

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL Y EN COMPUESTOS
BIOACTIVOS DE TRIGO NACIONAL

por

Mónica Estela RUSSO RODRÍGUEZ

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Magíster en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Vegetales

MONTEVIDEO
URUGUAY
diciembre 2017

Tesis aprobada por el tribunal integrado por:

Dra Cristina Cabrera

Dr Martín Quincke

Dra Isabel Bove

Fecha:

Autor: Lic. en Nutrición Mónica Estela Russo Rodríguez

Director: Ph. D. Daniel Vázquez Peyronel

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas aquellas personas que, de un modo u otro, me han alentado y apoyado para que pudiera lograr esta meta tan anhelada.

A mi tutor, Daniel Vázquez, por haberme hecho el honor de aceptar ser mi tutor, por su gran aporte desde lo académico y, especialmente, por su constante apoyo en lo humano y personal, impulsándome siempre a seguir adelante.

A los grupos de trabajo de los siguientes laboratorios: Laboratorio de Calidad Industrial de Granos del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela; Laboratorio de Poscosecha de INIA, Las Brujas; Unidad Tecnológica de Bioquímica y Proteómica Analíticas del Instituto Pasteur; Laboratorio de Nutrición y Calidad de Alimentos y Laboratorio de Nutrición Animal y Evaluación de Alimentos de la Facultad de Agronomía, por el trabajo, el tiempo y el apoyo brindados en la realización de los análisis químicos.

A Cecilia Martínez, por su tiempo y por el apoyo humano recibido durante la ejecución de las determinaciones analíticas de los compuestos fenólicos.

A Wilfredo Ibáñez, por su colaboración en la ejecución del procesamiento estadístico y su análisis.

A la actual directora de la Unidad de Nivel Profesional de la Escuela de Nutrición, y amiga, Marta Elichalt, por su preocupación, apoyo e interés durante todos estos años.

A INIA, por su apoyo financiero para la realización del trabajo, a través del Proyecto INIA L2 CS13 «Desarrollo de herramientas para lograr trigos de calidad».

En lo personal, quiero agradecer a mi familia, por su cariño y apoyo constantes, especialmente a mis hijos, que me apoyaron e impulsaron en este desafío y siempre.

A todos, ¡mil gracias!

TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VIII
SUMMARY.....	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1 OBJETIVOS	4
1.2 EL TRIGO	5
1.2.1 <u>Origen del trigo</u>	5
1.2.2 <u>Actuales especies de trigo</u>	6
1.2.3 <u>Producción en Uruguay</u>	6
1.2.4 <u>Distribución geográfica del cultivo</u>	8
1.2.5 <u>Estructura del grano de trigo</u>	9
1.3 EL GRANO DE TRIGO EN LA NUTRICIÓN Y EN LA SALUD HUMANA	10
1.3.1 <u>Contribución del grano de trigo a las recomendaciones diarias de nutrientes</u>	10
1.3.2 <u>Beneficios para la salud del consumo de grano entero</u>	11
1.4 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL GRANO DE TRIGO ENTERO Y SUS FRACCIONES CON RELACIÓN A LA NUTRICIÓN Y LA SALUD	13
1.4.1 <u>Composición nutricional del grano de trigo entero</u>	13
1.4.2 <u>Proteínas</u>	15
1.4.2.1 Contenido y clasificación	15
1.4.2.2 Distribución de las proteínas en el grano	16
1.4.2.3 Calidad nutricional de las proteínas	16
1.4.3 <u>Carbohidratos</u>	17
1.4.3.1 Contenido y composición	17

1.4.3.2	Monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos.....	18
1.4.3.3	Almidón.....	18
1.4.3.4	Polisacáridos no amiláceos.....	19
1.4.4	<u>Fibra dietética</u>	20
1.4.4.1	Composición y contenido.....	20
1.4.4.2	Rol en la nutrición y en la salud.....	22
1.4.5	<u>Lípidos</u>	23
1.4.5.1	Contenido y composición en el grano entero.....	23
1.4.5.2	Distribución en los tejidos del grano.....	24
1.4.5.3	Rol en la nutrición y en la salud.....	25
1.4.6	<u>Minerales</u>	25
1.4.6.1	Contenido en el grano entero.....	25
1.4.6.2	Distribución en los tejidos del grano.....	26
1.5	COMPOSICIÓN EN COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL GRANO DE TRIGO ENTERO Y EFECTOS BENEFICIOSOS EN LA SALUD.....	26
1.5.1	<u>Tocoferoles y tocotrienoles</u>	27
1.5.1.1	Contenido y composición química en el grano.....	27
1.5.1.2	Tocoferoles y tocotrienoles en las fracciones del grano....	31
1.5.1.3	Rol en la nutrición y en la salud.....	31
1.5.2	<u>Compuestos fenólicos</u>	33
1.5.2.1	Contenido y composición.....	33
1.5.2.2	Capas del grano.....	35
1.5.2.3	Rol en la nutrición y en la salud.....	36
1.5.3	<u>Selenio</u>	36
1.5.3.1	Contenido y composición.....	36
1.5.3.2	Capas del grano.....	38
1.5.3.3	Rol en la nutrición y en la salud.....	38
1.5.4	<u>Correlación entre componentes bioactivos</u>	39
2.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	41
2.1	DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	41
2.1.1	<u>Material genético</u>	41

2.1.2 <u>Preparación de las muestras</u>	43
2.2 CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE LAS MUESTRAS DE TRIGO	43
2.2.1 <u>Determinación de humedad</u>	43
2.2.2 <u>Determinación de cenizas</u>	44
2.2.3 <u>Determinación de proteínas</u>	44
2.2.4 <u>Determinación de lípidos</u>	44
2.2.5 <u>Determinación de fibra dietética total</u>	44
2.2.5.1 <u>Cuantificación de fibra dietética total</u>	45
2.2.6 <u>Determinación de carbohidratos</u>	46
2.2.7 <u>Determinaciones de compuestos fenólicos totales</u>	47
2.2.7.1 <u>Extracción de las muestras</u>	47
2.2.7.2 <u>Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales</u>	47
2.2.8 <u>Determinaciones de tocoferoles y tocotrienoles</u>	48
2.2.8.1 <u>Extracción, evaporación y resolubilización de las muestras</u>	48
2.2.8.2 <u>Análisis cromatográfico</u>	48
2.2.9 <u>Determinación de selenio</u>	49
2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	49
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
3.1 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS GRANOS DE TRIGO	51
3.1.1 <u>Proteínas</u>	51
3.1.2 <u>Lípidos</u>	53
3.1.3 <u>Carbohidratos</u>	54
3.1.4 <u>Fibra dietética</u>	54
3.1.5 <u>Cenizas</u>	55
3.2 COMPOSICIÓN EN COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LOS GRANOS DE TRIGO	56
3.2.1 <u>Compuestos fenólicos</u>	56

3.2.2 <u>Selenio</u>	58
3.2.3 <u>Tocoferoles y tocotrienoles</u>	58
3.3 CONTRIBUCIÓN DEL GENOTIPO, EL AMBIENTE Y SU INTERACCIÓN EN LA VARIABILIDAD DEL CONTENIDO DE LOS COMPONENTES.....	61
3.3.1 <u>Influencia relativa del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de proteínas, carbohidratos, lípidos, cenizas y fibra dietética</u>	61
3.3.2 <u>Influencia relativa del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de compuestos bioactivos</u>	64
3.4 VARIACIONES GENÉTICAS EN LA CONCENTRACIÓN DE LÍPIDOS ENTRE LAS VARIEDADES.....	68
3.5 CORRELACIÓN ENTRE LOS COMPONENTES Y EL PESO HECTOLÍTRICO EN LAS VARIEDADES DE TRIGO.....	69
3.5.1 <u>Correlación entre macronutrientes</u>	70
3.5.2 <u>Correlación entre compuestos bioactivos y otros componentes presentes en el grano</u>	71
3.5.3 <u>Correlación entre compuestos bioactivos y peso hectolítrico</u>	72
4. <u>CONCLUSIONES</u>	74
5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	76
6. <u>ANEXO</u>	97

