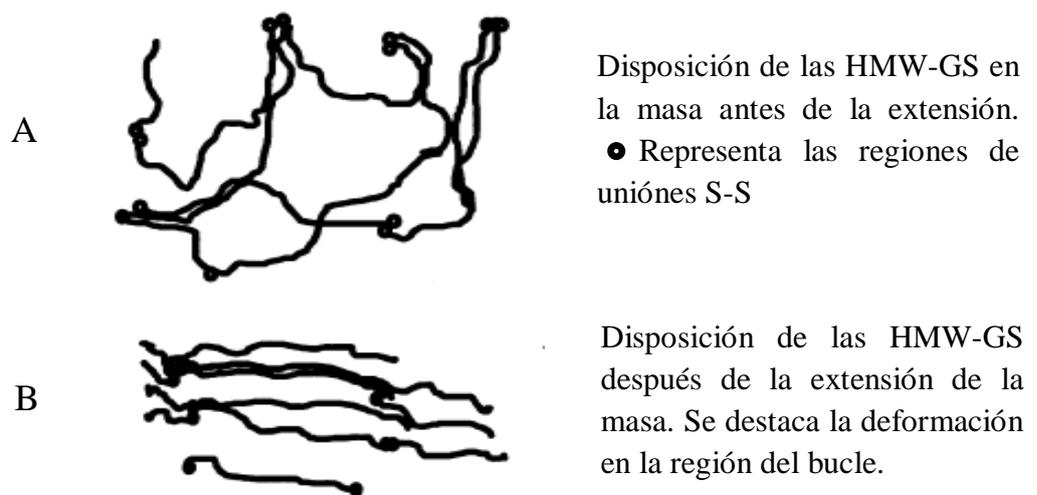


**Figura 1.6.** Esquema general de la estructura de la red de gluten.

Belton (1999) propuso un modelo para explicar la elasticidad del gluten (Figura 1.7). Este investigador describe al gluten formado por una estructura de bucles y colas, “*loop and train*”, regiones donde existen interacciones polímero - solvente y regiones con interacciones polímero - polímero, respectivamente (Figura 1.7A). En este modelo las proteínas del gluten están estabilizadas por interacciones no covalentes entre moléculas paralelas. Las HMW-GS inicialmente presentan una conformación en forma de bucle (*loop*) que son extendidas durante la extensión del gluten para formar polímeros alineados en los cuales la formación de altas proporciones de estructuras lámina  $\beta$  se encuentra favorecida. Por esta razón tales polímeros son altamente resistentes a la extensión.

El estiramiento de los polímeros (Figura 1.7 B) produce primero la deformación de los bucles (“*loops*”) y posteriormente de las colas (“*train*”), a la vez que se rompen las interacciones no covalentes. Durante la extensión, los puentes disulfuro se rompen y se restablecen derivando en una red alineada en dirección a la extensión. Sin embargo, puede producirse la restauración del equilibrio de bucles y colas espontáneamente, resultando en la relajación de la estructura del polímero. Estos modelos estructurales fueron extensamente relacionados con la viscoelasticidad del gluten y con la estabilidad de los polímeros (Belton, 2005, Wellner *et al.*, 2005). Wellner *et al.*, (2005) postularon que en

algunos casos la extensión no resultaría en alineamientos favorables y por lo que la relajación de las conformaciones de los bucles (espiral  $\beta$ ) sería más rápida dependiendo del tamaño del polímero. Mediante microscopía atómica se demostró que las moléculas de HMW-GS se alinean para formar un gran polímero ramificado previamente a la formación de puentes disulfuro, sugiriendo en parte que la habilidad de formar puentes disulfuro está direccionada por las interacciones no covalentes (Humphris *et al.*, 2000). Previamente, Pèzolet *et al.* (1992) ya habían sugerido que la elasticidad del gluten resultaría de interacciones intermoleculares que involucran estructuras lámina  $\beta$ . Sin embargo, Belton *et al.* (1995) postularon que los puentes disulfuro pueden incrementar la probabilidad de la formación de interacciones intermoleculares. Más tarde, Shewry *et al.* (2003) observaron que el número y el patrón de puentes disulfuro en los polímeros de gluteninas del trigo afectan la fuerza de la masa. Por lo tanto, estructuras lámina  $\beta$  y puentes disulfuro contribuyen a la estabilización de los polímeros como fue propuesto por Belton (2005).



**Figura 1.7.** Modelo estructural del ordenamiento de las gluteninas antes (A) y después (B) de la extensión. ●Representan regiones de uniones puentes disulfuro.

Dado que las características estructurales de las gluteninas y gliadinas le confieren cualidades viscoelásticas únicas a las masas provenientes de harinas de trigo; las características y la genética de estas proteínas han sido ampliamente estudiadas con el objeto de determinar las bases bioquímicas y moleculares de sus propiedades funcionales,

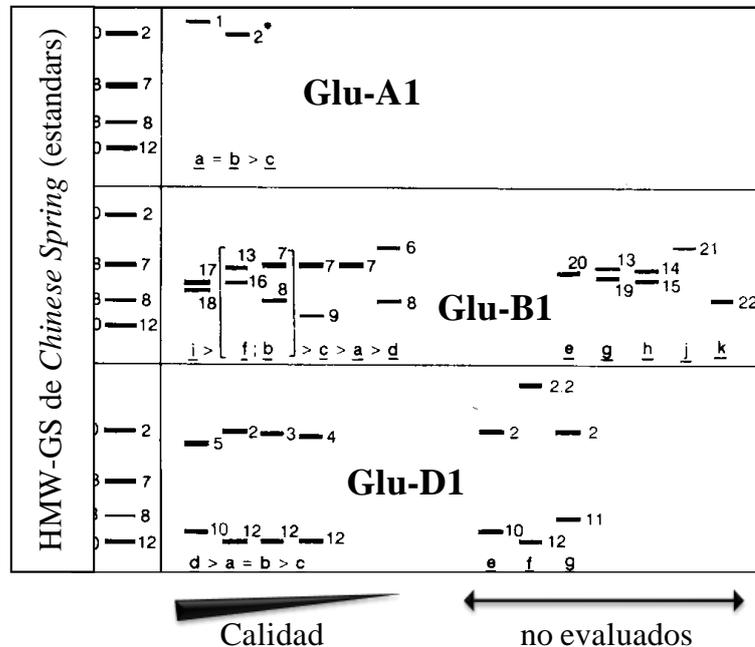
para lograr mejorarlas por métodos genéticos convencionales, optimización agronómica, condiciones de procesamiento e ingeniería genética.

## GENÉTICA DE LAS GLUTENINAS

Los trigos blandos y duros hexaploides contienen tres genomas, denominados A, B y D, con 7 pares de cromosomas en cada uno. Los genes que controlan las HMW-GS se encuentran en el brazo largo del cromosoma 1 de cada genoma (1A, 1B y 1D). Estos *loci* que contienen los genes que codifican para las HMW-GS, se denominan *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, respectivamente (Lawrence y Shepherd, 1981). Cada *locus* contiene dos genes estrechamente ligados que codifican para dos polipéptidos, las subunidades tipo x y tipo y, (Payne *et al.*, 1982; 1987; Shewry *et al.*, 1992). Las distintas variedades de trigo pueden presentar, en teoría, 6 HMW-GS pero debido al “silenciamiento” de algunos genes lo normal es que tengan entre 3 y 5; 2 codificadas por genes ubicados en el *locus Glu-D1*, 1 o 2 en *Glu-B1*, y 1 o ninguno en *Glu-A1* (Lawrence y Shepherd, 1980; Payne *et al.*, 1981). Cada *locus* puede codificar para una importante variedad de alelos para las distintas HMW-GS, siendo el *locus Glu-B1* el de mayor variabilidad. Payne y Lawrence (1983) resumieron esta gama de alelos como 3 formas alélicas para *Glu-A1*, 11 para *Glu-B1* y 7 para *Glu-D1*, y lo asociaron con la calidad panadera (Figura 1.8). Desde ese momento se han descubierto más variantes alélicas y se las ha nombrado siguiendo la numeración de Payne y Lawrence (1983). Actualmente se encuentran descritos en el catálogo de genes (McIntosh *et al.*, 2003) un total de 22 alelos para *Glu-A1*, 56 para *Glu-B1*, y 37 para *Glu-D1*, mucho de los cuales han sido identificados solamente en las especies progenitoras del trigo (*T. turgidum*,  $2n=4x=28$  AABB y *Aegilops tauschii*,  $2n=2x=14$  DD).

Las distintas HMW-GS están estrechamente asociadas a la calidad panadera de los trigos, ciertas subunidades imparten efectos diferenciales sobre la calidad del gluten. Por ejemplo el *locus Glu-D1* puede tener como variantes alélicas las subunidades 5+10,

asociadas a la buena calidad del gluten, y 2+10 asociada a un gluten débil de baja calidad (Payne *et al.*, 1981).



**Figura 1.8.** Variación alélica de las HMW-GS para los tres *locus* (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*), y su relación con la calidad panadera (Payne *et al.*, 1984) basado en su fraccionamiento por SDS-PAGE. Los patrones de Chinese Spring en la derecha se agregaron para comparar las movilidades relativas.

Las gluteninas de bajo peso molecular (LMW) y las gliadinas han sido poco estudiadas, en cuanto a su composición alélica e influencia sobre la calidad de los trigos, en comparación con las gluteninas de alto peso molecular (HMW). Esto se debe a que resulta muy complicado poder identificarlas en un gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), debido a su abundancia, ya que son muy polimórficas, y al solapamiento que existe entre ellas (LMW y gliadinas); resultando extremadamente complicado poder asociar las variantes alélicas con la calidad panadera. Se ha sugerido que el efecto de estos alelos no puede determinarse independientemente de la composición de HMW-GS (Gupta y MacRitchie, 1991), y numerosos trabajos han encontrado que el efecto de las LMW-GS sobre la calidad panadera de los trigos es menos importante que el de las HMW-GS (Gupta *et al.*, 1994; Eagles *et al.*, 2002; Branlard *et al.*, 2003; He *et al.*, 2005).

## TRANSLOCACIÓN DEL CENTENO

Existe un cierto número de genes provenientes de la translocación del trigo con el centeno (*Secale cereale L.*) que fueron introducidos con el objetivo de conferirle al trigo una mayor resistencia a las enfermedades y aumentar su producción en ambientes adversos (Villareal *et al.*, 1998). Sin embargo la presencia de estas translocaciones disminuye la tenacidad y elasticidad del gluten (Bullrich *et al.*, 1998). Estas translocaciones se producen entre el brazo largo del cromosoma 1 (genomas A, B y D) del trigo, y el brazo corto de cromosoma 1 del centeno (genoma S), y se denominan 1AL/1RS, 1BL/1RS y 1DL/1RS respectivamente (Graybosch, 2001), siendo las dos primeras las más comúnmente encontradas.

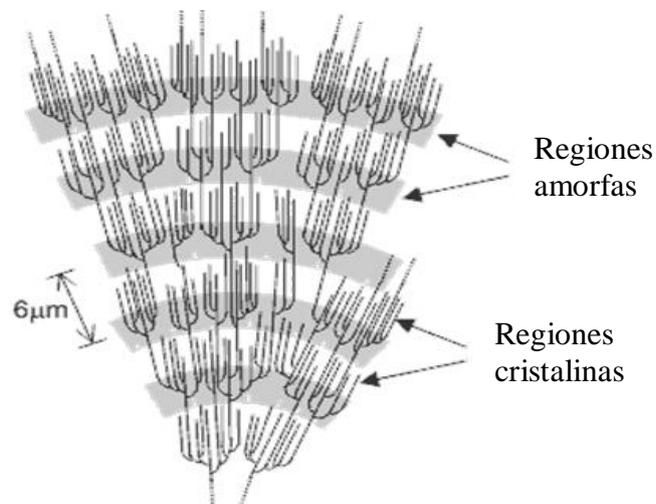
Las prolaminas del centeno se denominan secalinas, y también se encuentran en trigos que presentan alguna translocación con el centeno. Se clasifican, según su movilidad en geles SDS-PAGE y su composición de aminoácidos, en cuatro grupos: HMW secalinas,  $\omega$ -secalinas (ricas en azufre), 40K $\gamma$ - y 75K $\gamma$ -secalinas (pobres en azufre) (Shewry *et al.*, 1984; Tatham y Shewry, 1995). Son ricas en los aminoácidos glicina, glutamina y prolina y su secuencia de aminoácidos del dominio N-terminal muestra claras similitudes con la de las subunidades de gluteninas HMW del trigo (Shewry y Tatham, 1990). Las  $\omega$ -secalinas tienen pesos moleculares de 48-53 kDa y son ricas en los aminoácidos glutamina, prolina y fenilalanina. Las  $\gamma$ -secalinas se dividen en dos grupos, 40K $\gamma$ - y 75K $\gamma$ -secalinas, con pesos moleculares de 40kDa y 75kDa, respectivamente; tienen un dominio N-terminal rico en prolina y un dominio C-terminal que contiene las cisteínas (Shewry y Tatham, 1990). Las  $\omega$ - y  $\gamma$ -secalinas poseen propiedades y conformación muy similares a las  $\omega$ - y  $\gamma$ -gliadinas del trigo (Shewry y Tatham, 1990; Tatham y Shewry, 1995), por lo tanto su presencia en trigos puede ser determinada mediante una electroforesis en medio ácido (A-PAGE).

La presencia de la translocación 1BL/1RS ha sido asociada con un deterioro en la calidad panadera: pobre tolerancia al amasado, pegajosidad superficial de la masa y bajo volumen del pan (Moonen y Zeven, 1984; Dhaliwal *et al.*, 1987; Martín y Stewart, 1986; Tatham y Shewry, 1995). Algunos autores (Law y Payne, 1983; Martín y Stewart, 1986; Dhaliwal *et al.*, 1987; Graybosch *et al.*, 1990) han atribuido los defectos en la calidad de las líneas de trigo con la translocación 1BL/1RS a la presencia de secalinas provenientes del centeno. Otros autores (Koebner *et al.*, 1986; Payne *et al.*, 1987, Amieur *et al.*, 2002), en cambio, han atribuido el deterioro de las propiedades reológicas de la masa a la pérdida de las prolaminas del trigo codificadas por los genes del brazo 1BS (fundamentalmente las subunidades de gluteninas LMW codificadas por el *locus Glu-B3*). Por otro lado, los trigos que contienen la translocación 1AL/1RS han mostrado un mejor desempeño en la elaboración de productos esponjados que los que tienen la translocación 1BL/1RS (Graybosch *et al.*, 1993; Kumlay *et al.*, 2003).

## ALMIDÓN

El almidón es el componente mayoritario de las harinas de trigo. Este se encuentra en pequeñas organelas limitadas por una doble membrana, que se denominan amiloplastos, presentes en el endosperma del grano. El gránulo de almidón está constituido principalmente por polímeros de  $\alpha$ -D-glucosa. Químicamente se pueden distinguir dos tipos de polímeros: la amilosa, que es un polímero esencialmente lineal compuesto por unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -(1-4), con escasos puntos de ramificación formados por enlaces  $\alpha$ -(1-6) (Shibanuma *et al.*, 1994); y la amilopectina que está formada por una cadena central similar a la de la amilosa pero posee ramificaciones con enlaces  $\alpha$ -(1-6) cada 9 a 20 unidades de D-glucosa (Whilster y Daniel, 1984). En los granos de trigo y otros cereales se pueden encontrar dos tipos de gránulos de almidón: los tipo A, grandes y de forma lenticular con un diámetro cercano a 20  $\mu$ m y los gránulos tipo B, pequeños y de forma esférica con un diámetro menor a 10  $\mu$ m (Eliasson y Gudmundsson, 1996).

La organización del almidón en los gránulos es radial, lo cual queda evidenciado por la aparición de una cruz de malta cuando son sometidos a luz polarizada. El interior de los gránulos está formado por regiones cristalinas, debido a zonas ordenadas de cadenas de amilopectina, y amorfas alternadas, compuesta principalmente por las regiones ramificadas de la amilopectina y las cadenas de amilosa (Figura 1.9), por lo que el almidón es descrito como un polímero semicristalino o parcialmente cristalino (Eliasson y Gudmundsson 1996).



**Figura 1.9.** Regiones amorfas y cristalinas del almidón

Durante la molturación de los granos de trigo para la elaboración de harinas se produce un daño físico sobre una fracción de los gránulos de almidón debido a la resistencia que ofrecen a la molienda, produciendo lo que se conoce como almidón dañado. Los niveles de almidón dañado dependen de la dureza del grano y las condiciones de molienda. Los trigos duros ofrecen mayor resistencia a la molienda por lo que presentan mayor contenido de almidón dañado, que es fácilmente hidrolizado por las  $\alpha$ -amilasas, aumentando la cantidad de azúcares fermentables por las levaduras, lo que puede ser beneficioso para elaborar panes y otros tipos de productos leudados (Bettge *et al.*, 1995). En el caso de trigos blandos, con menor resistencia a la molienda, se obtienen harinas de textura más fina con un mayor número de gránulos intactos.

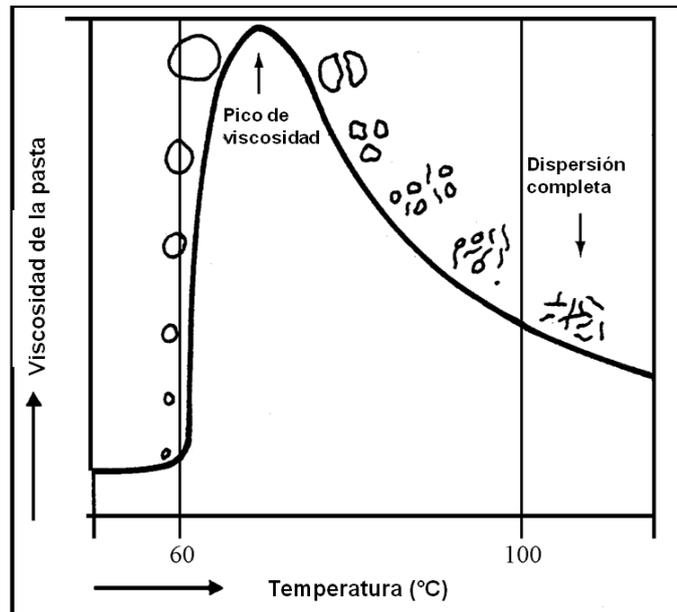
El almidón dañado afecta las propiedades de las harinas modificando la capacidad de hidratación, ya que absorbe 3 veces más agua que el almidón intacto (Bushuk, 1998). En la elaboración de galletitas el almidón dañado tiene un efecto negativo ya que una excesiva absorción de agua ocasiona un incremento en la dureza y una disminución del diámetro de la galleta (Gaines *et al.*, 1988). De igual modo el exceso de agua produce masas pegajosas que dificultan su laminado y recorte, que deben ser horneadas por más tiempo para evaporar el exceso de humedad, aumentando los costos de energía (Bushuk, 1998).

## **PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDÓN**

Si se calienta almidón en presencia de agua, se puede provocar la pérdida de cristalinidad y de la organización estructural de los gránulos de almidón. A estos cambios que sufren los gránulos de almidón en determinadas condiciones de temperatura y contenido acuoso se los conoce como **gelatinización** (Atwell *et al.*, 1988). La gelatinización del almidón es un proceso endotérmico durante el cual las regiones amorfas de los gránulos comienzan a absorber agua y se hinchan, lo que provoca la disrupción de la organización radial y la ruptura irreversible de la estructura cristalina (Jenkins y Donald, 1998; Tester y Debon, 2000). Este fenómeno es dependiente de la cantidad de agua, y comienza a una temperatura de 60 °C en el caso del almidón de trigo, requiriéndose mayores temperaturas en condiciones limitantes de agua (Donovan, 1979; Biliaderis *et al.*, 1980).

Paralelamente a la absorción de agua, y al hinchamiento de los gránulos que ocurre durante su calentamiento en presencia de agua, las moléculas de amilosa comienzan a liberarse del gránulo hacia el medio acuoso, resultando en un incremento de viscosidad que alcanza un valor máximo, cuando el número de gránulos hinchados y el grado de hinchamiento es el mayor (Hoseney *et al.*, 1986). Posteriormente, se produce una

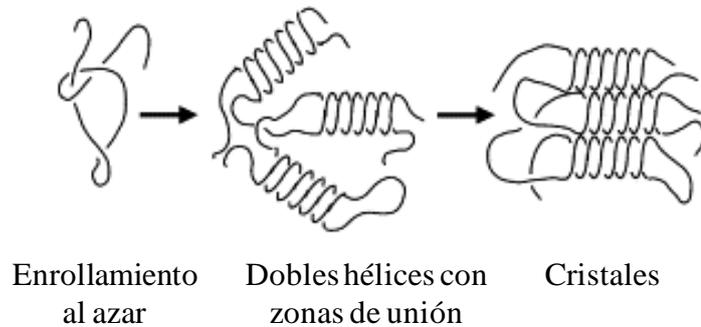
reducción de la viscosidad, cuando los gránulos se rompen parcial o totalmente y las moléculas de almidón se dispersan en la fase acuosa (Figura 1.10).



**Figura 1.10.** Hinchamiento, ruptura y dispersión de los gránulos de almidón durante la gelatinización (adaptado de BeMiller y Whistler, 1996).

Durante el enfriamiento las moléculas de almidón se reasocian dando lugar a un estado más ordenado o cristalino, proceso llamado retrogradación (Atwell *et al.*, 1988), en donde se forman estructuras compactas. La amilosa gelificada forma una red continua rodeando los gránulos de almidón hinchados y deformes (Eliasson y Larsson, 1993). Estas estructuras son térmicamente muy estables y solamente pueden ser rehidratadas a 80-150 °C, dependiendo del grado y la naturaleza de la retrogradación (Haralampu, 2000). Durante la retrogradación, la amilosa lixiviada a la solución como un polímero enrollado, se reorganiza como dobles hélices estabilizadas por medio de uniones puente hidrógeno. En las hebras individuales, las hélices contienen seis unidades de glucosa por vuelta, que al retrogradar, se empaquetan en una única celda hexagonal (Figura 1.11) (Haralampu, 2000). La retrogradación de la amilopectina ocurre a una velocidad mucho menor que la amilosa. Por lo tanto, la retrogradación de la amilosa determina principalmente la dureza inicial de un gel de almidón o un producto de panificación, mientras que la retrogradación de la

amilopectina determina el endurecimiento a largo plazo y la pérdida de la aceptabilidad en los productos de panificación esponjados.



**Figura 1.11.** Esquema de retrogradación de la amilosa (Haralampu, 2000).

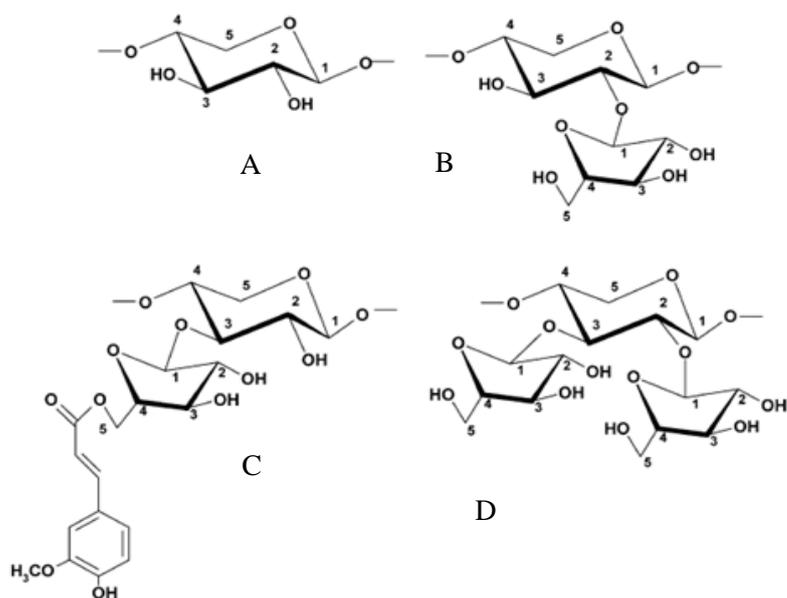
El proceso de gelatinización del almidón puede ser estudiado con diversas técnicas. Debido a que es un proceso endotérmico puede ser fácilmente analizado mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) (Shogren, 1992; Liu *et al.*, 2006). Mediante DSC se mide el flujo de energía calórica cuando una muestra pequeña es sometida a un cambio constante de temperatura, y es la técnica más utilizada para el estudio de la gelatinización. El análisis de los termogramas que se obtienen con esta técnica permite determinar la temperatura a la que ocurre el proceso y su entalpía ( $\Delta H$ ). DSC es muy útil cuando se desea inferir las diferencias estructurales de almidones, temperaturas elevadas están relacionadas con un alto grado de cristalinidad, lo que indica estabilidad estructural y resistencia de los gránulos a la gelatinización (Barichelo *et al.*, 1990). Asimismo, el  $\Delta H$  de gelatinización es generalmente interpretado como la cantidad de estructura de doble hélice en una suspensión de almidón que es desorganizada durante el calentamiento en presencia de agua (Xie *et al.*, 2008). Los cambios en el perfil de viscosidad que sufre una mezcla de almidón y agua en función de la temperatura es comúnmente analizado mediante la utilización de un Amilógrafo Brabender o un *Rapid Visco Analyser (RVA)*. Este equipo permite medir bajo agitación continua los cambios en la viscosidad producidos en ciclos de calentamiento y enfriamiento programados de mezclas de almidón y agua (Biliaderis, 2009).

## PENTOSANOS

Los pentosanos son componentes de la harina altamente hidrofílicos que absorben más de 10 veces su peso en agua (Kulp, 1968; Jelaca y Hlynka, 1971). Químicamente se los puede clasificar como polisacáridos no almidonosos, fundamentalmente arabinoxilanos y arabinogalactanos. Estos forman parte del endospermo, las paredes celulares y el salvado del grano de trigo. Los arabinoxilanos (Figura 1.12) son residuos de D-xilosas unidas por enlaces  $\beta$ -1,4 que están sustituidas en el carbono tres (C(O)-3) y/o en el carbono dos (C(O)-2) por monómeros de L-arabinosa (Perlin, 1951), por lo que la relación arabinosa/xilosa es variable. Pueden tener ácido ferúlico unido al carbono cinco (C(O)-5) de la L-arabinosa mediante una unión tipo ester (Fausch *et al.*, 1963).

Pueden clasificarse de acuerdo a su solubilidad en agua en pentosanos solubles e insolubles, los cuales comprenden el 25% y 75% respectivamente de los pentosanos presentes en la harina de trigo (Meuser y Suckow, 1986). La diferencia estructural entre los pentosanos solubles e insolubles radica principalmente en el peso molecular (Meuser y Suckow, 1986) y en la relación arabinosa/xilosa (Gruppen *et al.*, 1993). Los arabinoxilanos insolubles en agua poseen una alta capacidad de retener agua. Esta propiedad es igualmente atribuida a los arabinoxilanos solubles en agua. Se ha estimado que durante la preparación de la masa, un cuarto (1/4) del agua agregada es retenida por los arabinoxilanos (Atwell, 1998).

Los pentosanos solubles presentan algunas características físicas que les permiten inmovilizar agua (Jelaca y Hlynka, 1971; Rouau y Moreau, 1993) y formar soluciones viscosas o geles mediante enlaces covalentes cruzados con las proteínas (Geissmann y Neukom, 1973; Izydorczyk *et al.*, 1990), estas características influyen en la formación y en las propiedades del gluten.



**Figura 1.12.** Elementos estructurales de los arabinoxilanos. (A) Residuo de D-Xilosa no sustituida. (B) Residuo de D-Xilosa sustituida en el C(O)-2 con un residuo de D-arabinosa. (C) Residuo de D-Xilosa sustituida en el C(O)-3 con un residuo de D-arabinosa que tiene unido al C(O)-5 una molécula de ácido ferúlico. (D) Residuo de D-Xilosa sustituida en el C(O)-2 y C(O)-3 con residuos de D-arabinosa.

Si bien los pentosanos son componentes minoritarios de la harina de trigo (2-3%), juegan un importante rol en la reología de la masa, afectando la distribución de humedad entre los distintos constituyentes de la misma y aumentando el tiempo de amasado (Jelaca y Hlynka, 1972; Kim y D'Appolonia, 1977). El contenido de pentosanos de la harina se relaciona con un menor diámetro de galletita y un menor volumen de bizcochuelo (Kaldy *et al.*, 1991), por lo que inciden de manera negativa sobre ambos productos.

## LIPIDOS

Los lípidos de la harina de trigo constituyen un grupo heterogéneo de compuestos con diferentes estructuras químicas y composición. Se pueden encontrar libres o unidos a algún constituyente de la harina, principalmente almidón y proteínas. Los lípidos asociados al almidón son generalmente polares y comprenden en gran parte liso-fosfolípidos que

forman complejos de inclusión con la amilosa durante la gelatinización del almidón, sin embargo estos complejos también se encuentran en el almidón nativo del cereal (Morrison *et al.*, 1993). Esta fracción de lípidos se encuentra dentro de los gránulos de almidón y solo queda disponible cuando se alcanzan las condiciones de gelatinización durante la cocción. La fracción de lípidos no asociados al almidón está constituida por cantidades similares de lípidos polares y no polares. Parte de ésta fracción corresponde a lípidos que se encuentran libres y parte asociados principalmente a proteínas. Los lípidos que se encuentran libres son polares, principalmente glicol y fosfolípidos, mientras que los que se encuentran asociados son lípidos no polares, mayormente triglicéridos (Chung, 1986; Eliasson y Larsson, 1993).

En el patrón de ácidos grasos de los lípidos de la harina de trigo se encuentran el mayoritariamente el ácido linoleico y en menor cantidad el ácido palmítico, oleico y linolénico (Eliasson y Larsson, 1993).

Durante el desarrollo de la masa, los lípidos que se encuentran libres se asocian a las proteínas del gluten mediante interacciones específicas, modificando las propiedades reológicas de la masa. En particular, los lípidos polares (especialmente los glicolípidos) pueden promover tanto interacciones hidrofóbicas como hidrofílicas entre el gluten y el almidón (Matsuo *et al.*, 1986). Se ha demostrado que los lípidos de la harina juegan un rol muy importante en la elaboración de galletitas, ya que si son elaboradas a partir de harinas desgrasadas se obtienen galletitas de menor diámetro (Kissel *et al.*, 1971; Papantoniou *et al.*, 2003).

## **GALLETITAS**

Para elaborar galletitas, tortas y otros productos que no requieren de un desarrollo importante de la red de gluten se utilizan harinas de trigo blando (Abboud *et al.*, 1985).

Estas son de textura más fina y se emplean para elaborar galletitas, biscochuelos y otros productos que no necesitan de un gluten tenaz para su desarrollo. Sus propiedades reológicas son muy diferentes a las del trigo pan o trigo duro hexaploide.

El código alimentario argentino (C.A.A.) define a las galletitas en el Capítulo IX: “Alimentos Farináceos- cereales, harinas y derivados”:

Art. 760: "Con la denominación genérica de Galletitas y Bizcochos (Cakes, Crackers, Biscuits, etc.), se entienden numerosos productos a los que se les dan formas variadas antes del horneado de una masa elaborada a base de harina de trigo u otras o sus mezclas, con o sin agentes químicos y/o biológicos autorizados”.

Las galletas o galletitas comerciales pueden ser dulces o saladas. Las dulces a su vez se dividen en secas, rellenas u obleas. Mientras que como saladas se identifica a las crackers, las galletas de agua y las crackers saborizadas. Las galletitas dulces se elaboran a partir de trigos poco tenaces y se caracterizan por tener altos niveles de azúcar y grasa y un bajo contenido de humedad. Pueden identificarse los siguientes tipos básicos de galletitas dulces industriales (Lezcano, 2011b):

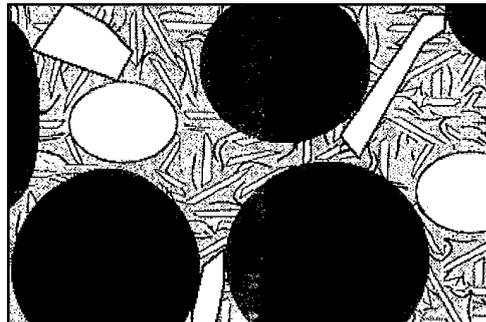
- Dulces secas
- Dulces tipo “maría”
- Dulces variedades
- Dulces rellenas
- Obleas (generalmente rellenas, también pueden estar bañadas y asociarse más a una golosina)
- Dulces rellenas bañadas (o alfajores)

Esta amplia variedad demuestra que las galletitas y bizcochos constituyen un grupo de productos farináceos muy diverso. Su consumo es tradicional en Argentina e integran la canasta básica de alimentos (específicamente se incluyen las galletitas de agua y las dulces sin relleno). La producción Argentina de galletitas dulces se mantiene por encima de las saladas: 60% - 40%, respectivamente (Samela, 2011). Actualmente en Argentina se producen 400 mil toneladas de galletitas y bizcochos, de las cuales 35 mil toneladas son utilizadas para exportación (Informe de producto, web-alimentos argentinos). En los últimos 10 años el consumo interno de galletitas creció fuertemente, alcanzando en la actualidad a un consumo *per cápita* de entre 12 y 13 kg anuales, lo que nos posiciona como el primer consumidor de galletitas en el mundo. Las galletitas tienen en la Argentina un consumo importante porque están dentro de la dieta alimentaria ya que se considera un alimento cuando en otros lugares del mundo es un "snack" de consumo ocasional. La categoría galletitas es la segunda más grande del mercado de productos de consumo masivo en la Argentina, ya que son consumidas en el 97% de los hogares.

Cuando se habla de galletitas dulces, denominadas a nivel mundial como *cookies* o *biscuits*, se refiere a productos formulados principalmente a base de harina, azúcar y grasa; con un bajo contenido de humedad (1-5%) (Chevallier *et al.*, 2002).

Existen diferentes métodos para elaborar galletitas, y de ello dependerán las propiedades reológicas de la masa y su influencia sobre el procesamiento y la calidad del producto. Hay un método de un solo paso, donde todos los ingredientes son mezclados en forma simultánea para dar lugar a la formación de una masa no extensible. En el método de cremado la mezcla de los ingredientes se hace en dos pasos, primero se mezclan el azúcar, la grasa y el agua y se forma una crema. En un segundo paso se agrega la harina, con mínimo mezclado, dando como resultado una masa que no es elástica ni extensible con un mínimo desarrollo de gluten.

Manley (2000) describe a la estructura de la masa de galletitas como una mezcla de partículas de proteínas y almidón con la grasa, que está presente en forma de grandes globulos o bloques, interconectados en una solución de azucar (Figura 1.13). La estructura de la masa va a depender de la proporción de sus componentes; en las formulaciones con grandes contenidos de grasa, esta última va a formar una fase continua; y en las de bajo tenor graso se presentará de forma mucho más dispersa (Baltsavias *et al.*, 1999).



**Figura 1.13.** Estructura de la masa de galletitas dulces en forma de emulsión de lípidos en una solución saturada de sacarosa (gris), con una matriz que consiste en partículas dispersas de proteínas ( ), gránulos de almidón (○) y partículas de harina (●), con partículas alargadas de grasa (Pareyt y Delcour, 2008).

Luego de mezclar los ingredientes, la masa suele dejarse reposar por un período de tiempo (al menos 30 minutos), durante el cual las proteínas y el almidón absorben el agua en forma pasiva produciendo un “secado” de la masa que facilita su posterior laminado y corte.

Durante el horneado, la masa se expande debido a la evaporación del agua y a los gases liberados por los leudantes químicos (Chevallier *et al.*, 2000). Miller y Hosney (1997), demostraron que durante el horneado las galletitas incrementan su diámetro de manera lineal durante un tiempo y luego se fija su estructura de manera repentina. La expansión de la galletita es causada por dos factores: la liberación de gases por parte de los leudante químicos y a la disminución de la viscosidad provocada por la fusión de la grasa y la disolución del azúcar (Hosney y Rogers, 1994). El diámetro final de la galletita estará

controlado por la velocidad de expansión y del tiempo en el que ocurra la fijación de la estructura (Hoseney y Rogers, 1994; Miller y Hoseney, 1997). Este tiempo lo determinará la cantidad de agua que se encuentre libre en la masa para actuar como solvente y a la fuerza de la masa (Ram y Singh, 2004); por lo que también podríamos afirmar que los componentes de la harina capaces de ligar agua juegan un importante rol en el desarrollo de la galletita.

## **CALIDAD GALLETITERA**

La calidad galletitera puede ser resumida en dos términos generales. El primero es el tamaño de la galletita, tanto el diámetro o el ancho como la altura, siendo esperable una galletita delgada y de buen diámetro. El segundo es su textura o consistencia a la mordida. Las galletitas de buena calidad resultan tiernas a la mordida (Hoseney, 1994).

El ingrediente principal de una galletita es la harina, proporcionando la matriz sobre la cual se van a incorporar los demás ingredientes para formar la masa. Los trigos de textura blanda tienen propiedades únicas que los hacen aptos para la producción de galletitas. Sus harinas tienen un menor contenido de proteínas, gluten más débil, menor capacidad de absorber agua, menor contenido de almidón dañado y una granulometría más fina que las harinas de trigos duros (Tanilli, 1976). En trigos blandos la adhesión entre los gránulos de almidón y la matriz proteica es menor que en trigos duros, por lo que muchos gránulos permanecen intactos durante el proceso de molienda, produciendo menor contenido de almidón dañado.

Las galletitas elaboradas a partir de trigos blandos tienen una mejor apariencia y textura, y resultan más tiernas que las elaboradas a partir de trigos duros (Wade, 1988; Hoseney y Rogers, 1994). Así mismo se sabe que las galletitas de trigos blandos se expanden a mayor velocidad y fijan su estructura más tarde, durante el horneado, que las

elaboradas con trigos duros (Doescher *et al.*, 1987; Miller y Hoseney, 1997). Esto es así dado que las masas obtenidas con harinas de trigos duros incrementan su viscosidad más rápidamente y a menores temperaturas durante el horneado que las masas elaboradas con trigos blandos (Wade, 1988).

Para evaluar la calidad galletitera se realiza una formulación sencilla que permita observar diferencias cuando se modifica alguno de los ingredientes. La calidad final de una galletita va a estar determinada por sus ingredientes principales: harina, grasa, azúcar y agua. En la presente tesis el foco estará puesto en la calidad y las características de la harina y cómo afectan a la calidad galletitera.

El contenido de agua es un parámetro muy importante a tener en cuenta durante la elaboración de galletitas, ya que un exceso de agua produce masas pegajosas que dificultan su laminado y recorte, que deben ser horneadas por más tiempo para evaporar el exceso de humedad, aumentando los costos de energía (Bushuk, 1998). Además, una baja absorción de agua por parte de la harina provoca una mayor absorción por parte del azúcar, incrementando la formación de jarabe y produce una disminución en la viscosidad de la masa durante el horneado, haciendo que la masa se expanda y se obtengan galletitas de mayor diámetro (Slade y Levine, 1994). La composición química de la harina va a determinar la cantidad de agua óptima para la elaboración de galletitas, ya que sus componentes tienen diferente capacidad de absorber agua.

## **EL ROL DEL ALMIDON**

Una de las principales razones por las que las galletitas son elaboradas a partir de trigos blandos es su menor contenido de almidón dañado. Muchos autores han asociado al almidón dañado con un menor diámetro de galletita (Hoseney y Rogers, 1994; Miller y Hoseney, 1997; Donelson y Gaines, 1998; Barrera *et al.*, 2007). Esto se debe a su gran

capacidad de absorber agua, tres veces más que el almidón nativo (Manley, 2000), siendo probablemente el principal componente de la harina responsable de la absorción de agua. Un mayor contenido de almidón dañado producirá un aumento en la viscosidad de la masa, debido a que absorbe más agua, limitando de este modo la expansión de la masa durante el horneado.

Otros parámetros a tener en cuenta, que han sido poco estudiados, son el contenido de amilosa y la gelatinización del almidón. Kaldy *et al.* (1991) encontraron una asociación positiva entre el contenido de amilosa y el diámetro de la galletita. En cuanto a la gelatinización, muchos autores le han restado importancia ya que al ser un producto con bajo contenido de agua y altos niveles de azúcar, gran parte del almidón no gelatiniza (Hoseney, 1994; Chevallier *et al.*, 2000). Parey y Delcour (2008) enfatizaron el hecho de que no se pueden sacar conclusiones respecto a esto dado que existen muchísimas formulaciones de galletitas, con diferentes contenidos de agua, y que hay pocos trabajos sobre el tema.

## **EL ROL DE LAS PROTEINAS**

Aunque las proteínas son cuantitativamente menos importantes que el almidón, tienen una gran influencia sobre la calidad galletitera, fundamentalmente en el diámetro de la galletita. El porcentaje de proteínas de una harina y su calidad afectan las propiedades reológicas de la masa, particularmente cuando la harina es uno de los componentes principales de la fórmula. Para la elaboración de galletitas buscan harinas provenientes de trigos blandos con bajo contenido proteico y un gluten más débil (Gaines, 1990; Hou *et al.*, 1996; Kaldy *et al.*, 1993).

Al igual que sucede con el almidón dañado, las proteínas afectan la consistencia de la masa ya que tienen la capacidad de absorber el doble de su peso en agua (Manley,

2000). Debido a que para el desarrollo de gluten es necesario hidratar convenientemente a las proteínas de la harina y luego aplicar energía durante el amasado, muchos autores consideran despreciable su desarrollo en masas de galletitas debido al bajo contenido de agua, altos niveles de azúcar, y al escaso amasado que tienen este tipo de masas. Sin embargo, Gaines (1990) probó que las proteínas formadoras de gluten (gliadinas y gluteninas) son capaces de asociarse estableciendo unas pocas uniones intermoleculares durante el amasado y el laminado de las galletitas. Así mismo durante el horneado, la presión que ejercen las burbujas de gas sobre las proteínas incrementa su hidratación y fuerza las interacciones entre ellas, volviéndolas más funcionales y favoreciendo el desarrollo de gluten.

Como se mencionó anteriormente, la galletita se expande durante el horneado debido a una disminución de la viscosidad de la masa. La expansión continúa hasta que ocurre un aumento repentino en la viscosidad de la masa. No están claras aún las causas de este aumento repentino en la viscosidad (Hoseney y Rogers, 1994). Dado que se considera que el almidón gelatiniza muy poco, este efecto se le atribuye a las proteínas (Hoseney, 1994).

Numerosos trabajos explican el efecto de los distintos tipos de proteínas sobre la calidad de las harinas para la elaboración de pan, pero muy pocos relacionan la composición alélica de las proteínas de reserva y las puroindolinas con la calidad galletitera. Souza *et al.*, (1994) observaron que las subunidades 13+19 del *locus Glu-B1* tuvieron un efecto negativo y significativo sobre la calidad de las galletitas, mientras que no encontraron ninguna asociación con las variantes alélicas de los loci *Glu-A1* y *Glu-D1*. En este estudio la calidad galletitera estuvo más afectada por la cantidad de proteínas de la harina que por su composición proteica. En un estudio realizado en líneas recombinantes por sustitución (entre el cromosoma 1A de *T. monococcum* y 1A de *Chinese Spring*) se encontró que los genotipos que contenían el alelo HMW-GS *Glu-A1* nulo proveniente de *Chinese Spring* y el alelo LMW-GS *Glu-A3* de *T. monococcum* presentaban una relación positiva con los parámetros de calidad de galletitas (Tranquili *et al.*, 2002). Finney y Bains

(1999) encontraron que los cultivares que contenían las subunidades 5+10 del *locus Glu-D1* presentaban un menor contenido de almidón dañado y un mayor diámetro de galletita que aquellos que contenían las subunidades 2+12 del mismo *locus*. Hou *et al.* (1996) encontraron una correlación positiva entre el diámetro de la galletita y la subunidad 1 del *locus Glu-A1* y una correlación negativa para con la subunidad 2\*, lo que se contradice con lo encontrado por Payne *et al.* (1981) y Souza *et al.* (1994) quienes le otorgan el mismo puntaje para ambos alelos en diferentes test de calidad. Estos estudios presentan resultados contradictorios y poco claros respecto a la relación entre la composición alélica y la calidad galletitera. Los factores que determinan la calidad en los trigos blandos son numerosos y probablemente sea la razón por la que actualmente, no se puede predecir la calidad de galletitas exclusivamente a partir de las variaciones alélicas de los genes que codifican las proteínas de reserva. Es necesario realizar estudios adicionales a fin de identificar dicha relación que podrá ser utilizada en la selección de cultivares de buena calidad galletitera.

## **EL ROL DE LOS PENTOSANOS**

Los pentosanos modifican la distribución del agua en la galletita, ya que son capaces de retener hasta 10 veces su peso en agua. Los pentosanos insolubles pueden atrapar grandes cantidades de agua y los solubles pueden disolverse en la fase acuosa produciendo ambos un aumento en la viscosidad del sistema. Tanto los pentosanos solubles como los insolubles disminuyen la capacidad de expansión de la galletita, afectando su calidad (Pareyt y Delcour, 2008).

## **TRIGO BLANDO EN ARGENTINA**

En la actualidad Argentina es productor de trigo pan o trigo duro hexaploide de muy buena calidad. En nuestro país el cultivo de trigo blando no está extendido por temor

a que se produzcan mezclas con trigos panificables, que afecten la calidad panadera de este último. Sumado a los bajos rendimientos y la gran sensibilidad a enfermedades que poseen los trigos blandos disponibles para su cultivo en el país, son menos rentables que las variedades de trigo panadero. Por este motivo las harinas provenientes de trigos blandos resultan más costosas y la industria prefiere utilizar harina de trigos panaderos con el agregado de aditivos que logran imitar las propiedades del trigo blando a un costo más conveniente. Hasta el año 2012 las variedades disponibles eran extranjeras y no presentaban una buena adaptación a los suelos y ambientes argentinos. Como resultado de esto, a nivel industrial la mayoría de las galletas se elaboran a partir de harinas de trigo pan a las cuales se les incorpora aditivos o enzimas para reducir la fuerza del gluten. Actualmente existen en el país 4 variedades de trigo inscriptas para su cultivo, y una de estas ha sido desarrollada en el país por INTA e inscripta en 2012 (variedad Biointa 3007 BB). Desde hace dos años Molino Campodónico cultiva y comercializa unas 2000 toneladas de trigo blando (variedad QALBis) en el país para Terrabusi (Kraft Foods) y algunas empresas más pequeñas (com. pers. Miguel Cardos, Molino Campodónico, 2013).

## **HIPÓTESIS**

- La composición físico-química de las harinas incide sobre la calidad galletitera de trigos blandos.
- Las variantes alélicas de las HMW-GS y la presencia de secalinas en los distintos genotipos de trigos blandos influyen sobre la calidad de las harinas destinadas a la elaboración de productos no leudados.
- Las características del almidón (distribución de volumen de gránulos, contenido de amilosa, perfil térmico y de viscosidad) varían entre cultivares y afectan las propiedades y la calidad de las harinas.
- Conocer la composición genética de las proteínas de grano y la composición físico-química de las harinas permite desarrollar herramientas útiles para la selección de cultivares de trigos blandos aptos para la elaboración de galletitas en programas de mejoramiento genético

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la calidad galletitera de las harinas obtenidas a partir de 44 líneas de trigos blandos y estudiar su asociación con la composición físico-química de harina y la composición molecular de las proteínas del grano.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la composición molecular de las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS), las secalinas y las puroindolinas.
2. Analizar la composición y las características físico-químicas del almidón.
3. Evaluar la relación entre los componentes de las harinas y su calidad galletitera.
4. Estudiar la calidad galletitera de las harinas mediante diferentes pruebas de predicción.
5. Proveer herramientas para el mejoramiento genético de trigos blandos en función de los resultados obtenidos.

## **CAPITULO 2**

# MATERIALES Y MÉTODOS

## MATERIAL

El estudio se llevó a cabo con 44 genotipos de trigo blando, incluyendo líneas avanzadas y cultivares de diversos orígenes adaptados a la región central de Argentina. Los trigos fueron cultivados durante dos años consecutivos, 2006 y 2007, en Marcos Juárez (Córdoba) (32°42' S, 62°07' W). En la Tabla 2.1 se muestran el origen y el nombre de los 44 genotipos de trigo. Todos los trigos se sembraron en las fechas recomendadas usando un diseño  $7 \times 8$  *alpha lattice* con tres replicaciones (parcelas de 5,0 m de largo x 7 hileras) y una densidad de siembra de 300 plantas por m<sup>2</sup>. Los ensayos fueron realizados en condiciones de secano adicionándose nitrógeno (150 kg/ha), fosforo (57,2 kg/ha) y azufre (12 kg/ha). Patógenos y pestes fueron prevenidos por tratamiento químico y las malezas fueron removidas a mano para evitar efectos negativos de herbicidas hormonales en el desarrollo del cultivo.

**Tabla 2.1.** Entrada, nombre y origen, de los 44 genotipos de trigo.

Nº Entrada	Cultivar/línea/cruza	Origen
1	CADOUX	Australia
2	BRS 177	BRASIL
3	94309-7-2	Georgia USA
4	LA95177BUB26-1-3-B	Louisiana USA
5	941673-3-1	Georgia USA
6	T84-331/COKER9134	AWD97-6961R, Louisiana USA
7	95468-9-3	Georgia USA
8	FLLA95134-A7-B11	Georgia USA
9	95151-10-8	Georgia USA
10	AW-M94*1549-1	Louisiana-USA
11	MASON/3/FREEDOM//N8675/CATBIRD	97-1078-7-2, Arkansas USA
18	931257-1-3	Georgia USA
19	92485 E15	Georgia USA
20	LA 9585 D 17-2	Louisiana USA
21	94776-1-1	Georgia USA

**Tabla 2.1.** Entrada, nombre y origen, de los 44 genotipos de trigo. *Continuación.*

<b>Nº Entrada</b>	<b>Cultivar/línea/cruza</b>	<b>Origen</b>
22	901146 E 15	Georgia USA
23	93435-1-10	Georgia USA
24	GA 932911 E 38	Georgia USA
25	FL 93024-6-1	Georgia USA
26	94261-22-2	Georgia USA
27	YACO//ALTAR84/AE.SQR(191)/3/2*YACO	CIMMYT
29	CROC_1/AE.SQR(205)//BORL95	CIMMYT
30	LA 422	Louisiana USA
31	CROC_1/AE.SQR(205)//BORL95	CIMMYT
32	CROC_1/AE.SQR(205)//BORL95 ABT/BPAT/3/VI/SNB'S//PAZUL/5/DONAT	CIMMYT
33	A/3/FLN/ACC//ANA/4/ALD	INTA EEA M JUAREZ
34	951181-17-2	Georgia USA
35	AR 839-25-8-2	Arkansas USA
36	NC 98-26192	North Carolina USA
37	GA 932911 E38	Georgia USA
38	YACO//ALTAR84/AE.SQR(191)/3/2*YACO	CIMMYT
39	SS 520	Louisiana USA
41	FL 93024-6-1	Georgia USA
42	951216-2-2	Georgia USA
43	FFR502W//8576A53-2-1	LA9397D5-3-3, Louisiana-USA
44	931257-1-3	Georgia USA
45	951255-17-2	Georgia USA
47	TERRAL LA422	Louisiana USA
48	951300-7-1	Georgia USA
49	931257-1-5	Georgia USA
50	94665-2-4	Georgia USA
55	P 2684/PRL	97-00066-5, Arkansas-USA

## **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR**

### **EXTRACCIÓN DE ADN**

La extracción de ADN genómico se realizó según el siguiente protocolo: de cada variedad a evaluar se cortaron aproximadamente 10 cm del ápice de hojas jóvenes y se

introdujeron en un microtubo de 2 mL. Luego se colocó inmediatamente el microtubo en un recipiente con nitrógeno líquido a fin de evitar la degradación del ADN. A continuación el material vegetal congelado se molió en el mismo microtubo con una varilla plástica hasta tomar apariencia de polvillo. Posteriormente, a cada muestra se le adicionaron 160 µL de SDS 20% y 800 µL de Solución de Extracción constituida por 100 mM tris base pH 8, 500 mM NaCl, 50 mM EDTA pH 8, se mezcló suavemente y se incubó en baño térmico a 65 °C durante 40 min, agitándose por inversión cada 10 min. Una vez finalizada esta etapa se adicionaron 600 µL de fenol-cloroformo-isoamílico 24/25/1, y cada tubo se agitó vigorosamente hasta formar una emulsión. Posteriormente se centrifugaron las muestras a 13500 rpm durante 30 min utilizando una microcentrífuga (Eppendorf, 5417 C). Luego, de cada microtubo se extrajo el sobrenadante y se trasvasó a microtubos de 1,5 mL. A continuación, a cada microtubo se adicionaron 800 µL de isopropanol y 80 µL de acetato de sodio 2,5 M. Cada tubo se agitó suavemente por inversión para precipitar el ADN. Posteriormente se centrifugó a 13500 rpm durante 5 min y el pellet obtenido se lavó con 800 µL de etanol 70 % (v/v). Luego se dejó secar el pellet a temperatura ambiente durante 20 min y se lo resuspendió en 200 µL de agua destilada en baño térmico a 65 °C durante 15 min.

## **PUROINDOLINAS (*PINA-D1* Y *PINB-D1*)**

La constitución alélica de los genes *Pina-D1* y *Pinb-D1* de cada muestra fue determinada utilizando marcadores moleculares basados en PCR desarrollados por Tranquilli *et al.* (1999). Para la amplificación de *Pina-D1* se utilizaron los *primers Pina-D1F* (ccc tgt aga gac aaa gct aa) y *Pina-D1R* (tca cca gta ata gcc aat agt g) y Para *Pinb-D1* los *primers Pinb-D1F* (atg aag acc tta ttc ctc cta) y *Pinb-D1R* (tca cca gta ata gcc act agg gaa). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un termocilador (MJ Reserch, PT100) utilizando 100 ng de ADN genómico, 1X Taq buffer, 250 µM de dNTPs, 3mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 ng/µL de cada *primer* y 1U de Taq Polimerasa en un volumen final de 25 µL. El programa de PCR utilizado fue un paso de desnaturalización a 94 °C por 3 min, seguido por 39 ciclos de 94 °C por 90 s, 50 °C por 90 s y 72 °C por 90 s, más un paso de extensión

final a 72 °C por 10 min. En el caso de *Pinb-D1* una vez finalizada la PCR, 10 µL del producto se digirieron con 3U de la endonucleasa *BsrBI*, durante 2 h a 37 °C. Los productos de PCR y digestión fueron separados por medio de electroforesis en geles de agarosa en 2% teñidos con bromuro de etidio y visualizados bajo luz UV. La electroforesis fue documentada por medio de una fotografía digital.

## **PROTEÍNAS DE RESERVA**

Las fracciones de **gluteninas** se extrajeron y se separaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) para determinar la composición de subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) de los distintos genotipos estudiados utilizando el protocolo de Pflüger *et al.* (2001).

Las proteínas monoméricas, como **gliadinas** y **secalinas**, se extrajeron a partir de dos semillas de trigo molidas en mortero, utilizando una solución de 1,5 M de dimetil formamida (DMF). La relación volumen de solvente/peso de grano fue de 5:1 (µL: mg). Las muestras se centrifugaron y se almacenaron a -20 °C para su posterior análisis. El precipitado obtenido de la extracción de gliadinas, conteniendo las proteínas poliméricas, se solubilizó con buffer Tris-HCl 0,08 M (pH 8,5) conteniendo 1,5 % de ditioneitol (DTT) y 1% de SDS. Posteriormente las muestras se alquilaron con 1,4 % de 4-vinilpiridina con el objeto de prevenir la renaturalización de los puentes disulfuro en las subunidades de gluteninas de HMG y LMG y de este modo mejorar la resolución de estas bandas proteicas por SDS-PAGE.

La fracción de gluteninas reducidas y alquiladas se corrió en un gel vertical de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes durante 12 h a 30 mA/gel de acuerdo al procedimiento descrito por Pflüger *et al.* (2001). Luego se dejaron tiñendo toda la noche con coomassie blue R-250 al 0,2% (p/v), en etanol 5% (v/v) y ácido tricloroacético 12%

(p/v). Los geles se destiñeron durante 24 h con agua. Para nombrar los diferentes alelos se utilizó la nomenclatura de Payne y Lawrence (1983).

Las gliadinas y secalinas se separaron con la técnica de electroforesis ácida de geles de poliacrilamida (A-PAGE) con buffer lactato de aluminio, pH 3,1, según protocolo descrito por Khan *et al.* (1985). Los geles se corrieron durante 3 h a 20 mA/gel con los polos invertidos. Los geles se tiñeron con coomassie blue según protocolos estándar (Sambrook *et al.*, 1989).

## **OBTENCIÓN DE LAS HARINAS**

Las semillas se acondicionaron a un porcentaje de humedad del 16 % y se molieron en un molino de laboratorio de cuatro rodillos (Agromatic AG AQC 109, Laupen, Suiza) provisto con un tamiz de 250  $\mu\text{m}$ , que permitió separar la harina del salvado.

## **DUREZA DEL GRANO**

Una fracción de la harina se obtuvo sin tamizar para determinar la dureza de los granos mediante el Índice de Tamaño de Partícula (PSI, *Particle Size Index*) (Método 55-30, AACC). El índice se calculó como el peso de la harina que atravesó el tamiz (75  $\mu\text{m}$ ) x 100 y el resultado se comparó con una tabla de modo de obtener la dureza relativa.

## **TAMAÑO DE PARTÍCULA DE LAS HARINAS**

La distribución de tamaño de partículas de las harinas se determinó con un analizador de tamaño de partícula por difracción de rayos laser (Helos, Sympatec, Alemania), combinado con un dispersor de polvos (Rodas, Sympatec, Alemania). Se midió el diámetro de las partículas de harinabasado en la distribución de volumen; tomando el volumen de partícula medio (VMD) calculado usando la teoría de Fraunhofer. Se informaron los valores en  $\mu\text{m}$  con sus respectivas desviaciones estándar.

## **COMPOSICIÓN Y CALIDAD DE LAS HARINAS**

### **HUMEDAD**

El contenido de humedad se determinó por diferencia de pesada en 2 g de harina exactamente medidos antes y después de calentar en estufa a 135 °C a presión atmosférica normal, durante 2 horas. Los resultados se expresaron como porcentaje de agua perdida (Método 44-19, AACC Internacional 2000).

### **PROTEÍNAS**

Se determinó el contenido de proteínas mediante el método de Dumas usando un equipo de determinación de nitrógeno gaseoso (FP-2000, LECO; Estados Unidos), el fundamento de la técnica consiste en la pirolisis completa de la muestra y la medición del contenido de nitrógeno de los gases liberados de la combustión. Se colocaron 100 mg de

harina dentro de la cuba de carga y luego se la introdujo dentro del horno de combustión, donde las muestras fueron carbonizadas a una temperatura de 950 °C, con inyección de oxígeno para facilitar la combustión completa. El N<sub>2</sub> liberado luego de la combustión se midió por diferencia de conductividad utilizando He puro como gas de referencia. El porcentaje de proteína total se calculó como N x 5,7 (Método 46-13, AACC, 2000).

## **GLUTEN**

Para la determinación de gluten húmedo, gluten seco, e índice de gluten se utilizó un Glutomatic 2200 System (Perten Instrument, Suecia). Para el ensayo se utilizaron 10 g de harina, a las que se adicionaron 4,8 ml de NaCl al 2%. Las mezclas fueron amasadas y lavadas durante 5 minutos. Se tomó el peso del gluten húmedo, luego se centrifugó, y se tomó el peso del gluten que atravesó la malla para calcular el índice de gluten, y finalmente se secó para el cálculo del gluten seco. Los porcentajes de gluten húmedo y seco se calcularon en base a la harina al 14% de humedad, mientras que el gluten index se expresó como una relación entre el peso de gluten que atravesó la rejilla y el gluten húmedo (Método 38-12.02, AACC, 2000).

## **PENTOSANOS**

La cuantificación de pentosanos totales y pentosanos solubles se determinó siguiendo el método del Orcinol-HCl con las modificaciones realizadas por Hashimoto *et al.* (1987).

## PENTOSANOS TOTALES (PT)

Se pesaron 10 mg de harina en tubos de hidrólisis de 15 mL a los cuales se adicionaron 2 mL de HCl 2 N. Se colocaron los tubos en baño de agua a 100 °C por un lapso de 2,5 horas. Pasado este tiempo se dejaron enfriar y se neutralizaron con 2 mL de una solución de carbonato de sodio 2 N. Se agregaron 2 mL de una suspensión de levadura y se dejó fermentar durante 2 horas a 30 °C para eliminar los azúcares fermentables. Luego de este periodo se centrifugó a 1000 x g por 10 minutos. A 2 mL del sobrenadante se le aplicó el método del Orcinol-HCl, que consiste en agregar 0,1 mL de solución de orcinol al 1% en HCl concentrado. Los tubos se colocaron en baño de agua a 100 °C durante 30 minutos y posteriormente se leyó su absorbancia a 670 nm. Se realizó una curva de calibración empleando soluciones estándar de xilosa (C<sub>5</sub>O<sub>5</sub>H<sub>10</sub>) en agua de 80, 120, 160 y 200 µg / 3 mL, a las cuales se les aplicó también el método del Orcinol-HCl.

## PENTOSANOS SOLUBLES EN AGUA (PS)

A muestras de 100 mg de harina se le adicionaron 10 mL de agua destilada y se colocaron en baño de agua a 30 °C por 2 horas con agitación cada 30 minutos. Luego se centrifugaron a 1000 x g por 15 minutos. Se tomó 1 mL del sobrenadante y se sometió a hidrólisis con 1 mL de HCl 4 N durante 2 horas a 100 °C. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar y se tomó una alícuota de 1 mL a la cual se le aplicó el método del Orcinol-HCl. Se realizó además una curva estándar con soluciones de xilosa (C<sub>5</sub>O<sub>5</sub>H<sub>10</sub>) en agua de 20, 40, 60, 80 y 120 µg/3 mL y se leyó su absorbancia a 670 nm.

## ALMIDÓN DAÑADO

Para determinar el porcentaje de gránulos de almidón susceptibles a la hidrólisis por  $\alpha$ -amilasas en las muestras en estudio se utilizó el Método 76-30A de la AACC (2000). El porcentaje de almidón dañado se define como granos de almidón sujetos a hidrólisis enzimática por 100 g de muestra sobre una base de humedad del 14 %. Para realizar esta técnica se empleó un Erlenmeyer de 125 mL en el cual se adicionó 1 g de muestra y 0,05 g de  $\alpha$ -amilasa fúngica de *Aspergillus oryzae*. Posteriormente se agregaron 45 mL de *buffer* acetato (pH 4,6 – 4,8). La suspensión formada se homogeneizó y se incubó en agua a 30 °C durante 15 minutos. Luego de transcurrido este tiempo se adicionaron 3 mL de una solución de ácido sulfúrico 3,68 N y 2 mL de una solución de tungstato de sodio al 12 %. Luego de mezclar, se dejó reposar por 2 minutos y se filtró en papel de filtro descartando las primeras 8-10 gotas. Inmediatamente se adicionaron 5 mL del filtrado en un tubo pirex (25 x 200 mm) y se determinó la cantidad de azúcar reductor presente mediante el método 80-60 de la AACC (2000), que consiste en una titulación de los azúcares reducidos con una solución de tiosulfato de sodio. Se preparó un blanco omitiendo el agregado de la muestra y siguiendo todos los pasos indicados en el método. El porcentaje de almidón dañado fue determinado mediante el cálculo de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Almidón dañado} = 0,082 \times \text{mg de maltosa} / 10 \text{ g de harina}$$

Para la obtención de los mg de maltosa se realizó una sustracción entre el volumen de ferricianuro 0,1 N (en mililitros) reducido en el blanco y el reducido en la muestra problema. Luego se utilizó la tabla de conversión de ferricianuro-maltosa para 10 g de muestra (Método 22-18, AACC, 2000). Finalmente se multiplicó por un factor (0,082 = [164 / 100]) debido a que bajo las condiciones del método el 61% del almidón es convertido en maltosa, por consiguiente, la multiplicación del recíproco de 0,61 (1,64) es necesaria para convertir los mg de maltosa a mg de almidón hidrolizado por cada 10 g de muestra, la división de este término por 100 lo convierten en unidades porcentuales

## ÍNDICE DE RETENCIÓN DE AGUA ALCALINA (IRAA)

Este índice se calcula cómo la cantidad de agua alcalina que es retenida por la harina al 14% de humedad luego de la centrifugación (Método 56-10, AACC, 2000). Este índice correlaciona negativamente con la capacidad de expansión de la galletita durante el horneado. El IRAA se utiliza para predecir la calidad de la harina para la elaboración de galletitas dulces, cuyas masas son ligeramente alcalinas debido a los agentes leudantes.

Se suspendió 1 g de harina en 5 mL de  $\text{NaHCO}_3$  0,1 N, se dejó hidratar durante 20 min, y luego se centrifugó a 700 g durante 15 min. Se descartó el sobrenadante y se pesó el precipitado. El IRAA se calculó de la siguiente manera:

$$\text{IRAA (\%)} = \left( \frac{\text{PP}}{\text{PH}} \right) \left( \frac{86}{100 - \%H} \right) - 1 \times 100$$

PP = peso del precipitado; PH = peso de la harina, % H porcentaje de humedad

## PERFIL DE CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE SOLVENTE (SRC)

La capacidad de retención de solvente (Método 56-11, AACC, 2000) es el peso ganado por la harina luego de la hidratación con distintos solventes (sacarosa ( $\text{C}_{12}\text{O}_{10}\text{H}_{22}$ ) 50% p/p, carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 5% p/p, ácido láctico ( $\text{C}_3\text{O}_3\text{H}_6$ ) 5% p/p y agua destilada) y el posterior centrifugado. El patrón de comportamiento obtenido para cada solvente se relaciona con la calidad de la harina para elaborar distintos productos de panificación. El SRC de ácido láctico se asocia con las características de las gluteninas; el SRC de carbonato de sodio se asocia con los niveles de almidón dañado; el SRC de sacarosa se asocia con el contenido de pentosanos y el SRC de agua con todos los componentes de la harina capaces de absorber agua (Gaines, 2000).

Para realizar este test se pesaron 5 g de harina en tubos para centrifuga de 50 mL, luego se adicionaron 25 g de solvente y se dejó hidratar la harina durante 20 min con sucesivas agitaciones cada 5 min. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 1000 g durante 15 min, se descartó el sobrenadante y se dejó escurrir el tubo a 90° durante un lapso de 10 min. Por diferencia de peso se determinó la cantidad de agua retenida obteniéndose el % SRC mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ SRC} = \left[ \frac{\text{PG}}{\text{PH}} \times \left( \frac{86}{100 - \% \text{H}} \right) - 1 \right] \times 100$$

PG = peso del gel; PH = peso de la harina; % H = porcentaje de humedad

## **CARACTERIZACIÓN DEL ALMIDÓN**

### **AMILOSA**

El contenido de amilosa se determinó de acuerdo al procedimiento descrito por Gibson *et al.* (1997), usando el kit enzimático de ensayo para amilosa/amilopectina (Megazyme International, Irlanda). Se pesaron entre 20-25 mg de harina, el almidón de la muestra se dispersó completamente en dimetil sulfóxido (DMSO) y posteriormente se calentó durante 15 min a 100 °C para gelatinizar completamente el almidón; se tomaron dos alícuotas para el posterior análisis de las fracciones de amilosa y almidón total.

La fracción de amilosa fue analizada mediante precipitación específica de la amilopectina con concanavalina A (Con A). La amilosa presente en el sobrenadante fue recuperada por centrifugación y tratada enzimáticamente con  $\alpha$ -amilasa y amilogucosidasa

para obtener D-glucosa por la acción combinada de ambas enzimas, la cual fue determinada con el reactivo de glucosa oxidasa/peroxidasa (GOPOD).

La fracción de almidón total fue sometida a una hidrólisis similar a la anterior y la D-glucosa obtenida se determinó colorimétricamente utilizando el reactivo GOPOD (Espectrofotómetro Spectrum SP 2000, China). La concentración de amilosa en la harina fue estimada como la relación entre la absorbancia generada por el reactivo GOPOD a 510 nm de la alícuota precipitada con Con A y la correspondiente a la de almidón total:

$$\% \text{ Amilosa} = \frac{\text{Abs sobrenadante Con A}}{\text{Abs alícuota almidón total}} \times \frac{6,15}{9,2} \times \frac{100}{1}$$

Los resultados fueron expresados en porcentaje de amilosa en almidón.

## **DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE GRANULOS DE ALMIDÓN**

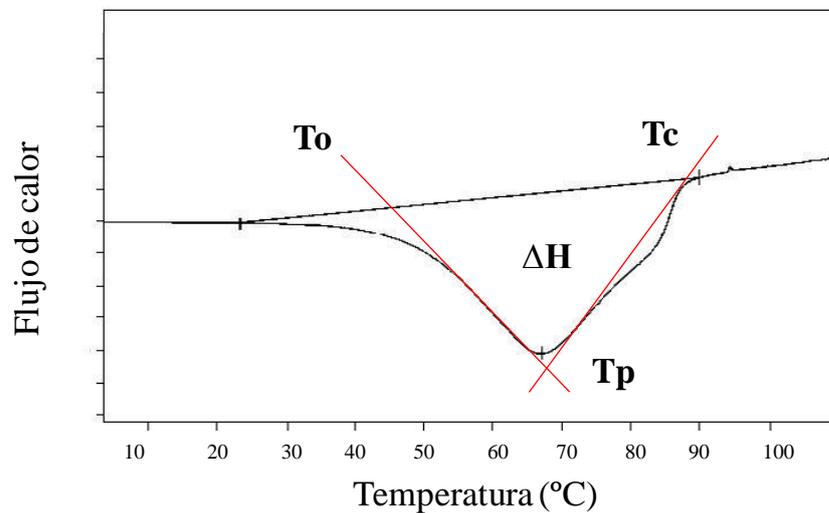
Para determinar la distribución de tamaño de los gránulos de almidón, se realizó una extracción del almidón de las harinas mediante una digestión ácida utilizando pepsina A (P7012, Sigma) en HCl 0,04 N durante 60 min a 37 °C. Luego del tratamiento con la proteasa se incubó la muestra con hemicelulasa 90 (actividad 90,000 U/g, Amano Enzyme, USA) en *buffer* acetato 0,1 M (pH=4,5) durante 3 h a 45 °C. Posteriormente se agregó una mezcla de detergentes (5% SDS, 5% Triton X-100, 5% Tween 40, y 5% Triton X-15) (Bechtel y Wilson, 2000), se centrifugó a 2500 rpm por 5 min. Se descartó el sobrenadante y se realizaron lavados con agua. El almidón extraído se secó en estufa a 37 °C durante toda la noche y se molió en mortero.

La distribución del tamaño de los gránulos de almidón aislado se midió en un analizador de tamaño de partículas por difracción de rayos láser (LA-950E, Horiba, Japón).

Se usó un índice de refracción estándar para agua de 1,32 y de 1,52 para almidón. Para separar las dos poblaciones de gránulos (tipo A y tipo B) se definió un corte a 10,1- $\mu\text{m}$  de diámetro. Los volúmenes se calcularon suponiendo que todos los gránulos eran esféricos.

## CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

Se utilizó un calorímetro diferencial de barrido DSC 823 (Mettler-Toledo, Suiza) para el estudio de las propiedades térmicas del almidón en las distintas harinas. El equipo fue calibrado con indio y cinc, y una cápsula de aluminio vacía y sellada (pero perforada), fue utilizada como referencia. Se colocaron 10 mg de muestra en las capsulas del calorímetro y se adicionó dos veces su peso en agua. Las harinas hidratadas se dejaron reposar por 24 h a 25 °C. Para el ensayo la muestra fue calentada de 30 °C a 120 °C con una rampa de 10 °C por min. Luego del análisis las muestras se almacenaron a 4 °C por 14 días y se sometieron al mismo programa de calentamiento para medir la retrogradación.

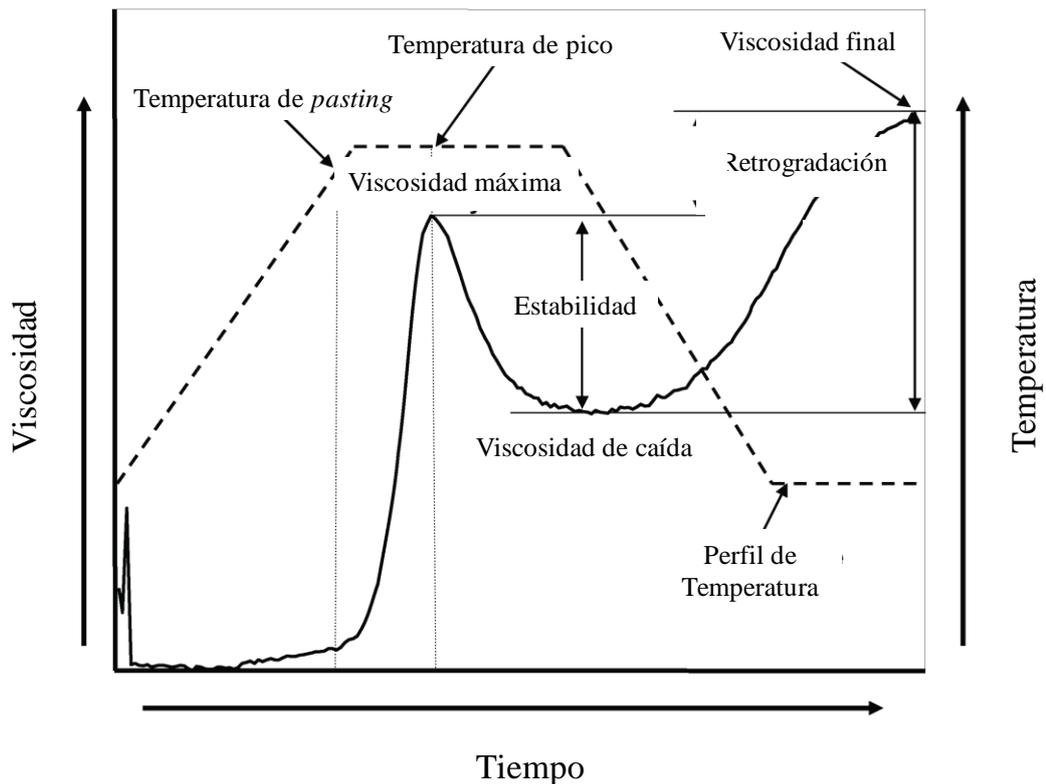


**Figura 2.1:** Registro de una corrida de DSC y sus principales indicadores:  $T_o$  (temperatura de inicio de la gelatinización),  $T_p$  (temperatura de pico),  $T_c$  (temperatura de finalización) y  $\Delta H$  (entalpía de gelatinización).

Se tomaron las temperaturas de inicio ( $T_o$ ), de pico ( $T_p$ ) y de finalización ( $T_c$ ), ancho de pico (se mide como la diferencia de temperaturas a la mitad de la altura del pico) ( $\Delta p$ ) y las entalpías de gelatinización ( $\Delta H_{gel}$ ) y retrogradación ( $\Delta H_{ret}$ ) (Figura 2.1). Todas las determinaciones realizadas mediante calorimetría diferencial de barrido fueron llevadas a cabo, como mínimo, por duplicado.

## **PERFIL DE VISCOSIDAD (RVA)**

Para analizar el perfil de viscosidad de las muestras en función de la temperatura y el tiempo se utilizó un viscoanalizador (RVA-4; Newport Scientific Pty. Ltd., Australia) siguiendo el método estándar 1 de Newport Scientific. Para el análisis se mezclaron 3,0 g de harina (al 14% de humedad) con 25 mL de agua destilada en un canasto de aluminio. Se realizó un ciclo de calentamiento de 50-95 °C en 283 s, con un mantenimiento a 95 °C durante 150 s, y un posterior enfriamiento a 50 °C. Al inicio de cada ciclo las dispersiones se mezclaron a 960 rpm por 10 s y luego se mantuvo una velocidad de mezclado de 160 rpm durante todo el ensayo. Durante el proceso, se registraron los valores de viscosidad y temperatura. El análisis de estos datos fue llevado a cabo utilizando el *software* Thermocline para Windows suministrado por el fabricante del equipo. A partir de los viscogramas (Figura 2.2) se obtuvieron los siguientes parámetros: temperatura de pico, viscosidad máxima, temperatura de *pasting*, viscosidad final, viscosidad de caída, estabilidad y retrogradación. Todas las mediciones fueron realizadas por duplicado.



**Figura 2.2:** Curva de RVA tipo y sus principales indicadores (Newport Scientific, 1998).

**Temperatura de *pasting*:** es la temperatura al inicio del aumento de la viscosidad. Proporciona una idea de la temperatura mínima necesaria para el calentamiento de una muestra determinada.

**Viscosidad máxima:** se relaciona con la capacidad de absorción del agua por el parte del almidón o la mezcla.

**Estabilidad** (o *Breakdown*): es la diferencia entre la viscosidad máxima y la viscosidad de caída. Se encuentra en la etapa en la cual se mantiene la pasta a temperatura constante (normalmente a 95°C).

**Viscosidad de caída** (o *trough*): es el menor valor de viscosidad antes de que comience la retrogradación. Se encuentra en la etapa final del calentamiento a temperatura constante, antes de disminuir la temperatura. La tasa de reducción depende de la temperatura y el grado de la mezcla, del esfuerzo aplicado a la mezcla y de la naturaleza de los elementos implicados.

**Retrogradación** (o *setback*): es la diferencia entre la viscosidad final y la viscosidad de caída. Cuando la pasta vuelve a enfriarse el almidón se reorganiza, y como

consecuencia de este fenómeno, la viscosidad vuelve a incrementarse. Este fenómeno ha sido correlacionado con la textura de varios productos.

**Viscosidad final:** Indica la capacidad del material para formar una pasta o gel viscoso después del calentamiento y enfriamiento.

## ELABORACIÓN DE GALLETITAS

Para determinar la calidad galletitera de cada una de las muestras en estudio se procedió a elaborar galletitas dulces según el Micro método III descrito por Finney *et al.* (1950) con las modificaciones realizadas en el CIMMYT (León *et al.*, 1996). Se utilizó la siguiente formulación:

Harina	45,00 g
Azúcar impalpable	27,00 g
Grasa vegetal	20,20 g
Bicarbonato de sodio	0,50 g
Sal	0,42 g
Leche en polvo	2,25 g
Agua	8,50 mL

Primero se mezcló el azúcar, la leche en polvo, la sal y el agente leudante; se agregó la manteca y se batió durante 2 min hasta obtener una crema. Luego se incorporó el agua y se batió por 1 min. Por último se añadió la harina y se batió durante 2 min. Con la masa obtenida se formó un cilindro de unos 10 cm de largo y se lo colocó entre dos varillas de madera (de 7 mm de alto) separadas entre sí por unos 5 cm. Se realizaron 12 pasadas con un palo de amasar, se cortaron cilindros de 45 mm de diámetro que se colocaron sobre una placa de horno. Las galletitas se hornearon a 200 °C durante 10 minutos, luego se dejaron enfriar y se almacenaron en bolsas cerradas durante 24 h a 25 °C. Luego de ese tiempo se les midió el factor galletita, el color y la textura con el fin de evaluar su calidad.

Para las galletitas elaboradas con los trigos de la cosecha del año 2006 se utilizó un horno rotativo a gas Cyclo (Ciclo Ingeniería, Argentina); mientras que para las del 2007 se utilizó un horno eléctrico Beta 107 IPA (Pauna, Argentina).

## **FACTOR GALLETITA**

Se determinó mediante la relación entre el diámetro y la altura de 4 galletitas tomadas al azar (León *et al.*, 1996). Se colocaron los 4 discos elegidos uno al lado del otro y se tomó el largo total ( $D_1$ ), luego se giró cada disco  $90^\circ$  y se volvió a tomar el largo total ( $D_2$ ), se colocaron luego los discos uno arriba del otro para tomar la altura total ( $A$ ), se calculó el valor del Factor galletita del siguiente modo:

$$FG = [(D_1 + D_2)/2] / A$$

## **TEXTURA**

La textura de una galletita es un parámetro muy importante a tener en cuenta a la hora de evaluar la aceptabilidad del consumidor. En galletitas se evalúa principalmente la resistencia a la mordida, lo que se puede realizar mediante un texturómetro. Este equipo permite determinar las propiedades mecánicas de las galletas mediante la medición de la fuerza aplicada hasta lograr la ruptura de la galleta aplicando el método *three-point break* (Gaines, 1991)

Para evaluar la resistencia de las galletitas a la mordida se utilizó un texturómetro. Se colocó una galletita con una distancia de 4,5 cm entre los dos puntos de apoyo; y se

realizó la compresión a una velocidad de 0,5 mm/s usando una sonda tipo HDP/3PB. La dureza se evaluó sobre 4 galletitas 24 horas después de la cocción.