RESUMEN

El trigo es uno de los principales rubros agrícolas en Uruguay y el cereal más importante en la alimentación humana. Existen evidencias de una asociación entre el consumo de dietas ricas en granos enteros y la disminución en el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas de alta prevalencia. Las propiedades beneficiosas se atribuyen a una combinación de compuestos presentes en los granos enteros: fibra, minerales, vitaminas y fitoquímicos que proveen sustancias bioactivas. El objetivo de esta investigación fue generar información respecto a la calidad nutricional en proteínas, lípidos, carbohidratos, cenizas, fibra dietética y compuestos bioactivos (selenio, compuestos fenólicos y tocoles) utilizando doce variedades de trigo pan (*Triticum aestivum*) del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) de ciclos cortos (CC) y ciclos largos (CL), cultivados en Uruguay en cuatro ambientes (dos localidades y dos años). El efecto del genotipo (G) predominó en la variabilidad del contenido de lípidos (69 % CC y 62 % CL), mientras que en fibra dietética el porcentaje aplicable al G fue 48 % en los de CL y 23 % en los de CC. En compuestos bioactivos, el contenido promedio de compuestos fenólicos fue similar en ambos ciclos (442,3 µg/g CC y 438,4 CL) y en el selenio alcanzó casi el doble en los materiales de CL (0,67 mg/kg CC y 1,09 CL). Entre los tocoles, el β-tocotrienol fue el predominante (79,91 moles/ng CC y 17,10 CL). La proporción de los efectos del ambiente (A), el G y la interacción entre estos (GxA) fue variable: en compuestos fenólicos predominó la interacción GxA (59 % CC y 80 % CL); en tocoles, el A (45 % a 73 %); y en selenio no hubo una tendencia clara en ambos ciclos. Se observó una amplia variación en los materiales estudiados con relación a la concentración de los componentes bioactivos y no se evidenció correlación entre su contenido y el peso hectolítrico de los granos, por lo que parecería posible desarrollar cultivares con componentes beneficiosos para la salud sin afectar las propiedades físicas del grano que definen este parámetro.

Palabras clave: trigo, grano entero, salud, nutrición, concentración.

NUTRITIONAL AND BIOACTIVE COMPOUNDS CHARACTERIZATION OF NATIONAL WHEAT

SUMMARY

Wheat is one of Uruguay's main agricultural products, and the most important cereal in human food. Epidemiological studies show that the consumption of whole grain decreases the risk of developing chronic diseases of high prevalence. Health beneficial properties of whole-wheat grains can be largely ascribed to the presence of bioactive compounds in the diet that reduce oxidative. The aim of this research work is to generate data relative to nutritional quality (proteins, lipids, carbohydrates, ashes, and dietary fibre) and bioactive compounds (selenium, phenolic compounds, and tocols), using samples of twelve genotypes of bread wheat (*Triticum aestivum*) from the National Institute of Agricultural Research (INIA – “*Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria*”) with short cycles (SC) and long cycles (LC), all grown in Uruguay in four different environments (two locations and two years). Genotype (G) had the larger effect on the level of lipids (69% for SC, and 62% for LC), while for dietary fibre the variability percentage referred to G was 48% for LC, and 23% for SC. Regarding bioactive compounds, average values of phenolic compounds and selenium in SC and LC wheat were 442.3 $\mu\text{g/g}$ and 438.4 $\mu\text{g/g}$; and 0.67 mg/kg and 1.09 mg/kg respectively. Among tocols, β -tocotrienol was predominant (79.91 moles/ng for SC, and 17.10 for LC). The interaction between G and environment (E) was predominant for phenolic compounds (59% for SC, and 80% for LC), while E was predominant for tocols (45% to 73 %). For the case of selenium, the trends were unclear in both cycles. These results show a wide variety of concentrations of bioactive components, with no evidence of correlation between contents and grain test weight. This opens the possibility for developing cultivars with components beneficial for human health, with no alterations in grains physical properties.

Keywords: wheat, whole grain, health, nutrition, concentration

1. INTRODUCCIÓN

El trigo es uno de los mayores productos agrícolas a nivel mundial, con una producción anual global de 600 a 700 millones de toneladas (Shewry et al., 2012). En Uruguay la producción ha oscilado en los últimos ocho años entre 0,98 a 2,02 millones de toneladas, alcanzando su valor máximo en la cosecha del año 2012 (MGAP/DIEA, 2016). La especie que se cultiva es *Triticum aestivum* o simplemente trigo.

A su vez, el trigo ocupa un lugar de privilegio en la cultura alimentaria nacional y en el equilibrio de la dieta humana. Es el cereal más consumido y constituye la primera fuente de energía alimentaria de la población. Según las hojas de balance de la Food and Agriculture Organization (FAO, 2013), el suministro medio de trigo diario por persona es de 790 kcal, lo cual representa el 33 % de la energía total diaria en una dieta de 2400 kcal/día.

El grano de trigo entero es una fuente importante de nutrientes que incluye proteínas, carbohidratos, lípidos, fibra dietética, vitaminas y minerales. Provee además de fitoquímicos, es decir, sustancias que exhiben un potencial para modular el metabolismo de modo favorable para prevenir ciertas enfermedades (Bonafine et al., 2006), que se encuentran heterogéneamente distribuidos en las distintas partes que constituyen el grano. Los fitoquímicos y muchas de las vitaminas y minerales presentes en el grano de trigo se incluyen dentro de los denominados compuestos bioactivos.

Existen evidencias epidemiológicas y clínicas de una asociación entre el consumo regular de dietas ricas en granos enteros y la disminución en el riesgo de desarrollar muchas de las enfermedades no transmisibles (ENT) de alta prevalencia a nivel mundial y nacional, especialmente las vinculadas al síndrome metabólico, como las enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, algunas patologías de carácter inflamatorio y algunos tipos de cáncer (Mosby et al., 2012; Williams, 2012; Liu, 2007; Mc Keown, 2004; Anderson, 2003; Slavin, 2000). El efecto beneficioso se

atribuye a una combinación natural y acción sinérgica de los diferentes compuestos bioactivos presentes en los granos enteros y a la fibra dietética (Slavin, 2003).

Con base en estos hallazgos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda incrementar el consumo de granos enteros, como estrategia para alcanzar las recomendaciones diarias de fibra, contribuir a una alimentación saludable y prevenir las ENT (OMS, 2003). Sin embargo, su ingesta promedio en Uruguay es muy baja (INE, 2008) y su consumo se realiza, mayoritariamente, luego de haber sido procesado en harina blanca.

En los granos enteros los compuestos bioactivos que han despertado mayor interés con relación a las ENT por su efecto protector son los compuestos fenólicos, los fitoesteroles, los tocoles, los folatos y el selenio. La actividad antioxidante posiblemente sea uno de los mecanismos principales por los cuales estos componentes disminuyen el riesgo de ENT (Ruíz y Nelina, 2005). La fibra dietética del grano es otro de los componentes que ha sido particularmente asociado con una reducción significativa en el desarrollo de ENT (MSP, 2016; NRC, 2002). Todos estos compuestos se encuentran en mayor concentración en las capas externas del grano en comparación con las internas (Heiniö et al., 2008; Mattila y Hellstrom, 2005).

El contenido de todos estos compuestos bioactivos en el grano de trigo está influenciado por el genotipo, la fracción del grano, la localidad, las condiciones ambientales y el año de producción (Liu, 2007).

Históricamente, el trigo ha sido estudiado y clasificado por sus propiedades tecnológicas y potencial agronómico, pero solo algunos trabajos a niveles regional e internacional han estudiado la calidad nutricional, el contenido y la composición de los compuestos bioactivos importantes para la salud humana en genotipos de trigo crecidos en diferentes ambientes (Shewry et al., 2012; Garner et al., 2009; Mpofu et al., 2006).

En los resultados obtenidos se observa amplia variación entre los diferentes materiales genéticos estudiados con relación a estos compuestos. El grado de

variación depende del tipo de compuesto: abarca desde 1,39 veces para los esteroides y 3,60 veces para los ácidos fenólicos y 1,93 veces para los β -glucanos (Shewry et al., 2012).

La proporción de los efectos del ambiente, el genotipo y la interacción genotipo por ambiente fue variable en los diferentes componentes estudiados. En un estudio realizado en Canadá, la combinación del genotipo y del ambiente explicó desde el 87 % (actividad antioxidante) hasta el 96 % (compuestos fenólicos totales) del total de la variabilidad. En ambos parámetros fue mayor el efecto del ambiente que el del genotipo, con una variación desde el 52 % en los compuestos fenólicos totales hasta el 37 % en la actividad antioxidante. La variabilidad atribuible a la interacción genotipo por ambiente fue baja en todos los casos, sin que superara el 4 % (Mpfou et al., 2006).

Otro estudio realizado en el proyecto Healthgrain¹, donde se analizaron 150 líneas de trigo seleccionadas con diferentes características, origen geográfico y época de liberación comercial, cultivadas en un solo sitio (Hungría) y un subconjunto de muestras de trigos crecidos en cuatro países en dos años (Shewry et al., 2010), evidenció que en la variabilidad del contenido de fibra dietética predominó el efecto del genotipo con relación al ambiente y a la interacción genotipo por ambiente, oscilando entre 39 % (arabinosilanos totales en el salvado) y 71 % (arabinosilanos totales en la harina). Asimismo, la mayor proporción de la variabilidad se atribuyó al genotipo en el contenido de tocoles y esteroides (77 % y 57 %, respectivamente). En contraste, la menor proporción del total de la variabilidad correspondió al genotipo en los folatos (24 %) y los ácidos fenólicos (5 %).

Además, se encontró que la mayoría de los compuestos estudiados son heredables en las líneas de trigo evaluadas, variando entre un 30 % para los folatos y ácidos fenólicos y aproximadamente 50 % para los tocoferoles y esteroides y 51 % para la fibra (Shewry et al., 2012), por lo tanto, incrementar su contenido en nuevas variedades de trigo podría convertirse en uno de los objetivos seleccionados por los

¹ Healthgrain, proyecto integrado del Sexto Programa Marco de la Unión Europea 2005-2010 (www.healthgrain.org).

productores, para mejorar la calidad de sus cultivos y potenciar su uso como alimentos funcionales.

También se reportó que no hay relación entre la composición de compuestos bioactivos y la época de liberación comercial (año de cruce, origen y variedades de trigos) ni con las propiedades funcionales y agronómicas de los cultivos (Shewry et al., 2012; Garnero et al., 2009). Entonces, en teoría, es posible desarrollar nuevos cultivos con niveles altos de compuestos bioactivos seleccionados, combinados con altos rendimientos, buenas propiedades agronómicas y cualidades tecnológicas.

A nivel nacional, no se han encontrado referencias de estudios vinculados a la calidad nutricional de los trigos cultivados en Uruguay ni al grado en que varía el contenido de estos compuestos en diferentes variedades, ni tampoco que determinen en qué medida las diferencias están determinadas por el genotipo, el ambiente y su interacción. Sobre esta base y en función de lo que ya ha sido demostrado a través de otros estudios, se espera encontrar diferencias entre la composición nutricional y cantidad de compuestos bioactivos en diferentes genotipos de trigo cultivados en distintos ambientes, por lo que resulta de interés generar información al respecto.

Este trabajo de tesis, además de generar información general respecto a la calidad nutricional del trigo producido a nivel nacional, constituye un aporte para apuntalar el mejoramiento genético de este cereal con propiedades nutricionales beneficiosas, de manera de integrar esta condición con otras que determinan la calidad total de estos cultivos (calidad agronómica, tecnológica y sanitaria). A su vez, pretende ser una contribución para mejorar la salud de la población, particularmente con relación a la prevalencia de las ENT.

1.1 OBJETIVOS

Esta tesis tuvo como finalidad generar información respecto a la calidad nutricional y compuestos bioactivos con efectos beneficiosos para la salud y prevención de enfermedades no transmisibles (ENT) en variedades de trigos uruguayos cultivados en diferentes ambientes.

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- Caracterizar los trigos por contenido de carbohidratos, proteínas, lípidos, cenizas y fibra dietética total.
- Determinar el contenido de los principales compuestos bioactivos con efectos beneficiosos para la prevención de ENT: compuestos fenólicos, tocoles y selenio.
- Determinar la contribución del genotipo (G), el ambiente (A) y su interacción (G x A) en el contenido de los compuestos seleccionados.
- Determinar la relación entre estos componentes y el peso hectolítrico (PH).

1.2 EL TRIGO

El trigo es una planta anual perteneciente al género *Triticum*, de la familia de las gramíneas (*poaceae*). La palabra «trigo» proviene del vocablo latino *triticum*, que significa ‘quebrado’, ‘triturado’ o ‘trillado’, por lo tanto, *Triticum* significa el grano que es necesario trillar para poder ser consumido (Gómez Pallarés et al., 2007). Es un cereal, ya que los frutos de las gramíneas que se consideran comestibles son considerados cereales.

El de trigo es uno de los cultivos más antiguos; es el cereal dominante en los países templados y constituye, desde el punto de vista del consumo humano, el cereal más importante. Este éxito se debe, en gran medida, a su capacidad de adaptación y su alto rendimiento, pero, además, a las proteínas del gluten, que le confieren propiedades únicas a la masa y permiten elaborar una amplia gama de panes y productos horneados, pastas, fideos y otros alimentos procesados (Shewry, 2009).

1.2.1 Origen del trigo

La genealogía del trigo comenzó con gramíneas salvajes, en la zona de Eurasia durante el período neolítico (10.000-2.500 a. C.) (Belitz et al., 2009; Shewry, 2009), dando como resultado los primeros asentamientos de grupos humanos y determinando la evolución de los hombres de la fase cazador-recolector a la de agricultor (Bozzini, 2012).

Los primeros cultivos eran esencialmente variedades naturales y locales, que pertenecían a los grupos einkorn (*Triticum monococcum*) y emmer (*Triticum dicoccum*), que eran trigos diploides (genoma: AA, $2n = 14$) y tetraploides (genoma: AABB, $2n = 28$). Posteriormente, por hibridación del trigo emmer con otras especies salvajes, derivó el trigo pan (*Triticum aestivum*).

1.2.2 Actuales especies de trigo

Las especies de trigo actualmente más difundidas en el mundo son el trigo común o pan o simplemente trigo (*Triticum aestivum*) y el trigo duro o de fideo (*Triticum durum*), también conocido como *Triticum turgidum*, trigo *durum* o trigo candeal (Vázquez, 2009).

El *Triticum aestivum* constituye la especie más relevante y es utilizada para hacer harina, sémola y malta, así como una gran variedad de productos alimenticios derivados de estos, tales como pan, galletas, pasta, cereales de desayuno, aperitivos, cerveza, whisky, etc. (Mergoum et al., 2009). Le sigue en importancia a nivel mundial el *Triticum turgidum*, que se usa casi en su totalidad para la elaboración de pastas, aunque en algunas regiones, como en el norte de África y Medio Oriente, se utiliza para la elaboración de panes étnicos (Vázquez, 2009). Las otras especies son cultivadas en pequeñas superficies, ya sea por razones culturales o para el mercado de comidas saludables. Estos son los trigos einkorn, emmer y espelta (Shewry y Hey, 2015a).

En Uruguay, la especie que se cultiva es el *Triticum aestivum*. Es un hexaploide (AABBDD), con genoma proveniente de *Triticum monococcum* (AA) y del *Aegilops squarrosa* (*Triticum tauschii*, DD); en el caso del genoma B, aún no se conoce claramente su origen (Belderok, 2000).

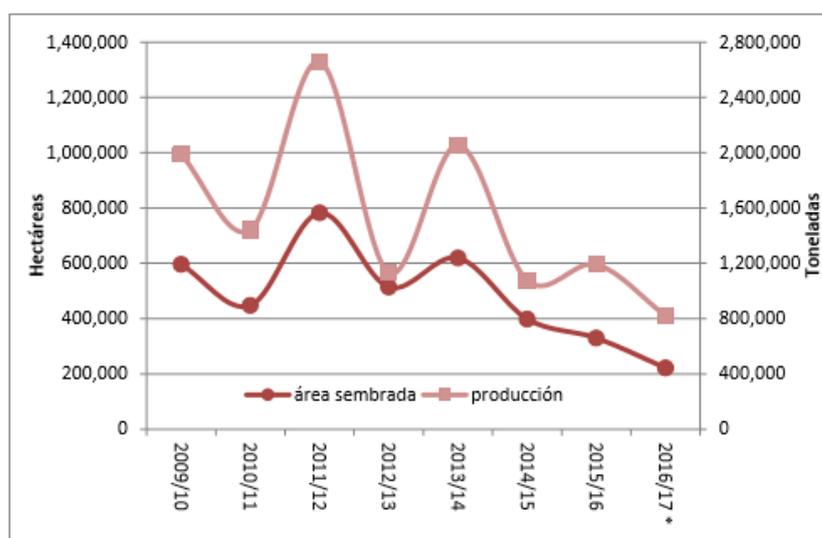
1.2.3 Producción en Uruguay

En Uruguay, el cultivo de trigo ocupa el primer lugar en superficie sembrada y cantidad producida con relación a los cultivos cerealeros de secano (MGAP/OPYPA,

2016). En los últimos años ha tomado mayor preponderancia en la economía uruguaya, alcanzando en el año agrícola 2011/2012 el 1 % del valor bruto de producción de Uruguay (Uruguay XXI, 2013).

En la Figura 1 se observan las variaciones que ha tenido la producción de trigo en el área sembrada y en la producción en el período comprendido entre los años 2009/2010 y 2015/2016, así como las proyecciones para el 2017 (MGAP/OPYPA, 2016). En este período, el valor máximo alcanzado en el área sembrada fue de 593,4 miles de hectáreas y el mínimo fue de 330, con una productividad máxima de 2016,3 miles de toneladas y una mínima de 982,4 (MGAP/DIEA, 2016).

Figura 1. Evolución del área sembrada y producción de trigo períodos 2009/2010 - 2016/2017.



Fuente: MGAP/DIEA, 2016.