Para medir la textura de las galletitas de la cosecha 2006 se utilizó analizador de textura, *Texture Analyzer* modelo TA-XT2i (Stable Micro Systems, Reino Unido); mientras que para las del 2007 se utilizó un *Universal Testing Machine*, modelo 3342 (Instron Corporatin, EEUU).

## **COLOR**

Para medir el color en la superficie de las galletitas se utilizó con un espectrofotómetro de reflectancia Minolta 600d (Konica Minolta, Japón) de 8 mm de apertura, ángulo del observador 10°, iluminante D65., Los valores de color se expresaron en término de luminosidad (L), equilibrio entre rojo y verde (a), y equilibrio entre amarillo y el azul (b). Previamente se realizó la calibración del instrumento. Como medida objetiva del color se utilizó el sistema Cie-Lab (C.I.E., 1986), que define cada color a partir de tres coordenadas denominadas L\*, a\* y b\*. Las magnitudes L\*, a\*, y b\* son adimensionales y se definen en función del tipo de estímulo para tratar de simular a los observadores reales (Joshi y Brimelow, 2002). La coordenada L\* recibe el nombre de luminosidad y a\* y b\* son las coordenadas colorimétricas que forman un plano perpendicular a la luminosidad, siendo, a su vez, perpendiculares entre sí. El valor a\* es una medida de la intensidad de color rojo, en el desplazamiento sobre el eje a\* hacia valores positivos del punto acromático se observan los rojos y hacia valores negativos los verdes. El valor b\* es una medida de la intensidad de color amarillo, en el desplazamiento sobre el eje b\* hacia valores positivos del punto acromático se observan los amarillos y para valores negativos los azules.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En todos los casos se realizaron las determinaciones por duplicado y los resultados se informaron como el valor promedio  $\pm$  la desviación estándar. Estos análisis fueron realizados mediante los programas INFOSTAT e INFOGEN (Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina).

Se calculó la frecuencia relativa de los alelos presentes en los locus *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y Secalinas de las líneas de trigo en estudio. Los datos obtenidos a través de los diferentes estudios realizados se trataron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANAVA) y los resultados fueron comparados por el Método de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) de Fisher o DGC, a un nivel de significación del 0,05. Las relaciones entre los parámetros medidos fueron evaluadas por el Método de Pearson y los valores de coeficiente de correlación informados se consideraron significativos con un  $p < 0,05$ .

Para el análisis de la influencia de las distintas gluteninas y secalinas sobre la composición y calidad galletitera de las harinas se realizó primeramente un análisis de componentes principales usando la composición de gluteninas y secalinas como observaciones, luego los datos se ajustaron con un Modelo Lineal General y Mixto (MLGM), tomando el año de cosecha y la composición de *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* y Secalinas como efectos fijos; y al genotipo como efecto aleatorio. Los componentes de la varianza se estimaron con la verosimilitud máxima (ML) con el fin de comparar las magnitudes relativas de las fuentes de variación. Los valores medios se compararon por el Método de la Mínima Diferencia Significativa (LSD) de Fisher a un nivel de significación del 0,05. Del mismo modo se realizó un análisis de la varianza multivariado (MANOVA), tomando a las gluteninas y secalinas como variables de clasificación, con el objeto de confirmar diferencias significativas entre las distintas variedades de trigo blando para las variables estudiadas, utilizando el test de Hotelling a un nivel de significancia de 0,05 para evaluar las medias

Con el fin de predecir la calidad galletitera de las harinas se realizó una regresión lineal múltiple usando el factor galletita como variable dependiente. Se determinó el modelo que mejor ajustó usando la eliminación de variables de *backward*; y se calculó el error predictivo medio (MSPE) usando el método de *jackknife* como una medida de la capacidad predictiva del modelo.

Para evaluar la calidad galletitera de las harinas y de las distintas combinaciones de HMW-GS y secalinas, se realizaron análisis de conglomerados, que luego fueron utilizados para el ANAVA con el fin de identificar diferencias significativas entre los conglomerados obtenidos.

Con el fin de explorar la variabilidad entre los distintos trigos en cuanto a las características y propiedades del almidón, se realizó un análisis de componentes principales utilizando las variables que mostraron diferencias entre genotipos.

## **CAPITULO 3**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Primeramente se caracterizaron los genotipos de trigo seleccionados en cuanto a la composición molecular de gluteninas de alto peso molecular, secalinas y puroindolinas. Se molieron las 44 líneas de trigo blando correspondientes a la cosecha 2006, y se determinó la textura de los granos. A las harinas se les determinó la composición físico-químicas, y se evaluó su calidad galletitera mediante distintos test predictivos y elaborando galletitas a partir de las mismas. En base al análisis de los resultados obtenidos en esta primera etapa, se seleccionaron las determinaciones que mostraron un mayor impacto sobre la calidad galletitera de los trigos para repetirlos en la cosecha 2007.

### **PRIMERA ETAPA**

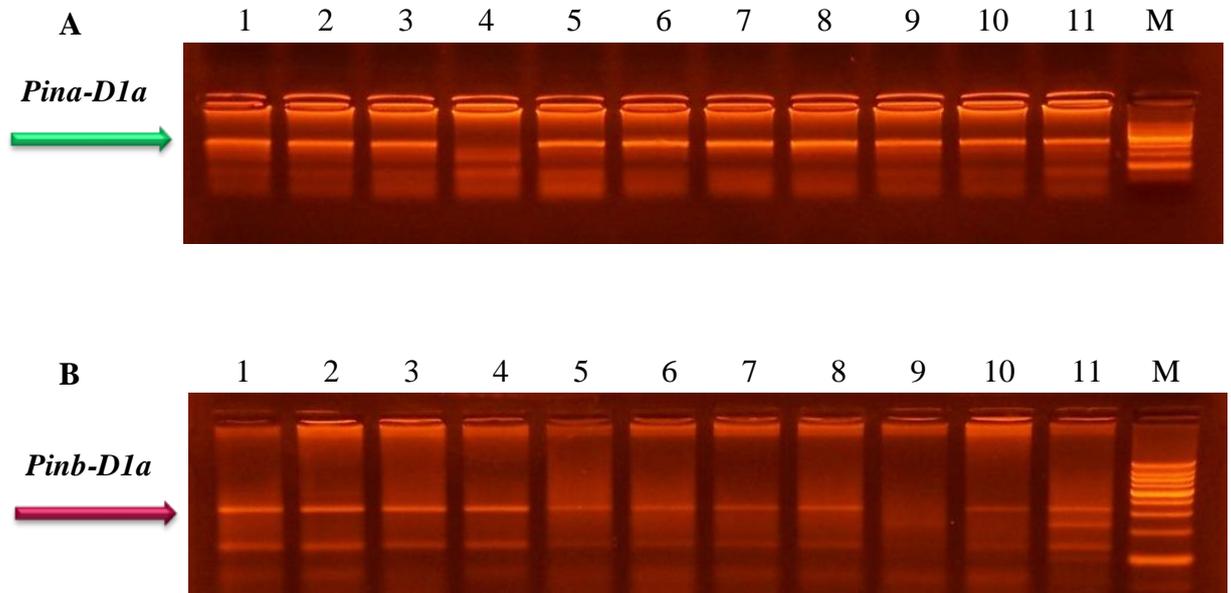
#### **VARIABILIDAD GENETICA DE LAS DISTINTAS LÍNEAS DE TRIGO BLANDO**

En la Tabla 3.1 se muestra la composición de puroindolinas, gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) y secalinas para cada uno de los genotipos estudiados. Los 44 trigos presentaron ambas puroindolinas totalmente funcionales (combinación de alelos *Pina-1Da/Pinb-1Da*), lo que corresponde a genotipos de trigo blando.

**Tabla 3.1.** Composición de los 44 genotipos de trigo en cuanto a: subunidades de gluteninas de alto peso molecular, secalinas y puroindolina

<b>Entrada</b>	<b><i>Glu-A1</i></b>	<b><i>Glu-B1</i></b>	<b><i>Glu-D1</i></b>	<b>Secalinas</b>	<b>PIN-A</b>	<b>PIN-B</b>
<b>1</b>	2*	17+18	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>2</b>	2*	7+9	5+10	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>3</b>	2*	7+8	2+10*	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>4</b>	2*	17+18	5+10	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>5</b>	2*	13+16	2+12	1A/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>6</b>	2*	7	2+10*	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>7</b>	2*	7+9	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>8</b>	2*	13+16	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>9</b>	1	13+16	5+10	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>10</b>	2*	7	2+10*	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>11</b>	2*	7+9	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>13</b>	2*	7+8	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>14</b>	2*	6+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>18</b>	1	7+8	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>19</b>	nulo	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>20</b>	2*	7+8	5+10	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>21</b>	1	7+8	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>22</b>	2*	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>23</b>	1	7+8	5+10	1A/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>24</b>	2*	7+9	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>25</b>	2*	7+9	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>26</b>	2*	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>27</b>	1	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>29</b>	1	7+8	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>30</b>	nulo	7+9	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>31</b>	1	7+8	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>32</b>	1	7+8	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>33</b>	2*	7+8	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>34</b>	2*	7+9	5+10	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>35</b>	1	7+9	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>36</b>	1	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>37</b>	2*	7+9	2+12	1B/1R	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>38</b>	1	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>39</b>	2*	7+9	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>41</b>	2*	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>42</b>	1	6+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>43</b>	1	7+9	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>44</b>	nulo	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>45</b>	2*	7+8	2+10*	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>47</b>	nulo	7+9	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>48</b>	2*	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>49</b>	2*	7+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>50</b>	2*	6+8	2+10*	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>
<b>55</b>	2*	6+8	2+12	No	<i>Pina-D1a</i>	<i>Pinb-D1a</i>

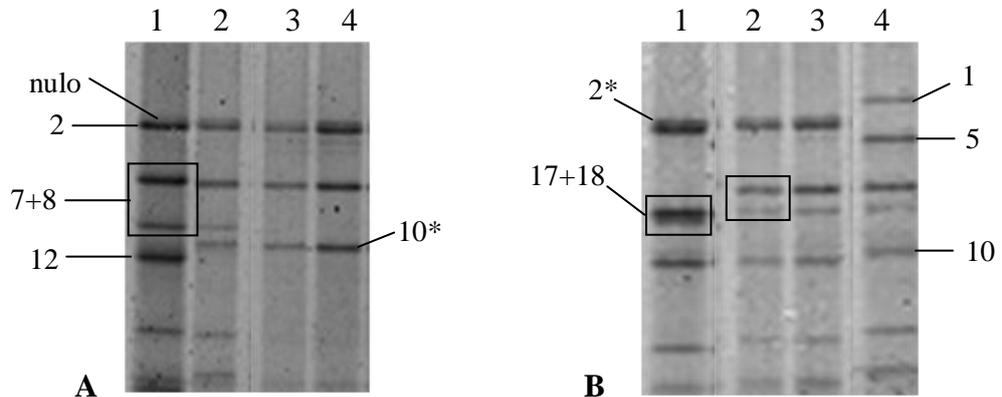
En la Figura 3.1 se muestran fotografías de geles de agarosa utilizados para la identificación de las puroindolinas.



**Figura 3.1.** Electroforesis en gel de agarosa de productos de PCR luego de la amplificación con los *primers* *Pina-D1F* y *PinA-D1R* para *Pina* y los *primers* *Pinb-D1F* y *Pinb-D1R* para *Pinb*. **A:** Calles 1 a 3 y 5 a 11 trigos: 2, 4, 8, 13, 25, 29, 35, 44, 47 y 50 respectivamente; en la calle 4 se sembró un testigo con el alelo nulo *Pina-ID*, asociado a textura dura. La punta de la flecha verde indica los fragmentos correspondientes a la amplificación del alelo normal (blando) *Pina-D1a*. **B:** Calles 1 a 8 y 10 y 11 trigos: 2, 4, 8, 13, 25, 29, 35, 44 y 47 y 49 respectivamente; en la calle 9 se sembró un testigo portador del alelo *Pinb-IDb*, asociado a textura dura. La punta de la flecha roja indica los fragmentos correspondientes a la amplificación del alelo normal (blando) *Pinb-D1a*. M: standard de peso molecular de ADN 100bp ladder (Promega). Las bandas correspondientes a 100 y 500 bp se destacan por su mayor intensidad.

En las fotografías de ambos geles se puede observar que todos los genotipos sembrados eran portadores de alelos normales para ambas puroindolinas, indicando que todos estos trigos corresponden a genotipos de textura blanda.

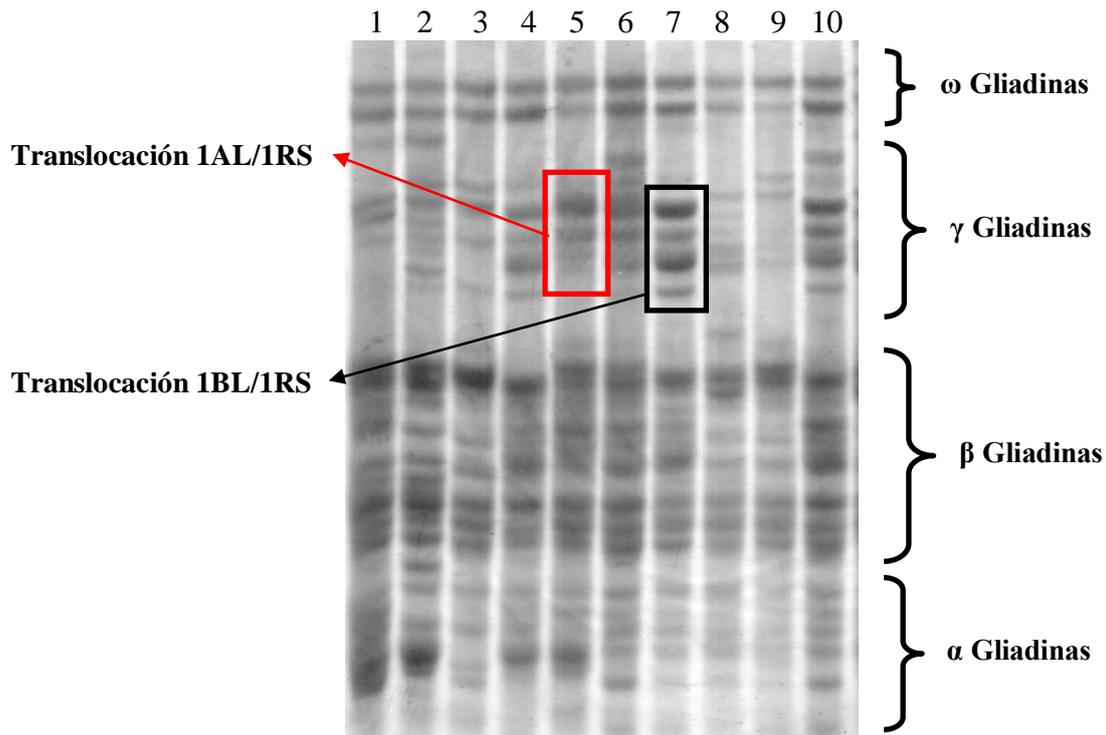
En la Figura 3.2 se muestran dos geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) utilizados para la identificación de las distintas subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) en 8 de los 44 genotipos de trigo blando estudiados.



**Figura 3.2.** Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) de las gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS): **A.** Calles 1, 2, 3 y 4 trigos 19 (nulo, 7+8 y 2+12); 3 (2\*, 7+8 y 2+10\*), 6 (2\*, 7 y 2+10\*) y 10 (2\*, 7 y 2+10\*) respectivamente. **B.** Calles 1, 2, 3 y 4 trigos 1 (2\*, 17+18 y 2+12), 5 (2\*, 13+16 y 2+12), 8 (2\*, 13+16 y 2+12) y 9 (1, 13+16 y 5+10) respectivamente.

En la Figura 3.3 se muestra una fotografía de una electroforesis en gel de poliacrilamida en medio ácido (A-PAGE) utilizada para identificar la presencia de secalinas provenientes de dos tipos de translocaciones de centeno. En la fotografía se puede observar que las secalinas provenientes del centeno aparecen en la zona electroforética correspondiente a las  $\gamma$  gliadinas.

Luego de la caracterización molecular de los distintos genotipos de trigo se realizó un análisis de frecuencia para conocer la variación alélica en cuanto a las HMW-GS para los distintos *loci* y a la presencia de secalinas (Tabla 3.2).



**Figura 3.3.** Electroforesis ácida en gel de poliacrilamida (A-PAGE). Calles 1 a 10 trigos: 1 (sin secalinas), 2 (sin secalinas), 3 (sin secalinas), 4 (secalinas correspondientes a la translocación 1BL/1RS), 5 (secalinas correspondientes a la translocación 1AL/1RS), 6 (secalinas correspondientes a la translocación 1BL/1RS), 7 (secalinas correspondientes a la translocación 1BL/1RS), 8 (sin secalinas), 9 (sin secalinas), y 10 (secalinas correspondientes a la translocación 1BL/1RS). El recuadro en rojo y negro señalan las secalinas correspondientes a la translocación 1AL/1RS y 1BL/1RS respectivamente.

El locus *Glu-A1* presentó tres variantes alélicas, las subunidades 1, 2\* y la variante nula. La subunidad de mayor frecuencia fue la 2\* (61,4 %), seguida por la subunidad 1 (29,5 %). Estos resultados son similares a lo informado por Lerner *et al.* (2009) quienes analizaron 119 cultivares de trigos pan registrados en Argentina e informaron que el 63,9 % de los trigos presentaban el alelo 2\*, el 33,6 % tenían el alelo 1 y solo el 2,5 % presentó el alelo nulo. Mientras que en un trabajo realizado sobre 138 trigos panaderos de China (He *et al.*, 2005), encontraron que la subunidad 2\* fue la más frecuente (60,3 %), seguida por el alelo nulo (28,6 %). Lookhart *et al.* (1993) realizaron un análisis sobre la presencia de diferentes HMW-GS sobre 25 cultivares de trigo blando rojo y 10 de trigo blando blanco, comúnmente sembrados en Estados Unidos y encontraron que la subunidad 2\* fue la más frecuente en ambos grupos (56 % y 50 %, respectivamente) y que ningún cultivar tenía el alelo nulo.

**Tabla 3.2.** Frecuencias observadas para los distintos *loci* de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) y secalinas.

<i>Loci</i>	Subunidades	Frecuencia (%)
<b><i>Glu-A1</i></b>	2*	61,4
	1	29,5
	Nulo	9,1
<b><i>Glu-B1</i></b>	13 + 16	6,8
	17 + 18	4,5
	6 + 8	9,1
	7 + 8	47,7
	7 + 9	27,3
	7	4,5
<b><i>Glu-D1</i></b>	2 + 10*	11,4
	5 + 10	13,6
	2 + 12	75,0
<b>Secalinas</b>	1A/1R	4,5
	1B/1R	34,1
	No	61,4

Para el *locus Glu-B1*, se identificaron seis variaciones alélicas, dentro de las cuales predominaron las subunidades 7+8 y 7+9, mostrando una frecuencia de 47,7% y 27,3% respectivamente. Lerner *et al.* (2009) informaron igual número de variantes alélicas para el *locus Glu-B1*, dentro de las cuales indicaron la presencia de las subunidades 7+8\* y no encontraron trigos con la subunidad 7. En el mismo estudio informaron frecuencias alélicas similares al presente trabajo para el *locus Glu-B1*, ya que encontraron que las subunidades 7+8, 7+8\* y 7+9 estaban presentes en el 80,7% de los trigos. Por su parte He *et al.* (2005) encontraron 8 variantes alélicas para este *locus*, siendo las subunidades 7+8 y 7+9 las de mayor frecuencia (35,7% y 38,9% respectivamente). Lookhart *et al.* (1993) encontraron solo 4 variantes alélicas en trigos blandos (6+8, 7+8, 7+9 y 13+16), siendo las subunidades 7+8 y 7+9 las de mayor frecuencia.

Para el *locus Glu-D1* se identificaron tres variantes alélicas, siendo la subunidades 2+12 las de mayor frecuencia (75,0%). Esta frecuencia elevada se debe a que las líneas experimentales y los cultivares fueron seleccionados por la textura blanda del grano, el

bajo contenido proteico y el deficiente desempeño panadero; es sabido que la presencia de las subunidades 5+10 está asociada a la buena calidad panadera y las subunidades 2+12 a la calidad deficiente. Lerner *et al.* (2009) informaron la presencia de las subunidades 5+10 en el 94,1% de los trigos panaderos analizados. Mientras que He *et al.*, encontraron 4 variantes alélicas (5+10, 2+12, 3+12 y 4+12), siendo las variantes 2+12 y 5+10 las de mayor frecuencia (53,2% y 28,6% respectivamente). Lookhart *et al.* (1993) reportaron tres variantes alélicas (5+10, 2+12, 3+12) en un grupo de 10 cultivares de trigos blandos (blancos) siendo la 2+12 la de mayor frecuencia (70,0%), mientras que en el otro grupo de trigos blandos (rojos) encontraron solo las dos variantes más comunes, siendo la 5+10 la más frecuente (52,0%).

Respecto a la presencia de translocaciones provenientes del centeno en trigo, se encontró que el 61,4% de los trigos no tenían secalinas, indicando ausencia de la traslocación 1RS; el 34,1% poseían la translocación 1BL/1RS, y el 4,5% restantes la 1AL/1RS. Por su parte Lerner *et al.* (2009) encontraron un solo trigo con la translocación 1AL/1RS, mientras que el 36,1% presentó la translocación 1BL/1RS. En un estudio realizado sobre 138 trigos panaderos de China se encontró que el 34,9% poseían la translocación 1BL/1RS, mientras que no se detectó ninguno con la translocación 1AL/1RS (He *et al.*, 2005).

Dentro de los 44 trigos en estudio se identificaron 23 combinaciones teniendo en cuenta los tres locus *Glu-1* y las secalinas (Tabla 3.3).

Cuando se calcularon las combinaciones teniendo en cuenta solo a las HMW-GS, se encontró un total de 19 combinaciones presentes en los trigos. Lerner *et al.* (2009) informaron un total de 17 variaciones, 9 de las cuales coincidieron con las encontradas en el presente trabajo (1, 7+8, 5+10; 1, 7+8, 2+12; 1, 13+16, 5+10; 2\*, 6+8, 2+12; 2\*, 7+8, 2+12; 2\*, 7+8, 5+10; 2\*, 7+9, 5+10 y ; 2\*, 17+18, 5+10). Por su parte Lookhart *et al.* (1993) informaron un total de 10 combinaciones en trigos blandos, sobre 35 cultivares de

trigo blando (25 rojos y 10 blancos) (1, 7+8, 5+10; 1, 7+8, 2+12; 1, 7+9, 5+10; 1, 7+9, 2+12; 2\*, 7+8, 5+10; 2\*, 7+9, 5+10 y ; 2\*, 13+16, 5+10; 2\*, 6+8, 2+12; 2\*, 7+8, 2+12 y 2\*, 7+9, 2+12).

**Tabla 3.3.** Combinación alelica observada para los tres *locus* de gluteninas de alto peso molecular y las secalinas.

<b>Glu-A1</b>	<b>Glu-B1</b>	<b>Glu-D1</b>	<b>Secalinas</b>	<b>n</b>
2*	6+8	2+12	No	2
2*	6+8	2+10*	No	1
2*	7	2+10*	1B/1R	2
2*	7+8	2+12	1B/1R	2
2*	7+8	5+10	1B/1R	1
2*	7+8	2+10*	No	2
2*	7+8	2+12	No	5
2*	7+9	5+10	No	2
2*	7+9	2+12	1B/1R	4
2*	7+9	2+12	No	2
2*	13+16	2+12	1A/1R	1
2*	13+16	2+12	No	1
2*	17+18	2+12	No	1
2*	17+18	5+10	1B/1R	1
1	6+8	2+12	No	1
1	7+8	5+10	1A/1R	1
1	7+8	2+12	1B/1R	5
1	7+8	2+12	No	3
1	7+9	2+12	No	2
1	13+16	5+10	No	1
nulo	7+8	2+12	No	3
nulo	7+9	2+12	No	1

n, corresponde al número de trigos con dicha combinación

## CARACTERIZACIÓN DE LOS TRIGOS (COSECHA 2006)

Conocer las características de las harinas, en cuanto a su composición y propiedades, nos permite realizar una mejor clasificación de los diferentes cultivares de trigo de acuerdo a su potencial uso en la elaboración de diferentes productos. Las

propiedades de una harina de trigo varían de acuerdo a la textura del grano, el genotipo y las condiciones ambientales de su cultivo.

Con el fin de conocer el grado de dureza de los diferentes genotipos se realizó el Índice de tamaño de partícula (PSI, AACC, 2000, 55-30,01). La dureza del grano es el factor más importante a tener en cuenta a la hora de determinar el uso final de un trigo. En la Tabla 3.4 se puede apreciar el rango de texturas que se encontró para los trigos blandos en estudio. Las distintas líneas se clasificaron fenotípicamente, de acuerdo a la categorización de la tabla de textura de AACC, entre semi duras (PSI entre 17 y 20) y muy blandas (PSI entre 31 y 35), siendo en promedio semi blandas (PSI entre 21 y 25). Estos resultados son similares a los encontrados por Igrejas *et al.* (2001) quienes reportaron texturas desde muy blandas a semi duras en una población de 150 líneas de trigo blando cultivadas durante tres años de manera consecutiva.

Si bien la textura de los granos de trigo se encuentra fundamentalmente determinada por el gen *Hardness*, también es afectada por factores medioambientales como la humedad, y por el contenido de lípidos y pentosanos (Glenn *et al.*, 1991).

**Tabla 3.4.** Valores medio, máximo y mínimo del Índice de tamaño de partícula (PSI) y la calificación de dureza según la AACC.

	<b>PSI Medido (%)</b>	<b>PSI Referencia (%)</b>	<b>Categoría AACC</b>
<b>Media</b>	24,1	21-25	Medianamente blando
<b>Mínimo</b>	17,9	17-20	Medianamente duro
<b>Máximo</b>	32,1	31-35	Muy blando

La versatilidad de valores encontrados dejan de manifiesto el marcado efecto que tienen los diversos factores asociados a la textura de los trigos sobre el fenotipo, ya que si bien todos los genotipos presentaron ambas puroindolinas totalmente funcionales, el modo en que se encuentran asociados los gránulos de almidón a la matriz proteica varía

considerablemente entre los distintos genotipos. Estas diferencias en los valores de dureza del grano en trigos blandos han sido reportadas previamente por diferentes autores (Gazza *et al.*, 2008; Morris y Massa, 2003; Yamazaki y Donelson, 1983).

## DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS HARINAS

A fin de estudiar las características y la composición de las harinas obtenidas a partir de los 44 trigos blandos en estudio, se determinó el tamaño de partícula de las harinas y los porcentajes de proteínas totales, gluten, almidón dañado, pentosanos totales y solubles. En la Tabla 3.5 se muestran los valores mínimos, máximos, y las medias determinadas para cada uno de los parámetros en estudio.

**Tabla 3.5.** Valores máximo, mínimo, media y desviación estándar (DE) de: tamaño de partícula de harina (PSA), proteínas, gluten húmedo, gluten seco, índice de gluten, almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS) y pentosanos totales (PT).

<b>Variable</b>	<b>Media±DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>PSA (µm)</b>	49,3 ± 5,1	41,6	64,7
<b>Proteína (%)</b>	10,29 ± 1,19	8,38	13,16
<b>G. Humedo (%)</b>	29,29 ± 5,84	17,97	43,56
<b>G. Seco (%)</b>	10,24 ± 2,28	6,25	15,49
<b>Índice de G. (%)</b>	70,37 ± 15,66	15,49	99,00
<b>AD (%)</b>	4,49 ± 0,92	2,47	6,04
<b>PS (%)</b>	0,56 ± 0,17	0,30	0,93
<b>PT (%)</b>	4,44 ± 1,69	1,40	7,79

El amplio rango de valores obtenidos para cada uno de los parámetros evaluados indica la existencia de una importante variabilidad fenotípica entre los distintos genotipos de trigo blando evaluados.

El **tamaño de partícula (PSA)** de una harina está relacionado con el grado de dureza de los granos de trigo a partir de los cuales se obtuvo, y con el método de molienda utilizado. Los trigos de textura blanda ofrecen menos resistencia a la molienda y producen harinas con partículas más finas, mientras que las harinas provenientes de granos más duros poseen partículas de mayor tamaño (Glenn y Saunders, 1990; Pearson *et al.* 2007). Esto significa que si molem distintos trigos bajo las mismas condiciones, las diferencias encontradas en el tamaño de partícula de sus harinas van a estar dadas por la dureza de los granos; con lo que el tamaño de partícula de una harina puede ser usado como un indicador de la dureza del grano. Así mismo, es de esperar que harinas que difieren en sus tamaños de partículas muestren diferencias en cuanto a sus propiedades físico-químicas (Wang y Flores 2000).

El tamaño de partícula de las harinas mostró una importante variación entre los diferentes cultivares en estudio. Los valores obtenidos fueron similares a los informados por Gaines (1985), quien trabajó con 83 trigos blandos, cuyas harinas presentaron un valor medio de tamaño de partícula de 77,1  $\mu\text{m}$  con una variación entre 68,8–83,4  $\mu\text{m}$ .

El **contenido proteico** de una harina de trigo es un elemento importante a tener en cuenta a la hora de clasificarla de acuerdo a sus posibles usos. Esto es un factor trascendental para la elaboración de pan, ya que un mayor contenido proteico se asocia a un mayor volumen de las piezas, mientras que para la elaboración de galletitas, donde no se espera un desarrollo de gluten, se prefieren harinas de menor contenido proteico (Morris y Rose, 1996). Los trigos blandos generalmente tienen un menor contenido de proteínas totales que los trigos pan (Gaines, 1991; Souza *et al.*, 1994; Morris y Massa, 2003). El contenido de proteínas de los trigos mostró una importante variación entre los diferentes cultivares, y con valores similares a los reportados para trigos blandos (Igrejas *et al.*, 2001; Ram y Singh, 2004).

Las proteínas de almacenamiento del trigo, gliadinas y gluteninas, tienen la capacidad única de formar una red viscoelástica, denominada **gluten**, capaz de soportar el leudado de las masas y conferir estructura a los productos elaborados a base de trigo. El contenido de gluten de una harina es, junto con la textura del grano y el contenido proteico, un importante factor a considerar a la hora de decidir sobre su posible uso. Los valores de gluten húmedo, gluten seco e índice de gluten obtenidos para los trigos de 2006 se informan en la Tabla 3.5. Los valores encontrados para gluten húmedo y gluten seco fueron mayores a los informados para trigos blandos por Finney y Bains (1999), y similares a los que Pasha *et al.*, (2009) informaron para trigos de textura dura. En cuanto a los valores de gluten index, se obtuvo una media por encima de lo que informaron Gaines *et al.* (2006), quienes reportaron una media de 36,8% para 33 cultivares de trigo blando, con un rango de valores de 0,0-95,0%.

Durante la molturación de los granos de trigo se produce una lesión física sobre los gránulos de almidón del endosperma, originando así lo que se conoce como **almidón dañado** (Manley, 1989). La intensidad del daño dependerá de las condiciones en que se realiza la molienda (acondicionado del grano, ajuste entre rodillos y el grado de extracción) y de la dureza del grano (Hoseney, 1994). Se sabe que las diferencias en la dureza de los granos se encuentran relacionadas con la fuerza con que están físicamente atrapados los gránulos de almidón en la matriz proteica (Barlow *et al.*, 1973), por lo que el grado de daño producido sobre el almidón se encuentra directamente relacionado con la textura del grano.

Conocer el nivel de almidón lesionado permite inferir sobre la capacidad de absorción de agua de una harina ya que el almidón dañado tiene la capacidad de absorber tres veces más agua que el almidón nativo (Bushuk, 1998). En trigos panaderos un cierto contenido de almidón dañado es beneficioso ya que aumenta la cantidad de azúcares fermentables por las levaduras, favoreciendo el leudado de las piezas de pan y demás productos esponjados (Bettge *et al.*, 1995). En trigos blandos, utilizados para la elaboración de galletitas, el almidón dañado tiene un efecto negativo ya que una excesiva

absorción de agua ocasiona una disminución del diámetro de la galleta y un incremento en la dureza (Gaines *et al.*, 1988).

En la Tabla 3.5 se puede observar el amplio rango de valores de almidón dañado obtenido para las 44 muestras de trigo en estudio. Los valores encontrados están un poco por encima de lo informado para trigos blandos (Igrejas *et al.*, 2002; Finney y Bains, 1999; Bettge y Morris, 2000), pero considerablemente menores a valores correspondientes a trigos duros (Colombo *et al.*, 2008). Sobre la base del rango de valores hallados, se puede inferir que si bien todos los genotipos son de textura blanda, ya que poseen ambas puroindolinas totalmente funcionales, existen diferentes grados de dureza determinados por otros factores.

Los **pentosanos** representan un componente minoritario de la harina de trigo, pero tienen la facultad de afectar significativamente las propiedades de las masas y los productos elaborados con trigo, debido a su gran capacidad de absorción de agua (Kulp, 1968; Jelaca y Hlynka, 1971). Se sabe que tanto los pentosanos totales como los solubles en agua se relacionan con un menor diámetro de galleta y menor volumen de bizcochuelos (Kaldy *et al.*, 1991). Los pentosanos, tanto solubles como insolubles en agua, tienen la capacidad de disminuir el agua disponible de las masas, aumentando la viscosidad y disminuyendo por ende la capacidad de expansión de la galletita (Parey y Delcour, 2008). La Tabla 3.5 muestra los valores obtenidos para pentosanos solubles (PS) y totales (PT). El amplio rango de valores encontrados, se corresponde con lo informado por diferentes autores tanto para trigos duros (Dornez *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2009) como para trigos blandos (Finnie *et al.*, 2006). Dornez *et al.* (2008) determinaron el contenido de pentosanos solubles y totales para 14 cultivares de trigo en tres años de cosecha e informaron rangos de 0,49-0,99% para PS y de 5,81-7,57% para PT. Colombo *et al.* (2008) encontraron valores de 0,51-0,98% para PS y de 4,33-6,86 para PT en 18 cultivares de trigos pan argentinos. Finnie *et al.* (2006) informaron valores menores, a los encontrados en trigo pan, tanto para PS (0,24-0,91%) como para PT (3,1-6,4%), para 27 cultivares de trigo blando. Cabe destacar que si bien los valores medios y máximos informados en el presente

trabajo coinciden con los informados para diferentes trigos pan y trigos blandos, el valor mínimo de pentosanos totales se encuentra muy por debajo de los valores mínimos encontrados en bibliografía.

## PRUEBAS DE PREDICCIÓN

El índice de retención de agua alcalina (**IRAA**) es un test que ha sido muy utilizado para la selección de harinas de buena aptitud galletitera, así como para distinguir entre cultivares de trigo blando y duros. Este índice se relaciona con la capacidad de una harina de retener agua en condiciones de alcalinidad, simulando lo que sucede en las masas de galletitas por el agregado de bicarbonato de sodio como agente leudante.

**Tabla 3.6.** Valores mínimo, máximo, media y desviación estándar (DE) del Índice de retención de agua alcalina (IRAA) y el perfil de capacidad de retención de solventes (SRC).

<b>Variable</b>	<b>Media ± DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>IRAA (%)</b>	65,36 ± 3,44	54,93	76,27
<b>SRC sacarosa (%)</b>	96,36 ± 7,94	82,67	122,59
<b>SRC láctico (%)</b>	104,68 ± 12,1	74,35	131,69
<b>SRC carbonato (%)</b>	73,60 ± 4,69	62,23	91,35
<b>SRC agua (%)</b>	56,89 ± 3,42	47,92	68,04

Harinas con mayores valores de IRAA indican una mayor absorción de agua y una menor calidad de galletita. La fracción de la harina responsable de la retención de agua alcalina está constituida por los pentosanos, las proteínas, las glicoproteínas y el almidón dañado (Yamazaki y Lord, 1971). El IRAA mostró un importante rango en los valores, tal como se esperaba teniendo en cuenta la variabilidad encontrada en los componentes de la harina asociados con este índice. El rango de valores de IRAA obtenidos (Tabla 3.6) coincide con lo informado por Zhang *et al.* (2007) quienes trabajaron con un set de 17 genotipos de trigo blando de China cultivados en seis ambientes diferentes. Los autores de

este trabajo informaron una media de 61,6% para las 102 determinaciones, con un rango de 51,5-71,2%.

En el año 1994 Slade y Levine desarrollaron el perfil de capacidad de retención de solventes (**SRC**), el cual está basado en los atributos de calidad requeridos en una harina para la elaboración de galletitas. El SRC es utilizado para evaluar múltiples aspectos de la calidad de los trigos a partir de la capacidad de una harina de retener un set de cuatro solventes, cada uno relacionado con distintos componentes de las harinas como pentosanos, almidón dañado, gluteninas y con su capacidad de absorber agua. Es por esto que el SRC provee información adicional y complementaria a la del IRAA y ayuda a la identificación de trigos con atributos específicos para la elaboración de diferentes productos.

Con el objetivo de evaluar la potencialidad de los diferentes trigos para producir galletitas de buena calidad se sometió a las harinas al perfil de capacidad de retención de solventes, encontrándose un amplio rango de valores para los cuatro SRC (Tabla 3.6), lo que indica una importante variabilidad entre los diferentes genotipos. Esto coincide con lo encontrado para textura (PSI), contenido de proteínas, almidón dañado y pentosanos, todos parámetros relacionados de manera directa con el perfil de SRC.

El SRC láctico presentó la mayor variabilidad (74,35-131,69%), mientras que el SRC agua mostró el rango de valores más estrecho (47,92-68,04%). Si se compara el perfil de SRC de los 44 trigos en estudio con lo encontrado en bibliografía para trigos duros: Xiao *et al.* (2006) (116 trigos duros norteamericanos), Colombo *et al.* (2008) (18 trigos panaderos argentinos) y Duyvejonck *et al.* (2011) (19 trigos panaderos europeos), se puede confirmar que todos los valores de SRC son menores a los de la bibliografía. Si los comparamos con lo informado para trigos blandos: Guttieri *et al.* (2001) (26 trigos blandos norteamericanos), Ram y Singh (2004) (50 trigos indios de buena calidad galletitera) y Zhang *et al.* (2007) (17 trigos blandos chinos), se observa que en general son similares a

estos valores. Con esto se puede afirmar que los valores de SRC de los 44 genotipos de trigo en estudio se encuentran dentro de lo informado para trigos blandos.

Cabe destacar que los valores mínimos y medio de SRC láctico (74,35% y 104,68%, respectivamente) se encuentran por encima de lo informado por Ram y Singh (2004) (69% y 92,6%, respectivamente) y Zhang *et al.* (2007) (62,4% y 91,2%, respectivamente). Esto está en concordancia con los valores relativamente altos de gluten húmedo y gluten seco que se encontraron, ya que el SRC láctico se correlaciona directamente con las características del gluten. Pese a que los niveles de almidón dañado de estas harinas fueron superiores a los encontrados en bibliografía, los valores de SRC carbonato se encontraron dentro de lo esperado para trigos blandos.

## **CALIDAD GALLETITERA**

El mejor modo de saber si una harina producirá galletitas de buena calidad es elaborar el producto y luego evaluar los principales parámetros relacionados a la calidad. Con este objetivo se elaboraron galletitas a partir de las harinas obtenidas a partir de los 44 genotipos de trigo en estudio, a las que se les determinó el factor galletita (FG), la dureza (textura) o resistencia a la mordida y el color. El FG es una relación entre el diámetro y la altura de cuatro galletitas tomadas al azar. Se considera que una galletita es de buena calidad cuanto mayor sea el diámetro y menor sea la altura o espesor, de modo que las harinas que produzcan valores más altos de FG son consideradas de mejor calidad para la elaboración de este tipo de productos (Yamazaki y Lord, 1971). El segundo atributo de calidad a tener en cuenta en una galletita es la textura, donde lo esperado es que resulte tierna y crocante a la mordida.

Durante el horneado se produce la evaporación de agua de la superficie de la galletita, lo que produce la cristalinización de la sacarosa en la superficie, que al no

permanecer unida al agua hace que la superficie de la galleta deje de estar húmeda y moldeable, esto hace que al expandirse la galletita, se produzca una ruptura de la superficie que se observa como la formación de grietas en la galletita (Hoseney, 1994). Mientras mayor sea la pérdida de agua, y mayor sea la expansión de la galletita durante el horneado, mayor será el agrietado de la superficie, y mejor la calidad de la harina que se utilizó para su elaboración, ya que se buscan harinas que no retengan agua durante el horneado.

En la Figura 3.4 se muestran las galletitas elaboradas a partir de tres harinas representativas de la variabilidad encontrada, en cuanto a la aptitud galletitera de los trigos evaluados. En la foto se observa cómo aumenta el agrietado de la superficie de las galletitas a medida que aumenta el diámetro de las mismas.



**Figura 3.4.** Fotografía de las galletitas realizadas con tres de las líneas de trigo estudiadas (línea 25, FG: 5,03; línea 21, FG: 6,22; línea 44, FG: 7,56).

En la Tabla 3.7 se informan los valores de factor galletita, textura y color de las galletitas. Se obtuvo un amplio rango de valores tanto para el FG como para la textura, lo que indica una gran variabilidad dentro de las muestras en cuanto a su aptitud galletitera. Los valores máximo y promedio obtenidos fueron superiores a lo informado por Colombo *et al.* (2008) quienes trabajaron con 18 trigos panaderos argentinos y obtuvieron un rango de valores de 5,09-6,50, con un promedio de 5,73. La textura de las galletitas varió entre 4385-8821 g, estos valores están por encima de los obtenidos por otros autores para distintos tipos de galletitas dulces (Gaines *et al.*, 1994; Agyare *et al.*, 2005; Guttieri *et al.*, 2008; Hadi-Nezhad y Butler, 2009).

**Tabla 3.7.** Valores mínimo, máximo, media y desviación estándar (DE) de: factor galletita (FG), textura y color de las galletitas.

<b>Variable</b>	<b>Media <math>\pm</math> DE</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>FG</b>	6,20 $\pm$ 0,58	5,03	7,56
<b>Textura (g fuerza)</b>	6601 $\pm$ 1284	4385	8821
<b>L</b>	68,03 $\pm$ 1,53	64,58	71,21
<b>a</b>	7,00 $\pm$ 0,69	5,51	8,33
<b>b</b>	30,35 $\pm$ 1,23	27,82	32,44

L: luminosidad; a: equilibrio entre el rojo y el verde; b: equilibrio entre el amarillo y el azul.

El color de una galletita es una de las primeras impresiones que registra el consumidor y que influye sobre la aceptabilidad del producto. A nivel industrial es de suma importancia lograr un color estable a lo largo del tiempo. Generalmente la evaluación del color es realizada por técnicos que observan el color de las galletitas, y le asignan una categoría entre: Crema, Café Claro, Café, Café Oscuro y Café muy Oscuro, siendo indeseables las harinas que producen galletitas de color Café Oscuro y Café muy Oscuro (Sabattini, 1988). Para evitar los inconvenientes de los análisis cualitativos de la evaluación del color, se utilizó un colorímetro de reflectancia, donde se determinaron los valores de luminosidad (L), equilibrio entre el rojo y el verde (a) y el equilibrio entre el amarillo y el azul (b).

En trabajos previos León (1995) y Ribotta *et al.* (2002) realizaron comparaciones entre las evaluaciones de color realizadas por técnicos y los parámetros medidos por el colorímetro, y encontraron que las galletitas que presentan valores de L y b superiores a 55-57 y 20-22 son consideradas aceptables. Se sabe que las galletitas que más se extienden durante el horneado tendrán un mayor número de grietas en la superficie (Parey y Delcour, 2009). En este trabajo se observa que las galletitas que menos se expandían durante el horneado presentaban una superficie lisa y más blanca, con valores de L mayores a 68.

Teniendo en cuenta los valores de luminosidad (L) y del equilibrio entre el amarillo y el azul (b), podemos decir que los 44 genotipos de trigo blando produjeron galletitas de color aceptable, ya que los valores mínimos registrados para L y b fueron 64,58 y 27,82 unidades respectivamente.

Cuatro genotipos dieron valores de FG superiores a 7: entrada 36 (FG: 7,33), entrada 39 (FG: 7,15), entrada 44 (FG: 7,56) y entrada 48 (FG: 7,22). Así mismo todos presentaron un aspecto superficial rugoso y un color aceptable tanto para L (entre 66,70-67,95) como para b (entre 28,61-31,69). La textura de estas galletitas osciló entre valores cercanos al mínimo y ligeramente superiores a la media (5271-6669 g).

## **RELACIÓN ENTRE LOS COMPONENTES DE LAS HARINAS Y SU CALIDAD GALLETITERA**

Con el objetivo de conocer la relación existente entre la textura del grano, los distintos componentes de la harina, los test de predicción (IRAA y SRC) y los parámetros de calidad evaluados sobre la galletita, y poder evaluar las asociaciones existentes entre ellos, se realizó un análisis de correlación de Pearson's, el cual se muestra en la Tabla 3.8.

El índice de tamaño de partícula (PSI) es un indicador directo de la dureza del grano, mientras que el análisis de tamaño de partícula (PSA) es una medida del tamaño de partícula de las harinas, que puede ser asociado a la textura de los granos. Ambos parámetros correlacionaron negativamente entre ellos ( $p < 0,05$ ), indicando que mientras más blando sea el grano (mayor PSI) menor será el tamaño de partícula de la harina (menor PSA). Estos resultados coinciden con lo informado por Glenn y Saunders (1990) quienes encontraron una asociación positiva entre el PSA de la harina, la textura del grano y el tipo de trigo.

**Tabla 3.8.** Coeficientes de correlación de dureza del grano (PSI), tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), gluten húmedo (GH), gluten seco (GS), índice de gluten (GI), SRC sacarosa (SRCs), SRC láctico (SRCl), SRC carbonato (SRCc), SRC agua (SRCa), índice de retención de agua alcalina (IRAA), factor galletita (FG), textura de la galletita (Text) y luminosidad de la galletita (L) .

	PSI	PSA	Prot	AD	PS	PT	GH	GS	GI	SRCs	SRCl	SRCc	SRCa	IRAA	FG	Text
<b>PSA</b>	-0,30*															
<b>Prot</b>	ns	0,41*														
<b>AD</b>	ns	0,35*	ns													
<b>PS</b>	ns	ns	-0,30*	0,45*												
<b>PT</b>	ns	ns	-0,38*	0,49**	0,55**											
<b>GH</b>	ns	ns	0,89**	ns	-0,39*	-0,38*										
<b>GS</b>	ns	ns	0,91**	ns	-0,40*	-0,41*	0,99**									
<b>GI</b>	ns	ns	ns	-0,36*	-0,32*	ns	ns	ns								
<b>SRCs</b>	ns	ns	ns	0,49**	0,76**	0,49**	-0,36*	-0,38*	ns							
<b>SRCl</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,41*	0,41*						
<b>SRCc</b>	ns	ns	ns	0,54**	0,59**	0,37*	-0,32*	-0,33*	ns	0,83**	ns					
<b>SRCa</b>	ns	ns	ns	0,64**	0,47*	0,37*	-0,36*	-0,36*	ns	0,76**	0,29*	0,86**				
<b>IRAA</b>	0,40*	-0,36*	ns	ns	ns	ns	-0,32*	-0,32*	ns	0,59**	0,37*	0,76**	0,65**			
<b>FG</b>	ns	-0,29*	ns	-0,63**	-0,60**	-0,39*	ns	ns	ns	-0,70**	ns	-0,57**	-0,57**	ns		
<b>Text</b>	ns	ns	0,44*	ns	ns	ns	ns	0,33*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
<b>L</b>	ns	ns	ns	0,31*	0,36*	0,32*	ns	ns	ns	0,48**	ns	0,44*	0,38*	ns	-0,63**	ns

\*, \*\*, Indican diferencias significativas a  $p < 0,05$  y  $p < 0,001$  respectivamente; ns, no significativo.

Se sabe que los trigos más duros presentan un mayor contenido proteico y producen harinas de textura más gruesa y con mayor contenido de almidón dañado (Pasha *et al.*, 2010; Gaines, 1985; Williams, 1967). El PSI no mostró correlación significativa con proteínas ni con almidón dañado, mientras que el PSA presentó una correlación significativa y positiva con ambos parámetros. Por otro lado el PSI no correlacionó con FG, mientras que el PSA mostró una correlación significativa y negativa. Teniendo en cuenta estos resultados se decidió utilizar el análisis de PSA como un indicador de dureza, debido a la asociación encontrada con PSI, almidón dañado, proteínas y galletitas.

Los SRC de sacarosa y carbonato correlacionaron positivamente con los componentes de la harina a los que se encuentran asociados: pentosanos solubles y totales y almidón dañado, coincidiendo con lo informado por Zhang *et al.* (2007) en trigos blandos. El SRC de sacarosa a su vez se correlacionó fuertemente y de manera positiva con el contenido de almidón dañado. Teniendo en cuenta la asociación positiva entre el AD y los pentosanos solubles (PS) y totales (PT), era de esperar que los trigos que presentaron un mayor contenido de AD mostraran una mayor absorción asociada a los pentosanos. Esta misma relación se mantuvo entre el SRC de carbonato y el contenido de PS y PT.

El SRC láctico mostró una correlación positiva con el índice de gluten (IG), pero no correlacionó con el contenido de proteínas, ni de gluten húmedo ni seco. Se sabe que el SRC láctico es una medida de la calidad proteica de las harinas, es decir su capacidad de formar una red de gluten fuerte, y un mayor contenido proteico no indica necesariamente una mejor calidad de gluten. La falta de correlación encontrada entre el SRC láctico y el contenido de proteínas en trigos blandos ha sido informada previamente por Guttieri *et al.*, (2001), mientras que la asociación positiva con el IG fue encontrada por Gaines *et al.*, (2006) para trigos blandos canadienses. En trigos duros, sin embargo, se han reportado fuertes asociaciones entre SRC láctico con proteínas e índice de gluten (Xiao *et al.* 2006; Colombo *et al.* 2008).

El IRAA no presentó correlación con almidón dañado, proteínas o pentosanos, todos componentes responsables de la absorción de agua alcalina. Sin embargo se encontró una correlación positiva entre el IRAA y los cuatro índices de SRC. Tampoco se encontraron correlaciones significativas entre el IRAA y la calidad galletitera (FG, textura y color). Mientras que los SRC de sacarosa, carbonato y agua presentaron correlaciones negativas con el factor galletita y positivas con L (luminosidad), coincidiendo con lo informado por Ram y Singh (2004) y Gaines (2004). En base a los resultados encontrados, se considera que el IRAA no resultó efectivo para predecir la calidad galletitera en trigos blandos, como si lo hizo el SRC. La falta de capacidad predictiva del IRAA cuando es utilizado para discriminar entre trigos pertenecientes a un mismo grupo de dureza ya ha sido informada por Kitterman y Rubenthaler (1971). Es por esto que para los trigos de la cosecha 2007 se planteó realizar únicamente el SRC.

El factor galletita no mostró ninguna correlación con contenido de proteínas, gluten húmedo, gluten seco o índice de gluten. Esto se debe probablemente al hecho de que en la elaboración de galletitas el desarrollo de la red de gluten se ve limitado por los grandes niveles de grasa y azúcar que tiene la masa (Huebner *et al.*, 1999); sin embargo, las proteínas no son componentes inertes en la elaboración de galletitas (Gaines, 1990) ya que retienen agua, compitiendo por el agua libre en el sistema, por lo que altos niveles de proteínas reducen la extensión de la galletita durante el horneado. En bibliografía existen resultados contradictorios respecto al rol de las proteínas en la calidad galletitera. Si bien la mayoría de los autores han reportado una asociación negativa entre ambos parámetros (Faridi *et al.*, 1994; Ram y Shingh, 2004), otros no han encontrado relación entre ellos (Yamamoto *et al.*, 1996; Colombo *et al.*, 2008). Esto se debe probablemente a que en la mayoría de los trabajos no se tiene en cuenta la influencia de un determinado tipo de proteínas sobre el diámetro de la galletita. Tranquilli *et al.* (2002) desarrollaron líneas recombinantes entre un trigo diploide y un trigo hexaploide, y encontraron que el efecto negativo de las proteínas sobre la calidad galletitera se debía a una cuestión cualitativa y no cuantitativa.

Los demás componentes asociados a la absorción de agua: almidón dañado y pentosanos solubles y totales, correlacionaron de manera negativa con el FG al igual que los SRC asociados a estos (SRCc, SRCs, SRCa), indicando que estos poseen una mayor influencia sobre el diámetro de la galletita que el contenido proteico. El diámetro final de la galletita se relaciona con la cantidad de agua libre en la masa para actuar como solvente y con la fuerza de la masa (Ram y Singh, 2004). Los componentes de la harina capaces de ligar agua aumentan la viscosidad de la masa, lo que disminuye su capacidad de expansión durante el horneado, influyendo negativamente sobre el diámetro final de la galletita (Parey y Delcour, 2008).

La textura de una galletita es un importante atributo sensorial a tener en cuenta a la hora de hablar de calidad, lo que se espera es que sea crocante y fácil de morder (Zoulias *et al.*, 2000). Existen diversos factores asociados a la harina, como la textura del grano, el contenido de proteínas y la capacidad de la harina de absorber agua, que afectan esta propiedad (Gaines *et al.*, 1994). En este trabajo se encontró que la textura de las galletitas solo se vio afectada por el contenido de proteínas y el gluten, en concordancia con lo informado por Gaines *et al.* (2004); mientras que no se encontró asociación significativa entre la textura y el factor galletita.

En cuanto al color, se encontró una asociación negativa entre la luminosidad (L) y el FG, y positiva con almidón dañado, pentosanos (solubles y totales), y con los SRC de sacarosa, carbonato y agua. Esto significa que las harinas de mayor tamaño de partícula y con mayor capacidad de absorber agua, produjeron galletitas más claras y de menor relación diámetro y altura. Teniendo en cuenta el aspecto superficial, o agrietado de la galletita, vemos que un FG más pequeño se asocia un una menor pérdida de agua durante el horneado, lo que produce galletitas más claras y con superficies más lisas. Los valores de a y b no presentaron correlación significativa con ningún parámetro de la harina o de la calidad galletitera. En trabajos previos se ha informado que los parámetros de color que influyen sobre la aceptación de la galletita son L y a (León, 1995; Ribotta *et al.*, 2002), los cuales se encuentran afectados por el contenido de fibra y ceniza de las harinas.

## APTITUD GALLETITERA DE LAS HARINAS

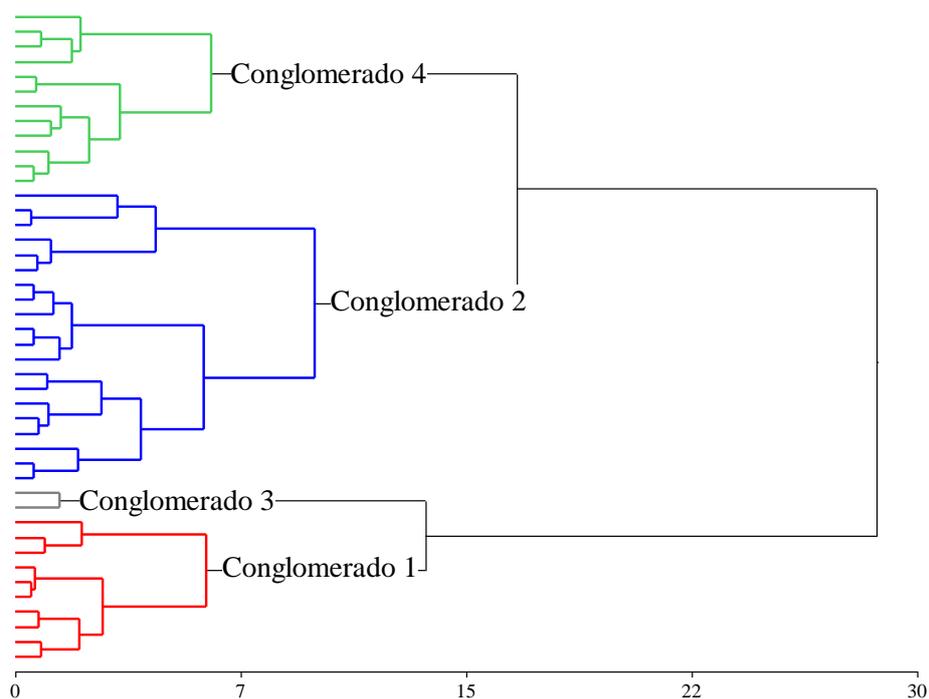
En base a todos los parámetros analizados se desarrolló una ecuación de predicción del factor galletita mediante un análisis de regresión múltiple. Para el ajuste del mejor modelo de regresión se utilizó la eliminación de variables hacia atrás.

$$FG = 12,57 - 0,04 \text{ SRCsac} - 0,03 \text{ PSA} - 0,15 \text{ AD}$$

Con un  $R^2$  de 0,65 y un error cuadrático predictivo medio (ECPM) de 0,16.

En base a esta ecuación podríamos seleccionar harinas de trigo blando con buena aptitud para la elaboración de galletitas utilizando como variables el tamaño de partícula de la harina, el contenido de almidón dañado y el SRC sacarosa, con las que podemos predecir el 65% de la variación en el FG. En un trabajo previo Zangh *et al.* (2007) obtuvieron una ecuación de predicción para el diámetro de la galletita, que incluía al SRC sacarosa y al tamaño de partícula de la harina, con un  $R^2$  de 0,82; mientras que Gaines (2004) propuso como variables independientes al SRC sacarosa, contenido de proteínas y la textura del grano.

Con el objetivo de evaluar las diferencias en las características de las harinas y la aptitud galletitera de los distintos trigos se realizó un análisis de conglomerados utilizando el PSA, el SRC sacarosa y el AD como variables, y al genotipo como criterio de clasificación. De este modo pudimos agrupar a las distintas líneas de trigo teniendo en cuenta las mismas variables seleccionadas en la ecuación como las mejores predictoras del FG. Para el análisis se eligió el método de agrupamiento de Ward y la distancia Manhattan. El número de grupos se fijó arbitrariamente en cuatro, utilizando como criterio de corte el 30 % de la distancia máxima. El dendrograma se muestra en la Figura 3.5.



**Figura 3.5.** Dendrograma. Conglomerado 1, n=10; Conglomerado 2, n=20; Conglomerado 3, n=2 y Conglomerado 4, n=12.

A partir de los conglomerados obtenidos se realizó un análisis de la varianza con el objetivo de analizar las diferencias entre los grupos, utilizando los conglomerados como variable de clasificación. En la Tabla 3.9 se muestran los valores de las variables que mostraron diferencias significativas entre los conglomerados.

**Tabla 3.9.** Análisis de la varianza de los conglomerados<sup>1,2</sup>

	PSA	AD	PS	PT	SRCsac	SRCcarb	SRCagua	IRAA	FG	L
<b>1</b>	54,02 B	5,58 C	0,61 B	5,31 B	98,51 B	75,58 B	58,88 B	64,84 A	5,65 A	69,07 B
<b>2</b>	49,87 B	4,40 B	0,58 B	4,63 B	97,10 B	73,48 B	56,63 B	65,08 A	6,23 B	67,91 A
<b>3</b>	42,83 A	5,80 C	0,92 C	5,69 B	119,79 C	85,72 C	64,93 C	72,69 B	5,49 A	68,88 B
<b>4</b>	45,62 A	3,50 A	0,44 A	3,17 A	89,43 A	70,14 A	54,32 A	65,05 A	6,74 C	67,23 A

<sup>1</sup> Tamaño de partícula (PSA), Almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos solubles (PT), SRC sacarosa (SRCsac), SRC carbonato (SRCcarb), Índice de retención de agua alcalina (IRAA), factor galletita (FG), luminosidad (L).

<sup>2</sup> Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Conglomerado 1: Líneas: 1, 5, 13, 14, 21, 23, 29, 31, 32 y 33.

Conglomerado 2: Líneas: 2, 3, 6, 7, 11, 18, 20, 22, 24, 25, 26, 27, 30, 34, 37, 38, 41, 45, 50 y 55.

Conglomerado 3: Líneas: 4 y 8.

Conglomerado 4: Líneas: 9, 10, 19, 35, 36, 39, 42, 43, 44, 47, 48 y 49.

Se observó que los conglomerados difirieron en el tamaño de partícula de las harinas, el contenido de pentosanos (solubles y totales) y de almidón dañado, en los SRC de sacarosa, carbonato y agua, el IRAA, la luminosidad de las galletitas y en el FG. Los parámetros asociados a la calidad del gluten (GH, GS, GI y SRC láctico), no mostraron diferencias significativas entre los conglomerados.

Los conglomerados 1 (Líneas: 1, 5, 13, 14, 21, 23, 29, 31, 32 y 33) y 3 (Líneas: 4 y 8), con 10 y 2 genotipos respectivamente, presentaron los menores valores de FG, los más altos para L y el mayor contenido de almidón dañado. Los genotipos del conglomerado 3 tuvieron las harinas con mayores valores de PS, SRC sacarosa, SRC carbonato, SRC agua e IRAA. El conglomerado 2 (Líneas: 2, 3, 6, 7, 11, 18, 20, 22, 24, 25, 26, 27, 30, 34, 37, 38, 41, 45, 50 y 55), con 20 genotipos, presentó un buen FG (6,23) y valores intermedios de almidón dañado y pentosanos solubles, SRC sacarosa, SRC carbonato y SRC agua. El conglomerado 4 (Líneas: 9, 10, 19, 35, 36, 39, 42, 43, 44, 47, 48 y 49) agrupó a 12 genotipos con el mejor FG, y que mostraron los menores valores de PSA, almidón dañado y pentosanos (solubles y totales) SRC sacarosa, SRC carbonato y SRC agua e IRAA.

## **SEGUNDA ETAPA**

En esta segunda etapa se evaluaron los 44 genotipos de la cosecha 2007. A partir de los resultados obtenidos en la primera parte del trabajo, se decidió evaluar los siguientes parámetros: tamaño de partícula de las harinas, contenido de pentosanos (solubles y totales), proteínas y almidón dañado, perfil de capacidad de retención de solventes; así como elaborar galletitas a partir de las harinas y determinarles color, textura y FG. Los resultados y la discusión presentados a continuación se realizaron a partir de los datos obtenidos mediante el análisis de ambos años de cosecha. El objetivo fue evaluar la

asociación entre la composición alélica de los trigos, en lo que respecta a gluteninas de alto peso molecular (HMW-G) y secalinas, y las propiedades de las harinas con la calidad galletitera de los trigos blandos, por lo que se analizaron dos cosechas a fin de tener en cuenta el efecto del ambiente sobre los parámetros evaluados.

## **VARIACIONES AMBIENTALES ENTRE AMBOS AÑOS DE COSECHA**

Con la finalidad de caracterizar los ambientes y el rendimiento de cosecha de los dos años, se informan a continuación algunas variables climáticas y edáficas observadas en la EEA Marcos Juárez durante los años 2006 y 2007.

El año 2006 se caracterizó por presentar una buena recarga de agua en el perfil del suelo de otoño, mientras que desde la siembra hasta madurez de cosecha la lluvia caída fue de 230 mm. En general las temperaturas fueron moderadas entre los meses de octubre-noviembre, ayudando con un buen llenado de grano, salvo para algunos cultivares que fueron afectados por las altas temperaturas de los últimos días de noviembre. En este año se logró un rendimiento promedio 3400 Kg/hectárea.

Durante el cultivo del año 2007 el ambiente se caracterizó por presentar una muy buena recarga de agua en el perfil de suelo en otoño, mientras que desde la siembra hasta la cosecha la lluvia fue de 177 mm, un 40% menos que el valor histórico de los últimos 20 años. El período de llenado de grano se caracterizó por temperaturas moderadas, lo que contribuyó a un excelente llenado del grano. Se logró un rendimiento de 4900 Kg/hectárea.

## **CARACTERIZACIÓN DE LOS TRIGOS BLANDOS, SUS HARINAS Y SU CALIDAD GALLETITERA (COSECHAS 2006 y 2007)**

En la Tabla 3.10 se muestran los rangos de valores y los promedios obtenidos para cada uno de los parámetros en estudio para los trigos de las cosechas 2006 y 2007, y se indica mediante letras si existieron o no diferencias significativas entre ambos años de cosecha. Los valores promedios informados en la tabla fueron estimados a partir de un modelo lineal general y mixto donde el año, las gluteninas y las secalinas fueron incluidas como variables fijas, mientras que el genotipo se consideró como variable aleatoria. Para la elección del modelo se tuvieron en cuenta los coeficientes de ajuste AIC (Criterio de Akaike) y BIC (Criterio Bayesiano de Información), procurando elegir el modelo con los menores valores de estos coeficientes para el factor galletita.

En la Tabla 3.10 se observan amplios rangos de valores para cada uno de los parámetros evaluados, indicando que existe una gran variabilidad entre los distintos genotipos de trigo blando y entre ambos años de cosecha. Esto demuestra que tanto las condiciones genéticas como las ambientales afectan de manera significativa la composición de los granos de trigo, lo que puede afectar la calidad final de los productos elaborados a partir de sus harinas. Cabe aclarar que las galletitas de la cosecha 2006 y 2007 fueron cocidas en diferentes hornos y la textura fue determinada en texturometros de distinta marca (ver Capítulo 2, Materiales y Métodos) por lo que las medidas de color y textura no fueron comparables entre ambos años.

**Tabla 3.10.** Valores máximo, mínimo y promedio de tamaño de partícula de harina (PSA), contenido de proteínas, almidón dañado (AD) y pentosanos solubles (PS) totales (PT), perfil de capacidad de retención de solventes (SRC), factor galletita (FG), textura y color de las galletitas<sup>a, b</sup>

	Rango		Promedio		
	2006	2007	2006	2007	2006+2007
<b>PSA</b>	41,61 - 64,68	56,32 - 88,34	<b>48,87 b</b>	<b>69,48 a</b>	59,64
<b>Proteína</b>	8,38 - 13,16	7,42 - 11,42	<b>10,18 a</b>	<b>8,91 b</b>	9,65
<b>AD</b>	2,47 - 6,04	3,05 - 10,02	<b>4,58 b</b>	<b>6,10 a</b>	5,00
<b>PT</b>	1,40 - 7,79	4,78 - 7,08	<b>4,52 b</b>	<b>6,40 a</b>	5,22
<b>PS</b>	0,30 - 0,93	0,23 - 0,86	0,53 a	0,57 a	0,55
<b>SRC sacarosa</b>	82,67 - 122,59	86,74 - 117,53	97,43 a	98,34 a	96,81
<b>SRC láctico</b>	74,35 - 139,73	65,58 - 126,99	<b>106,84 a</b>	<b>95,70 b</b>	99,11
<b>SRC carbonato</b>	62,23 - 91,35	64,98 - 98,68	<b>74,29 a</b>	<b>72,65 b</b>	72,78
<b>SRC agua</b>	47,92 - 68,04	51,02 - 75,76	57,46 a	57,03 a	56,68
<b>FG</b>	5,03 - 7,56	5,3 - 7,86	<b>6,14 b</b>	<b>6,46 a</b>	6,36
<b>Textura</b>	4396 - 8821	2341 - 6507	6601 nc	3703 nc	nc
<b>L</b>	64,58 - 71,21	50,03 - 64,04	68,03 nc	59,53 nc	nc
<b>a</b>	5,51 - 8,33	11,36 - 14,95	7,00 nc	12,59 nc	nc
<b>b</b>	27,82 - 32,44	31,05 - 35,45	30,35 nc	33,40 nc	nc

<sup>a</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). nc: no calculado

<sup>b</sup> L: luminosidad; a: equilibrio entre el rojo y el verde; b: equilibrio entre el amarillo y el azul.

El **tamaño de partícula** de las harinas (PSA) mostró una importante variación entre los diferentes cultivares en estudio y entre ambos años de cosecha, siendo el año 2007 el que presentó harinas con partículas de mayor tamaño. Se sabe que la dureza se encuentra determinada genéticamente (Morris, 2000), sin embargo dentro de un mismo tipo de granos (duro y blando), el ambiente tiene mayor influencia sobre la textura final de los granos de trigo (Bassett *et al.*, 1989). Gazza *et al.* (2008) analizaron el efecto del ambiente sobre la textura de trigos blandos y duros, y encontraron que las variaciones en la textura se encuentran determinadas por las condiciones de cultivo (suelo, el clima, las enfermedades, el agua y los niveles de nutrientes). En dos trabajos publicados en 1973 (Simmonds *et al.*, 1973; Barlow *et al.*, 1973) se postuló que el grado de adhesión entre los gránulos de almidón y la matriz proteica que los rodea determina los diferentes grados de dureza del trigo. Ambos estudios llegaron a la conclusión de que los compuestos solubles en agua actúan como cemento entre los gránulos de almidón y las proteínas de almacenamiento. Greenglatt *et al.* (1995) demostraron que existen considerables

diferencias entre la composición lipídica de la interface almidón-matriz proteica, y que los trigos de textura más blanda poseen una mayor proporción de lípidos polares (glico- y fosfo-lípidos). Los pentosanos insolubles se encuentran asociados a las paredes celulares, mientras que los solubles están presentes en el endosperma, probablemente asociados a la membrana (Mares y Stone, 1973). Diferentes autores han demostrado que la asociación entre los pentosanos y la membrana de los amiloplastos modifica la adhesión de los gránulos de almidón a la matriz proteica, y por ende a la textura del grano (Hong *et al.*, 1989; Bettge y Morris, 2000). Todos estos factores presentan variaciones anuales, afectando de este modo la textura de los granos de trigo.

La cantidad de **proteínas** de un cereal se encuentra influenciada por la relación entre el endospermo, el pericarpio y la capa de aleurona, por tanto, un incremento en el llenado del grano implica un aumento en el depósito de almidón y como consecuencia una disminución de la concentración de proteínas (Skovmand *et al.*, 1984). Los trigos de la cosecha 2007 presentaron un menor contenido proteico. Es de esperar una variación en la cantidad de proteínas para el mismo genotipo en distintos años de cosecha (Mikhaylenko *et al.*, 2000, Hazen y Ward, 1997) debido al cambio en las condiciones ambientales que afectan de manera significativa el llenado del grano. Los factores medioambientales como la temperatura, el agua y el aporte de fertilizantes influyen sobre la velocidad y la duración del desarrollo del grano, la acumulación de proteínas y la deposición del almidón (Dupont y Altenbach, 2003). El rendimiento del trigo está relacionado al contenido de almidón, cuanto mayor sea la síntesis de almidón, mayor será el rendimiento del trigo, lo que ocasiona un menor contenido proteico (Jenner *et al.*, 1991). Los trigos de la cosecha 2007 tuvieron un rendimiento de un 44% más que los de la cosecha 2006.

El contenido de **almidón dañado** de los trigos es una medida del grado de asociación entre los gránulos de almidón y la matriz proteica que los rodea, con lo que se encuentra estrechamente asociado a la textura de los granos, por lo que es de esperar que existan variaciones anuales. La cosecha 2007 presentó mayores niveles de almidón dañado, en concordancia con los mayores valores de tamaño de partícula de la harina (PSA).

El contenido de **pentosanos totales** correspondientes al año 2007 resultó significativamente mayor; mientras que no se encontraron diferencias significativas en el contenido de **pentosanos solubles** entre ambos años de cosecha. En un estudio previo realizado con 17 genotipos de trigo blando se encontró que tanto el genotipo como las condiciones ambientales constituyeron una importante fuente de variación en el contenido de pentosanos, pero que en el caso de la fracción solubles el genotipo constituyó el factor más importante (Zhang *et al.*, 2005). Los mayores valores de pentosanos de los trigos de la cosecha 2007 coinciden con el mayor tamaño de partícula de sus harinas, reafirmando la influencia de estos compuestos sobre la textura del grano.

Los cuatro **SRC** presentaron un amplio rango de valores, lo que coincide con la gran variabilidad que se encontró para los componentes de la harina relacionados con cada uno de los solventes. Los rangos de valores obtenidos para los SRC de sacarosa, láctico, carbonato y agua fueron similares a los informados por Zhang *et al.* (2009) para 17 genotipos de trigo blando, pero estuvieron por debajo de los valores hallados por Pasha *et al.* (2009) quienes trabajaron con 50 variedades de trigo Paquistaní (incluyendo 2 trigos duros).

Respecto a la variabilidad interanual encontramos que el SRC sacarosa no mostró diferencias significativas entre ambos años de cosecha, en concordancia con lo encontrado para pentosanos solubles. Los trigos cosechados en el 2006 presentaron mayores valores de absorción para el SRC láctico, lo que coincide con el mayor contenido proteico encontrado para este año. Si bien el SRC carbonato mostró diferencias significativas entre ambos años de cosecha, siendo el 2006 el que presentó los mayores valores, esto se contrapone con el contenido de almidón dañado. Para el SRC agua no se observaron diferencias con los trigos cosechados en 2007.

Observando los amplios rangos de valores encontrados tanto para el factor galletita como para la textura de las galletitas, podemos afirmar que existe una importante variación en cuanto a la calidad galletitera de los distintos genotipos en estudio. Así mismo encontramos que las galletitas elaboradas con las harinas de la cosecha 2007 resultaron con un mayor FG promedio. En la Tabla 3.11 se muestran los 10 genotipos que mejor factor galletita presentaron para cada año de cosecha.

Para el año 2006 solo 4 trigos produjeron galletitas con un FG superior a 7. Comparando ambos grupos cabe destacar que la muestra 44 mostró el valor más alto de FG en ambos años de cosecha, y que las galletitas elaboradas a partir de los trigos 19, 39, 43, 44 y 48, estuvieron dentro de las 10 con mejor FG tanto en 2006 como en 2007.

**Tabla 3.11.** Los 10 valores más altos de factor galletita (FG) que se obtuvieron con los trigos de la cosecha 2006 y 2007.

<b>N Entrada</b>	<b>FG 2006</b>	<b>N Entrada</b>	<b>FG 2007</b>
<b>44</b>	7,56	<b>44</b>	7,86
<b>36</b>	7,33	<b>3</b>	7,74
<b>48</b>	7,22	<b>43</b>	7,48
<b>39</b>	7,15	<b>47</b>	7,45
<b>19</b>	6,97	<b>39</b>	7,44
<b>30</b>	6,87	<b>19</b>	7,37
<b>49</b>	6,82	<b>48</b>	7,19
<b>11</b>	6,69	<b>50</b>	7,19
<b>43</b>	6,64	<b>7</b>	7,15
<b>42</b>	6,6	<b>1</b>	7,03

## **RELACIÓN ENTRE LOS COMPONENTES DE LAS HARI- NAS Y SU CALIDAD GALLETITERA**

Se realizó un análisis de correlación de Pearson's con el objetivo de conocer la relación existente entre el tamaño de partícula (PSA), los componentes y el perfil de

retención de solventes (SRC) y la calidad galletitera (FG, textura y luminosidad) de los 44 genotipos de trigo blando, a partir de las harinas obtenidas en ambas cosechas (2006 y 2007) (Tabla 3.12).

El PSA, considerado un indicador de la dureza del grano, mostró una correlación positiva con el contenido de proteínas y de almidón dañado, indicando que mientras mayor es el contenido proteico mayor es la dureza del grano, y por lo tanto mayor será el daño que se produzca en el almidón durante la molienda de los granos. Estos resultados coinciden con lo informado por Gaines (1985) quien trabajó con 219 cultivares de trigo blando y encontró que los granos más blandos producían harinas con partícula más pequeñas y de menor contenido proteico. Por otro lado Williams (1967) quien trabajó con 12 variedades de trigos australianos, con diferentes grados de dureza encontró que los trigos de mayor dureza producían harinas con mayor contenido de almidón dañado.

**Tabla 3.12.** Coeficientes de correlación de tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), SRC sacarosa (SRCs), SRC láctico (SRCl), SRC carbonato (SRCc), SRC agua (SRCa), factor galletita (FG), textura de la galletita (Text) y luminosidad de la galletita (L).

	PSA	Prot	AD	PS	PT	SRCs	SRCl	SRCc	SRCa	FG	Text
<b>Prot</b>	0,51**										
<b>AD</b>	0,37*	ns									
<b>PS</b>	ns	ns	ns								
<b>PT</b>	ns	-0,37*	ns	0,54**							
<b>SRCs</b>	ns	ns	ns	0,72**	0,45**						
<b>SRCl</b>	-0,36*	ns	ns	ns	ns	ns					
<b>SRCc</b>	ns	ns	0,50**	0,67**	0,42*	0,82**	ns				
<b>SRCa</b>	ns	ns	0,54**	0,55**	0,38*	0,69**	ns	0,90**			
<b>FG</b>	-0,31*	ns	-0,46**	-0,67**	-0,41*	-0,73**	ns	-0,66**	-0,53**		
<b>Text</b>	ns	0,35*	ns	0,35*	ns	0,41*	ns	0,38*	ns	-0,51**	
<b>L</b>	ns	ns	ns	0,31*	0,35*	0,33*	ns	0,39*	0,32*	-0,54**	0,33*

\*, \*\* Indican diferencias significativas a  $p < 0,05$  y  $p < 0,001$ , respectivamente; ns, no significativo.

Cuando se consideraron los resultados de ambas cosechas en el análisis de correlación de Pearson, los SRC de sacarosa y de carbonato de sodio correlacionaron

positivamente con los componentes de la harina a los que están asociados, es decir pentosanos solubles y totales y almidón dañado, respectivamente. La asociación encontrada entre SRC sacarosa con PS y PT y entre SRC carbonato con AD, coincide con lo informado por Zhang *et al.* (2007) para 17 genotipos de trigo blando. No se encontró una correlación significativa entre el SRC láctico y el contenido proteico de la harina, coincidiendo con lo encontrado en el análisis de los trigos de la cosecha 2006. Esta falta de correlación ha sido previamente informada para trigos blandos (Guttieri *et al.*, 2001), a diferencia de lo que sucede en trigos panaderos (Colombo *et al.*, 2008). Por su parte el SRC agua correlacionó de manera positiva con todos los componentes de la harina responsables de la absorción de agua (AD, PS y PT), a excepción del contenido de proteínas.

Los SRC mostraron correlaciones entre sí. El SRC agua correlacionó fuertemente y de manera positiva ( $p < 0,001$ ) con los SRC de sacarosa y carbonato, indicando que tanto los pentosanos (solubles y totales) como el almidón dañado son los principales responsables de la absorción de agua por parte de las harinas de trigos blandos. Así mismo se observó una importante asociación entre los SRC de sacarosa y carbonato ( $r = 0,82$ ), lo que demuestra una estrecha asociación entre el contenido de pentosanos y el de almidón dañado de los trigos. Por su parte el SRC láctico no presentó asociación significativa con el resto de los solventes.