Las variaciones observadas están sustentadas en la economía internacional y global del país, las técnicas utilizadas en los cultivos, la incorporación de tecnología y el rendimiento de los cultivos (Uruguay XXI, 2013). A su vez, el rendimiento resulta de las características genéticas de los cultivares y la interacción del ambiente, determinado principalmente por la localidad del cultivo, el manejo agronómico y las condiciones climáticas (INIA/INASE, 2012).

Particularmente en los años agronómicos 2011/2012 y 2012/ 2013, correspondientes al período en que fueron cultivadas las variedades estudiadas en este trabajo, el rendimiento en grano promedio nacional presentó variaciones. En el año 2011, el rendimiento fue alto, alcanzando los 3.398 kg/ha, mientras que en el año 2012 fue de 2.100 kg/ha. Esta fuerte caída se debió fundamentalmente al estrés ocasionado por exceso de agua durante el desarrollo del grano, lo cual ocasionó problemas sanitarios y un deficiente desarrollo y llenado de granos, determinando menores valores de PH y de peso de mil granos.

En los ensayos de la Evaluación Nacional de Cultivares (ENC), llevados a cabo por el convenio entre el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y el Instituto Nacional de Semillas (INASE), en los que generalmente hay una buena expresión del potencial, la evolución de rendimiento promedio de los ensayos de trigos de ciclo intermedio en la zafra 2011 fue de 4.927 kg/ha y en 2012 fue de 2.851 kg/ha (INIA/ INASE, 2012).

El principal destino de la producción de trigo es el abastecimiento del consumo nacional para el consumo humano, además, se utiliza con destino forrajero y se exporta a países de la región y extrarregionales (MGAP/OPYPA, 2016).

Según las últimas hojas de balance de la FAO (2013), el trigo disponible para consumo humano en el año 2013 fue de 372 miles de toneladas y el suministro por persona y por día correspondió a 299 g de trigo y derivados, 790 kcal y 20,66 g de proteínas.

1.2.4 Distribución geográfica del cultivo

La agricultura de trigo ha estado concentrada tradicionalmente a la región agrícola-ganadera del litoral oeste. Dicha región agroeconómica se asocia a los suelos de mayor aptitud agrícola de los departamentos de Soriano, Colonia, Río Negro, Paysandú y Flores.

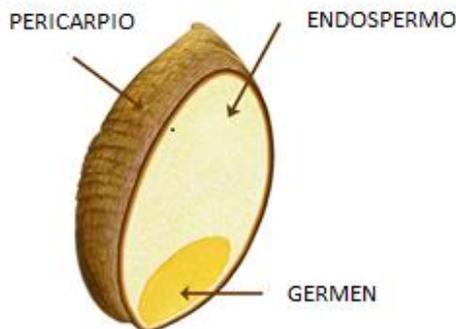
1.2.5 Estructura del grano de trigo

El trigo es una monocotiledónea y produce un fruto seco con una sola semilla. Este tipo de fruto es una cariósida denominada «grano».

Si bien histológicamente pueden diferenciarse numerosas capas en el grano, desde el punto de vista de su aplicación industrial se pueden identificar tres partes esenciales: la cubierta del fruto o pericarpio, que rodea la semilla, el endospermo amiláceo y el embrión o germen que forman parte de la semilla (Vázquez, 2009).

En la Figura 2, se muestra esquemáticamente la anatomía de un grano de trigo en sección longitudinal.

Figura 2. Esquema de la anatomía del grano de trigo (sección longitudinal).



Adaptado de: The Whole Grains Council

Las cubiertas, en la separación de la molienda, componen el salvado; se delimitan externamente por el pericarpio y en la parte interna por la aleurona. Constituyen entre el 13 y el 17 % de peso del grano en base seca (b. s.). El endospermo es la capa media, comprende más del 80 % del grano (en b. s.) y el germen entre el 2 y el 3,5 % del grano (b. s.) (Belderok, 2000).

El peso del grano normalmente oscila entre 30 y 40 mg, aunque pueden hallarse granos con pesos superiores o inferiores si las condiciones ambientales son favorables o desfavorables (Castro et al., 2005). La variación en el tamaño depende

de la variedad, de las condiciones del cultivo y de la posición en la espiga (Hoseney, 1991).

1.3 EL GRANO DE TRIGO EN LA NUTRICIÓN Y EN LA SALUD HUMANA

El grano de trigo entero es una importante fuente de nutrientes para la humanidad. Generalmente es considerado una fuente importante de carbohidratos digeribles (almidón), sin embargo, el grano de trigo entero aporta también otros nutrientes, incluyendo proteínas, lípidos, fibra dietética, vitaminas del complejo B (tiamina, niacina biotina, ácido pantoténico y folatos), minerales (principalmente hierro, zinc, fósforo, magnesio, potasio) y fitoquímicos con efectos beneficiosos para la salud (Shewry y Hey, 2015a).

1.3.1 Contribución del grano de trigo a las recomendaciones diarias de nutrientes

El trigo es una importante fuente de almidón y energía de la población. En general, aporta casi el 20 % de la energía y proteínas totales del mundo (Betschart, 1988), por lo que es un alimento básico para la población mundial.

En la Encuesta Nacional de Dieta y Nutrición del Reino Unido (Bates et al., 2014), probablemente una de las más completas, recientes y disponibles libremente, se recopila la contribución porcentual de los cereales y panificados a las necesidades diarias de los nutrientes esenciales para los adultos. Según esta encuesta, los cereales y los panificados constituyen la principal fuente de energía para todos los grupos etarios, aportando el 31 % de las necesidades diarias del adulto. A su vez, únicamente con la ingesta de pan, los polisacáridos no amiláceos contribuyen aproximadamente con una quinta parte de la ingesta recomendada de fibra.

A nivel nacional, la información es más limitada; de acuerdo a la última Encuesta Nacional de Gastos e Ingresos de los Hogares (ENGIH) (INE, 2008), el consumo aparente de calorías per cápita proveniente de los cereales es de 910 kcal para Montevideo y 834 para el medio rural, de las cuales 80-85 % provienen de derivados

del trigo. La energía procedente de los cereales representa, en promedio, el 36 % de la energía total diaria en una dieta de 2.400 kcal/día, de las cuales 20 % provienen de panes, galletas, alfajores y productos de repostería, y 16 %, de arroz, fideos, harinas y otros cereales.

Respecto a las proteínas, los cereales contribuyen con $\frac{1}{3}$ del total de la alimentación diaria del adulto (INE, 2008). Si bien esta cantidad no es despreciable, la calidad aminoacídica de estas proteínas es insuficiente, por lo que requieren ser complementadas con otras proteínas de origen animal para alcanzar un equilibrio entre el consumo de aminoácidos esenciales y no esenciales y mantener la homeostasis de nitrógeno en la salud humana (Belitz et al., 2009; FAO/WHO/UNU, 2007; Shewry et al., 1994).

El consumo de trigo se realiza mayoritariamente luego de haber sido procesado en harina blanca. Durante este proceso, el embrión y las capas externas del grano son removidos, perdiendo gran parte de sus fitoquímicos con propiedades beneficiosas para la salud (Pounten, 2012; Okarter y Liu, 2010).

Según la ENGIH (INE, 2008), el consumo aparente diario por persona de panificados elaborados con harina de trigo refinada es de 150 g, mientras que el de pan integral es nulo en los hogares más pobres y alcanza un máximo de 4 g en los hogares de mayores ingresos. Por lo tanto, la contribución de la ingesta del grano de trigo entero a las necesidades nutricionales diarias en Uruguay es aún muy escasa.

1.3.2 Beneficios para la salud del consumo de grano entero

Existen evidencias epidemiológicas y clínicas de una asociación entre el consumo regular de dietas ricas en granos enteros y la disminución en el riesgo de desarrollar muchas de las enfermedades no transmisibles (ENT) de alta prevalencia, especialmente las vinculadas al síndrome metabólico, como las enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, algunas patologías de carácter inflamatorio y algunos tipos de cáncer (Tang et al., 2015; Bodinham et al., 2011; Gil et al., 2011; Gnagnarella et al., 2008; Mellen et al., 2007; Liu 2007, Mc Keown, 2004; Slavin,

2004; Anderson, 2003; Liu et al., 2003). Asimismo, el consumo regular de granos enteros contribuye al mantenimiento de la salud digestiva y del peso corporal (Walter et al., 2013; Karl y Saltzman, 2012; Satya et al., 2011; Carvalho-Wells et al., 2010; Van de Vijver et al., 2009; Bazzano et al., 2005).

Adicionalmente, los fitoquímicos contenidos en los cereales son únicos y complementan a los que tienen los vegetales cuando ambos grupos de alimentos se incluyen en la dieta (Liu et al., 2004). La gran variedad de nutrientes y fitoquímicos presentes en los granos enteros determina que se planteen diversos mecanismos a través de los cuales una dieta rica en granos enteros podría reducir el riesgo de las ENT. Autores como Jones et al. (2016), Aune et al. (2013), Gil et al. (2011), Jensen et al. (2006), Slavin (2004), Mc Keown (2004), Smith et al., (2003), Anderson (2003), entre otros, han publicado revisiones amplias sobre este aspecto, no obstante, aún se requiere profundizar sobre los mecanismos fisiológicos y moleculares que hacen posible los beneficios de los granos enteros (Liu, 2007; Ruíz y Nelina, 2005).

Los granos presentan una gran actividad antioxidante², por lo que posiblemente esta sea uno de los mecanismos primordiales a través de los cuales los granos enteros previenen enfermedades en las que el estrés oxidativo juega un rol fisiopatológico (Ruíz y Nelina, 2005; Institute of Medicine, 2000).

La actividad antioxidante de los cereales ha sido subestimada durante mucho tiempo, dado que solamente se cuantificaban los antioxidantes libres, sin embargo, aproximadamente el 90 % de estos están ligados. Estos antioxidantes ligados podrían sobrevivir a la digestión gástrica e intestinal y serían liberados en el intestino grueso donde ejercerían su acción protectora (Slavin, 2003).

Con base en estos hallazgos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda incrementar el consumo de granos enteros, como estrategia para alcanzar las recomendaciones diarias de fibra, contribuir a una alimentación saludable y

² Un antioxidante dietético es una sustancia presente en los alimentos que disminuye significativamente el efecto adverso de las especies reactivas, tales como las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno en las funciones fisiológicas normales en los seres humanos (Institute of Medicine, 2000).

prevenir las ENT (OMS, 2003). Las guías alimentarias para los estadounidenses 2015-2020 recomiendan que al menos la mitad de la ingesta de cereales sea de granos integrales (3 porciones, 85 g) (USDA, 2015).

En esta revisión, haremos énfasis en el contenido y localización de nutrientes del grano de trigo integral que son relevantes para la nutrición humana y la salud y en los principales compuestos bioactivos vinculados con la prevención de ENT. En cuanto a las funciones que tienen los componentes del grano de trigo en la salud, solo se profundizará en los compuestos asociados a la prevención de ENT, esencialmente en los compuestos bioactivos y la fibra dietética.

1.4 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL GRANO DE TRIGO ENTERO Y SUS FRACCIONES CON RELACIÓN A LA NUTRICIÓN Y LA SALUD

1.4.1 Composición nutricional del grano de trigo entero

El grano de trigo entero comprende todas las partes comestibles del grano incluyendo el salvado, el germen y el endospermo, en la misma proporción que en el grano original (FDA, 2006).

Los valores típicos de la composición nutricional del grano de trigo entero en macronutrientes, fibra y minerales se observan en el Cuadro 1, y su localización en las diversas fracciones del grano, en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Valores típicos de la composición química del grano de trigo entero en porcentaje de base seca

Constituyente	% de base seca
Proteínas	10,0-16,4
Cenizas	1,2-3,0
Carbohidratos	65,4-78,0
Lípidos	1,5-2,0
Fibra dietética	10,0-13,1

Fuentes: USDA, 2015; Matz y Ensminger citados por OECD, 2003; Belderok, 2000.

Cuadro 2. Localización de los principales nutrientes en las fracciones del grano

Constituyente	Nutrientes principales
Salvado	Fibra dietética, proteínas, potasio, fósforo, magnesio, hierro, zinc.
Capa de aleurona	Proteínas, niacina, tiamina, folato, minerales: fósforo (como fitatos), potasio, magnesio, hierro y zinc.
Endospermo	Almidón, proteínas y minerales.
Germen	Lípidos, proteínas, azúcares, vitamina B (principalmente tiamina), fósforo.

Fuente: Orth y Shellenberger, 1988.

En el Cuadro 3, se muestra, a modo indicativo, la distribución relativa de los nutrientes en las diferentes capas del grano en un trigo en particular.

Cuadro 3. Composición química del grano entero y sus principales fracciones en porcentaje de base seca

Constituyente	Grano	Endospermo	Salvado	Germen
Proteínas	16	13,0	16,0	22,0
Lípidos	2	1,5	5,0	7,0
Carbohidratos	68	82,0	16,0	40,0
Fibra dietética	11	1,5	53,0	25,0
Cenizas	1,8	0,5	7,2	4,5
Otros	1,2	1,5	2,8	1,5
Total	100	100	100	100

Fuente: Belderok, 2000.

La mayor parte del endospermo se compone de carbohidratos (principalmente almidón), mientras que el salvado contiene altos niveles de fibra y comparativamente más minerales y grasa que el endospermo. El germen también contiene niveles comparativamente altos de grasa y proteínas (OECD, 2003).

1.4.2 Proteínas

1.4.2.1 Contenido y clasificación

Las proteínas del trigo son complejas y se pueden agrupar según su función biológica en dos categorías: las enzimas biológicamente activas (albúminas y globulinas) y las proteínas de almacenamiento biológicamente inactivas (gliadinas y gluteninas) (Lookhart y Bean, 2000). Las gliadinas y gluteninas en su conjunto se denominan gluten y están fundamentalmente localizadas en el endospermo del grano, mientras que las albúminas y globulinas están concentradas en la capa de aleurona del salvado y en el germen. Las proteínas del gluten son el componente principal de las propiedades panaderas del trigo (Shewry, 2009).

El contenido en proteínas del grano de trigo es mayor a los de otros cereales y está determinado por factores genéticos y ambientales durante el desarrollo, particularmente por la disponibilidad de nitrógeno en el suelo. La información nacional y extranjera es coincidente en cuanto a que con dosis crecientes de fertilizante nitrogenado se tiende a aumentar la proteína acumulada en el grano, independientemente del cultivar, mejorando la aptitud panadera (Shewry y Hey, 2015a; García Lamothe, 2006).

Para obtener trigo con buena concentración de proteínas y reducir la probabilidad de ocurrencia de la relación negativa entre rendimiento y calidad se requiere de un manejo adecuado de la fertilización con nitrógeno, dada su interacción con el ambiente. Los factores ambientales son determinantes del rendimiento potencial y del requerimiento de nitrógeno, pero además influyen en la eficiencia de la movilización de nitrógeno al grano, en la duración del llenado del grano, en la acumulación de hidratos de carbono y en la mineralización de nitrógeno del suelo, por lo que queda en evidencia la complejidad que implica un uso apropiado de nitrógeno que integre rendimiento y calidad (García Lamothe, 2006).

El contenido en proteínas de 12.600 variedades de la colección mundial del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) está en el rango de 7 a

22 % en b. s. (Vogel et al., 1978), sin embargo, el rango característico oscila entre 10 y 15 % en b. s. en trigos crecidos en condiciones de chacra (Shewry y Hey, 2015a).

Según los datos publicados por USDA (2015), el contenido de proteínas promedio en la harina de trigo proveniente del grano entero es de 14,8 %, con un mínimo de 11,9 % y un máximo de 16,4 % en b. s., y en el trigo tipo Hard Red Spring el valor promedio reportado es de 17,6 % en b. s.

En trigos uruguayos, el contenido en proteínas está también en este mismo rango de valores (Ernest et al., 2006). Particularmente en las zafas 2011 y 2012, los valores promedio fueron de 11,9 y 13,8 % en b. s., respectivamente, según el reporte anual de la caracterización de la zafa de trigo 2012/2013 (MGAP/DGSA, 2014).

1.4.2.2 Distribución de las proteínas en el grano

Las proteínas se distribuyen heterogéneamente en las diferentes fracciones del grano, con valores reportados de 5,7 % en el pericarpio, 22 % en la aleurona, 10,2 % en el endospermo y 34,1 % en el germen. (Jensen y Martens, 1983). Valores similares fueron publicados por otros autores (Bechtel et al., 2009).

1.4.2.3 Calidad nutricional de las proteínas

Si bien el trigo constituye una fuente significativa de proteínas, la calidad nutricional de las proteínas para los requerimientos humanos es limitada dado que no alcanza a cubrir las cantidades de los diez aminoácidos esenciales necesarios para un adulto. Al comparar los requerimientos de los aminoácidos esenciales para el adulto y las cantidades presentes en el grano de trigo, se observa que solo la lisina es deficiente mientras que el contenido en los otros aminoácidos es adecuado a los requerimientos del adulto (Shewry, 2009; FAO/WHO/UNU, 2007).

El bajo contenido de lisina en el grano se debe fundamentalmente a la baja proporción de este aminoácido en las proteínas del gluten, mientras que las albúminas y globulinas son más ricas en lisina (Lookhart y Bean, 2000).