El Factor Galletita mostró correlaciones significativas y negativas con: PSA ( $r = -0,31$ ), almidón dañado ( $r = -0,46$ ), pentosanos solubles ( $r = -0,67$ ) y totales ( $r = -0,41$ ) y con los SRC de sacarosa ( $r = -0,73$ ), agua ( $r = -0,53$ ) y carbonato ( $r = -0,66$ ); mientras que no se encontró correlación significativa con el contenido de proteínas y el SRC láctico. Estos resultados sugieren que los pentosanos y el almidón dañado presentes en la harina y su capacidad de retener agua tienen una fuerte influencia sobre el diámetro de las galletitas elaboradas a partir de los trigos blandos, mientras que las proteínas y su calidad no juegan un rol tan importante en la capacidad de las harinas de generar galletitas de gran diámetro. Esta falta de correlación encontrada entre el contenido de proteínas y el diámetro de la

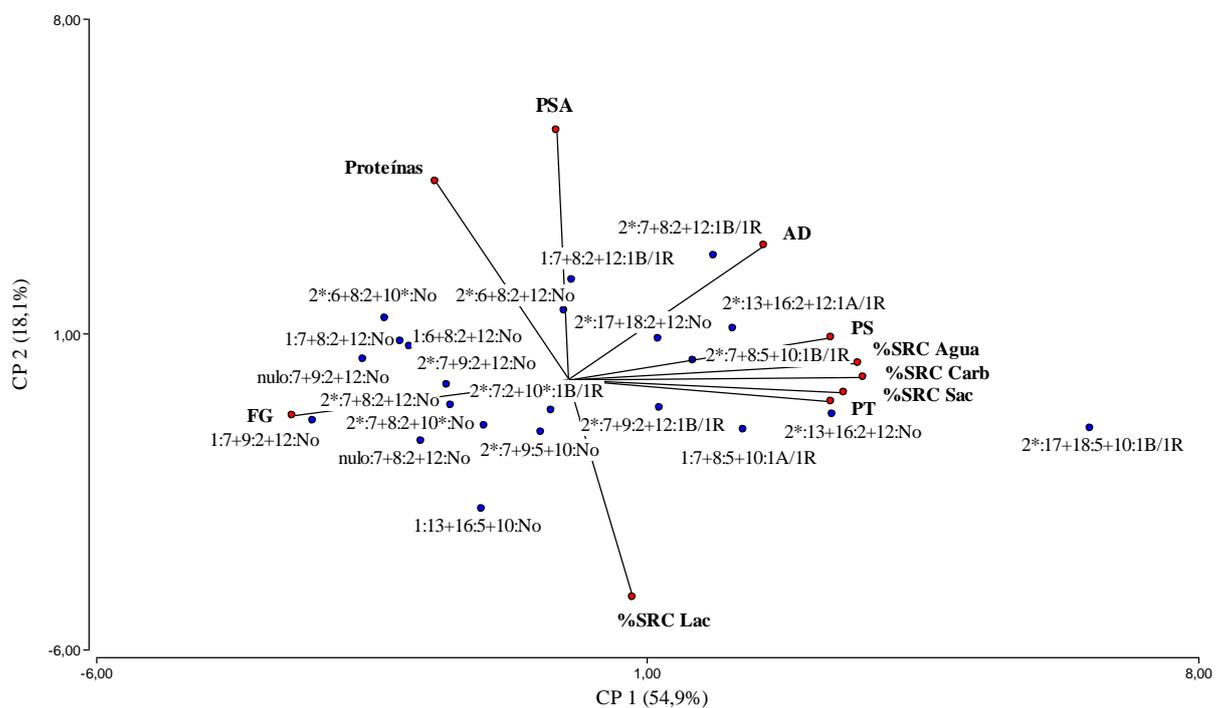
galletita ha sido informada por Nemeth *et al.* (1994) quienes trabajaron con un grupo de trigos blandos de diferentes países.

La textura de las galletitas correlacionó positivamente con el contenido de proteínas y pentosanos solubles, y con los SRC sacarosa y carbonato, indicando que todos los componentes de la harina capaces de absorber agua (proteínas, pentosanos y almidón dañado) le confieren a la galletita un mayor grado de dureza. Durante el proceso de horneado la sacarosa se disuelve en el agua, permitiendo la expansión de la masa. Cuando el agua comienza a evaporarse sobre la superficie de la galletita, el agua migra desde el interior de la masa hacia el exterior provocando la cristalinización de la sacarosa que estaba disuelta con el agua formando un jarabe. Si la evaporación de agua es muy grande o su disponibilidad es baja, se produce un alto grado de cristalización de la sacarosa, haciendo que la galletita se vuelve más dura (Hoseney, 1994). Esto hace que en la industria galletitera se utilicen inhibidores de la cristalinización de la sacarosa con el objetivo de lograr galletitas más tiernas (Hoseney, 1994). Los distintos componentes de la harina responsables de la absorción de agua producen una disminución en el contenido de agua libre, capaz de solubilizar a la sacarosa, lo que provoca un aumento en el grado de cristalización de la sacarosa durante el horneado de la galletita, aumentando como consecuencia la dureza de la galletita.

El parámetro de luminosidad (L) correlacionó positivamente con pentosanos (solubles y totales), y con los SRC láctico, carbonato y agua. La textura y la luminosidad de las galletitas correlacionaron de manera positiva entre sí, y ambos parámetros mostraron una correlación significativa y negativa con el FG. Estos resultados indican que las galletitas que tengan una menor relación diámetro y altura, tendrán un color más claro y resultarán más duras a la mordida.

# INFLUENCIA DE LA VARIACIÓN ALÉLICA DE LAS HMG-GS Y LAS SECALINAS SOBRE LA COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS HARINAS Y SU CALIDAD GALLETERA

Con el objetivo de explorar la variabilidad entre las muestras teniendo en cuenta las distintas combinaciones alélicas de *Glu-1* y secalinas encontradas, en función de todas las variables evaluadas, se realizó un análisis de Componentes Principales. En la Figura 3.6 se muestra el gráfico Biplot obtenido en el análisis. Cada punto del gráfico corresponde a una de las 22 combinaciones alélicas encontradas, mientras que los rayos representan a cada una de las variables evaluadas.



**Figura 3.6.** Biplot del análisis de Componentes Principales de los trigos en base a las 22 combinaciones alélicas encontradas. Los rayos representan las distintas variables evaluadas.

Entre ambos ejes se explica el 73% de la variabilidad encontrada entre los distintos genotipos agrupados según su combinación alélica. La CP 1 separa el FG del contenido de pentosanós, almidón dañado y de los SRC de carbonato, agua y sacarosa, indicando que gran parte de la variabilidad (54,9%) entre las diferentes combinaciones genotípicas puede ser explicada con estas variables. Mientras que la CP 2, la cual explica el 18,1% de la variabilidad entre las muestras, separa a los trigos en función del tamaño de partícula de sus harinas, el contenido de proteínas y de almidón dañado por un lado, y del SRC láctico por el otro. En el gráfico se observa que los genotipos que poseen *Glu-A1* nulo y ausencia de secalinas se encuentran asociadas a un mayor FG, y a menos proporción de componentes hidrofílicos (AD, PS y PT) y menores valores de absorción. En el caso de las *Glu-B1* y las *Glu-D1*, si bien la tendencia no es tan clara, vemos que los genotipos que se encuentran asociados a mayor FG poseen en su mayoría las subunidades *Glu-B1*: 6+8, 7+8 y 7+9 y las 2+10\* y 2+12 de *Glu-D1*. En el gráfico se destaca la combinación 2\*, 17+18, 5+10, 1BL/1RS como de muy pobre FG.

Para estudiar el impacto de las distintas subunidades de gluteninas de alto peso molecular y secalinas sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y los parámetros de calidad galletitera teniendo en cuenta el fondo genético, se realizó un modelo lineal general y mixto (MLGM) tomando como efectos fijos los distintos *loci Glu-1*, las secalinas y el año de cosecha y como efecto aleatorio al genotipo.

En la Tabla 3.13 se muestran los resultados del modelo para el *locus Glu-A1*. En la tabla se observa que los alelos codificados por este *locus* mostraron diferencias significativas en el tamaño de partículas de las harinas, el SRC carbonato y el factor galletita.

La presencia de la subunidades 1 y 2\* se relacionó con un mayor tamaño de partícula, lo que se encuentra asociado con un grano de textura más dura, mientras que la ausencia de subunidades de gluteninas del *locus Glu-A1* en los trigos se relacionó con

harinas de menor granulometría. Los trigos con la subunidad 2\* mostraron los mayores valores de absorción para el SRC carbonato, mientras que los que poseían el alelo 1 fueron los de menor absorción. Se encontró que los trigos que tenían cualquiera de las subunidades del *locus Glu-A1* (1 y 2\*) produjeron galletitas de menor relación diámetro y altura, mientras que las galletitas producidas con harinas de trigos con *Glu-A1* nulo presentaron un mayor factor galletita (7,10,  $p= 0,0024$ ). Jondiko *et al.* (2012) encontraron que los cultivares de trigo con *Glu-A1* nulo producían tortillas de mayor diámetro, en el mismo sentido MacRitchie y Lafiandra (2001) encontraron que la delección de cualquiera de las HMW-GS produce una reducción en la fuerza de la masa, dando lugar a la formación de masas menos tenaces. Por su parte Tranquilli *et al.* (2002) informaron que la ausencia de subunidades *Glu-A1* tiene un efecto positivo sobre la calidad galletitera de los trigos, ya que producen galletitas de mayor diámetro que los trigos que poseen las subunidades 1 o 2\*.

**Tabla 3.13.** Efecto de las diferentes subunidades de gluteninas de alto peso molecular del locus *Glu-A1* sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera<sup>a,b</sup>.

	PSA	Prot	AD	PT	PS	SRCa	SRCI	SRCc	SRCs	FG
<i>Glu-A1</i>										
nulo	53,93 b	9,58 a	4,25 a	4,61 a	0,49 a	55,83 a	95,75 a	71,50 ab	93,30 a	7,10 a
1	61,70 a	9,78 a	4,98 a	5,14 a	0,49 a	55,86 a	101,77 a	70,63 b	94,16 a	6,40 b
2*	58,84 a	9,44 a	5,25 a	5,49 a	0,58 a	58,04 a	101,85 a	74,97 a	100,14 a	6,15 b

<sup>a</sup> Tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), SRC sacarosa (SRCs), SRC láctico (SRCI), SRC carbonato (SRCc), SRC agua (SRCa), factor galletita (FG).

<sup>b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Tabla 3.14 se muestran los resultados del modelo lineal general y mixto para el locus *Glu-B1*. Los alelos de este locus mostraron un efecto significativo sobre el contenido de proteínas y almidón dañado, y sobre los SRC de carbonato y agua.

En cuanto al contenido de proteínas solo se pudo concluir que los trigos que poseían las subunidades 6+8 fueron los de mayor contenido proteico, mientras que las demás subunidades no mostraron diferencias significativas entre sí. Los trigos que tenían las subunidades 7+9 presentaron los menores valores de almidón dañado, a la vez que

mostraron menor capacidad de absorción para los SRC de carbonato y agua, mientras que las subunidades 17+18 presentaron los valores más altos para estas tres variables. Cabe destacar que si bien las diferencias observadas en el factor galletita no fueron significativas para el *locus Glu-B1*, los trigos que poseían las subunidades 13+16 y 17+18 mostraron el menor valor, mientras que los de mayores valores fueron asociados a trigos con las subunidades 7+9 y 6+8.

**Tabla 3.14.** Efecto de las diferentes subunidades de gluteninas de alto peso molecular del *locus Glu-B1* sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera<sup>a, b</sup>.

	PSA	Prot	AD	PT	PS	SRCagua	SRClact	SRCcar	SRCsac	FG
<b><i>Glu-B1</i></b>										
6+8	62,24 a	10,86 a	5,33 a	4,78 a	0,50 a	55,80 bc	97,67 a	70,74 bc	95,66 a	6,47 a
7	53,80 a	8,99 bc	4,75 ab	5,14 a	0,55 a	56,74 bc	90,82 a	73,26 bc	97,17 a	6,29 a
7+8	61,27 a	9,66 b	5,05 a	5,47 a	0,54 a	57,06 b	100,57 a	73,39 b	96,58 a	6,34 a
7+9	56,53 a	9,44 b	4,27 b	4,87 a	0,53 a	55,11 c	100,58 a	70,52 c	94,05 a	6,53 a
13+16	58,06 a	8,45 c	5,71a	5,53 a	0,55 a	59,14 ab	107,40 a	75,05 b	102,22 a	5,99 a
17+18	57,17 a	9,33 bc	6,14 a	6,33 a	0,70 a	62,88 a	107,23 a	83,00 a	109,90 a	5,81 a

<sup>a</sup> Tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), SRC sacarosa (SRCsac), SRC láctico (SRClact), SRC carbonato (SRCcar), SRC agua (SRCagua), factor galletita (FG).

<sup>b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Tabla 3.15 se muestran los resultados del modelo lineal general y mixto para el *locus Glu-D1*.

La variación de gluteninas para este *locus* solo afectó al SRC láctico, siendo las subunidades 5+10 las que mostraron mayores valores de absorción, si bien no mostró diferencias con la subunidad 2+10\*. Es muy conocido que la presencia de las subunidades 5+10 se asocia con buena calidad panadera, a la vez que el SRC láctico se asocia de manera positiva con el contenido de gluteninas (Colombo *et al.*, 2008; Gaines, 2000), y el volumen de pan (Colombo *et al.*, 2008; Xiao *et al.*, 2006). En lo que respecta a la calidad galletiera, si bien no se encontraron diferencias significativas para las HMW-GS

correspondientes al *locus Glu-D1*, los trigos que presentaron las subunidades 5+10 produjeron las galletitas con menor factor galletita.

**Tabla 3.15.** Efecto de las diferentes subunidades de gluteninas de alto peso molecular del *locus Glu-D1* sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera<sup>a, b</sup>.

	PSA	Prot	AD	PT	PS	SRCa	SRCI	SRCc	SRCs	FG
<b><i>Glu-D1</i></b>										
2+10*	58,51 a	9,92 a	4,81 a	4,86 a	0,49 a	55,87 a	103,53 ab	71,74 a	96,39 a	6,39 a
5+10	57,94 a	9,01 a	5,08 a	6,06 a	0,60 a	59,35 a	113,65 a	76,58 a	102,17 a	5,87 a
2+12	59,75 a	9,66 a	5,30 a	5,14 a	0,55 a	56,78 a	96,37 b	72,73 a	96,68 a	6,44 a

<sup>a</sup> Tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), SRC sacarosa (SRCs), SRC láctico (SRCI), SRC carbonato (SRCc), SRC agua (SRCa), factor galletita (FG).

<sup>b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Tabla 3.16 se muestran los resultados del modelo lineal general y mixto para las secalinas provenientes de la translocación con el centeno. La presencia o ausencia de **translocación del centeno**, y el tipo de translocación mostraron ejercer un importante efecto sobre la composición y la calidad de los trigos blandos, ya que mostraron diferencias significativas en el contenido de almidón dañado y pentosanos; en los SRC de agua, carbonato y sacarosa y en el factor galletita.

**Tabla 3.16.** Efecto de las diferentes secalinas provenientes de la translocación del centeno sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera<sup>a, b</sup>.

	PSA	Prot	AD	PT	PS	SRCa	SRCI	SRCc	SRCs	FG
<b>Secalinas</b>										
No	58,23 a	9,72 a	4,84 b	4,87 b	0,50 b	56,03 b	102,88 a	71,47 b	95,46 b	6,54 a
1A/1R	63,26 a	8,26 a	5,49 ab	6,56 a	0,60 ab	60,39 a	98,59 a	76,71 a	99,09 ab	5,89 b
1B/1R	59,67 a	9,58 a	5,54 a	5,93 a	0,65 a	59,02 a	98,42 a	77,05 a	103,15 a	5,87 b

<sup>a</sup> Tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), SRC sacarosa (SRCs), SRC láctico (SRCI), SRC carbonato (SRCc), SRC agua (SRCa), factor galletita (FG).

<sup>b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

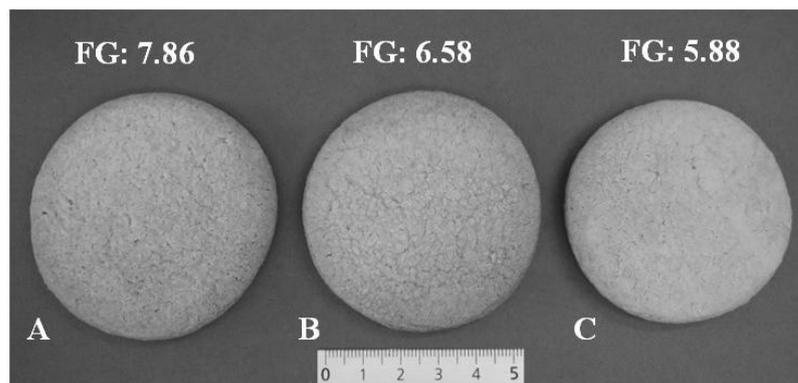
Las translocaciones del centeno, **1BL/1RS** y **1AL/1RS**, se asociaron con aumento en el contenido de almidón dañado, pentosanos totales y solubles, y en los valores de SRC

de agua, sacarosa y carbonato. Este efecto sobre la composición y la capacidad de absorción de los trigos, se vio reflejado en una disminución significativa del factor galletita comparado con los trigos sin secalinas.

La translocación del centeno se produce mediante el reemplazo del brazo corto, de al menos un par de cromosomas 1 del trigo (A, B o D), con el brazo corto del cromosoma 1S del centeno. Esto conlleva a la pérdida de algunos genes del trigo potencialmente importantes, como los que codifican para las LMW-GS (Graybosch, 2001; Kumlay *et al.*, 2003). La translocación 1BL/1RS produce un aumento en la capacidad de absorción de agua debido al reemplazo de las gliadinas del trigo por las secalinas del centeno (Lee *et al.*, 1995), y a otros cambios producidos en la composición química como el aumento en el contenido de pentosanos (Johnson *et al.*, 1999; Selanere y Andersson, 2002). El deterioro en la calidad galletitera provocado por la translocación del centeno estaría relacionado con un cambio en la composición proteica y un aumento en el contenido de pentosanos.

Teniendo en cuenta los resultados encontrados podemos afirmar que la variación alelica del *locus Glu-A1* ( $p=0,0024$ ), y la translocación del centeno ( $p=0,0021$ ) poseen una gran influencia sobre la calidad galletitera de trigos blandos. En la Figura 3.7 se muestra una fotografía de galletitas elaboradas a partir de harinas obtenidas de tres trigos de la cosecha 2007, con diferentes combinaciones de alelos *Glu-1* y secalinas (A: nulo, 7+8, 2+12 y sin secalinas; B: 2\*, 7+9, 5+10 sin secalinas; y C: 1, 7+8, 2+12 y 1BL/1RS).

Es probable que la falta de asociación encontrada en este trabajo entre la calidad galletitera y los *loci Glu-B1* y *Glu-D1* se deba a que los trigos evaluados presentaron proporciones muy dispares entre los distintos alelos lo que podría enmascarar el efecto de algunos alelos sobre la aptitud galletitera de los trigos.



**Figura 3.7.** Fotografía de las galletitas realizadas con tres de las líneas de trigo estudiadas (A (genotipo 931257-1-3): nulo, 7+8, 2+12 y sin secalinas; B (genotipo 951181-17-2): 2\*, 7+9, 5+10 sin secalinas; y C (genotipo CROC\_1/AE.SQR(205)//BORL95): 1, 7+8, 2+12 y 1BL/1RS).

Si bien no se encontró un efecto significativo sobre el factor galletita, teniendo en cuenta los resultados obtenidos con el modelo lineal general y mixto, para los *loci Glu-B1* y *Glu-D1*, se decidió, dada la asociación observada entre ciertos alelos de estos *loci* y el factor galletita en el análisis de componentes principales (CP), llevar a cabo un análisis de la varianza multivariado (MANOVA). En este análisis se pueden evaluar las diferencias entre las subunidades de los distintos *loci* teniendo en cuenta todas las variables estudiadas, e inferir si son diferentes en forma global. El MANOVA mostró diferencias significativas entre los tres *loci Glu-1* y las secalinas (*Glu-A1*,  $p=0,0198$ ; *Glu-B1*,  $p=0,0003$ ; *Glu-D1*,  $p=0,0134$ ; secalinas,  $p<0,0001$ ) considerando todas las variables estudiadas, indicando que los trigos blandos difieren en sus características físico-químicas y su calidad galletitera de acuerdo a la composición de gluteninas y secalinas.

Para el caso de *locus Glu-A1* y las secalinas, los trigos que produjeron las galletitas con mejor factor galletita presentaron al alelo nulo y ausencia de translocación (Tabla 3.17), coincidiendo con lo estimado por el modelo lineal mixto. Los genotipos con el alelo nulo para *Glu-A1* mostraron los menores valores de tamaño de partícula, contenido de almidón dañado, pentosanos totales, y de SRC sacarosa, láctico y agua. Mientras que los trigos que no presentaron la translocación mostraron los menores valores para todas las variables, excepto para proteínas y SRC láctico donde tuvieron los valores más altos. Estos

resultados muestran claramente el efecto negativo que ejerce la translocación del centeno sobre la calidad de los trigos tanto para la obtención de galletitas como para pan, ya que por un lado hace que aumente la capacidad de absorción de la harina y por el otro disminuye la cantidad y calidad de sus proteínas.

**Tabla 3.17.** Efecto de las *Glu-A1* y secalinas sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera<sup>a, b</sup>

<b>Glu-A1</b>	<b>PSA</b>	<b>Prot</b>	<b>AD</b>	<b>PS</b>	<b>PT</b>	<b>SRCsac</b>	<b>SRClac</b>	<b>SRCcar</b>	<b>SRCagua</b>	<b>FG</b>	
<b>nulo</b>	53,00	9,50	4,10	0,49	4,56	93,04	95,75	71,04	55,54	7,10	A
<b>2*</b>	58,84	9,44	5,25	0,58	5,49	100,14	101,85	74,97	58,04	6,15	B
<b>1</b>	61,66	9,77	4,99	0,49	5,14	94,18	101,76	70,65	55,88	6,40	C
<b>Secalinas</b>											
<b>No</b>	58,23	9,69	4,82	0,50	4,87	95,44	102,87	71,43	56,01	6,54	A
<b>1B/1R</b>	59,67	9,60	5,53	0,65	5,92	103,11	98,44	77,01	58,99	5,89	B
<b>1A/1R</b>	63,26	8,26	5,48	0,59	6,56	99,09	98,59	76,71	60,39	5,87	C

<sup>a</sup> Tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), SRC sacarosa (SRCsac), SRC láctico (SRClac), SRC carbonato (SRCcar), SRC agua (SRCagua), factor galletita (FG).

<sup>b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Tabla 3.18 se muestra el resultado del MANOVA para los *loci Glu-B1* y *Glu-D1*. Este análisis indica que los trigos que poseen las subunidades 7+9 presentaron los valores más altos para FG aunque no mostraron diferencias significativas con los que poseen las subunidades 7, 7+8 y 13+16, los cuales produjeron galletitas de menor FG que los que poseían las subunidades 6+8. Ammar *et al.* (2000), quienes trabajaron con trigos extra duros, informaron que los genotipos que poseían la subunidad 6+8 produjeron masas más extensibles; por su parte Tanquilli *et al.* (2002), quienes trabajaron con trigos recombinantes para el cromosoma 1A entre *T. monococcum* y Chinese Spring (trigo pan), informaron que los que producían masas mas extensibles eran los trigos que tenían las subunidades 7+8. Por su parte Primard *et al.* (1991) no encontraron diferencias entre las subunidades 7+8 y 7+9 en cuanto a la calidad panadera de trigos duros. Cabe destacar que los genotipos que tenían las subunidades 17+18 produjeron las galletitas de menor calidad; que a la vez mostraron los mayores valores de absorción para los cuatro SRC y el mayor contenido de almidón dañado y pentosanos, todos parámetros no deseables en trigos blandos destinados a la elaboración de galletitas. La gran variabilidad encontrada para el

*locus Glu-B1*, en este y muchos otros trabajos publicados, podría explicar la versatilidad de roles, muchas veces contradictorios entre diferentes autores, o la falta de asociaciones atribuidas a los diferentes alelos de este *locus*.

**Tabla 3.18.** Efecto de las *Glu-B1* y *Glu-D1* sobre las propiedades físico-químicas de las harinas y su calidad galletitera<sup>a, b</sup>.

<b>Glu-B1</b>	<b>PSA</b>	<b>Prot</b>	<b>AD</b>	<b>PS</b>	<b>PT</b>	<b>SRCsac</b>	<b>SRClac</b>	<b>SRCcar</b>	<b>SRCagua</b>	<b>FG</b>	
<b>6+8</b>	62,20	10,85	5,33	0,50	4,79	95,68	97,66	70,76	55,82	6,47	A
<b>17+18</b>	57,14	9,33	6,14	0,70	6,33	109,9	107,23	83,00	62,88	5,81	B
<b>7</b>	53,80	8,99	4,75	0,55	5,14	97,17	90,82	73,26	56,74	6,29	CDE
<b>7+9</b>	55,98	9,34	4,28	0,53	4,92	94,17	100,51	70,62	55,23	6,54	C
<b>7+8</b>	61,37	9,70	5,01	0,54	5,43	96,44	100,61	73,22	56,92	6,33	D
<b>13+16</b>	58,06	8,45	5,71	0,55	5,53	102,22	107,40	75,05	59,14	5,99	E
<b>Glu-D1</b>											
<b>5+10</b>	57,99	9,03	5,25	0,59	6,05	102,15	113,64	76,55	59,33	5,86	A
<b>2+12</b>	59,59	9,64	5,09	0,55	5,14	96,65	96,37	72,68	56,76	6,44	B
<b>2+10*</b>	58,48	9,92	4,74	0,49	4,87	96,39	103,52	71,75	55,88	6,39	B

<sup>a</sup> Tamaño de partícula de la harina (PSA), proteínas (Prot), almidón dañado (AD), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), SRC sacarosa (SRCsac), SRC láctico (SRClac), SRC carbonato (SRCcar), SRC agua (SRCagua), factor galletita (FG).

<sup>b</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

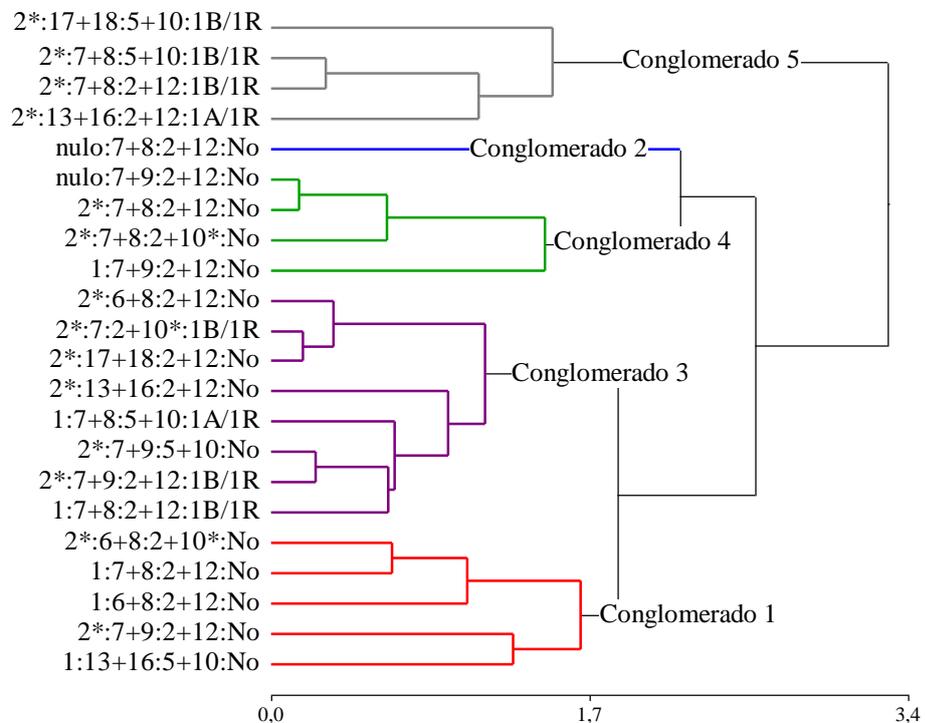
Para el *locus Glu-D1* se encontró que la presencia de las subunidades 2+10\* y 2+12 tiene un efecto positivo sobre el factor galletita, y que los trigos que tenían estos alelos mostraron menores valores de absorción para los cuatro SRC, y los menores contenido de almidón dañado y pentosanos.

Teniendo en cuenta los resultados encontrados a partir del uso de diferentes métodos de análisis estadístico (modelos lineales generales y mixtos y el MANOVA) se puede postular que el alelo nulo para *Glu-A1*, las subunidades 2+12 y 2+10\* para *Glu-D1* y la ausencia de translocaciones del centeno representan la combinación alélica mas apropiada para la obtención de trigos blandos de buena calidad galletitera. Si a esto se le suman las conclusiones obtenidas a partir del análisis de componentes principales, donde

observamos que las subunidades 6+8, 7+8 y 7+9 se asociaban con un mayor FG, se puede postular que la mejor combinación de proteínas, en base a las distintas subunidades de gluteninas de alto peso molecular y las secalinas, para la obtención harinas de trigo blando de buena calidad para la elaboración de galletitas sería:

***Glu-A1*= nulo, *Glu-B1*= 6+8, 7+8 o 7+9, *Glu-D1*= 2+12 o 2+10\* y sin secalinas**

Con el objetivo de agrupar a los distintos genotipos de acuerdo a su potencial para la elaboración de galletitas a partir de su composición de gluteninas de alto peso molecular y secalinas, se realizó un análisis de conglomerados utilizando el FG y la luminosidad (L) como variables, los *loci Glu-1* y las secalinas como criterio de clasificación. Para el análisis se eligió el método de agrupamiento de Encadenamiento promedio y la distancia Manhattan. El número de grupos se fijó arbitrariamente en cinco, utilizando cómo criterio de corte el 50 % de la distancia máxima. El dendrograma obtenido se muestra en la Figura 3.8.



**Figura 3.8.** Dendrograma.

En la Tabla 3.19 se muestran los valores de factor galletita para cada uno de los conglomerados y los genotipos que los conforman.

**Tabla 3.19.** Factor galletita promedio de cada conglomerado y genotipos que lo conforman<sup>a</sup>.

<b>Conglomerado</b>	<b>FG</b>	<b>Genotipos</b>
<b>1</b>	6,70 C	9, 11, 27, 36, 38, 39, 42 y 50
<b>2</b>	7,27 D	19, 44 y 47
<b>3</b>	6,13 B	1, 2, 6, 7, 8, 10, 14, 18, 2, 23, 24, 25, 29, 31, 32, 34 y 37
<b>4</b>	6,58 C	3, 22, 26, 30, 35, 41, 43, 45, 48 y 49
<b>5</b>	5,66 A	4, 5, 13, 20 y 33

<sup>a</sup>Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

El conglomerado 2, con el mayor FG, está conformado por los genotipos 19, 44 y 47 cuya combinación alélica fue:

***Glu-A1*= nulo, *Glu-B1*= 7+8, *Glu-D1*= 2+12 y sin secalinas**

Esto coincide con los resultados encontrados mediante el análisis estadístico de los datos. En los conglomerados 1 y 4, con el segundo mejor FG, observamos que ninguno de los trigos que lo conformaron presentó la translocación del centeno, y solo 1 con las subunidades 5+10 (*locus Glu-D1*), además uno de los cuatro trigos con el alelo nulo para *Glu-A1* también formó parte de este grupo (conglomerado 4). Las peores galletitas las produjeron los genotipo 4, 5, 13, 20 y 33 (conglomerado 5) donde todos presentaron la translocación del centeno y la subunidad 2\* para *Glu-A1*, además dos de ellos presentaron las subunidades 13+16 y 17+18. Estas combinaciones resultaron negativas para el FG, coincidiendo con lo observado en los análisis previos. En el conglomerado 3, con el un FG relativamente bajo, existe una mayor variabilidad en cuanto a las combinaciones alélicas que lo conforman, pero se destaca claramente que todas tienen la subunidad 1 o 2\* para *Glu-A1*, y que las muestras que no tiene la translocación del centeno siempre tiene algún alelo para *Glu-B1* o *Glu-D1* asociado a una baja calidad galletitera; por ejemplo el genotipo 1 que tiene la combinación: 2\*, **17+18**, 2+12 y sin translocación; o el genotipo 34 cuya combinación es: 2\*, 7+9, **5+10** y sin translocación.

A partir de los resultados obtenidos mediante el modelo lineal general y mixto se propuso una ecuación para estimar el factor galletita que se obtendría a partir de una harina conociendo su composición de HMW-GS y secalinas:

$$\mathbf{FG} = \mathbf{FG}_{\text{prom}} + (\mathbf{FG}_{\text{Glu-A1}} - \mathbf{FG}_{\text{prom}}) + (\mathbf{FG}_{\text{Glu-B1}} - \mathbf{FG}_{\text{prom}}) + (\mathbf{FG}_{\text{Glu-D1}} - \mathbf{FG}_{\text{prom}}) + (\mathbf{FG}_{\text{sec}} - \mathbf{FG}_{\text{prom}})$$

$\mathbf{FG}_{\text{prom}}$  = FG promedio estimado para las 44 líneas;  $\mathbf{FG}_{\text{Glu-A1}}$ ,  $\mathbf{FG}_{\text{Glu-B1}}$ ,  $\mathbf{FG}_{\text{Glu-D1}}$  y  $\mathbf{FG}_{\text{sec}}$  = promedio estimado para cada uno de los alelos de cada locus.

Con esta ecuación se podría estimar el FG para cada uno de los genotipos de trigo blando utilizados para el análisis de acuerdo a su composición de HMW-GS y secalinas, sumando o restando un coeficiente de efectos aleatorios (BLUP), que el modelo estima para cada genotipo de acuerdo al aporte positivo o negativo de ese trigo al FG promedio. Por ejemplo, si tomamos la muestra 44 (ver *pedigree* en Tabla 2.1), utilizada en el análisis, que tiene  $\text{Glu-A1} = \text{nulo}$ ,  $\text{Glu-B1} = 7+8$ ,  $\text{Glu-D1} = 2+12$  y sin secalinas, y le calculamos el FG según la ecuación tenemos que:

$$\mathbf{FG} = 6,36 + (7,10 - 6,36) + (6,34 - 6,36) + (6,44 - 6,36) + (6,54 - 6,36) \pm \text{BLUP}$$

El valor de BLUP del modelo para este genotipo fue de +0,37, por lo tanto se suma:

$$\mathbf{FG} = 7,34 + 0,37 = 7,71$$

El valor estimado para el FG resultó muy similar a los valores obtenidos para este genotipo, ya que para el año de cosecha 2006 el FG fue 7,56 y para el 2007 fue 7,86.

Esta ecuación podría ser utilizada para estimar el FG que se obtendría a partir de cualquier trigo blando conociendo su composición de HMW-GS y secalinas. Para corroborar el poder predictivo de la ecuación se elaboraron galletitas a partir de un el

cultivar de trigo blando Alpowa, el cual no fue utilizado para el análisis estadístico de modelos lineales generales y mixtos. Se estimó un FG de 6,85 para el cultivar Alpowa teniendo en cuenta su composición de HMW-GS (*Glu-A1* nulo, *Glu-B1* 7+9, *Glu-D1* 5+10 y sin la translocación del centeno), mientras que el valor obtenido a partir de la elaboración de las galletitas fue de 6,65.

En la primera etapa del trabajo se obtuvo una ecuación de predicción del factor galletita de los trigos blandos de la cosecha 2006 a partir de las características físico-químicas de sus harinas. Con el objetivo de investigar los parámetros predictivos de la ecuación, teniendo en cuenta la variación interanual, se realizó un nuevo análisis de regresión múltiple a partir de los parámetros analizados en los dos años de cosecha. Para el ajuste del mejor modelo de regresión se utilizó la eliminación de variables hacia atrás:

$$\mathbf{FG = 12,90 - 0,02 PSA - 0,05 SRCsac - 0,11 AD}$$

Con un  $R^2$  de 0,64 y un error cuadrático predictivo medio (ECPM) de 0,14.

Teniendo en cuenta los p valores obtenidos para este modelo podemos decir que el SRC sacarosa ( $p < 0,0001$ ), que simboliza la capacidad de absorción de la harina por parte de los pentosanos, representa el parámetro de mayor influencia sobre la calidad galletitera de una harina, seguido por el tamaño de partícula de la harina ( $p = 0,0444$ ).

Estos resultados coinciden con el análisis realizado sobre los trigos del 2006, y sugieren que una harina de buena aptitud galletitera puede ser seleccionada basándose en solo tres parámetros: tamaño de partícula de harina, contenido de almidón dañado y capacidad de retención de sacarosa.

Los parámetros seleccionados por el modelo como buenos predictores de la calidad galletitera coinciden con lo informado por otros autores. Zhang *et al.* (2007) obtuvieron una ecuación de predicción para el diámetro de las galletitas a partir de un modelo de regresión múltiple donde el SRC de sacarosa y el tamaño de partícula de la harina surgieron como variables predictoras. En otro trabajo (Gaines, 2004) se encontró que el diámetro de las galletitas se puede predecir a partir del contenido de proteínas de la harina, SRC sacarosa, y un estimador de la textura del grano.

## **ALMIDÓN**

El almidón constituye el principal componente de la harina de trigo, y como consecuencia, su composición, estructura y propiedades afectan la reología de las masas, alterando la calidad final de los productos. Durante la fermentación de las masas sirve como fuente de carbono para las levaduras, se encuentra involucrado en la fijación de la estructura de diversos productos como el pan y juega un rol clave en el envejecimiento durante el almacenamiento, debido al fenómeno de retrogradación. La industria alimentaria requiere almidones con distintos perfiles de viscosidad por su potencial para modificar la textura de diversos productos. Sin embargo su rol en la elaboración de productos de panificación no ha sido tan estudiado como el de las proteínas, probablemente porque sus propiedades se ven poco afectadas por diferencias entre cultivares, siendo el ambiente el que tiene más influencia.

Con el objetivo de analizar la composición y características físico-químicas del almidón de trigos blandos y su influencia sobre la calidad galletitera se determinó el contenido de amilosa, el tamaño y la distribución de volumen de gránulos de almidón, las propiedades térmicas, medidas por DSC, y el perfil de viscosidad, medido por RVA, en las 44 líneas en estudio.

## COMPOSICIÓN Y TAMAÑO DE GRÁNULOS

La composición del almidón, en cuanto a su contenido de amilosa, junto con la distribución de volumen, y el tamaño de los gránulos representan características muy importantes a tener en cuenta, ya que pueden afectar su funcionalidad, influyendo en el comportamiento de la masa y en la calidad de los diferentes productos elaborados a partir de la harina de trigo.

Se determinó el contenido de amilosa y la distribución de volumen de los gránulos de almidón de las harinas obtenidas a partir de los 44 trigos blandos en estudio de ambas cosechas (Tabla 3.20).

**Tabla 3.20.** Valores máximo, mínimo y promedio de tamaño de contenido de amilosa y la distribución de volúmenes de gránulos de almidón<sup>a</sup>.

	Rango		Promedio		Promedio ±
	2006	2007	2006	2007	DE
<b>Amilosa (%)</b>	23,46 - 33,42	22,46 - 32,22	28,15A	27,42 A	27,78 ± 2,09
<b>% Vol B (&lt;10,1 µm)</b>	9,04 - 21,13	9,43 - 21,27	13,72 A	13,36 A	13,54 ± 2,84
<b>% Vol A1 (10,1-26,1 µm)</b>	56,26 - 90,78	61,92 - 89,93	80,04 A	78,37 A	79,20 ± 6,70
<b>% Vol A2 (&gt;26,1 µm)</b>	0,00 - 30,26	0,22 - 18,60	6,25 A	8,28 A	7,26 ± 5,50
<b>Diam. Pico A (µm)</b>	17,38 - 26,11	17,38 - 26,11	21,33 B	22,42 A	21,87 ± 2,20
<b>% Vol. Pico A</b>	13,61 - 23,61	14,57 - 22,64	18,49 A	18,76 A	18,62 ± 2,01
<b>Diam. Pico B (µm)</b>	1,98 - 3,91	1,98 - 3,91	3,01 A	3,06 A	3,03 ± 0,49
<b>% Vol. Pico B</b>	0,86 - 1,37	0,85 - 1,76	1,13 A	1,17 A	1,15 ± 0,15
<b>A1/B</b>	3,67 - 10,04	3,18 - 9,23	6,15 A	6,13 A	6,14 ± 1,52

<sup>a</sup> Letras distintas indican diferencias significativas (p < 0,05).

Los polímeros de amilosa y amilopectina, presentes en la harina de trigo, y la proporción entre ellos, ejercen diferentes efectos sobre las masas, modificando su capacidad de absorción de agua, sus propiedades viscoelásticas, etc.; a la vez que impactan

de manera significativa sobre las propiedades de textura y envejecimiento de los productos elaborados con harina. El contenido de amilosa o la relación amilosa/amilopectina varía entre diferentes trigos, pero los niveles típicos se encuentran entre 25–28 % para amilosa y entre 72–75% para amilopectina (Colonna y Buleón, 1992).