1.4.3 Carbohidratos

1.4.3.1 Contenido y composición

En el grano de trigo maduro, los carbohidratos representan el 85 % del grano en base seca. La mayoría de ellos, el 80 %, corresponde al almidón, presente únicamente en el endospermo; aproximadamente el 7 % son mono-, di- y oligosacáridos ubicados en la capa de aleurona, en el endospermo y en los tejidos del embrión, y oligofructanos presentes en el endospermo y en el salvado; el 12 % son polisacáridos no amiláceos que se encuentran en las paredes celulares de todos los tejidos y forman parte de la fibra dietética (Shewry y Hey, 2015a).

En el Cuadro 4, se muestra el contenido de carbohidratos cuantificados en trabajos de investigación e informados en la base de datos USDA.

Cuadro 4. Contenido total de carbohidratos en diferentes muestras de trigo en porcentaje de base seca (adaptado de Stone y Morell, 2009)

Carbohidratos		Cantidad	Referencias
Carbohidratos		61,20 ^a	
digeribles		64,30 ^b	1
(por diferencia)			
Monosacáridos	Glucosa	0,03-0,09	2
	Fructosa	0,06-0,15	2,3
Disacáridos	Sacarosa	0,54-1,55	2,3,4
	Maltosa	0,05-0,18	2
Oligosacáridos	Rafinosa	0,19-0,68	2,3,4
	Fructooligosacáridos	0,14-0,41	2,3,4
Fructanos		0,50-1,14	2,3,5
Almidón		63,2-75,0	2,4

^a Harina de grano de trigo entero, ^b Hard red spring.

Referencias: 1. USDA, 2015; 2. Lineback y Rasper, 1988; 3. Henry y Saini, 1989; 4. Bach Knudsen, 1997; 5. Fretzdorff et al. citados en Karppinen et al., 2003.

A nivel nacional, en un estudio realizado en diez muestras de trigo provenientes de cinco molinos, el valor promedio de carbohidratos digeribles por diferencia en b. s. fue de 70,03 %, con un mínimo de 69,07 % y un máximo de 71,12 % (Russo et al., 2011).

La variación en el contenido en carbohidratos digeribles se atribuye a la variedad y las condiciones ambientales donde se desarrolla el cultivo (Becker y Hanners, 1991), y está directamente vinculado con el grado de llenado del grano durante su desarrollo y, por lo tanto, con el rendimiento. Existe, además, una relación inversa entre el contenido de almidón y el de proteínas (Shwery y Hey, 2015a).

1.4.3.2 Monosacáridos, disacáridos y oligosacáridos

Los principales carbohidratos de menor peso molecular incluidos en el trigo son la glucosa, la fructosa y, en menor cantidad, sus formas fosforiladas y los disacáridos sacarosa y maltosa. Los oligosacáridos más abundantes son polímeros de fructosa denominados fructooligosacáridos o fructanos, que comprenden tres o más unidades de fructosa y algunas formas que también tienen una glucosa; son moléculas ramificadas con enlaces β -(2,1) y β -(2,6) (Ritsema y Smeekens, 2003).

1.4.3.3 Almidón

El almidón es el componente mayoritario en el grano de trigo, constituye aproximadamente el 60-70 % del peso total del grano (en b. s.). Se encuentra en estado parcialmente cristalino en gránulos intracelulares de las células del endospermo (Hoseney, 1991).

Químicamente está constituido principalmente por una mezcla de polisacáridos conformados por la amilosa y la amilopectina, y una fracción minoritaria (1-2 %) de conformación no glucosídica.

La amilosa es producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos α (1,4), que establecen largas cadenas lineales de entre 200 a 2.500 unidades. Por su parte, la amilopectina se diferencia de la amilosa en que es

una cadena de enlaces α (1,4), pero altamente ramificada con enlaces α (1,6) que comprenden más de 100.000 unidades de glucosa (Badui, 2013). En la mayoría de las variedades de trigo, la relación entre la amilosa y la amilopectina es de 1 a 3. Sin embargo, los granos de almidón de algunas variedades, por ejemplo del trigo céreo o waxy, tienen esencialmente 100 % de amilopectina (Kim et al., 2003), en tanto que otras variedades son muy ricas en amilosa, con un contenido de 38-55 % y con elevado nivel de almidón resistente³ con relación a los trigos tradicionales (Botticella et al., 2011). Esta relación entre la amilosa y amilopectina es de interés, puesto que influye en las propiedades organolépticas y del procesamiento y en el comportamiento del almidón a nivel gastrointestinal (Kim et al., 2003), incluyendo el contenido de almidón resistente.

Desde el punto de vista nutricional, particularmente el almidón del trigo es un importante macronutriente para la humanidad (Shelton y Lee, 2000), constituye junto a otros cereales la principal fuente de carbohidratos digeribles de la dieta, el componente energético primordial del trigo y el motivo por el cual el trigo fue domesticado (Vázquez, 2009).

1.4.3.4 Polisacáridos no amiláceos

Los cereales contienen otros polisacáridos distintos al almidón, que son los constituyentes de la estructura de las paredes celulares y abundan más en las porciones externas que internas del grano (Belitz et al., 2009). A nivel del endospermo su contenido es mucho menor al almidón. Los polisacáridos no amiláceos que se encuentra en mayor proporción en las paredes celulares del trigo son los arabinoxilanos (AX), que constituyen aproximadamente el 5-7 % del grano de trigo (Ordaz et al., 2005) y se dividen en AX solubles y AX insolubles según su solubilidad (Shewry y Hey, 2015a; Belitz et al., 2009). En segundo lugar, se encuentran los β -glucanos (Stone y Morell, 2009) y en menor cantidad se hallan

³ Almidón resistente: se denomina así al almidón y los productos provenientes de la digestión del almidón que no son absorbidos en el intestino delgado de individuos saludables (Asp, 1992; Englyst y Cummings, 1985).

otros compuestos tales como la celulosa y glucomananos, callosa, xiloglucanos y pectinas (Palmer et al., 2015; Pellny et al., 2012; Belitz et al., 2009).

La cantidad y proporción de los polisacáridos no amiláceos que constituyen las paredes celulares varía entre los diferentes tejidos, situación que se resume en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Contenido y composición de las paredes celulares del grano de trigo y sus fracciones en porcentaje de base seca (Shewry y Hey, 2015a)

Tejidos	Paredes celulares	Celulosa	Arabino-Xilanos	β -glucanos	Glucomananos	Referencias
Grano	s./d.	1,7-3	5,8-7,4	0,55-1	< 1	1, 2, 3, 4, 5
Endospermo	2-3	2	70	20	7	1
Salvado	s/d	29	64	6	2
Aleurona	40	2-4	62-65	29-34	2

Referencias: 1. Lineback y Rasper, 1988; 2. Henry y Saini, 1989; Henry, 1987; 3. Borron et al., 2007; 4. Mares y Stone, 1973; 5. Andersson et al., 2013.

Los polisacáridos no amiláceos son el principal componente de la fibra dietética incluida en el grano de trigo (Stone y Morell, 2009).

1.4.4 Fibra dietética

Por fibra dietética se entiende los polímeros de carbohidratos con un grado de polimerización no inferior a 10, que no son digeridos ni absorbidos en el intestino delgado. Puede incluir fracciones de lignina u otros compuestos asociados a los polisacáridos de las paredes celulares vegetales (Codex Alimentarius Commission, 2008).

1.4.4.1 Composición y contenido

Los mayores componentes de la fibra dietética en el grano de trigo son los polisacáridos estructurales que integran las paredes celulares, los polisacáridos no

amiláceos no estructurales, tales como los fructanos, el almidón resistente y la lignina. La lignina es un polímero de alcoholes aromáticos que está presente únicamente en la capa de pericarpio del salvado (Stone y Morell, 2009).

El contenido en fibra dietética total y sus componentes, reportado por Andersson et al. (2013) al estudiar 129 variedades de trigo cultivadas en la misma localidad (proyecto Healthgrain), y los valores nacionales publicados por Russo et al. (2011) se observan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Contenido en fibra dietética y sus componentes en variedades de trigo, en % de base seca

Componentes	Mín.	Máx.	Promedio	Referencias
Fibra dietética total	11,5/11,7	15,5/14,5	13,4/13,6	1, 2
Lignina	0,74	2,03	1,33	
Arabinosilanos	5,53	7,42	6,49	
Celulosa	1,67	3,05	2,11	1
β -glucanos	0,51	0,96	0,73	
Fructanos	0,84	1,85	1,28	

Referencias: 1. Andersson et al., 2013; 2. Russo et al., 2011.