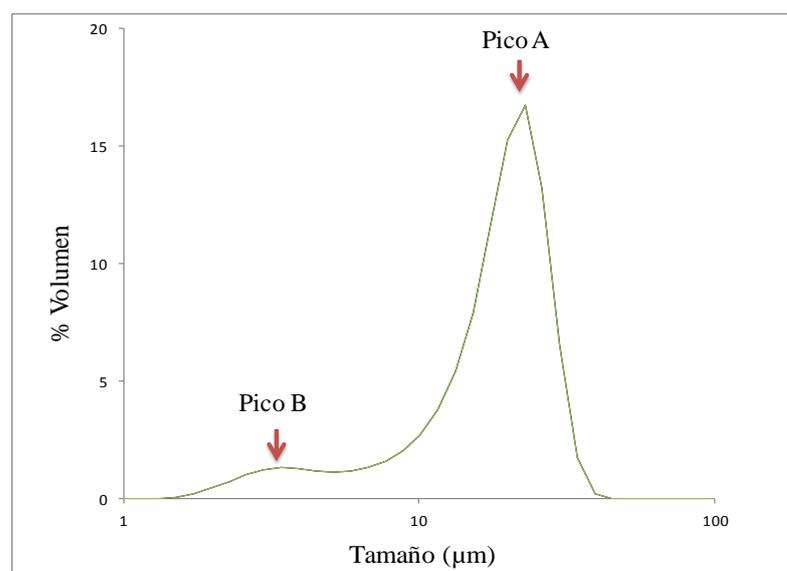
El contenido de **amilosa** presentó un importante rango de valores entre los distintos cultivares de trigo para ambos años de cosecha, oscilando entre un 22,46% y un 33,42%. Las medias obtenidas para cada año no mostraron diferencias significativas entre ellas, y fueron de 28,15% para 2006 y 27,42% para 2007, lo que corresponde a valores de contenido de amilosa esperados para el almidón de trigo. Si bien el valor normal de amilosa en trigos varía entre 25-28%, en bibliografía se encontró un amplio rango. Raeker *et al.* (1998), quienes trabajaron con 12 cultivares de trigo blando, informaron un rango de 26,7–28,8% en el contenido de amilosa. Por su parte Blazek y Copeland (2008) encontraron rangos de valores muy amplios, entre 35% y 43%, para 35 variedades de trigo duro australiano con diferentes contenidos de amilosa lo que se corresponde con valores entre normales y altos. Hung *et al.* (2008) informan un valor de 25,6% para un trigo con contenido de amilosa normal, y valores de entre 28,0% y 36,9% para trigos altos en amilosa.

Si bien se encontró un gran rango de valores en el contenido de amilosa entre los diferentes cultivares de trigo, no se encontraron diferencias significativas entre genotipos ni entre años de cosecha. Esto difiere con lo encontrado para proteínas y almidón dañado, que sí presentaron variaciones anuales significativas, lo que estaría indicando que el contenido de amilosa se encuentra más influenciado por el genotipo que por las condiciones ambientales. Geera *et al.* (2006) trabajaron con un total de 6 genotipos de trigo cultivados en dos localidades y durante dos años, y encontraron que el contenido de amilosa solo se vio afectado por el genotipo.

La distribución de tamaño de gránulos de almidón de trigo es una característica muy importante ya que puede afectar su composición química y su funcionalidad.

Diferentes autores han informado que los gránulos A y B difieren en el contenido de amilosa, el largo de la cadena de amilopectina, la cristalinidad relativa, la microestructura, la capacidad de hinchamiento y sobre las propiedades de gelatinización y *pasting* (Ao y Jane, 2007; Bertolini *et al.*, 2003; Chiotelli y Le Meste, 2002; Eliasson y Karlsson, 1983; Geera *et al.*, 2006a; Kim y Huber, 2008; Peng *et al.*, 1999; Salman *et al.*, 2009; Shinde *et al.*, 2003; Soulaka y Morrison, 1985; Vermeylen *et al.*, 2005), por lo que almidones de trigos con distinta relación de gránulos A y B, van a diferir en sus propiedades y funcionalidad.

La distribución de volumen de los gránulos de almidón mostró una población bimodal típica para trigo (Figura 3.9), el límite entre las dos poblaciones se estableció alrededor de los 10  $\mu\text{m}$ . Por debajo de este límite se encuentran los gránulos tipo B, y con diámetros iguales o mayores a 10  $\mu\text{m}$  se encuentra la población de gránulos A. Se definió una población de gránulos, entre 10,1-26,1  $\mu\text{m}$ , que correspondiente a gránulos de tipo A1 y una población mayor a 26  $\mu\text{m}$ , correspondiente a los gránulos A2. También se determinó la relación entre los gránulos A y B, como la relación entre el porcentaje de volumen de los gránulos A1 (10,1-26,1  $\mu\text{m}$ ) y los gránulos B (< 10 $\mu\text{m}$ ). En el pico de cada población (Pico A y Pico B) se tomaron los valores de diámetro y porcentaje de volumen.



**Figura 3.9.** Distribución bimodal de tamaño de gránulos de típica almidón de trigo.

Se encontró un amplio rango de valores para cada año de cosecha (Tabla 3.20). No se encontraron diferencias significativas para la distribución de volumen ni los diámetros de los gránulos A y B entre ambos años de cosecha, excepto para el porcentaje de volumen del pico de gránulos A. Esta ausencia de variación interanual difiere con lo encontrado por diversos autores (Shi *et al.*, 1994; Tester *et al.*, 1995; Geera *et al.*, 2006).

Se encontraron diferencias significativas entre genotipos para el porcentaje de volumen de los gránulos A1, donde las muestras 5, 8, 26, 31, 32 y 41 presentaron una menor proporción de gránulos A1 que osciló entre 60,88% y 72,26%; así como los diámetros de pico de los gránulos A, donde las muestras 19, 26, 31, 32, 41, 44, 48 y 49 mostraron los valores mayores (24,46-26,11  $\mu\text{m}$ ) y los diámetros de pico de los gránulos B donde la muestra 50 presentó el menor valor (1,98  $\mu\text{m}$ ) y las muestras 8, 26, 31, 32 y 33 los valores más grandes (3,91  $\mu\text{m}$ ).

Para los gránulos B se encontraron valores de pico entre 1,98  $\mu\text{m}$  y 3,21  $\mu\text{m}$ , para ambos años de cosecha, con un promedio de alrededor de 3  $\mu\text{m}$ . Para los gránulos de tipo A se encontraron valores de entre 17,38  $\mu\text{m}$  y 26,11  $\mu\text{m}$ , con un promedio de 22  $\mu\text{m}$ . Li *et al.* (2008) compararon la distribución de tamaño de gránulos de almidón para trigos duros y blandos de cultivares chinos y encontraron dos poblaciones con valores de pico de 5,6-6,1  $\mu\text{m}$  y 20,7-24,9  $\mu\text{m}$  respectivamente.

El porcentaje de volumen ocupado por los gránulos A1 (10,1-26,1  $\mu\text{m}$ ) varió entre un 78,37-90,78% con un promedio de 79,20% para ambos años de cosecha. La población de gránulos A2 (> 26,1  $\mu\text{m}$ ) que representa a los gránulos de mayor tamaño estuvo ausente en uno de los trigos de la cosecha 2006 (línea 50) mientras que en más del 70% de los trigos representó menos del 10% del volumen total. El volumen de esta población de gránulos osciló entre 0,00-30,26% con una media de 7,26% para ambos años de cosecha. Teniendo en cuenta que los gránulos A se definen como los de tamaño superior a 10  $\mu\text{m}$ ,

sumando las poblaciones de A1 y A2 se obtuvo un volumen de 78,73-90,96% con un promedio de 84,46%. Mientras que la contribución de los gránulos B al volumen total osciló entre 9,04-21,13% con un promedio de 13,54% entre ambos años de cosecha.

Li *et al.* (2008) informaron cuatro poblaciones de gránulos en trigos: <2,8  $\mu\text{m}$ , 2,8-9,9  $\mu\text{m}$ , 9,9-22,8  $\mu\text{m}$  y 22,8-42,8  $\mu\text{m}$ , con rangos de 10,3-13,9%, 26,6-28,1%, 32,7-34,6%, 24,2-27% en trigos blandos. Teniendo en cuenta que los gránulos B son los menores a 9,9  $\mu\text{m}$  esta población correspondió a 36,9- 41,2% del volumen total, mientras que los gránulos A (>9,9  $\mu\text{m}$ ) comprendieron un 58,8-63,1% del volumen total. Así mismo informaron que los trigos blandos mostraron gránulos de tipo B más pequeños y una mayor proporción de gránulos de tipo A que los trigos duros, Raeker *et al.* (1998) informaron una distribución trimodal de gránulos de almidón con rangos de 9,7-15,2% (<2,8  $\mu\text{m}$ ), 13,4-27,9% (2,8-9,9  $\mu\text{m}$ ), y 57,9-76,9% (>9,9  $\mu\text{m}$ ) para cultivares de trigo blando en Estados Unidos.

Las diferencias entre los valores informados en el presente trabajo y los encontrados en bibliografía han sido previamente observadas por otros autores, quienes evaluaron que los diferentes métodos de extracción de gránulos y a los distintos equipos utilizados para la medición (Wilson *et al.*, 2006) producen variabilidad en resultados, así mismo se han informado diferencias debidas al punto de corte entre las poblaciones de gránulos (Li *et al.*, 2008).

Para evaluar la relación entre las características del almidón (distribución de volumen de los gránulos y contenido de amilosa) con el tamaño de partícula de las harinas, el contenido de almidón dañado, la capacidad de la harina de absorber agua (mediada con el SRC agua) y el FG, se realizó un análisis de correlación de Pearson (Tabla 3.21).

El contenido de amilosa mostró una correlación significativa y positiva con el PSA y el contenido de almidón dañado. Esto indica que los trigos que produjeron harinas de mayor tamaño de partícula, es decir que provenían de granos más duros, mostraron almidones con mayor contenido de amilosa y más susceptibles a sufrir daño durante la molienda. Esto difiere con los resultados de Nishio *et al.* (2011) quienes informaron una fuerte asociación negativa entre el contenido de amilosa y el SRC carbonato para líneas isogénicas del trigo blando Norin 61. Por otro lado Morita *et al.* (2002) compararon la capacidad de absorción de agua de trigos altos en amilosa, trigos *waxy* y *Chinese Spring* y encontraron que tanto contenidos altos como bajos de amilosa producían harinas con mayor capacidad de absorber agua.

**Tabla 3.21.** Coeficientes de correlación de tamaño de partícula de harina (PSA), contenido de almidón dañado (AD), contenido de amilosa, el SRC agua y factor galletita (FG) el contenido de amilosa y los parámetros de distribución de volumen de gránulos.

	PSA	AD	Amilosa	SRC Agua	FG
<b>Amilosa</b>	0,44**	0,37*	1	ns	ns
<b>% Vol. B (&lt;10,1 µm)</b>	ns	0,34*	ns	ns	ns
<b>% Vol. A1 (10,1-26,1 µm)</b>	ns	-0,37*	ns	ns	ns
<b>% Vol. A2 (&gt;26,1 µm)</b>	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Diam. Pico A</b>	ns	ns	ns	ns	ns
<b>% Vol. Pico A</b>	ns	-0,42**	-0,42	-0,32*	0,35*
<b>Diam. Pico B</b>	ns	0,34*	ns	0,33*	ns
<b>% Vol. Pico B</b>	ns	ns	ns	ns	ns
<b>A1/B</b>	ns	-0,38*	-0,38*	ns	ns

\*, \*\*, Indican significancia a  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$  respectivamente, ns: no significativo.

El contenido de amilosa correlacionó negativamente con el porcentaje de volumen del pico A, así como con la relación de volumen de gránulos A y B. Esto indica que mientras mayor sea el volumen de gránulos A, y mayor la relación de volumen entre gránulos A y B, menor será el contenido de amilosa del trigo.

A diferencia de nuestros resultados, muchos autores han informado que los gránulos de mayor tamaño tienen un mayor contenido de amilosa que los gránulos

pequeños, llegando a ser entre un 4% y un 10% mayor (Peng *et al.*, 1999; Shinde *et al.*, 2003), sin embargo Ames *et al.* (1999) encontraron diferencias muy pequeñas, entre 2-3% en el contenido de amilosa entre ambos tipos de gránulos. Li *et al.*, (2008) quienes trabajaron con 10 cultivares de trigo encontraron una correlación positiva entre el contenido de amilosa y el porcentaje de volumen de gránulos entre 22,8-42,8  $\mu\text{m}$  (tipo A), y una correlación negativa con el porcentaje de volumen de gránulos entre 9,9-22,8  $\mu\text{m}$  (tipo A). Es probable que estas diferencias estén dadas por los diferentes métodos de extracción y caracterización de los distintos tipos de gránulos.

El contenido de almidón dañado correlacionó positivamente con el porcentaje de volumen y el diámetro de pico de los gránulos B, indicando que los estos gránulos tienen mayor tendencia a sufrir daño durante la molienda. Por otro lado se observó una asociación opuesta con el porcentaje de volumen y el volumen de pico máximo de gránulos A, así como la relación de gránulos A y B. Esto indica que los trigos que tengan almidones con una mayor proporción de gránulos A en relación a los B van a producir harinas con menor contenido de almidón dañado. Estas observaciones se correlacionan con lo observado para la capacidad de absorción de agua de las harinas (medida mediante el SRC agua), ya que a mayor volumen de pico de gránulos A, menor es la absorción de agua ( $r: -0,32$ ), mientras que a mayor diámetro de gránulos B en el pico, mayor será la absorción de agua ( $r: 0,33$ ) por parte de la harina. Park *et al.* (2009), quienes estudiaron las propiedades del almidón de 98 trigos duros, informaron que los gránulos B poseen una mayor capacidad de absorber. Por su lado Kim y Huber (2010) concluyeron que el mayor grado de cristalinidad de los gránulos A, disminuye su capacidad de hinchamiento, en comparación con los gránulos B.

El factor galletita presentó una correlación positiva con el porcentaje de volumen de pico de gránulos A, coincidiendo con lo encontrado para almidón dañado y SRC agua. Los resultados encontrados indican que una mayor proporción de gránulos A, se asocia con un menor porcentaje de daño en el almidón, y una menor absorción de agua por parte de la harina, lo que influye positivamente sobre la calidad galletitera de los trigos blandos.

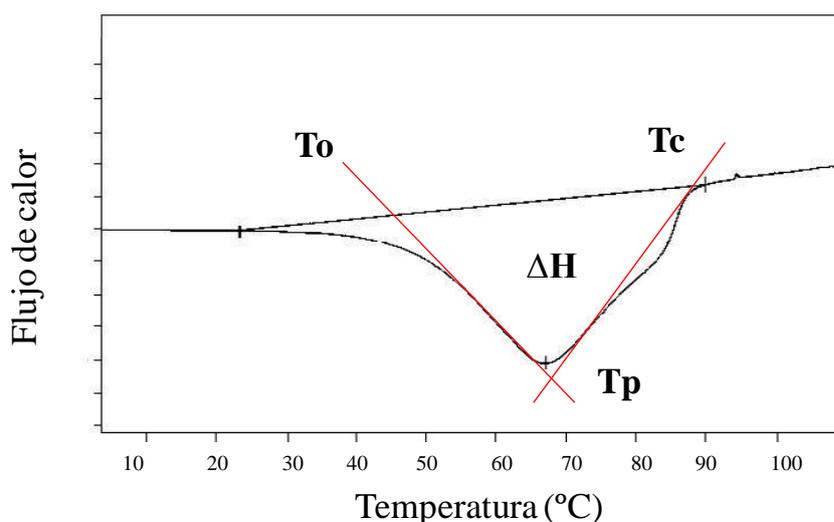
## **CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)**

Los cambios que se producen cuando al almidón de trigo es calentado en presencia de agua son responsables de muchas de las características sensoriales encontradas en los productos elaborados a partir de trigo.

Cuando el almidón de trigo entra en contacto con agua es capaz de ligarla, aumentando ligeramente el volumen de sus gránulos en un proceso reversible. Si se calienta este sistema hasta una temperatura inferior a la de gelatinización del almidón, no se producirán otros cambios. Sin embargo, si la temperatura continúa en aumento se produce una transición de un estado más ordenado a uno más desordenado. Este proceso se conoce como gelatinización e implica la pérdida de la estructura cristalina del almidón, que al implicar una transición térmica, puede ser estudiado mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) (Biliaderis, 1990).

En la Figura 3.10 se muestra una endoterma típica de almidón de trigo, donde se observa un pico alrededor de 65 °C correspondiente a la gelatinización del almidón que implica un proceso endotérmico, donde el área bajo la curva corresponde a la cantidad de energía que se necesita para que este cambio ocurra ( $\Delta H$ ). Los parámetros  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_c$  representan las temperaturas de inicio, pico y fin de la gelatinización respectivamente.

Con el fin de evaluar las propiedades térmicas del almidón de los trigos, se realizó una calorimetría diferencial de barrido (DSC) a partir de las harinas. Los valores obtenidos para cada uno de los parámetros evaluados se informan en la Tabla 3.22.



**Figura 3.10.** Termograma típico de una harina de trigo obtenido por calorimetría diferencial de barrido. El area bajo la curva corresponde a la entalpía de gelatinización del almidón ( $\Delta H$ ) y los puntos  $T_o$ ,  $T_p$  y  $T_c$  a las temperaturas de inicio, pico y fin de la gelatinización.

**Tabla 3.22.** Valores rango, promedio y desviación estándar de los parámetros de la calorimetría diferencial de barrido (DSC)<sup>a, b</sup>.

	Rango		Promedio		Promedio $\pm$ DE
	2006	2007	2006	2007	2006 y 2007
<b><math>T_o</math> (°C)</b>	56,60 - 62,10	55,48 - 60,02	58,72 A	58,06 B	58,4 $\pm$ 1,22
<b><math>T_p</math> (°C)</b>	62,10 - 66,6	59,96 - 64,28	64,06 A	62,47 B	63,27 $\pm$ 1,28
<b><math>\Delta Pico</math> (°C)</b>	5,80 - 14,1	5,13 - 12,01	11,33 A	9,58 B	10,46 $\pm$ 1,57
<b><math>\Delta H</math> (J/g)</b>	4,48 - 6,52	5,07 - 8,51	5,66 B	6,87 A	6,26 $\pm$ 0,89
<b><math>\Delta Hr</math> (J/g)</b>	0,21 - 1,75	0,22 - 2,32	0,79 B	1,21 A	0,99 $\pm$ 0,50

<sup>a</sup> Temperatura de inicio ( $T_o$ ), de pico ( $T_p$ ), ancho del pico ( $\Delta Pico$ ) y entalpía ( $\Delta H$ ) de la gelatinización; entalpía de retrogradación ( $\Delta Hr$ ).

<sup>b</sup> Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

Se encontraron diferencias significativas entre ambos años de cosecha para los parámetros:  $T_o$  ( $p=0,0071$ ),  $T_p$  ( $p<0,0001$ ),  $\Delta Pico$  ( $p<0,0001$ ) y  $\Delta H$  ( $p<0,0001$ ), correspondientes a la gelatinización del almidón. Los valores de  $T_o$ ,  $T_p$  y  $\Delta Pico$  resultaron menores en el año 2007, mientras que las entalpías de gelatinización ( $\Delta H$ ) resultaron mayores en ese año. También se encontraron diferencias significativas entre cultivares para  $T_o$ , siendo los genotipos 1, 27, 30, 35, 39, 42, 45, 47, 48, 49, 50 y 55 los que mostraron mayores temperaturas (59,15-60,26 °C).

Existen diversas teorías respecto a los fenómenos que ocurren durante la gelatinización del almidón. Cooke y Gidley (1992) consideran que lo primero que ocurre es la fusión de las hélices de amilopectina, y que el grado de orden a este nivel es el responsable de la entalpía de gelatinización. Por su parte Zobel (1992) sugiere que el pico de gelatinización medido por DSC es un reflejo de dos fenómenos que ocurren paralelamente, la fusión de los cristales y las hélices respectivamente. A su vez, la cristalinidad del almidón depende de la relación de amilosa-amilopectina y del largo de las cadenas de amilopectina (Pérez *et al.*, 2009). Ciertamente la transición entálpica que implica la gelatinización del almidón representa numerosos cambios que ocurren de manera simultánea, por lo que las diferencias encontradas en los distintos parámetros de DSC pueden ser atribuidas a distintas características del almidón, así como al contenido total.

La entalpía de gelatinización es un parámetro importante a tener en cuenta durante un análisis térmico, ya que es una medida de la cristalinidad total (indicativo tanto de la calidad como la cantidad de cristales de almidón) (Tester y Morrison, 1990), dado que refleja la pérdida del orden molecular. Mayores valores  $\Delta H$  se relacionan con un mayor grado de cristalinidad (Inouchi *et al.*, 1984), lo que proporciona mayor estabilidad estructural al gránulo de almidón, haciéndolo más resistente a la gelatinización (Barichello *et al.*, 1990). Las diferencias encontradas indican que los trigos provenientes de la cosecha 2007 tiene el pico de gelatinización a menor temperatura, pero que ese cambio de estado requiere un mayor gasto de energía, lo que indicaría que poseen almidones con mayor grado de cristalinidad que los trigos cosechados en 2006.

Cuando el almidón gelatinizado es enfriado, y luego se lo almacena durante un largo período de tiempo, las cadenas de amilosa y amilopectina comienzan a interaccionar nuevamente produciéndose un fenómeno conocido como **retrogradación**, donde el almidón retoma un nuevo estado cristalino. Si se somete a un análisis térmico a una

muestra de almidón previamente gelatinizado, enfriado y almacenado, se observa la desaparición total o parcial (dependiendo del grado de gelatinización previo) del pico de gelatinización ya que el almidón nunca recupera su estructura original (Jovanovich *et al.*, 1992).

Luego de la gelatinización las cápsulas fueron almacenadas durante 15 días en heladera para realizar un nuevo análisis del perfil térmico mediante DSC con el fin de evaluar el proceso de retrogradación. Se encontraron diferencias significativas para  $\Delta H_r$  ( $p=0,0001$ ) entre los dos años de cosecha. Los trigos de la cosecha 2007 mostraron mayores entalpías de retrogradación, que los trigos de la cosecha 2006, donde los porcentajes de retrogradación fueron 17,6% y 14,0% respectivamente, indicando que estos almidones presentaron un mayor grado de retrogradación durante su almacenamiento. También se observaron diferencias entre genotipos, siendo las muestras 3, 8, 9, 10, 42, 43, 44, 45, 47, 48, 49 y 50 los de mayor entalpía (1,29-2,04 J/g).

Se realizó un análisis de correlación de Pearson con el objetivo de evaluar las asociaciones existentes entre los componentes de la harina, el SRC y el perfil térmico de las harinas (Tabla 3.23).

**Tabla 3.23.** Coeficientes de correlación del tamaño de partícula de las harinas (PSA), el contenido de proteínas (Prot), pentosanos solubles (PS), pentosanos totales (PT), almidón dañado (AD), SRC sacarosa (SRCs), SRC carbonato (SRCc), SRC agua (SRCa) y factor galletita (FG) con los parámetros de gelatinización y retrogradación del almidón medidos por DSC<sup>a, b</sup>.

	PSA	Prot	PS	PT	AD	SRCs	SRCc	SRCa	FG
<b>To</b>	ns	0,36*	-0,49**	-0,48**	-0,43**	-0,36*	-0,52**	-0,57**	0,52**
<b>Tp</b>	ns	0,39*	-0,40*	-0,42**	-0,39*	-0,30*	-0,48**	-0,47**	0,47**
<b><math>\Delta</math>pico</b>	0,47**	ns	0,49**	0,32*	ns	0,33*	0,38*	0,46**	-0,39*
<b><math>\Delta H</math></b>	ns	ns	ns	ns	-0,44**	ns	ns	ns	ns
<b><math>\Delta H_r</math></b>	-0,31*	ns	ns	-0,33*	-0,33*	ns	ns	ns	0,37*

<sup>a</sup> Temperatura de inicio (To), de pico (Tp), ancho del pico ( $\Delta$ pico) y entalpía ( $\Delta H$ ) de la gelatinización; entalpía de retrogradación ( $\Delta H_r$ ).

<sup>b</sup>\*, \*\*, Indican significancia a  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$  respectivamente, ns: no significativo

To y Tp correlacionaron de manera positiva con el contenido de proteínas y de manera negativa con el contenido de pentosanos solubles y totales y con el contenido de almidón dañado. A su vez los SRC de sacarosa, carbonato, relacionados con pentosanos y almidón dañado, y el SRC de agua, correlacionan de manera negativa con To y Tp. Esto indica que los trigos que tienen un mayor contenido de proteínas gelatinizan a mayores temperaturas, mientras que un mayor contenido de pentosanos y almidón dañado disminuyen las temperaturas de inicio y de pico de la gelatinización.

Las harinas con mayor contenido de componentes hidrofílicos, tienen una mayor capacidad de absorber agua. El agua va a ser absorbida por estos componentes, dejando menos cantidad de agua libre disponible para la gelatinización del almidón. Teniendo en cuenta que las muestras de harina a gelatinizar se prepararon con un contenido de agua de  $\approx 70\%$  (una parte de harina y 2 de agua), el agua disponible para la gelatinización del almidón en las muestras con mayor contenido de compuestos hidrofílicos fue significativamente menor. La mayoría de los autores informan que no existen diferencias significativas en To y Tp cuando se varía el contenido de agua, mientras que muchos informan que To y Tp aumentan a medida que disminuye el contenido de agua. La relación encontrada entre el contenido de proteínas y To puede ser explicada por la disminución de agua en el sistema debido a la absorción de agua por parte de las proteínas.

Morrison *et al.* (1994) trabajaron con almidones de maíz y trigo a los que sometieron a distintos tiempos de molienda con el objeto de lograr diferentes niveles de daño. En este trabajo encontraron un corrimiento de To y Tp a menores temperaturas a medida que aumentaba el contenido de almidón dañado. Los autores explican que una fracción del almidón se daña completamente, la cual puede ser medida por un método enzimático, otra fracción de los gránulos permanece nativa, y queda un “remanente” de gránulos que sufren un daño parcial que ocasiona una pérdida de su estructura que permite que gelatinicen más fácilmente. Estos resultados se condicen con los encontrados en la presente tesis, donde los trigos cuyos almidones tienen mayor tendencia a sufrir daño durante la molienda tienen un remanente de gránulos que no son completamente dañados

pero que sufren una pérdida parcial de su birrefringencia. Por otro lado, alta asociación encontrada entre el contenido de almidón dañado y pentosanos, explica la asociación negativa entre estos y las  $T_o$  y  $T_p$ , donde las harinas que presentaron una mayor proporción de almidón dañado que implicó una disminución de la temperatura de gelatinización también presentaron un mayor contenido de pentosanos.

Cabe destacar que el contenido de almidón dañado correlacionó de manera negativa con la entalpía de gelatinización, indicando que los trigos con mayor contenido de almidón requieren menor energía para gelatinizar. El daño mecánico sufrido por los gránulos de almidón durante la molienda resulta en una pérdida de la birrefringencia y la cristalinidad, dando como resultado un material más amorfo (Morrison *et al.*, 1994). Sahai y Jackson (1999) indicaron una ausencia total del pico de gelatinización en los termogramas de almidón de maíz que habían sido dañados mecánicamente. Estos resultados indican que mientras mayor sea el grado de daño en el almidón, luego de la molienda, menor será la cristalinidad total de dicho almidón y menor el pico de gelatinización, indicativo del cambio de un estado ordenado a uno desordenado. Otros autores (Morrison *et al.*, 1994; Tester, 1997; Barrera *et al.*, 2013) han encontrado que el daño mecánico sufrido por el almidón durante la molienda conlleva a una gelatinización espontánea en agua fría, de esta fracción del almidón, en un proceso similar al de la gelatinización causada por el calor. Esta gelatinización espontánea produce una reducción en la entalpía de gelatinización durante el calentamiento, produciendo un efecto comparable al efecto de disminuir la cantidad de almidón.

El rango de temperaturas en el cual ocurre la gelatinización se encuentra relacionado con la heterogeneidad de los cristales. Un solo gránulo de almidón va a gelatinizar en un estrecho rango de temperaturas, que dependerán de su estructura y su grado de cristalinidad, por lo que el rango de temperaturas en las que gelatiniza el almidón dependerá de la contribución de cada uno de los gránulos que posea (Biliaderis, 2009). El ancho de pico correlacionó de manera positiva con el contenido de pentosanos, solubles y totales, y con los SRC de carbonato, sacarosa y agua. Nuevamente se observa que la

capacidad de absorción de las harinas se encuentra relacionada con las características térmicas del almidón, siendo los trigos con almidones con mayor heterogeneidad de cristales los que poseen mayor capacidad de absorción.

La cantidad de almidón, el tamaño de los gránulos, el contenido de amilosa, el grado de cristalinidad, la asociación entre las cadenas de amilosa y amilopectina, el grado de daño sufrido durante la molienda y la disponibilidad del agua son todos factores capaces de influir de distintas maneras sobre las propiedades térmicas del almidón, por lo que resulta necesario conocer y explicar un gran número de eventos que ocurren de manera simultánea para poder explicar y entender las propiedades térmicas del almidón. Existen numerosos trabajos donde se utilizan varios métodos con el objetivo de explicar los fenómenos de calorimetría del almidón y la harina observados. A partir de ellos se han postulado diversas teorías que muchas veces resultan contradictorias. Los cambios sufridos por el almidón durante los procesos de calentamiento son tan complejos que hasta el momento muchos fenómenos resultan inciertos.

El PSA correlacionó fuertemente y de manera positiva con el ancho de pico, indicando una asociación entre la dureza del grano y la heterogeneidad de cristales del almidón.

El factor galletita correlacionó de manera positiva con  $T_o$  y  $T_c$ , indicando que las harinas de trigo blando que gelatinizan a mayor temperatura producen galletitas con una mayor relación diámetro/altura. Así mismo se observó una correlación negativa entre FG y el ancho de pico, indicando que los trigos que poseen almidones con menor heterogeneidad de cristales van a producir galletitas de mayor diámetro. Teniendo en cuenta la asociación encontrada entre  $T_o$  y el ancho de pico ( $r=-0,41$ ) podríamos afirmar que los trigos que poseen almidones con menor heterogeneidad de cristales, van a gelatinizar a mayores temperaturas, y producirán galletitas de mayor diámetro.

Cómo ya se explicó anteriormente existe cierta controversia respecto al rol del almidón durante el horneado. Si bien algunos autores consideran que la gelatinización del almidón es prácticamente nula, otros han encontrado evidencia de que, en al menos la mitad de los gránulos, se producen cambios irreversibles en la estructura del almidón (pérdida de birrefringencia) durante el horneado (Chevallier *et al.*, 2000). Teniendo en cuenta que el diámetro final de la galletita va a estar dado por: 1) la velocidad de expansión de la masa durante el horneado, y 2) el tiempo en el cual se fija la estructura; estamos en condiciones de indicar que las galletitas elaboradas a partir de trigos blandos cuyos almidones gelatinizan a mayores temperaturas (mayor  $T_o$  y  $T_p$ ), van a fijar su estructura más tarde durante el horneado, por lo que van a tener un mayor FG.

Se realizó un análisis de correlación de Pearson con el objetivo de conocer la relación existente entre los parámetros de perfil térmico de las harinas y la distribución de tamaño de gránulos de almidón (Tabla 3.24).

**Tabla 3.24.** Coeficientes de correlación de los parámetros de perfil térmico de las harinas y la distribución de tamaño de gránulos de almidón<sup>a, b</sup>.

	<b>% Vol. A1</b>	<b>% Vol. pico A</b>	<b>Diam. pico A</b>	<b>% Vol. pico B</b>	<b>Diam. pico B</b>	<b>A1/B</b>
<b>To</b>	0,47**	0,50**	-0,37*	-0,33*	-0,55**	0,44**
<b>Tp</b>	ns	0,45**	-0,41**	-0,31*	-0,56**	0,40*
<b>ΔH</b>	0,40*	0,38*	-0,31*	ns	-0,42**	0,32*
<b>ΔHr</b>	ns	0,41**	ns	ns	-0,35*	0,30*

<sup>a</sup> Temperatura de inicio ( $T_o$ ), de pico ( $T_p$ ), ancho del pico ( $\Delta p$ ) y entalpía ( $\Delta H$ ) de la gelatinización; entalpía de retrogradación ( $\Delta H_r$ ).

<sup>b</sup>\*, \*\*, Indican significancia a  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$  respectivamente, ns: no significativo.

$T_o$  mostró una correlación positiva con el porcentaje de volumen de gránulos A1 y el volumen de pico de gránulos A y con la relación de gránulos A/B, a la vez que correlacionó de manera negativa con los diámetros de pico de los gránulos A y B y con el volumen de pico de los gránulos B. Esto indica que a mayor proporción de gránulos A, mayor será la temperatura de inicio de la gelatinización, mientras que la tendencia

contraria se observó con la proporción de gránulos B. Respecto a la relación entre  $T_0$  y el diámetro de pico de los gránulos A y B, se observa la misma tendencia: mientras mayor sea el diámetro, menor será la temperatura de inicio de la gelatinización.

El  $\Delta H$  de gelatinización correlacionó positivamente los porcentajes de volumen y de pico de los gránulos A y con la relación de gránulos A/B, indicando que los almidones que poseen una mayor proporción de gránulos A tienen un mayor grado de cristalinidad. Kim y Huber (2010), quienes trabajaron sobre fracciones purificadas de gránulos A y B de trigos normales y waxy (sin amilosa) encontraron que los gránulos B (en relación a los A) poseían una mayor proporción de cadenas cortas de amilopectina, y una menor proporción de cadenas largas e intermedias, lo que atribuyeron a un menor grado de cristalinidad relativa. En este trabajo también informaron que los gránulos A, de almidón nativo y waxy, gelatinizan a mayor temperatura ( $T_0$ ) y presentan una entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ) mayor que los gránulos B.

## **PERFIL DE VISCOSIDAD**

Las propiedades de *pasting* de las harinas de trigos se encuentran gobernadas por su principal constituyente, el almidón. Los cambios de viscosidad que sufre una mezcla de harina y agua durante ciclos de calentamiento y enfriamiento se relacionan con la gelatinización y la retrogradación del almidón. Dichos cambios afectan las propiedades de muchos procesos en la industria alimentaria. En panificación las temperaturas de gelatinización afectan la expansión de las masas panarias o los batidos durante el horneado, mientras que la retrogradación es una de las principales causas del endurecimiento de estos productos.

Con el fin de evaluar el perfil de viscosidad de las harinas, se realizaron mezclas de harina y agua y se midió su viscosidad mediante un RVA (Rapid Visco Analyser). Este

equipo permite analizar el comportamiento de una pasta formada por harina y agua en un ciclo de enfriamiento/calentamiento, registrando la viscosidad de la solución. Los gránulos de almidón presentes en la harina comienzan a absorber agua al comienzo del ciclo. A una determinada temperatura comienza la gelatinización del almidón, con el consiguiente incremento de la viscosidad de la pasta. Sin embargo, los gránulos comienzan a romperse, por lo que una vez alcanzado un máximo de viscosidad esta tiende a disminuir. Cuando la pasta vuelve a enfriarse el almidón se reorganiza, y como consecuencia de este fenómeno, llamado retrogradación, la viscosidad vuelve a incrementar (Gómez *et al.*, 2007).

Cada uno de los parámetros medidos por el equipo puede asociarse a diferentes características o propiedades de las harinas. La **temperatura de *pasting***, la que se registra cuando comienza a incrementarse la viscosidad, y provee información sobre la mínima temperatura requerida para cocinar el almidón de una determinada muestra. La **viscosidad máxima**, la máxima viscosidad alcanzada durante el calentamiento, es un indicador de la capacidad del almidón de ligar agua. La **estabilidad**, la diferencia entre la viscosidad máxima y la viscosidad de caída, es una medida de la resistencia de los gránulos de almidón de la muestra a la temperatura y la tensión de cizalla. La **viscosidad de caída**, el menor valor de viscosidad antes de que comience la retrogradación, es una medida de la estabilidad de la muestra. Durante el enfriamiento de la pasta de harina (o almidón) y agua, ocurre una re-asociación entre las moléculas de almidón, especialmente de la amilosa, resultando en un incremento de la viscosidad. Esta fase denominada **retrogradación** (diferencia entre la viscosidad final y la viscosidad de caída), es comúnmente relacionada con la retrogradación o re-asociación de la amilosa. Por último, la viscosidad final, es la viscosidad alcanzada luego del enfriamiento y representa la capacidad del material para formar una pasta o gel viscoso después del calentamiento y enfriamiento (Singh *et al.*, 2010).

En la Tabla 3.25 se muestran los resultados obtenidos a partir del análisis de perfil de viscosidad. Se observó un importante rango de valores respecto a las propiedades de

*pasting* de las harinas entre los diferentes genotipos de trigo y entre ambos años de cosecha.

Se encontraron diferencias significativas entre los dos años de cosecha para todos los parámetros evaluados a excepción de la viscosidad de caída. Las harinas de la cosecha 2006 presentaron mayor temperatura de *pasting* ( $p < 0,0001$ ), y menores valores de pico de viscosidad ( $p < 0,0001$ ), estabilidad ( $p < 0,0001$ ), retrogradación ( $p < 0,0001$ ) y viscosidad final ( $p = 0,0082$ ). Diversos autores han informado sobre el impacto que tienen las condiciones ambientales durante el desarrollo del grano en las propiedades de *pasting* de las harinas obtenidas a partir de estos (Dengate y Meredith, 1984; Morris *et al.*, 1997; Singh *et al.*, 2010). Las condiciones ambientales adversas (altas temperaturas y sequía) durante la antesis y el llenado del grano han sido identificadas como una gran limitante de la calidad del trigo a nivel mundial, afectando la síntesis de proteínas y de almidón (Jiang *et al.*, 2009; Triboi *et al.*, 2003); y como consecuencia las propiedades de los mismos.

**Tabla 3.25.** Valores rango, promedio y desviación estándar de los parámetros del perfil de viscosidad de las harinas obtenidos mediante el análisis del RVA<sup>a</sup>.

	Rango		Promedio $\pm$ DE		
	2006	2007	2006	2007	2006 y 2007
<b>Temp. <i>Pasting</i> (°C)</b>	83,25 - 89,80	75,10 - 87,30	86,94 A	84,19 B	85,56 $\pm$ 2,34
<b>Pico de viscosidad (cP)</b>	1849 - 3614	1799 - 4030	2811 B	3314 A	3062 $\pm$ 526
<b>Estabilidad</b>	349 - 1279	927 - 1631	791 B	1330 A	1060 $\pm$ 340
<b>Visc. caída (cP)</b>	1251 - 2530	543 - 2619	2020 A	1983 A	2001 $\pm$ 409
<b>Retrogradación</b>	1186 - 1872	840 - 2209	1513 B	1901 A	1707 $\pm$ 303
<b>Visc. Final (cP)</b>	2561 - 4265	1383 - 4760	3533 B	3885 A	3709 $\pm$ 632

<sup>a</sup> Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Se observaron diferencias significativas entre genotipos para la viscosidad final y la viscosidad de caída, siendo las muestras 44 y 19 las que mostraron los menores valores para ambos parámetros.

Varios autores han informado sobre el efecto que tienen los diferentes constituyentes de una harina sobre sus propiedades de *pasting*, entre los que se destacan el contenido de amilosa, gluten y pentosanos (Jelaca y Hlynka, 1971; Loney *et al.*, 1975; Moss y Miskelly, 1984; Morris *et al.*, 1997). Con el objetivo de conocer la relación existente entre las características de las harinas y sus propiedades de *pasting*, se realizó un análisis de correlación de Pearson (Tabla 3.26).

**Tabla 3.26.** Coeficientes de correlación entre los parámetros de perfil de viscosidad de las harinas y el contenido de amilosa, pentosanos solubles (PS) y almidón dañado (AD), los SRC de sacarosa (SRCsac), carbonato (SRCcarb), agua y el factor galletita (FG).

	<b>Amilosa</b>	<b>PS</b>	<b>AD</b>	<b>SRCsac</b>	<b>SRCcarb</b>	<b>SRCagua</b>	<b>FG</b>
<b>Temp. Pasting</b>	ns	ns	ns	0,34*	ns	ns	-0,46**
<b>Pico de viscosidad</b>	-0,31*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Estabilidad</b>	-0,49**	-0,34*	-0,35*	ns	-0,33*	-0,37*	0,37*
<b>Visc. caída</b>	ns	ns	ns	0,32*	ns	ns	-0,34*
<b>Retrogradación</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,31*
<b>Visc. Final</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,35*

\*, \*\*, Indican significancia a  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$  respectivamente, ns: no significativo.

El contenido de amilosa presentó una correlación negativa con el pico de viscosidad y la estabilidad. Los incrementos en el contenido de amilosa se encuentran generalmente asociados a una disminución en el pico de viscosidad (Loney y Meredith, 1974; Zeng *et al.*, 1997). Hung *et al.* (2007) informaron que los trigos altos en amilosa tienen menores picos de viscosidad, estabilidad y viscosidad final. Por su parte, Morita *et al.* (2002) encontraron que los almidones de trigo waxy gelatinizan más rápidamente y alcanzan mayores picos de viscosidad que los de trigos normales. Van Hung *et al.* (2008) reportaron que los almidones de trigo altos en amilosa presentaron menores picos de viscosidad que los almidones normales. Teniendo en cuenta que la amilopectina es la principal responsable del hinchamiento de los gránulos de almidón (Teste y Morris, 1990), los trigos con menor contenido de amilosa van a presentar un menor grado de hinchamiento y como consecuencia una menor viscosidad y una mayor estabilidad.

La estabilidad se correlacionó de manera negativa con pentosanos solubles, almidón dañado, y con los SRC de carbonato y agua. Esto indica que los componentes capaces de absorber agua, aumentan el grado de estabilidad de un gel de almidón sometido a calentamiento y agitación. Estos componentes van a competir por el agua con el almidón, reduciendo el grado de hinchamiento, y como consecuencia la tendencia a romperse.

El SRC de sacarosa mostró una correlación positiva con la temperatura de *pasting* y con la viscosidad de caída. Sasaki *et al.* (2000), quienes trabajaron con fracciones de almidón puro y con distintas cantidades de pentosanos solubles, encontraron que a medida que aumenta el contenido de pentosanos capaces de absorber agua, disminuye la capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón, aumentando la temperatura de *pasting*. Del mismo modo, la disminución del contenido de agua libre conlleva a un aumento de la viscosidad en el sistema que provoca que la caída de la viscosidad, debida a la ruptura de los gránulos de almidón, sea menor (mayor viscosidad de caída).

El factor galletita correlacionó negativamente con la viscosidad final, la temperatura de *pasting*, la viscosidad de caída y la retrogradación, mientras que con la estabilidad mostró una correlación positiva. Estos resultados indican que las harinas que tiendan a aumentar su viscosidad a mayores temperaturas, a formar geles menos estables y con menor tendencia a retrogradar cuando son enfriados, van a producir galletitas con mayor relación de diámetro y altura (mayor FG). Si bien en la masa de la galletita la disponibilidad de agua es mucho menor, la relación encontrada entre el FG y los distintos parámetros de *pasting* evidencian una relación entre el perfil de viscosidad de una harina y el comportamiento que tendrá durante la elaboración de galletitas.

Se realizó un análisis de Pearson para conocer las relaciones existentes entre el tamaño y la distribución de volumen de los gránulos de almidón y los valores de DSC con el perfil de viscosidad de las harinas (Tabla 3.27).

**Tabla 3.27.** Coeficientes de correlación entre la distribución de tamaño de los gránulos de almidón y los valores de DSC con los parámetros de perfil de viscosidad de las harinas<sup>a, b</sup>.

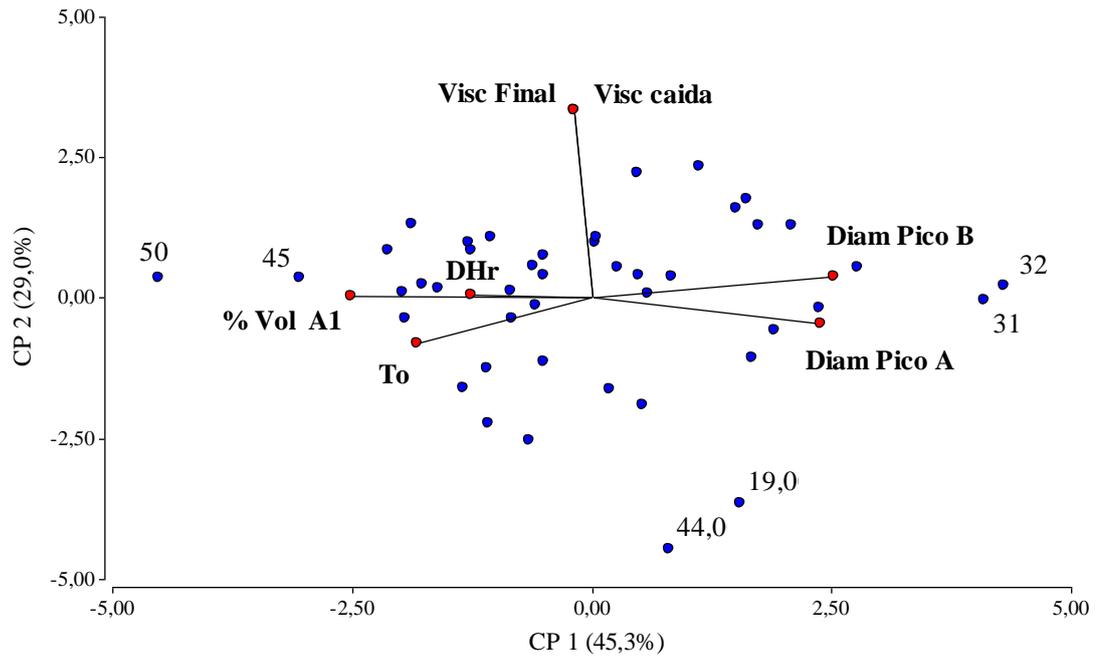
	<b>Temp. Pasting Estabilidad</b>	
<b>% Vol. A1</b>	ns	0,43**
<b>Diam. pico A</b>	-0,32*	-0,34*
<b>% Vol. pico A</b>	ns	0,42**
<b>Diam. pico B</b>	ns	-0,54**
<b>A1/B</b>	ns	0,38*
<b>To</b>	ns	0,68**
<b>Tp</b>	ns	0,63**
<b>ΔH</b>	ns	0,30*
<b>ΔHr</b>	ns	0,39*

<sup>a</sup> Temperatura de inicio (To), de pico (Tp), ancho del pico (Δpico) y entalpía (ΔH) de la gelatinización; entalpía de retrogradación (ΔHr).

<sup>b</sup> \*, \*\*, Indican significancia a  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$  respectivamente, ns: no significativo.

Se encontró una asociación positiva entre el porcentaje de volumen de los gránulos A y la relación de volúmenes de gránulos A y B con la estabilidad, indicando que las harinas que poseen mayor proporción de gránulos A son menos estables cuando se las somete a calentamiento y fuerza de cizalla, y por ende que los gránulos de mayor tamaño son más propensos a romperse. Shinde *et al.* (2003) encontraron la misma asociación entre el contenido de gránulos A y la estabilidad medida por RVA. En concordancia con esto se encontró una asociación negativa entre la estabilidad y los diámetros de los gránulos A y B.

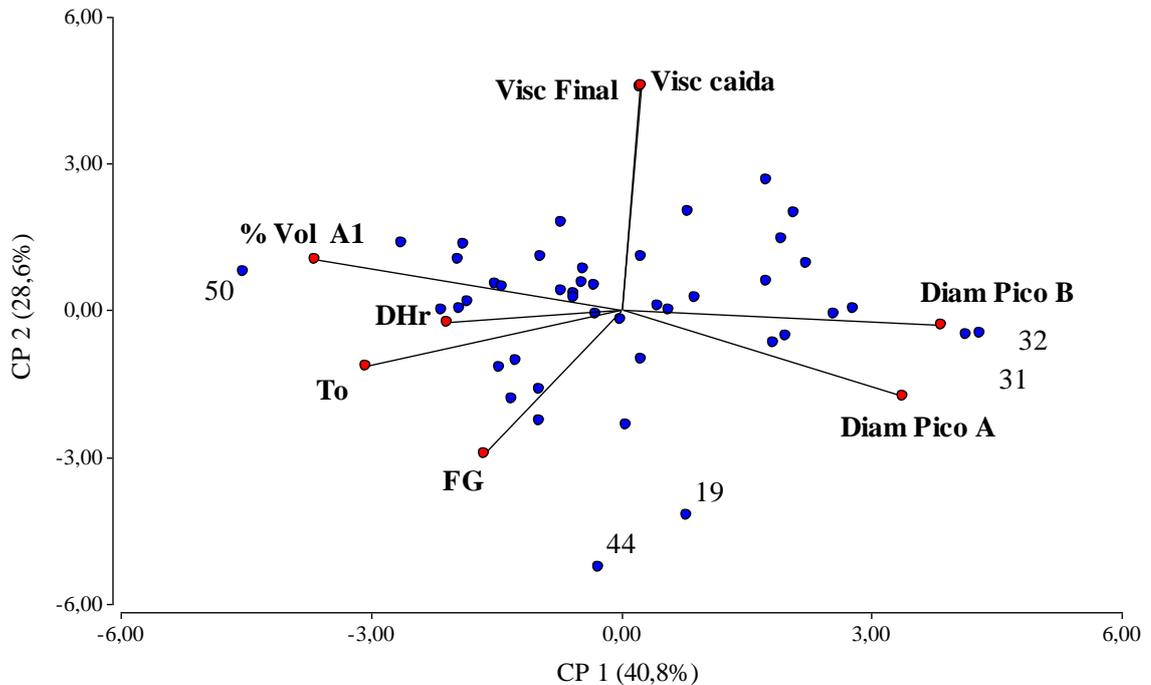
Con el objetivo de evaluar la variabilidad entre las muestras en función de las características del almidón, se realizó un análisis de Componentes Principales utilizando como variables los parámetros que mostraron diferencias significativas entre genotipos. En la Figura 3.11 se muestra el gráfico Biplot obtenido en el análisis. Cada punto del gráfico corresponde a un genotipo, mientras que los rayos representan a cada una de las variables evaluadas.



**Figura 3.11.** Biplot del análisis de Componentes Principales de los trigos. Los puntos representan a los 44 genotipos y los rayos a las distintas variables evaluadas.

Entre ambos ejes se pudo explicar el 74,3% de la variabilidad encontrada entre los distintos genotipos. La Componente Principal 1 separa el porcentaje de volumen de los gránulos A, la  $T_o$  y el  $\Delta Hr$  de los diámetros de Pico de los gránulos A y B, lo que representa el 45,3% de la variabilidad de las muestras. Por su parte la CP 2 separa a los trigos en función la viscosidad de caída y la viscosidad final, explicando el 29% de la variabilidad total. En el gráfico se observa una gran dispersión, lo que indica una importante variabilidad en las características del almidón entre los distintos genotipos. El eje x separa los genotipos 45 y 50, con mayores valores de % Vol A1 y  $T_o$ , por un lado y a los genotipos 32 y 33, con mayores diámetros de pico de A y B, por el otro. Mientras que el eje y separa dos genotipos, el 44 y el 19, asociados a menores valores de viscosidad de caída y viscosidad final. Cabe destacar que estos dos genotipos (junto con el 47) presentaron la composición de HMW-GS y secalinas ( $Glu-A1$ = nulo,  $Glu-B1$ = 7+8,  $Glu-D1$ = 2+12 y sin secalinas) que mostró el mejor desempeño en calidad galletitera.

En la figura 3.12 se muestra el Biplot del análisis de CP donde también se incluyó el FG como variable con el objetivo de explorar la relación encontrada entre las características del almidón y la calidad galletitera de las harinas.



**Figura 3.12.** Biplot del análisis de Componentes Principales de los trigos. Los puntos representan a los 44 genotipos y los rayos a las distintas variables evaluadas.

Con este nuevo análisis observamos que entre ambos ejes se puede explicar el 69,4% de la variabilidad de las muestras, y que la distribución de la nube de puntos, que representan a los 44 genotipos de trigo blando, es muy similar al análisis anterior, donde se siguen separando los mismos genotipos en función de las características del almidón. El FG tiene mayor peso sobre la CP 2 y se contrapone a la viscosidad de caída y la viscosidad final; al mismo tiempo que se asocia a los genotipos 44 y 19.

Si bien existe mucha controversia respecto al rol que cumple el almidón durante la elaboración de galletitas, dado que es un sistema con bajo contenido de agua y altos niveles de azúcar y grasa, los resultados encontrados en el presente trabajo evidencian la existencia

de una dependencia entre las características del almidón y la calidad galletitera de la harina. La relación encontrada entre  $T_o$  y  $T_p$  con el FG muestra que la gelatinización del almidón de trigo influye de manera directa sobre el desarrollo de la galletita durante el horneado. Así mismo, las relaciones halladas entre FG y la estabilidad de los gránulos de almidón evidencian un efecto de la estructura del almidón sobre el desarrollo de la galletita. De estos resultados surge la necesidad de realizar futuros estudios que permitan profundizar y comprender mejor las asociaciones encontradas entre la estructura y las características del almidón sobre la calidad galletitera de las harinas de trigos blandos.

## **CAPITULO 4**

## CONCLUSIONES GENERALES

Se encontró una importante variabilidad genética entre los 44 trigos blandos estudiados en cuanto a la composición de HMW-GS y secalinas. El *loci Glu-A1* presentó tres variantes alélicas, siendo la subunidad 2\* la de mayor frecuencia. Para el *locus Glu-B1*, se identificaron seis variantes, dentro de las cuales predominaron las subunidades 7+8 y 7+9. Para el *locus Glu-D1* se identificaron tres variantes alélicas, siendo la combinación de subunidades 2+12 la más frecuente. Así mismo se vio que el 61,4 % de los trigos no tenían secalinas, que el 34,1% poseían la translocación 1BL/1RS, y el 4,5% restantes la 1AL/1RS. Dentro de los 44 trigos en estudio se identificaron 23 combinaciones teniendo en cuenta los tres *loci Glu-1* y las secalinas.

El tamaño de partícula de las harinas (PSA) resultó un buen parámetro para evaluar la textura del grano en trigos blandos dada su correlación con el índice de tamaño de partículas. Pese a que todos los trigos estudiados resultaron blandos, de acuerdo a la composición de puroindolinas, se encontró una gran variabilidad entre genotipos para el PSA, indicando un marcado efecto de otros factores asociados a la textura de los granos de trigos, además de los genéticos, que influyen sobre el modo en que se encuentran asociados los gránulos de almidón a la matriz proteica. El PSA, mostró una correlación positiva con el contenido de proteínas y de almidón dañado, indicando que mientras mayor es el contenido proteico mayor es la dureza del grano, y por lo tanto mayor será el daño sufra el almidón durante la molienda de los granos. El FG correlacionó de manera negativa con el PSA, indicando que las harinas más finas, provenientes de granos más blandos, van a producir mejores galletitas.

Los diferentes genotipos mostraron una gran variabilidad en cuanto a su composición (contenido de proteínas, gluten, almidón dañado y pentosanos), la calidad galletitera de sus harinas (evaluada mediante las pruebas de predicción IRAA y SRC), y la calidad de las galletitas elaboradas (evaluadas con el FG, la textura y el color de las

galletitas). El tamaño de partícula de las harinas (PSA), el contenido de proteínas, pentosanos totales y almidón dañado, los SRC láctico y carbonato, y el FG también presentaron variación interanual indicando que tanto las condiciones genéticas como las ambientales afectan de manera significativa la composición de los granos, condicionando la calidad final de los productos elaborados a partir de harinas de trigo.

Considerando los resultados obtenidos mediante los ensayos de predicción, se puede afirmar que el SRC resultó una poderosa herramienta para diferenciar trigos blandos de acuerdo a su aptitud galletitera, mientras que el IRAA no logró discriminar genotipos de acuerdo a su calidad galletitera cuando los trigos pertenecen a un mismo tipo de textura, en este caso de textura blanda.

La calidad de las galletitas, evaluada principalmente mediante el FG, se vio afectada fuertemente y de manera negativa por el tamaño de partícula de las harinas, los componentes responsables de la absorción de agua: almidón dañado, pentosanos solubles y totales, lo que se reflejó en los SRC asociados a estos (SRCcarb, SRCsac, SRCagua). Por otro lado el contenido de proteínas y los parámetros del gluten, no expresaron efecto sobre la calidad galletitera de los trigos blandos, probablemente porque durante la elaboración de galletitas el desarrollo de la red de gluten se ve limitado debido a los grandes niveles de grasa y azúcar que tiene la masa. Los componentes de la harina capaces de absorber agua afectan fuertemente la calidad galletitera, ya que vuelven a las masas más viscosas, afectando su capacidad de expansión durante el horneado, lo que produce galletitas con menor FG.

En cuanto al color, se encontró una asociación negativa entre la luminosidad (L) y el FG, y positiva entre L y almidón dañado, pentosanos (solubles y totales), y los SRC de sacarosa, carbonato y agua. Esto indica que las harinas con mayor capacidad de absorber agua van a producir galletitas más claras y de menor relación diámetro y altura. En este trabajo observamos que las galletitas que menos se expandieron durante el horneado,

consideradas de menor calidad, presentaron una superficie lisa y más blanca, con valores de L mayores.

En base a los resultados se logró desarrollar una ecuación de predicción del FG con la cual es posible seleccionar harinas de trigo blando con buena aptitud para la elaboración de galletitas utilizando como variables el tamaño de partícula de la harina (PSA), el contenido de almidón dañado y el SRC sacarosa, dejando en evidencia el marcado efecto de la textura del grano y la capacidad de absorción de agua de la harina sobre la calidad galletitera.

Las diferencias en la composición de gluteninas de alto peso molecular y la presencia de secalinas mostraron un marcado efecto sobre las características, la composición y la calidad galletitera de los trigos blandos.

La ausencia de subunidades de gluteninas del *locus Glu-A1* se relacionó con harinas de menor granulometría (trigos más blandos) y con galletitas de mayor relación diámetro y altura. Dado que este *locus* no mostró relación con la composición de la harina o la retención de solventes, la influencia del alelo nulo sobre la calidad de la galletita puede estar relacionada a una disminución en la fuerza de la masa causada por una reducción en la cantidad de proteínas poliméricas.

Para el *locus Glu-B1* se encontró que los trigos que poseían las subunidades 6+8 fueron los de mayor contenido proteico. Los trigos que tenían las subunidades 7+9 presentaron los menores valores de almidón dañado, a la vez que mostraron menor capacidad de absorción para los SRC de carbonato y agua, por otro lado la presencia de las subunidades 17+18 se asoció con los valores más altos para estas tres variables. Cabe destacar que si bien las diferencias observadas en el factor galletita no fueron significativas para el *locus Glu-B1*, los trigos que poseían las subunidades 13+16 y 17+18 mostraron los

menores valores de FG, mientras que los de mayores valores fueron asociados a trigos con las subunidades 7+9 y 6+8.

La variación de gluteninas para el *locus Glu-D1* solo afectó al SRC láctico, siendo las subunidades 5+10 las que mostraron mayores valores de absorción. En lo que respecta a la calidad galletitera, si bien no se encontraron diferencias significativas para las HMW-GS correspondientes al este *locus*, los trigos que presentaron las subunidades 5+10 produjeron las galletitas con menor factor.

La presencia de las translocaciones del centeno, 1BL/1RS y 1AL/1RS, se asoció con un aumento en el contenido de almidón dañado, pentosanos totales y solubles, y en la absorción de los SRC de agua, sacarosa y carbonato. El efecto causado sobre la composición y la capacidad de absorción de las harinas, se vio reflejado en una disminución significativa del factor galletita en comparación con los trigos sin la translocación. Estos resultados confirman el efecto negativo que tiene la translocación del centeno sobre la calidad galletitera de trigos blandos.

En base a los resultados encontrados se puede afirmar que la variación alélica del *locus Glu-A1* y la translocación del centeno son los parámetros que mayor influencia tienen sobre la calidad galletitera de trigos blandos. Si bien no se encontraron tendencias tan claras para los demás *loci*, se pudieron identificar tres genotipos (19, 44 y 47) cuya combinación alélica (*Glu-A1*= nulo, *Glu-B1*= 7+8, *Glu-D1*= 2+12 y sin secalinas) resultó en harinas con la mejor calidad galletitera.

A partir de los resultados obtenidos mediante el análisis de modelos lineales generales y mixtos se desarrolló una ecuación que permite predecir el FG que se obtendrá con una harina a partir de la composición de HMW-GS y secalinas del trigo.

Las características del almidón (el contenido de amilosa y los parámetros de tamaño y distribución de volumen de los gránulos) presentaron una gran variabilidad entre los distintos genotipos de trigo, pero no mostraron diferencias interanuales. Por otra parte sí se observaron variaciones entre años, así como genéticas, en parámetros correspondientes al perfil térmico de las harinas ( $T_o$ ,  $T_p$ ,  $\Delta Pico$  y  $\Delta H$  de gelatinización y retrogradación) y en casi todos los parámetros de *pasting* (temperatura de *pasting*, pico de viscosidad, estabilidad, retrogradación y viscosidad final), indicando un efecto ambiental sobre las propiedades térmicas y de viscosidad del almidón.

Se encontraron asociaciones entre la composición de las harinas y las características del almidón. Los trigos cuyos almidones presentaron una mayor proporción de gránulos A, en relación a los B, produjeron harinas con menor contenido de almidón dañado.

Los trigos cuyos almidones presentaron una mayor proporción de gránulos A, exhibieron una mayor temperatura de inicio de la gelatinización ( $T_o$ ), y se asociaron con un mayor  $\Delta H$  de gelatinización, indicando un mayor grado de cristalinidad para estos trigos.

El contenido de amilosa afectó el perfil de viscosidad de las harinas. Las harinas provenientes de trigos con mayor contenido de amilosa produjeron pastas menos viscosas y más estables cuando fueron calentadas en presencia de agua. El contenido de pentosanos solubles y de almidón dañado produjo el mismo efecto sobre la estabilidad. Los trigos con menor contenido de amilosa presentan un menor grado de hinchamiento de los gránulos, por otro lado los componentes hidrofílicos compiten con el almidón por el agua, lo que reduce el grado de hinchamiento, como consecuencia ambos factores disminuyen el grado de hinchamiento de los gránulos, volviéndolos más estables.

El factor galletita correlaciona de manera positiva con  $T_o$  y  $T_c$ , indicando que las harinas de trigo blando que gelatinizan a mayor temperatura producen galletitas con una mayor relación diámetro/altura.

En el análisis de componentes principales donde se evaluó la variabilidad de las muestras según las características del almidón, seis trigos se diferenciaron del resto: los genotipos 45 y 50, con mayores valores de % Vol A1 y  $T_o$ , por un lado, los genotipos 32 y 33, con mayores diámetros de pico de A y B, por el otro y los genotipos 44 y 19, asociados a menores valores de viscosidad de caída y viscosidad final. Cabe destacar que estos dos últimos junto con el genotipo 47 presentaron la composición de HMW-GS y secalinas con mejor desempeño en cuanto a calidad galletitera.

Si bien existe mucha controversia respecto al rol que cumple el almidón durante la elaboración de galletitas, dado que es un sistema con bajo contenido de agua y altos niveles de azúcar y grasa, los resultados encontrados en el presente trabajo evidencian la existencia de una relación entre las características del almidón y la calidad galletitera de la harina.

Como principal conclusión de este trabajo de tesis doctoral podemos resaltar que la composición alélica del *locus Glu-A1* y la translocación del centeno, junto con el tamaño de partícula de las harinas, el contenido de pentosanos solubles (medidos mediante el SRC sacarosa) y de almidón dañado resultan herramientas muy adecuadas a la hora de predecir la funcionalidad de trigos blandos para la selección de cultivares en programas de mejoramiento.

En base a los resultados obtenidos en este trabajo surge como propuesta evaluar un grupo seleccionados de trigos blandos con el alelo nulo para *Glu-A1* y con ausencia de translocación de centeno, que presenten una variabilidad más equilibrada en cuanto a los

*loci Glu-B1* y *Glu-D1* que permita una evaluación más precisa del efecto de las distintas subunidades de estos *loci* sobre la calidad galletitera.

En cuanto al papel que juega las características del almidón en la calidad de las galletitas, surge la necesidad de profundizar sobre las relaciones existentes entre las propiedades térmicas y de *pasting* de las harinas y la calidad galletitera de trigos blandos. En futuros estudios se propone incluir como componente genético de estudio la variabilidad de genes vinculados con la síntesis de amilosa y amilopectina en el almidón, que afectan las propiedades térmicas y de *pasting* de la harina de trigo y sus posibles usos industriales.

Para el mejoramiento genético de los trigos blandos destinados a la elaboración de galletitas surge como propuesta utilizar el mapeo de asociación para identificar marcadores ligados a los componentes de las harinas asociados a la calidad galletitera, como el contenido de pentosanos, las propiedades de absorción de agua o las características térmicas y de viscosidad del almidón. El mapeo de asociación busca identificar marcadores ligados a variaciones fenotípicas en un carácter de interés a partir de una muestra de individuos, sobre la base del desequilibrio de ligamiento observado en poblaciones no estructuradas como pueden ser poblaciones naturales, colecciones de germoplasma, líneas o variedades elite de un programa de mejoramiento. Esta propuesta tiende a la obtención de variedades de trigo diferenciadas por su óptima aptitud galletitera y un buen desempeño agronómico a fin de responder tanto a los intereses del productor agropecuario como a las demandas de la industria.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- AACC International 2000. Approved Methods of Analysis, 10th Ed. Methods 22-18, 38-12A, 44-19, 46-13, 55-30.01, 56-10, 56-11, 76-30A and 80-60. AACC International, St. Paul, MN.
- Abboud A., Rubenthaler G. and Hosene R. 1985. Effect of fat and sugar in sugar-snap cookies and evaluation of test to measure flour quality. *Cereal Chemistry*, 62: 124-129.
- Agyare K. K., Addo K., Xiong Y. L. and Akolh C. C. 2005. Effect of structured lipid on alveograph characteristics, baking and textural qualities of wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 42: 309-316.
- Ames N. P., Clarke J. M., Maningat O. and Izydorczyk M. S. 1999. Variation of starch granule size in durum wheat cultivars. [http://: www. scisoc. org/aacc/meeting/1999/abstracts /1999](http://www.scisoc.org/aacc/meeting/1999/abstracts/1999) . [2006-10-15]. AACC International, St. Paul, MN.
- Amiour N., Jahier J., Tanguy A. M., Chiron H., and Branlard G. 2002. Effect of 1R(1A), 1R(1B) and 1R(1D) substitution on technological value of bread wheat. *Journal of Cereal Science*, 35: 149–160.
- Ammar K., Kronstad W. E. And Morris C.F. 2000. Breadmaking quality of selected durum wheat genotypes and its relationship with high molecular weight glutenin subunits allelic variation and gluten protein polymeric composition. *Cereal Chemistry*, 77: 230-236.
- Andrews J. L., Hay R. L., Skerrett J. H., and Sutton K. H. 1994. HPLC and immunoassay based glutenin subunit analysis: screening for dough properties in wheats grown under different environmental conditions. *Journal of Cereal Science*, 20: 203-215.
- Anjum F. M, Walker C. E. 1991. Review on the significance of starch and protein to wheat kernel hardness. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 56: 1-13.
- Ao Z. and Jane J. L. 2007. Characterization and modeling of the A- and B-granule starches of wheat, triticale, and barley. *Carbohydrate Polymers*, 67: 46-55.
- Atwell W. A., Hood L. F., Lineback D. R., Varriano-Marston E., Zobel H. F. 1988. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, 33: 306–311.
- Baltsavias A., Jurgens A. and Van Vliet T. 1999. Fracture properties of short-dough: effect of composition. *Journal of Cereal Science*, 29: 235-244.
- Barichello V., Yada R. Y., Coffin R. H. and Stanley D. W. 1990. Low temperature sweetening in susceptible and resistant potatoes: starch structure and composition. *Journal of Food Science*, 54: 1054-1059.
- Barlow K. K., Buttrose M. S., Simmonds D. H. and Vest M. 1973. The nature of the starch-protein interface in wheat endosperm. *Cereal Chemistry*, 50: 443-454.
- Barrera G. N. Pérez G. T. Ribotta P. D. and León A. E. 2007. Influence of damaged starch on cookie and bread-making quality. *European Food Research and Technology*, 225: 1–7.
- Barrera G. N., León A. E. and Ribotta P. D. 2013. Effect of damaged starch on starch thermal behavior. *Starch/Stärke*, 116: 233-239.
- Bassett L. M., Allan R. E. and Rubenthaler G. L. 1989. Genotype × environment interactions on soft white winter wheat quality. *Agronomy Journal*, 81: 955-960.
- Bechtel D. B. and Wilson J. D. 2000. Variability in a starch isolation method and automated digital image analysis system used for the study of starch size distributions in wheat flour. *Cereal Chemistry*, 77: 401-405.

- Belton P. S., Colquhoun I. J., Grant A., Wellner N., Field J. M., Shewry P. R. and Tatham A. S. 1995. FTIR and NMR studies of a highMr Subunit of glutenin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 17: 74–80.
- Belton P. S. 1999. On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science*, 29: 103-107.
- Belton P. S. 2005. New approaches to study the molecular basis of the mechanical properties of gluten. *Journal of Cereal Science*, 41: 203–211.
- BeMiller J. N. and Whistler R. L. 1996. Carbohydrates. En: *Food Chemistry* (3rd Edition). Fennema O. R. (ed.) Marcel Dekker, Nueva York, EUA. pp. 157-223.
- Bertolini A. C., Souza E., Nelson J. E. and Huber K. C. 2003. Composition and reactivity of A- and B-type starch granules of normal, partial waxy, and waxy wheat. *Cereal Chemistry*, 80: 544-549.
- Bettge A., Morris C. and Greenblatt G. 1995. Assessing genotypic softness in single wheat kernel using starch granule-associated friabilin as biochemical marker. *Euphytica*, 86: 65-72.
- Bettge A. D. and Morris C. F. 2000. Relationships Among Grain Hardness, Pentosan Fractions, and End-Use Quality of Wheat. *Cereal Chemistry*, 77: 241-247.
- Bhave M. and Morris C.F. 2008. Molecular genetics of puroindolines and related genes: allelic diversity in wheat and other grasses. *Plant Molecular Biology*, 66: 205-219.
- Biliaderis C. G., Maurice T. and Vose J. 1980. Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, 45: 1669-1674.
- Biliaderis C. G. 1990. Thermal analysis of food carbohydrates. En: *Thermal analysis of foods*. Harwalker V. R. and Ma C.Y. (eds.) Academic Press, New York, EUA. pp. 168-220.
- Biliaderis C. G. 2009. Structural Transitions and Related Physical Properties of Starch. En: *Starch*. Third Edition. BeMiller J. and Whistler R. Oxford, UK, pp. 293-371.
- Blazek J. and Copeland L. 2008. Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylose content. *Carbohydrate Polymers*, 71: 380-387.
- Blochet J. E., Chevalier C., Forest E., Pebay-Peyroula E., Gautier M.F., Joudrier P., Pezolet M. and Marion D. 1993. Complete amino acid sequence of puroindoline, a new basic and cysteine-rich protein with a unique tryptophan-rich domain, isolated from wheat endosperm by Triton X-114. *FEBS Letters*, 329: 336-340.
- Branlard G., Dardevet M., Amiour N. and Igrejas G. 2003. Allelic diversity of HMW and LMW glutenin subunits and omega-gliadins in French bread wheat (*Triticum aestivum L.*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50: 669-679.
- Bullrich L., Tranquilli G., Pfluger L. A., Suarez E. Y. and Barneix A. J. 1998. Bread-making quality and yield performance of 1BL/1RS wheat isogenic lines. *Plant Breeding*, 117: 119–122.
- Bushuk W. 1998. Interactions in wheat doughs. En: *Interactions: The key to cereal quality*. Hamer r. J. and Hosenev R. C. (eds.) AACC, Inc. St. Paul MN, USA, pp. 1-16.
- C.I.E. 1986. *Colorimetrie*. 2nd edition. Publication C.I.E. Viena: Central Bureau of the Comision Internationale de L'Eclairage. Vol. 15 (2).
- CAA, Código Alimentario Argentino, Ley 18.284 18/07/69, Decreto 2126/71-Reglamentario de la Ley 18.284. 2009/10a. Alimentos Farináceos - Cereales, Harinas y Derivados. Capítulo IX.  
[http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa/CAPITULO\\_IX\\_Harinas\\_actualiz\\_06-03.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa/CAPITULO_IX_Harinas_actualiz_06-03.pdf) <http://www.anmat.gov.ar/codigoa>, consultado en abril 2010.

- Cane K., Spackman M. and Eagles H. 2004. Puroindoline genes and their effects on grain quality traits in southern Australian wheat cultivars. *Australian Journal of Agricultural Research*, 55: 89-95.
- Chevallier S., Colonna P., Della Valle G. and Lourdin D. 2000. Contribution of mayor ingredients during baking of biscuit dough systems. *Journal of Cereal Science*, 31: 241-252.
- Chevallier S., Della Valle G., Colonna P., Broyart B. and Trystram G. 2002. Structural and chemical modifications of short dough during baking. *Journal of Cereal Science*, 35:1-10.
- Chiotelli E. and Le Meste M. 2002. Effect of small and large wheat starch granules on thermomechanical behavior of starch. *Cereal Chemistry*, 79: 286-293.
- Chung O. K. 1986. Lipid-protein interactions in wheat flour, dough, gluten, and protein fractions. *Cereal Food World*, 31: 242-256.
- Colombo A., Pérez G. T., Ribotta P. D. and León A. E. 2008. A comparative study of physicochemical tests for quality prediction of Argentine wheat flours used as corrector flours and for cookie production. *Journal of Cereal Science*, 48: 775-780.
- Colonna P. and Buleón, A. 1992. New insights on starch structure and properties. In *Cereal Chemistry. and technology: A long past and a bright future. IX International Cereal and Bread Congress, Paris, France.* pp, 25-42.
- Cooke D. and Gidley M. J. 1992. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition *Carbohydrat Reserch*, 227: 103-112.
- Cornish G.B., Bekes F., Allen H.M. and Martin D.J. 2001. Flour proteins linked to quality traits in an Australian doubled haploid wheat population. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52: 1339-1348.
- Dhaliwal A. S., Mares D. J. and Marshall D. R. 1987. Effect of 1B/1R chromosome translocation on milling and quality characteristics of bread wheats. *Cereal Chemistry*, 64: 72-76.
- Delwiche S. R. 1993. Measurement of single-kernel wheat hardness using near-infrared transmittance. *Trans. ASAE* 36: 1431-1437.
- Dengate H. N. and Meredith P. 1984. Do cultivar, season and location of growth affect wheat starch pasting? *Starch/ Stärke*, 36: 419-425.
- Doescher L. C., Hosney R.C., Milliken G. A. and Rubenthaler G.L. 1987. Effect of sugars and flours on cookie spread evaluated by time-lapse photography. *Cereal Chemistry*, 64: 163-167.
- Donelson J. and Gaines C. 1998. Starch-water relationships in the sugar-snao cookie doug system. *Cereal Chemistry*, 75: 660–664.
- Donovan J. W. 1979. Phase transitions of starch-water system. *Biopolymers*, 18: 263-275.
- Dornez E., Gebruers K., Joye I. J., De Ketelaere B., Lenartz Massaux C., Bodson B., Delcour J. A. and Courtin C. M. 2008. Effects of genotype, harvest year and genotype-by-harvest year interactions on arabinoxylan, endoxylanase activity and endoxylanase inhibitor levels in wheat kernels. *Journal of Cereal Science*, 47: 180-189.
- Dupont F.M. and Alternbach S.B. 2003. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *Journal of Cereal Science*, 38: 133-146.
- Duyvejonck A. E., Lagrain B., Pareyt B., Courtin C.M. and Delcour J.A. 2011. Relative contribution of wheat flour constituents to Solvent Retention Capacity profiles of European wheats. *Journal of Cereal Science*, 53: 312–318.

- Eagles H. A., Hollamby G. J., Gororo N. N. and Eastwood R. F. 2002. Estimation and utilization of glutenin gene effects from the analysis of unbalanced data from wheat breeding programs. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53:367-377.
- Eliasson A. C. and Karlsson R. 1983. Gelatinization properties of different size classes of wheat starch granules measured with differential scanning calorimetry. *Starch/Stärke*, 35: 130–133.
- Eliasson A. and Larsson K. 1993. Bread. En: *Cereals in Breadmaking*. Eliasson A., Larsson K. (eds.) Marcel Dekker, USA. pp. 325-363.
- Eliasson A. Gudmundsson M. 1996. Starch: Physicochemical and functional aspects. En: *Carbohydrates in Food*. Eliasson A. (ed.) Marcel Dekker, USA. pp. 431-503.
- Evers A. D. and Lindley J. 1977. The particle-size distribution in wheat endosperm starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28:98-101.
- Ewart J. A. D. 1989. Hypothesis for how linear glutenin holds gas in dough. *Food Chemistry*, 32: 135-150.
- Faridi H., Gaines C., and Finney P. 1994. Soft wheat quality in the production of cookies and crackers. En: *Wheat: Production, Properties, and Quality*. W. Bushuk and V. Rasper, (eds.). Chapman and Hall: Glasgow, Scotland. pp 154-168
- FAOSTAT. 2013. División estadística de la Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura. Informe producción mundial de granos. Publicado en internet disponible en: <http://faostat.fao.org>.
- Fausch H., Kundig W. and Neukom H. 1963. Ferulic acid as a component of a glycoprotein from wheat flour. *Nature*, pp. 199 - 287.
- Finney P. L. and Bains G. S. 1999. Protein functionality differences in eastern U.S. soft wheat cultivars and interrelation with end use quality tests. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 32:406-415.
- Finnie S. M., Bettge A. D. and Morris C. F. 2006. Influence of cultivar and environment on water-soluble and water-insoluble arabinoxylans in soft wheat. *Cereal Chemistry*, 83: 617-623.
- Gaines C. S. 1985. Associations among soft wheat flour particle size, protein content, chlorine response, kernel hardness, milling quality, white layer cake volume, and sugar-snap cookie spread. *Cereal Chemistry*, 62: 290-292.
- Gaines C. S. and Donelson J. R. 1985. Influence of certain flour quality parameters and postmilling treatments on size of angel food and high-ratio white layer cakes. *Cereal Chemistry*, 62: 60-63.
- Gaines C., Donelson J. and Finney J. 1988. Effects of damaged starch, chlorine gas, flour particle size, and dough holding time and temperature on cookie dough handling properties and cookie size. *Cereal Chemistry*, 65: 348-389.
- Gaines C. S. 1990. Influence of chemical and physical modification of soft wheat protein on sugar-snap cookie dough consistency, cookie size, and hardness. *Cereal Chemistry*, 67: 73–77.
- Gaines C. S. 1991. Instrumental measurements of the hardness of cookies and crackers. *Cereal Foods World*, 36: 989-996.
- Gaines C. S., Kassuba A. and Finney P. L. 1994. Influence of eight flours on the hardness of commercial cookies and crackers. *Cereal Foods World*, 39: 160, 162, 164, 166-167.
- Gaines C.S. 2000. Collaborative study of methods for solvent retention capacity profiles (AACC Approved Method 56-11.01). *Cereal Foods World*, 45: 303-306.