A los efectos de estudiar la contribución del ambiente en la variabilidad del contenido de compuestos bioactivos, se realizó en el proyecto Healthgrain un segundo experimento, en el cual se analizaron 26 líneas de trigo cultivadas en un mismo lugar en dos años diferentes y en tres localidades adicionales para un mismo año. A partir de los resultados generados, se analizó en qué proporción contribuyeron el genotipo (G), el ambiente (A) y la interacción del G por el A (G x A) en la variabilidad de los β -glucanos (en el grano entero) y de los AX (totales, solubles e insolubles en salvado y en harina). Resultó que la proporción de la varianza del G en el total de la varianza fue alta en ambos componentes de la fibra, oscilando entre 0,39 (AX totales del salvado) y 0,56 (β -glucanos) en el grano entero (Shewry et al., 2010).

A su vez, al correlacionar el contenido de los componentes de la fibra dietética estudiados y las condiciones climáticas desde la siembra hasta la cosecha, los autores obtuvieron una correlación fuerte, negativa y estadísticamente significativa entre el contenido de AX solubles en el salvado y en la harina y las temperaturas medias ($r = -0,889$, $p < 0,018$ y $0,868$, $p < 0,025$, respectivamente). Según Gerbruers et al. (2010), esta relación podría vincularse con la alta actividad de la enzima xilanasasa presente en el grano en ambientes cálidos.

Shewry et al. (2011) estudiaron la relación en el contenido de fibra dietética respecto al peso de mil granos (según un *score* de fibra total asignado a 6 grupos, de acuerdo al porcentaje de los componentes analizados: porcentaje de β -glucanos en el grano entero, porcentaje de AX solubles y AX totales en el salvado y porcentaje de AX solubles y AX totales en la harina) y observaron una ligera correlación positiva ($r = 0,312$, $p < 0,001$). Este resultado es consistente con lo publicado por Ward et al. (2008), respecto a una correlación débil positiva entre el peso de mil granos y el contenido de AX totales en el salvado ($r = 0,302$, $p < 0,001$).

A su vez, al relacionar el contenido de AX totales en el salvado con el rendimiento del salvado, Ward et al. (2008) reportaron una relación negativa y estadísticamente significativa ($r = -0,514$, $p < 0,001$). Ninguno de los otros componentes analizados de la fibra dietética (AX totales en harina, AX solubles en harina y en salvado) mostró correlación significativa con el rendimiento del salvado ni con el peso de mil granos.

Al relacionar el año de registro de los cultivares con el *score* de fibra dietética no se encontró correlación, lo que indica que la variabilidad en los valores acontece en las variedades modernas y en las más antiguas (Shewry et al., 2011).

1.4.4.2 Rol en la nutrición y en la salud

La fibra dietética es identificada como un componente importante de las dietas saludables. Existen numerosas publicaciones con relación a los efectos beneficiosos de la fibra dietética del trigo en la salud. Recientemente, el Scientific Advisory Committee on Nutrition del Reino Unido (SACN, 2015), ha realizado una revisión

sobre las evidencias vinculadas a los efectos de la fibra de trigo en la salud, y sus principales conclusiones fueron que la fibra dietética proveniente del trigo promueve la salud cardiovascular, previene eventos coronarios, accidentes cerebro vasculares y el desarrollo de diabetes tipo 2; tiene, además, un efecto beneficioso a nivel gastrointestinal, previniendo el desarrollo de cáncer colon-rectal y favoreciendo un tránsito intestinal normal.

El efecto beneficioso de la fibra del grano del trigo probablemente se deba a múltiples mecanismos fisiológicos, entre los que se incluyen unión y eliminación del colesterol, modulación de actividad hormonal, estimulación del sistema inmune, estimulación del tránsito intestinal, producción de ácidos grasos de cadena corta, aumento del volumen de los alimentos, disminución del índice glicémico y calórico de los alimentos, aumento de la respuesta a la insulina, secuestro de radicales libres, entre otros (Lafiandra et al., 2014; Brownlee, 2011; Anderson et al. 2009; Theuwissen y Mensink, 2008; Liu, 2007; Topping, 2007).

1.4.5 Lípidos

Los lípidos son macronutrientes relativamente menores del grano, sin embargo, comprenden un grupo complejo de compuestos que pueden estar libres o unidos a otros constituyentes de los cereales, incluyendo proteínas y almidón (Hoseney, 1991). Son componentes importantes a nivel nutricional, así como para el almacenamiento y procesamiento de los granos (Davis et al., 1980; Clayton y Morrison, 1972).

1.4.5.1 Contenido y composición en el grano entero

Los lípidos del grano de trigo se clasifican en tres grupos: polares, no polares y ácidos grasos libres. A su vez, la fracción polar se subdivide en fosfolípidos y glicolípidos, y la no polar en mono-, di- y triglicéridos según los grupos hidroxilos presentes en el glicerol estén esterificados con 1, 2 o 3 ácidos grasos.

Los lípidos difieren en su función y localización dentro de la célula. Los polares son componentes de las membranas y los triglicéridos son lípidos de reserva que se ubican en cuerpos grasos intracelulares, fundamentalmente en el embrión y en la capa de aleurona, mientras que en el endospermo su localización no está clara aún (Shewry y Hey, 2015a).

El contenido de lípidos según diferentes autores varía de 1,2 a 3,9 % en b. s., con un valor promedio de 2,63 % (Chung et al., 2009). Según datos nacionales (Russo et al., 2011), el promedio en b. s. es de 2,14 %, con mínimo y máximo de 1,85 % y 2,34 %, respectivamente.

El contenido de lípidos varía principalmente por la variedad, el ambiente y el grado de maduración del grano cuando se cosecha (Chung y Ohm, 2000). Asimismo, la amplia variación en la concentración de lípidos reportada en la literatura probablemente refleje la diversidad de los métodos analíticos utilizados para su determinación más que las genuinas diferencias entre las muestras (Shewry y Hey, 2015a).

1.4.5.2 Distribución en los tejidos del grano

La distribución de los lípidos en los tejidos del grano es heterogénea, concentrándose en el embrión y en la capa de aleurona como se puede observar en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Distribución de los lípidos en el grano de trigo en porcentaje de base seca

Componentes del grano	Lípidos
Salvado	5,1-5,8
Aleurona	6,0-9,9
Endospermo	0,75-2,2
Embrión	22,6-48,4

Adaptado de: Morrison, 1978.

1.4.5.3 Rol en la nutrición y en la salud

El mayor interés en los lípidos del grano de trigo vinculados con la nutrición y la salud es el contenido en ácidos grasos esenciales y la composición en ácidos grasos, particularmente la relación entre los ácidos grasos saturados y los insaturados (relación 0,28). Los ácidos grasos más abundantes en el trigo en orden decreciente son el ácido linoleico (18:2), el ácido palmítico (16:0), el ácido oleico (18:1), el ácido linolénico (18:3) y, por último, el ácido esteárico (18:0) (Shewry y Hey, 2015a; Ruibal et al., 2002). Además, los lípidos incluyen vitaminas liposolubles o sus precursores (carotenoides y tocoferoles) y fitoesteroles.

Los fitoesteroles, son compuestos bioactivos presentes en los granos enteros que, según muchos ensayos clínicos, tienen un efecto reductor de los niveles de LDL-colesterol (Sanclemente et al., 2012; Ruibal et al., 2002).

1.4.6 Minerales

Los principales minerales en el grano de trigo son hierro, zinc, manganeso, cobre, magnesio, selenio y fósforo. Un análisis muy utilizado como estimador del contenido total de minerales es el contenido de cenizas.

1.4.6.1 Contenido en el grano entero

El contenido de cenizas oscila entre 1,17 y 2,96 % del peso del grano (en b. s.) y varía según los diferentes genotipos y en un mismo cultivar según las condiciones climáticas, fundamentalmente las determinadas por la calidad de suelos, clima y manejos agronómicos (Shewry et al., 2010). Estudios realizados en diferentes cultivares y localidades liberados durante los años 1873 y 2000 mostraron un descenso en el contenido de muchos minerales (zinc, hierro, cobre y magnesio) a partir del año 1960, independientemente de que el contenido de minerales en el suelo aumente o permanezca constante (Zhao et al., 2009; Fan et al., 2008; Garvin et al., 2006). Gooding et al. (2012) sugieren que este descenso resulta de la dilución de los minerales debido al aumento de la masa seca.

En trigos uruguayos, el contenido promedio de cenizas particularmente para las zafas 2011 y 2012 fueron de 1,68 y 1,92 en b. s. respectivamente, según los reportes anuales de caracterización de las zafas de trigo (MGAP/DGSA, 2014).

1.4.6.2 Distribución en los tejidos del grano

Los minerales se distribuyen heterogéneamente en los tejidos del grano: su contenido en el endospermo es mucho menor al 1 %, mientras que en las cubiertas y en el germen constituyen el 7,2 y 4,5 %, respectivamente (Belderok, 2000).