- Gaines C. S. 2004. Prediction of Sugar-Snap Cookie Diameter Using Sucrose Solvent Retention Capacity, Milling Softness, and Flour Protein Content. *Cereal Chemistry*, 81: 549–552.
- Gaines C. S., Frégeau Reid J., Vander Kant and Morris C. F. 2006. Comparison of Methods for Gluten Strength Assessment. *Cereal Chemistry*, 83: 284–286.
- Gale K.R. 2005. Diagnostic DNA markers for quality traits in wheat. *Journal of Cereal Science*, 41: 181-192.
- Gazza L., Nocente F., Ng P. K. W. and Pogna N. E. 2005. Genetic and biochemical analysis of common wheat cultivars lacking puroindoline a. *Theoretical and Applied Genetics*, 110: 470-478.
- Gazza L., Taddei F, Corbellini M, Cacciatori P. and Pogna N. E. 2008. Genetic and environmental factors affecting grain texture in common wheat. *Journal of Cereal Science*, 47: 52–58
- Geera B. P., Nelson J. E., Souza E. and Huber K. C. 2006 a. Compositional and properties of A- and B-type starch granules of wild-type, partial waxy, and waxy soft wheat. *Cereal Chemistry*, 83: 551-557.
- Geera B. P., Nelson J. E., Souza E. and Huber K. C. 2006 b. Flour Pasting Properties of Wild-Type and Partial Waxy Soft Wheats in Relation to Growing Environment-Induced Fluctuations in Starch Characteristics. *Cereal Chemistry*, 83: 558-564.
- Geissmann T. and Neukom H. 1973. On the composition of the water-soluble wheat flour pentosans and their oxidative gelation. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie Food Science and Technology* 6:54-62.
- Gianibelli M. C., Larroque O. R., MacRitchie F. and Wrigley C. W. 2001. Biochemical, Genetic, and Molecular Characterization of Wheat Endosperm Proteins. *Cereal Chemistry*, 78: 635-646.
- Gibson T. S, Solah V. A. and McCleary B.V. 1997. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A. *Journal of Cereal Science*, 25: 111-119.
- Giroux M. J. and Morris C. F. 1998. Wheat grain hardness results from highly conserved mutations in the friabilin components puroindoline a and b. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95: 6262-6266.
- Glenn G. M. and Saunders R. M. 1990. Physical and structural properties of wheat endosperm associated with grain texture. *Cereal Chemistry*, 67: 176-182.
- Glenn G. M., Younce F. L. and Pittis M. J. 1991. Fundamental physical properties characterizing the hardness of wheat endosperm. *J. of Cereal Sci.* 13: 179-184.
- Gómez M., León A. E. and Rosell M. 2007. Trigo. En: *De tales harinas tales panes*. León A. E. and Rosell M (eds.) Córdoba, Argentina. pp. 17-71.
- Graybosch R. A., Peterson C. J., Hansen L. E. and Mattern P. J. 1990. Relationships between protein solubility characteristics, 1BL/1RS, high molecular weight glutenin composition and end-use quality in winter wheat germ plasm. *Cereal Chemistry*, 67: 342-349.
- Graybosch R. A., Peterson C. J., Hansen L. E., Worrall D., Shelton D. R., and Lukaszewski A. J. 1993. Comparative flour quality and protein characteristics of 1BL/1RS and 1AL/1RS wheat-rye translocations. *Journal of Cereal Science*, 17: 95–106.
- Graybosch R. A. 2001. Uneasy unions: quality effects of rye chromatin transfers to wheat. *Journal of Cereal Science*, 33: 3–16.

- Greenblatt G. A., Bettge A. D. and Morris C. F. 1995. Relationship Between Endosperm Texture and the Occurrence of Friabilin and Bound Polar Lipids on Wheat Starch. *Cereal Chemistry*, 72: 172-176.
- Greenwell P. and Schofield J. D. 1986. A starch granule protein associated with endosperm softness in wheat. *Cereal Chemistry*, 63: 379-380.
- Grosch W. and Wieser H. 1999. Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *Journal of Cereal Science*, 29: 1-16.
- Gruppen H., Komelink F. J. M. and Voragen A. G. J. 1993. Water unextractable cell wall material from wheat flour. III. A structural model for arabinoxylans. *Journal of Cereal Science*, 19: 111-128.
- Guías Alimentarias para la Población Argentina. 2000. Asociación Argentina de Dietistas y Nutricionistas Dietistas, Buenos Aires, Argentina.
- Gupta R. B., Singh N. K. and Shepherd K. W. 1989. The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on dough properties in the progeny of two bread wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 77: 57-64.
- Gupta R. B. and MacRitchie F. 1991. A rapid one-step one-dimensional SDS-PAGE procedure for analysis of subunit composition of glutenin in wheat. *Journal of Cereal Science*, 14:105-109.
- Gupta R. B., Paul J. G., Cornish G. B., Palmer G. A., Bekes F. and Rathjen A. J. 1994. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1, of common wheats. I. Its additive and interaction effects on dough properties. *Journal of Cereal Science*, 19: 9-17.
- Guttieri M., Bowen D., Gannon D., O'Brien K. and Souza E. 2001. Solvent retention capacities of irrigated soft white spring wheat flours. *Crop Science*, 41: 1054-1061.
- Guttieri M. J., Souza E. J. and Sneller C. 2008. Nonstarch Polysaccharides in Wheat Flour Wire-Cut Cookie Making. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56: 10927–10932.
- Hadi-Nezhad M. and Butler F. 2009. Effect of flour type and dough rheological properties on cookie spread measured dynamically during baking. *Journal of Cereal Science*, 49: 178–183.
- Haralampu S. G. 2000. Resistant starch-a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*, 41: 285–292.
- Hareland G. A. 1994. Evaluation of flour particle size distribution by laser diffraction, sieve analysis and near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Cereal Science*, 21: 183-190.
- Hashimoto S., Shogren M. and Pomeranz Y. 1987. Cereal pentosans: Estimation and significance. I. Pentosans in wheat and milled wheat products. *Cereal Chemistry*, 64: 30-34.
- Hazen S. P. and Ward R. W. 1997. Variation in grain functional quality for soft winter wheat. *Crop Science*, 37: 1086-1093.
- He Z. H., Liu L., Xia X. C., Liu J. J. and Peña R. J. 2005. Composition of HMW and LMW Glutenin Subunits and Their Effects on Dough Properties, Pan Bread, and Noodle Quality of Chinese Bread Wheats. *Cereal Chemistry*, 82: 345-350
- Hogg A. C., Sripo T., Beecher B., Martin J. M. and Giroux M. J. 2004. Wheat puroindolines interact to form friabilin and control wheat grain hardness. *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 1089-1097.

- Hogg A. C., Beecher B., Martin J. M., Meyer F., Talbert L., Lanning S. and Giroux M. J. 2005. Hard wheat milling and bread baking traits affected by the seed-specific overexpression of puroindolines. *Crop Science*, 45: 871-878.
- Hong B. H., Rubenthaler G. L. and Allan R. E. 1989. Wheat pentosans. I. Cultivar variation and relationship to kernel hardness. *Cereal Chemistry*, 66: 369-373.
- Hoseney R. C., Zeleznak K. J., Yost D. A. 1986. A note on the gelatinization of starch. *Starch/Stärke*, 38: 407-409.
- Hoseney R. C. 1994. Structure of Cereal. En: Principles of Cereal Science and Technology, Second Edition. Hoseney R.C. (ed.) American Association of Cereal Chemists, USA. 378 pp.
- Hou G., Yamamoto H. and Ng, P.K.W. 1996. Relationship of Quantity of Glutenin Subunits of Selected U.S. Soft Wheat Flours to Rheological and Baking Properties. *Cereal Chemistry*, 73: 358-363.
- Huebner F. R., Bietz J. A, Nelsen T., Bains G. S. and Finney P. L. 1999. Soft wheat quality as related to protein composition. *Cereal Chemistry*, 76: 650–655.
- Humphris A. D. L., McMaster T. J., Miles M. J., Gilbert S. M., Shewry P. R. and Tatham A. S. 2000. Atomic force microscopy (AFM) study of interaction of HMW subunits of wheat glutenin. *Cereal Chemistry*, 77: 107-110.
- Hung P. V., Maeda T., Miskelly D., Tsumori R. and Morita N. 2008. Physicochemical characteristics and fine structure of high-amylose wheat starches isolated from Australian wheat cultivars. *Carbohydrate Polymers*, 71: 656–663
- Igrejas G., Gaborit T., Oury F.-X., Chiron H., Marion D. and Branlard G. 2001. Genetic and environmental effects on puroindoline-a and puroindoline-b content and their relationships to technological parameters in French bread wheats. *Journal of Cereal Science*, 34: 37–47.
- Igrejas G., Guedes-Pinto H., Carnide V., Clement J. and Branlard G. 2002. Genetical, biochemical and technological parameters associated with biscuit quality. II. Prediction using storage proteins and quality characteristics in a soft wheat population. *Journal of Cereal Science*, 36: 187-197.
- InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Inouchi N., Glover D.V., Sugimoto Y. and Fuwa H. 1984. Developmental changes in starch properties of several endosperm mutants of maize. *Starch/Stärke*, 38: 8-12.
- Izydorczyk M. S., Biliaderis C. G. and Bushuk W. 1990. Oxidative gelation studies of water-soluble pentosans from wheat. *Journal of Cereal Science*, 11: 153–169.
- Jeffrey G. A. and Saenger W. 1994. *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Springer-Verlag, Berlin ; New York. 569 pp.
- Jelaca S. and Hlynka I. 1971. Water-binding capacity of wheat-flour crude pentosans and their relation to mixing characteristics of dough. *Cereal Chemistry*, 48: 211-222.
- Jenkins P. J. and Donald A. M. 1998. Gelatinisation of starch - a combined WAXS/SAXS/DSC and SANS study. *Carbohydrate Research*, 308: 133-147.
- Jenner C. F., Ugalde T. D. and Aspinall D. 1991. The physiology of starch and protein deposition in the endosperm of wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*, 18: 211-226.
- Jiang D., Yue H., Wollenweber B., Tan W., Mu W. and Bo Y. 2009. Effects of post-anthesis drought and waterlogging on accumulation of high-molecularweight glutenin subunits and glutenin macropolymers content in wheat grain. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195:89-97.

- Johnson J. M., Griffey C. A. and Harris C.H. 1999. Comparative effects of 1BL / 1RS translocation in relation to protein composition and milling and baking quality of soft red winter wheat. *Cereal Chemistry*, 76: 467–472.
- Jondiko T. O., Alviola N.J., Hays D. B., Ibrahim A., Tilley M. and Awika J. M. 2012. Effect of High-Molecular-Weight Glutenin Subunit Allelic Composition on Wheat Flour Tortilla Quality. *Cereal Chemistry*, 89:155-161.
- Jolly C. J., Rahman S., Kortt A. A. and Higgins T. J. V. 1993. Characterization of the wheat Mw 15,000 “grain-softness” protein and analysis of the relationship between its accumulation in the whole seed and grain softness. *Theoretical and Applied Genetics*, 86: 589-597.
- Jovanovich G., Zamponi R., Lupano C. and Añin M. 1992. Effect of water content on the formation and dissociation of the amylase-lipid complex in wheat flour. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40:1789-1793.
- Kaldy M., Rubenthaler G., Kereliuk G., Berhow M. and Vandreck C. 1991. Relationship of selected flour constituents to baking quality in soft white wheat. *Cereal Chemistry*. 65:508-512.
- Kaldy M., Kereliuk G. and Kozub G.C. 1993. Influence of gluten components and flour lipids on soft white quality. *Cereal Chemistry*, 70:77-80.
- Kasarda D. D, Bernardin J. and Nimmo C. 1976. Wheat proteins. En: *Advances in Cereal Science and Technology*, Vol. 1. Pomeranz Y. (ed.), American Association of Cereal Chemists. USA. pp. 158-236.
- Kasarda D. D. 1989. Glutenin structure in relation to wheat quality. En: *Wheat is Unique*. Pomeranz Y., (ed.) American Association of Cereal Chemistry., St Paul, MN, pp. 277-302.
- Kasarda D. D. 1999. ‘Glutenin Polymers: The in Vitro to in Vivo Transition. *Cereal Food World*, 44:566-571.
- Kim S. K. and D’Appolonia B. L. 1977. Bread staling studies. III. Effect of pentosans on dough, bread and bread staling rate. *Cereal Chemistry*, 54: 225–229.
- Kim H. S. and Huber K. C. 2010. Physicochemical properties and amylopectin fine structures of A- and B-type granules of waxy and normal soft wheat starch. *Journal of Cereal Science*, 51:256-264.
- Kim H. S. and Huber K. C. 2008. Channels within soft wheat starch A- and B-type granules. *Journal of Cereal Science*, 48:159-172.
- Kissell L. T., Pomeranz Y. and Yamazaki W. T. 1971. Effect of flour lipids on cookie quality. *Cereal Chemistry*, 48:655-662.
- Kitterman J. S. and Rubenthaler G. L. 1971. Assessing the quality of early generation wheat selections with the micro AWRC test. *Cereal Science Today*, 16:313-316.
- Koebner R. M. D., Shepherd K. W. and Appels R. 1986. Controlled introgression to wheat of genes from rye chromosome arm 1RS by induction of allosyndesis. 2. Characterization of recombinants. *Theoretical and Applied Genetics*, 73: 209-217.
- Kulp K. 1968. Pentosans of wheat endosperm. *Cereal Science Today*, 13:414-417.
- Kumlay A. M., Baenziger P. S., Gill K. S., Shelton D. R., Graybosch R. A., Lukaszewski A. J. and Wesenberg D. M. 2003. Understanding the effect of rye chromatin in bread wheat. *Crop Science*, 43: 1643–1651.
- Law C. N. and P. I. Payne. 1983. Genetic aspects of breeding for improving grain protein content and type in wheat. *Journal of Cereal Science*. 1:79-93.
- Law C. N., Young C.F., Brown J.W.S., Snape J.W. and Worland A.J. 1978. The study of grain protein control in wheat using whole chromosome substitution lines. En:

- Seed protein improvement by nuclear techniques. International atomic energy agency, Vienna. pp. 483-502.
- Lawrence G. J. and Shepherd K. W. 1980. Variation in glutenin protein subunits of wheat. *Australian Journal of Biology Science*, 33:221-33.
- Lawrence G. J. and Shepherd K. W. 1981. Inheritance of glutenin protein subunits of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 60:333-337.
- Lee J. H., Graybosch R. A. and Peterson C. J. 1995. Quality and biochemical effects of a IBL/IRS wheat-rye translocation in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 90:105-112.
- León A. E. 1995. Estudio de las propiedades de las harinas de triticale: Influencia de las proteínas y el almidón sobre la calidad para elaborar galletitas. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina. 145 pp.
- León A. E., Rubiolo O. J., Añón M. C. 1996. Use of triticale flours in cookies: Quality factors. *Cereal Chemistry*, 73:779-784.
- Lerner S. E., Kolman M. A. and Rogers W. J. 2009. Quality and endosperm storage protein variation in Argentinean grown bread wheat. I. Allelic diversity and discrimination between cultivars. *Journal of Cereal Science*, 3:337-345.
- Lezcano E. 2011a. Anuario farinaceous 2011. Almimentos argentinos. Ministerio de agricultura Ganadería y Pesca.
- Lezcano E. 2011b. Informe de product. Galletitas y bizcochos. Almimentos argentinos. Ministerio de agricultura Ganadería y Pesca.
- Li S., Morris C. F. and Bettge A. D. 2009. Genotype and Environment Variation for Arabinoxylans in Hard Winter and Spring Wheats of the U.S. Pacific Northwest. *Cereal Chemistry*, 86:88-95.
- Li W., Yin Y., Yan S., Li Y., Liang T., Dai Z. and Wang Z. 2008. Comparison of starch granule size distribution between hard and soft wheat cultivars in eastern China. *Agricultural Sciences in China*, 7:907-914.
- Lindahl L. 1990. Rheological properties in wheat flour systems. Molecular and interfacial basis. Thesis Doctoral. Lund University, Sweden.
- Lindsay M. P. and Skerritt J. 1999. The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure-function perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 247-253.
- Lindsay M. P. and Skerritt J. H. 2000. Immunocytochemical localization of gluten proteins uncovers structural organization of glutenin macropolymer. *Cereal Chemistry*, 77: 360-369.
- Liu H., Yu L., Xie F.W. and Chen L. 2006. Gelatinization of corn starch with different amylase/amylopectin contents. *Carbohydrate Polymers*, 65: 357-363.
- Lookhart G. L., Hagman K. and Kasarda D. D. 1993. High-Molecular-Weight Glutenin Subunits of Most Commonly Grown Wheat Cultivars in the U.S. in 1984. *Plant Breeding*, 110: 48-62.
- Loney D. P. and Meredith P. 1974. Note on amylograph viscosities of wheat flours and heir starches during storage. *Cereal Chemistry*, 51: 702-705.
- Loney D. P., Jenkins L. D. and Meredith P. 1975. The developing starch granule. II. The role of amylose and amylopectin in the amylograph pasting properties of flour and starch of developing and mature wheats of diverse genetic origins. *Starch/Staerke*, 27: 145-151.
- Lukow O. M. 2006. Wheat Flour Classification. En: *Bakery Products: Science and Technology*. Hiu H. I. (ed.) Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA. pp. 68-86.

- MacRitchie F. 1980. Studies of gluten from wheat flours. *Cereal Foods World*, 25:382-385.
- MacRitchie F. and Lafiandra D. 2001. Use of Near-Isogenic Wheat Lines to Determine Protein Composition-Functionality Relationships. *Cereal Chemistry*, 78: 50-506.
- Manley D. J. R. 1989. *Biscuit and Food Industry*. Warminngton, Nr. Peterborough, Gran Bretaña. 484 pp.
- Manley D. 2000. *Technology of Biscuits, Crakers and Cookies*, Third edition. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK. 499 pp.
- Mares D. J. and Stone B. A. 1973. Studies on wheat endosperm. III. Galactose-rich polysaccharides. *Australian Journal of Biology and Science*, 26: 1005-1007.
- Marion D., Gautier M. F., Joudrier P., Ptak M., Pezolet M., Forest E., Clark D. C. and Broekaert W. 1994. Structure and function of wheat lipid binding proteins. En: Martino D. and Cimino S. (eds), *Wheat Kernel Proteins Molecular and Functional Aspects*, Viterbo, Italy: Universita delgi studi della Tuscia, pp. 175-180.
- Martin J. M., Sherman J. D., Lanning S. P., Talbert L. E. and Giroux M. J. 2008. Effect of variation in amylose content and puroindoline composition on bread quality in a hard spring wheat population. *Cereal Chemistry*, 85: 266-269.
- Martín D. J. and Stewart B. G. 1986. Dough mixing properties of a wheat-rye derived cultivar. *Euphytica*, 35: 225-232
- Matsuo R. R., Dexter J. E., Boudreau A. and Daun J. K. 1986. The role of lipids in determining spaghetti cooking quality. *Cereal Chemistry*, 63:484.
- Matz S. 1999. *Bakery Technology and Engineering*, 3<sup>o</sup> Edition. Editado por Matz, S. Pan-Tech Internarional, USA.
- McIntosh R. A. Yamazaki Y. Devos K. M. Dubcoveky J. Rogers W. J. and Appels R. 2003. Catalogue of gene symbols for wheat. En: *Proceedings of the 10th International Wheat Genetics Symposium*, vol. 4. Pogna N E, Romanò M, Pogna E A, Galterio G (eds). SIMI, Rome, Italy. 47 pp.
- Metakovskii E. V., Wrigley C. W., Bekes F. and Gupta R. B. 1990. Gluten polypeptides as useful genetic markers of dough quality in Australian wheats. *Australian Journal of Agricultural Research*, 41: 289-306.
- Meuser F. and Suckow P. 1986. *Chemistry and physics of baking*. Blanshard M. V, Frazier P. J, Galliard T. (eds.) *The Royal Society of Chemistry*, London. pp. 42-61.
- Mikhaylenko G. G., Czuchajowska Z., Baik B. K. and Kidwell K. K. 2000. Environmental Influences on Flour Composition, Dough Rheology, and Baking Quality of Spring Wheat. *Cereal Chemistry*, 77: 507-511.
- Miller R. A. and Hoseney R. C. 1997. Factors in hard wheat flour responsible for cookie spread. *Cereal Chemistry*, 74: 330-336.
- Morita N., Maeda T., Miyazaki M., Yamamori M., Miura H. and Ohtsuka I. 2002. Dough and Baking Properties of Hi gh-Amylose and Waxy Wheat Flours. *Cereal Chemistry*, 79: 491-495.
- Morris C. F., Greenblatt G. A., Bettge A. D. and Malkawi H. I. 1994. Isolation and characterization of multiple forms of friabilin. *Journal of Cereal Science*, 20:167-174.
- Morris C.F. and Rose S.P. 1996. Wheat. En: *Cereal Grain Quality*. Henry R. J. and Kettlewell, P. S. (eds.) Chapman and Hall, London, pp. 3-54.
- Morris C. F., King G. E. and Rubenthaler G. L. 1997. Contribution of wheat flour fractions to peak hot paste viscosity. *Cereal Chemistry*, 74: 147-153.

- Morris C. F. 2002. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Molecular Biology*, 48: 633-647.
- Morris C. F. and Massa A.N. 2003. Puroindoline genotype of the U.S. National Institute of Standards and Technology Reference Material 8441 "Wheat Hardness". *Cereal Chemistry*, 80: 674-678.
- Morris C. F. and Bhave M. 2008. Reconciliation of D-genome puroindoline allele designations with current DNA sequence data. *Journal of Cereal Science* 48:277-287.
- Morrison WR, Law CN, Wylie LJ, Coventry AM, Seekings J. 1989. The effect of group 5 chromosomes on the free polar lipids and breadmaking quality of wheat. *Journal of Cereal Science*, 9: 41-51.
- Morrison W. R., Law R. V. and Snape C.E. 1993. Evidence for inclusion complexes of lipids with V-amylase in maize, rice and oat starches. *Journal of Cereal Science*, 18: 107-109.
- Morrison W. R., Tester R. F., Gidley M. J. 1994. Properties of damaged starch granules II. Crystallinity, molecular order and gelatinisation of ball milled starches. *Journal of Cereal Science*, 19: 209-217.
- Moonen, J.H.E. and Zeven, A.C. 1984. SDS-PAGE of the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin and the characterization of 1R(1B) substitution and 1BL/1RS translocation lines. *Euphytica*, 33: 3-8.
- Moss H. J. and Miskelly D. M. 1984. Variation in starch quality in Australian flour. *Food Technol. Australia*, 36: 90-91.
- Nemeth I. J., Williams P. C. and Bushuk W. 1994. A comparative study of the quality of soft wheats from Canada, Australia, and the United States. *Cereal Foods World*, 39, 691-694, 696-698, 700.
- Nishio Z., Miyazaki Y., Seki M., Ito M., Tabiki T., Nagasawa K., Yamauchi H. and Miura H. 2011. Effect of Growing Environment of Soft Wheats on Amylose Content and Its relationship with Cookie and Sponge Cake Quality and Solvent Retention Capacity. *Cereal Chemistry*, 88:189-194.
- Osborne T. B. 1907. Proteins of the wheat kernel. Publication of the Carnegie Institution Washington, 84: 1-119.
- Papantoniou E. Hammond E. W. Tsiami A. A. Scriven F. Gordon M. H. and Schofield J. D. 2003. Effect of endogenous flour lipids on the quality of semisweet biscuits. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 1057-1063.
- Parey B. and Delcour J. A. 2008. The role of wheat flour constituents, sugar, and fat low moisture cereal based products: A review on sugarsnap cookies. *Food Science and Nutrition*, 48: 824-839.
- Park S. H., Wilson J. D. and Seabourn B. W. 2009. Starch granule size distribution of hard red winter and hard red spring wheat: Its effects on mixing and breadmaking quality. *Journal of Cereal Science*, 49: 98-105.
- Pasha I., Anjum F. M. and Butt M. S. 2009. Genotypic variation of spring wheats for solvent retention capacities in relation to end-use quality. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 418-423.
- Pasha I., Anjum F. M. and Morris C. F. 2010. Grain hardness: a major determinant of wheat quality. *Food Sci Technol Int*, 16: 511-522.
- Payne P. I. and Corfield K. G. 1979. Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta*, 145: 83-88.

- Payne P. I., Holt L. M. and Law C. N. 1981. Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin. Part I: Allelic variation in subunits amongst varieties of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 60:229-236.
- Payne P. I., Holt L. M., Lawrence G. J. and Law C. N. 1982. The genetics of gliadin and glutenin, the major storage proteins of the wheat endosperm. *Qualitas plantarum, plant foods for human nutrition*, 31: 229-241.
- Payne P. I. and Lawrence G. J. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1 which code for the highmolecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Reserch Commun*, 11: 29-35.
- Payne P. I., Holt L. M., Jackson E. A. and Law C. N. 1984. Wheat storage proteins: Their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 304: 359-371.
- Payne P. I., Nightingale M. A., Krattiger A. F. and Holt L. M. 1987. The relation between HMW glutenin subunit composition and bread-making quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 40: 51-65.
- Pearson T., Wilson J., Gwirtz J., Maghirang E., Dowell F. and McCluskey P. 2007. Relationship between single wheat kernel particle-size distribution and Perten SKCS 4100 hardness index. *Cereal Chemistry*, 84: 567-575.
- Peng M., Gao M., Abdel-Aal E.-S. M., Hucl P. and Chibbar R. N. 1999. Separation and characterization of A- and B-type starch granules in wheat endosperm. *Cereal Chemistry*, 76: 375-379.
- Pérez S., Baldwin P. M. and Gallant D. J. 2009. Structural Features of Starch Granules I. En: *Starch*. Third Edition. Third Edition. BeMiller J. and Whistler R. Oxford, UK, pp. 149-192.
- Perlin A. S. 1951. Structure of the soluble pentosans of wheat flours. *Cereal Chemistry*, 28: 282-393.
- Pézolet M., Bononfant S., Dousseau F. and Popineau Y. 1992. Conformation of wheat gluten proteins. Comparison between functional and solution states as determined by infrared spectroscopy. *Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett.* 299: 247–250.
- Pflüger L. A., D'Ovidio R., Margiotta B., Peña R., Mujeeb-Kazi A. and Lafiandra D. 2001. Characterisation of high- and low-molecular weight glutenin subunits associated to the D genome of *Aegilops tauschii* in a collection of synthetic hexaploid wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1293-1301.
- Pogna N., Redaelli R., Dachkevitch A. and Dal Belin Peruffo A. 1994. Genetics of wheat quality and its improvement by conventional and biotechnological breeding. En: *Wheat Production, Properties and Quality*. Editado por Bushuk W, Rasper V. Chapman Hall. USA. pp. 205-224.
- Pomeranz Y. 1971. Composition and functionality of wheat-flour components. En: *Wheat, Chemistry and Technology*. Pomeranz Y. (ed.), AACC. St Paul, MN. Second Edition. pp. 585-674.
- Pomeranz Y. and Williams P. C. 1990. Wheat hardness: it genetic, structural, and biochemical background, measurement, and significance. En: *Advances in Cereal Science and Technology*. Pomeranz, Y. (ed), Vol 10. AACC, St. Paul, Minn., pp 471-548.
- Preston K. R. 1998. Protein-carbohydrate interactions. En: Hamer R.J. and Hosney R.C. (eds.), *Interactions: The Keys to Cereal Quality*, St. Paul, MN: AACCI, pp. 83-91.

- Primard S., Graybosch R., Peterson C. J. and Lee J. H. 1991. Relationship between gluten protein composition and quality characteristics in four populations of highprotein, hard red winter wheat. *Cereal Chemistry*, 68: 305-312.
- Raeker M. Ö., Gaines C. S., Finney P. L., and Donelson T. 1998. Granule Size Distribution and Chemical Composition of Starches from 12 Soft Wheat Cultivars. *Cereal Chemistry*, 75: 721-728.
- Ram S. and Singh S. P. 2004. Solvent retention capacities for Indian wheats and their relationship with cookie making quality. *Cereal Chemistry*. 81:128-133.
- Ribotta P, León E., Aguirre A. and Beltramo D. 2002. Medición instrumental del color en galletitas dulces de triticale. Influencia del contenido de cenizas. *Información tecnológica*, 13: 17-174.
- Rouau X. and Moreau D. 1993. Modification of Some Physicochemical Properties of Wheat Flour Pentosans by an Enzyme Complex Recommended for Baking. *Cereal Chemistry*, 70: 626-632.
- Sabattini A. 1988. Informe final de pasantía en el laboratorio del centro internacional de mejoramiento de trigo y maíz. pp. 87.
- Sahai D. and Jackson D. S. 1999. Enthalpic Transitions in Native Starch Granules. *Cereal Chemistry*, 76: 444-448.
- Salman H., Blazek J., Lopez-Rubio A., Gilbert E. P., Hanley T. and Copeland L. 2009. Structure-function relationships in A and B granules from wheat starches of similar amylose content. *Carbohydrate Polymers*, 75: 420-427.
- Samela G. 2011. El consumo de galletitas está entre los más altos del mundo. En: Clarín, Buenos Aires, Argentina, Noviembre, 13, disponible en: [http://www.ieco.clarin.com/empresas/consumo-galletitas-altos-mundo\\_0\\_590341202.html](http://www.ieco.clarin.com/empresas/consumo-galletitas-altos-mundo_0_590341202.html).
- Sambrook J., Fritsch E. F. and Maniatis T. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual 2nd ed. Vols 1, 2, 3. CSHL NY, 1626 pp.
- Sasaki T., Yasui T. and Matsuki J. 2000. Influence of non-starch polysaccharides isolated from wheat flour on the gelatinization and gelation of wheat starches. *Food Hydrocolloids*, 14: 295-303.
- Schofield J. D. and Greenwell P. 1987. Wheat starch granule proteins and their technological significance. En: *Cereals in a European Context*. Morton I.D. (ed.), Ellis Horwood, Chichester, UK, pp. 407-420.
- Selanere M. L. and Andersson R. 2002. Cell wall composition of 1B/1R translocation wheat grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 538-545.
- Shewry P. R., Bradberry D., Franklin J. and White R. P. 1984. The chromosomal locations and linkage relationships of the structural genes for the prolamin storage proteins (secalins) of rye. *Theoretical and Applied Genetics*, 69: 63-69.
- Shewry P. R., Tatham A. S., Forde J., Kreis M. and Mifflin B. J. 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: A reassessment. *Journal of Cereal Science*, 4:97-106.
- Shewry P. R. and Tatham A. S. 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds, structure and evolution. *Biochemical Journal*, 267: 1-12.
- Shewry P. R., Halford N. G. and Tatham A. S. 1992. The high molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 15: 105-120.
- Shewry P. R. and Tatham A. S. 1997. Disulphide Bonds in Wheat Gluten Proteins. *Journal of Cereal Science*, 25: 207-227.

- Shewry P. R., Popineau Y., Lafiandra D., and Belton P. 2001. Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the Eurowheat Project. *Trend in Food Science & Technology*, 11: 433-441.
- Shewry P. R., Halford N. G. and Lafiandra D. 2003. Genetics of wheat gluten proteins. *En Advances in Genetics*, 49: 111-184.
- Shi Y.-C., Seib P. A. and Bernardin J. E. 1994. Effects of temperature during grain-filling on starches from six wheat cultivars. *Cereal Chemistry*, 71: 369-383.
- Shibanuma K., Takeda Y., Hizukuri S. and Shibata S. 1994. Molecular structures of some wheat starches. *Carbohydrate Polymers*, 25: 111-116.
- Shinde S. V., Nelson J. E. and Huber K. C. 2003. Soft wheat starch pasting behavior in relation to A- and B-type granule content and composition. *Cereal Chemistry*, 80: 91-98.
- Shogren R. L. 1992. Effect of moisture content on the melting and subsequent physical aging of cornstarch, *Carbohydrate Polymers*, 19: 83-90.
- Simmonds D. H., Barlow K. K. and Wrigley C. W. 1973. The biochemical basis of grain hardness in wheat. *Cereal Chemistry*, 50: 553-562.
- Singh S., Gupta A. K., Gupta S. K. and Kaur N. 2010. Effect of sowing time on protein quality and starch pasting characteristics in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes grown under irrigated and rain-fed conditions. *Food Chemistry*, 122: 559-565.
- Skovmand B., Fox P. and Villareal R. 1984. Triticale in commercial agriculture: Progress and promise. *Advances in Agronomy*, 37: 1-45.
- Slade L. and Levine H. 1994. Structure-function relationships of cookie and craker ingredients. *En: The Science of Cookie and Craker Production*. Faridini H (ed). Chapman and May: New York, pp. 23-141.
- Soulaka A. B. and Morrison W. R., 1985. The amylose and lipid contents, dimensions, and gelatinization characteristics of some wheat starches and their A- and Bgranule fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36: 709-718.
- Souza E., Kruk M. and Sunderman D. W. 1994. Association of sugarsnap cookie quality with high molecular weight glutenin alleles in soft white spring wheats. *Cereal Chemistry*, 71: 601-605.
- Tanilli V. H. 1976. Characterization of wheat and flour cookie and cracker production. *Cereal Foods World*, 21: 624-628.
- Tatham A. S. and Shewry P. R. 1985. The conformation of wheat gluten proteins. The secondary structures and thermal stabilities of a-, b-, g and o-gliadins. *Journal of Cereal Science*. 3: 104-113.
- Tatham A. S., Field J. M., Smith S. J. and Shewry P. R. 1987. The conformations of wheat gluten proteins. II. Aggregated gliadins and low molecular subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science*, 5: 203-214.
- Tatham A. 1995. The structures of wheat protein. *En: Wheat Structure. Biochemistry and Funcctionality*. Schofield. (ed.) *Journal Royal society of Chemistry*, England, pp. 53-63.
- Tatham A. S. and Shewry P. R. 1995. The S-poor prolamins of wheat, barley and rye. *Journal of Cereal Science*, 22: 1-16.
- Tranquilli G., Cuniberti M., Gianibelli M.C., Bullrich L., Larroque O. R, MacRitchie F. and Dubcovsky J. 2002. Effect of *Triticum monococcum* glutenin loci on cookie making quality and on predictive tests for bread making quality. *Journal of Cereal Science*, 36: 9-18.

- Tester R. F. and Morrison W. R. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches. II. Waxy rice starches. *Cereal Chemistry*, 67: 558-563.
- Tester R. F., Morrison W. R., Ellis R. H., Piggott J. R., Batts, G. R., Wheeler T. R., Morrison J. I. L., Hadley P. and Ledward D. A. 1995. Effects of elevated growth temperature and carbon dioxide levels on some physicochemical properties of wheat starch. *Journal of Cereal Science*, 22: 63-71.
- Tester R. F. 1997. Properties of damaged starch granules: composition and swelling properties of maize, rice, pea and potato starch fractions in water at various temperatures. *Food Hydrocolloids*, 11: 293-301.
- Tester R. F. and Debon S. J. J. 2000. Annealing of starch—A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 27: 1-12.
- Tranquilli G., Cuniberti M., Gianibelli M. C., Bullrich L., Larroque O. R., MacRitchie F. and Dubcovsky J. 2002. Effect of *Triticum monococcum* glutenin loci on cookie making quality and on predictive tests for bread making quality. *Journal of Cereal Science*, 36: 9-18.
- Triboi E., Martre P. and Triboi-Blondel A. M. 2003. Environmentally-induced changes in protein composition in developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany*, 54: 1731-1742.
- Van Hung P., Maeda T., Miskelly D., Tsumori R. and Morita N. 2008. Physicochemical characteristics and fine structure of high-amylose wheat starches isolated from Australian wheat cultivars. *Carbohydrate Polymers*, 71: 656-663.
- Veraverbeke W.S. and Delcour J.A. 2002. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Food Science and Nutrition*, 42: 179–208.
- Vermeulen R., Goderis B., Reynaers H. and Delcour J. A. 2005. Gelatinization related structural aspects of small and large wheat starch granules. *Carbohydrate Polymers*, 62: 170-181.
- Villareal R. L., Banuelos. O, Mujeeb-Kazi A. and Rajaram S. 1998. Agronomic performance of chromosome 1B and T1BL.1RS near- isolines in spring bread wheat Seri M82. *Euphytica*, 103:1 95–202.
- Wade P. 1988. Biscuits, cookies and crackers: the principles of the craft, volume 1. Elsevier Applied Science, London, UK and New York, USA. 406 pp.
- Wang L. and Flores R. A. 2000. Effects of flour particle size on the textural properties of flour tortillas. *Journal of Cereal Science*, 31: 263-272.
- Wanjugi H. W., Martin J. M. and Giroux M. J. 2007. Influence of puroindolines A and B individually and in combination on wheat milling and bread traits. *Cereal Chemistry*, 54: 540-547.
- Wellner N., Mills E. N., Brownsey G., Wilson R. H., Brown N., Freeman J., Halford N. G., Shewry P. R. and Belton P.S. 2005. Changes in protein secondary structure during gluten deformation studied by dynamic Fourier transform infrared spectroscopy. *Biomacromolecules*, 6: 255–261.
- Whilster R., Daniel J. 1984. Molecular structure of Starch. En: *Starch Chemistry and Technology*. Whilster R., BeMiller J., Paschal E. (eds.). Academic Press. NY. EUA. pp. 153-182
- Wieser H. 2003. The use of redox agents. En: *Bread Making-Improving Quality*. Cauvain, S. P. (ed.). Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, pp 424–446.
- Williams P. C. 1967. Relation of starch damage and related characteristics to kernel hardness in Australian wheat varieties. *Cereal Chemistry*, 44: 383-391.

- Wilson J. D., Bechtel D. B., Todd T. C. and Seib P. A. 2006. Measurement of Wheat Starch Granule Size Distribution Using Image Analysis and Laser Diffraction Technology. *Cereal Chemistry*, 83: 259-268.
- Wrigley C., Andrews J., Bekes F., Gras P., Gupta R., MacRitchie F. and Skerritt J. 1998. Protein-protein interactions-essential to dough rheology. En: *Interactions: The Keys to Cereal Quality*. Ed. Hamer R, Hosney R. American Association of Cereal Chemists, USA. 18-20.
- Xiao Z. S., Park S. H., Chung O. K., Caley M. S. and Seib P. A. 2006. Solvent retention capacity values in relation to hard winter wheat and flour properties and straight-dough breadmaking quality. *Cereal Chemistry*, 83: 465-471.
- Xie F., Yu L., Chen L. and Li L. 2008. A new study of starch gelatinization under shear stress using dynamic mechanical analysis. *Carbohydrate Polymers*, 72: 229-234.
- Yamamoto H., Worthington G., Hou G. and Ng P. K. W. 1996. Rheological properties and baking qualities of selected soft wheats grown in the united states. *Cereal Chemistry*, 73: 215-221.
- Yamazaki W. and Lord D. 1971. Soft wheat products. En: *Wheat, Chemistry and Technology*. Pomeranz Y. (ed). AACC International: St. Paul, MN, pp. 743-776.
- Yamazaki W.T. and Donelson J.R. 1983. Kernel hardness of some US wheats. *Cereal Chemistry*. 60: 344-350.
- Zhang Y., Zhang Y., He, Z. and Peña R.J. 2007. Effects of Solvent Retention Capacities, Pentosan Content, and Dough Rheological Properties on Sugar Snap Cookie Quality in Chinese Soft Wheat Genotypes Qijun Zhang. *Crop Science*. 47: 656-664
- Zeng M., Morris C. F., Batey I. L. and Wrigley C. W. 1997. Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties of wheat. *Cereal Chemistry*, 76: 63-71.
- Zobel H. F. 1988. Molecules to granules: a comprehensive starch review. *Starch/Stärke*, 40: 44-50.
- Zobel H. F. 1992. Starch granule structure. En: *Developments in Carbohydrate Chemistry*. Alexander R. J. and Zobel H. F. (eds). AACC. St. Paul, MN, pp. 1-36.
- Zoulias E. I, Oreopoulou V. and Tzia C. 2000. Effect of fat mimetics on physical, textural and sensory properties of cookies. *International Journal of Food Properties*, 3: 385-397.

Como resultado de la presente tesis se obtuvieron los siguientes trabajos:

- Moiraghi M, Vanzetti L, Bainotti C Helguera M, León AE, Pérez GT. 2011. Relationship between soft wheat flour physicochemical composition and cookie-making performance. *Cereal Chemistry*. 88:130–136.
- Moiraghi M, De la Hera E, Pérez GT, Gómez M. 2012. Effect of wheat flour characteristics on sponge cake quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93:542-549.
- Moiraghi M, Vanzetti L, Pflüger L, Helguera M, Pérez GT. Effect of High Molecular Weight Glutenins and Rye Translocations on Soft Wheat Flour Cookie Quality. *Journal of Cereal Science*. Aprobado: Agosto de 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.08.007>
- Moiraghi M, Helguera M, Pérez GT. Soft wheat starch characteristics and variability and its effect on cookie quality of flour. En proceso de redacción.