1.5 COMPOSICIÓN EN COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL GRANO DE TRIGO ENTERO Y EFECTOS BENEFICIOSOS EN LA SALUD

El grano entero, además de nutrientes, provee fitoquímicos, es decir, sustancias químicas que se encuentran únicamente en los tejidos provenientes de las plantas comestibles, las cuales pueden ser ingeridas diariamente por los seres humanos en pequeñas cantidades (gramos) y que exhiben un potencial para modular el metabolismo de modo favorable para prevenir ciertas enfermedades (Bonafine et al., 2006).

Los fitoquímicos y muchas de las vitaminas y minerales presentes en el grano de trigo se incluyen dentro de los denominados compuestos bioactivos.

Los componentes bioactivos son compuestos químicos presentes naturalmente o derivados de una fuente vegetal, animal, que ejerce un beneficio para la salud, más allá de las consideraciones propias de la nutrición básica. Estos compuestos inducen efectos metabólicos derivados de su actividad biológica constatada en modelos de laboratorio y asociada a efectos beneficiosos sobre la salud humana, como por ejemplo mejoría de funciones fisiológicas o reducción de riesgo de padecer enfermedad (Morales, 2011; Araya y Lutz, 2003).

El grano de trigo entero contiene dos grupos principales de compuestos bioactivos derivados de diferentes rutas biosintéticas: los terpenos o terpenoides (tocoferoles,

tocotrienoles, carotenoides y fitoesteroles) y los compuestos fenólicos (Shewry y Hey, 2015b).

Estos fitoquímicos, tienen un importante rol estructural y defensivo en los granos. Su concentración está influenciada por la fracción del grano, el genotipo (G) y el ambiente (A), es decir, la combinación de la localidad por el año de producción (Shewry et al., 2010; Liu, 2007). Sin embargo, la magnitud en las variaciones difiere entre los compuestos. Según Shewry et al. (2010), la mínima variabilidad se encontró en el contenido de esteroides y la máxima en el contenido de compuestos fenólicos, particularmente en las fracciones libres y conjugadas.

Shewry et al. (2012, 2011) estudiaron la correlación entre el peso de mil granos y el contenido total de fitoquímicos (según un *score* de fitoquímicos asignado a seis grupos, de acuerdo al contenido de folatos, alquilresorcinoles, tocoles, esteroides y ácidos fenólicos) y observaron una débil asociación entre ambos ($r = 0,389$; $p < 0,00014$). A su vez, no encontraron correlación entre el contenido de fitoquímicos y la fecha de registro de los cultivos. Tampoco hallaron correlación entre el contenido en compuestos bioactivos, la calidad panadera y el contenido de proteínas, con la excepción de una antigua variedad de trigo con alto contenido en proteínas (Atlas 66).

En este trabajo, profundizaremos particularmente en los compuestos fenólicos tocoferoles y tocotrienoles porque son componentes que tienen efectos beneficiosos en la salud y en la prevención de enfermedades no transmisibles (ENT), y el grano de trigo es, a su vez, una fuente importante de esos componentes en la dieta (Ward et al., 2008).

1.5.1 Tocoferoles y tocotrienoles

1.5.1.1 Contenido y composición química en el grano

Los tocoferoles y tocotrienoles son lípidos cuya estructura química consiste en un anillo aromático denominado cromanol, unido en el C2 a una cadena lateral

hidrobólica (C16). Los tocoferoles tienen una cadena lateral saturada de ácido fítico, mientras que los tocotrienoles tienen una cadena lateral de isoprenoide con tres dobles enlaces (Stone y Papas, 2003; Bramley et al., 2000). Cada tipo existe en cuatro formas, que se diferencian en la posición del grupo metilo en el anillo cromanol y se denominan α (5, 7, 8 - trimetil), β (5, 8 - dimetil), γ (7, 8 - dimetil) y δ (8 - metil).

En general, la suma de tocoferoles y tocotrienoles —en esencia, el total de tocoles— en el trigo está en el rango de 49 a 58 $\mu\text{g/g}$ en b. s. (Stone y Papas, 2003; Bock, 2000; Bramley et al., 2000; Chung y Ohm, 2000).

El estudio realizado en la segunda etapa del proyecto Healthgrain proporciona la base de datos más completa que se ha informado hasta el momento sobre los principales fitoquímicos y componentes bioactivos presentes en el grano de trigo. En este proyecto, se estudiaron 175 líneas de trigo (130 de trigo pan de invierno y 20 de trigo primavera, 5 cultivares de espelta, 10 de trigo duro, 5 cultivares de einkorn y 5 de emmer) seleccionadas por la diversidad de su origen geográfico (Europa, Asia, América, Australia), período de liberación comercial y características, y fueron cultivadas en un solo sitio de Hungría (Ward et al., 2008). Entre los compuestos analizados se encuentran los tocoferoles y los tocotrienoles, cuyos resultados se resumen en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Contenido de tocoles totales y sus fracciones en el grano entero de 175 líneas de trigo, crecidos en la misma localidad ($\mu\text{g/g}$ en b. s.)

Componente	Rango	Variación (máx./mín.)	Promedio
α -tocoferol	6,4-19,9	3,1	13,0
β -tocoferol	1,6-13,3	8,3	6,0
α -tocotrienol	2,5-12,4	5,0	5,0
β -tocotrienol	10,0-44,9	4,5	25,4
Tocoles totales	27,6-79,7	2,9	49,4

Fuente: Lampi et al., 2008.

Particularmente para la variedad de trigo pan, tipo primavera, que es comparable con las líneas de trigo que se cultivan en Uruguay, los valores obtenidos en el contenido de tocoles totales, tocoferoles y tocotrienoles se muestran el Cuadro 9.

Cuadro 9. Contenido de tocoles totales, tocoferoles y tocotrienoles en 20 genotipos de trigo primavera crecidos en la misma localidad ($\mu\text{g/g}$ en b. s.)

Componente	Rango	Variación (máx./mín.)	Promedio
α -tocoferol	11,3-16,0	1,4	13,9
β -tocoferol	4,3-9,2	2,1	6,3
α -tocotrienol	3,5-6,0	1,7	4,6
β -tocotrienol	14,0-36,1	2,6	24,9
Tocoles totales	35,9-63,2	1,8	49,6

Fuente: Lampi et al., 2008.

Al comparar los resultados de los cuadros 8 y 9, se observa que los valores promedios son similares en las muestras estudiadas, pero presentan diferencias entre las variaciones de los contenidos mínimos y máximos de cada componente.

Horvath et al. (2006) obtuvieron en un estudio realizado en muestras de *Triticum* sp una concentración similar de tocoles, y en las fracciones individuales los α y β tocoferoles fueron de 15,4 y 5 $\mu\text{g/g}$ en b. s., y los α y β -tocotrienoles fueron de 5,0 y 19,6 $\mu\text{g/g}$ en b. s. respectivamente, alcanzando un total de 45 $\mu\text{g/g}$ en b. s. de tocoles.

Particularmente la concentración de α -tocoferoles en una extensa revisión realizada en 1984 en cultivares de Estados Unidos osciló entre 4,5 y 40,1 $\mu\text{g/g}$ en b. s., siendo el contenido en la mayoría de las muestras de entre 10 y 20 $\mu\text{g/g}$ en b. s. Asimismo, la variabilidad entre el contenido máximo y mínimo de α -tocoferoles de una variedad de trigo crecida en diferentes localidades de Estados Unidos alcanzó casi 10 veces (Davis et al., 1980). Esto indica que los diferentes genotipos y las condiciones en que crecen los cultivares tienen un importante efecto en la concentración y el perfil de los tocoles (Lampi et al., 2008).

A su vez, los métodos analíticos para su determinación podrían ser en parte responsables de las variaciones en los valores publicados (Piironen et al., 2009).

El perfil de tocoles en los diferentes estudios publicados es estable y revela que las fracciones predominantes fueron el β -tocotrienol y el α -tocoferol, seguidos por el β -tocoferol y el α -tocotrienol. Según Lampi et al. (2008) y Piironen et al. (2009), la proporción promedio de β -tocotrienol con relación a los tocoles totales es de 50,8 % con un rango de 31,3 a 68,5 % y la de α -tocoferol es de 26,8 % con un rango de 12,2 a 40,8 %.

Por su parte, el contenido total de tocotrienoles (α y β) en los granos de trigo es mayor que el de los tocoferoles totales (α y β). En todas las líneas de trigo estudiadas en el proyecto Healthgrain (175), los tocotrienoles totales representan el 61 % del contenido total de tocoles, con un rango de 40,3 a 81,3 %. En las variedades de trigo pan tipo primavera evaluadas (20), el porcentaje del total de los tocotrienoles fue de 59 % con un mínimo de 49,5 % y un máximo de 65,3 % (Lampi et al., 2008).

Al relacionar el contenido total de tocoles con la proporción individual de las fracciones que lo componen, se obtuvieron relaciones estadísticamente significativas, evidenciando una correlación moderada y positiva entre el porcentaje de β -tocotrienol y el contenido total de tocoles ($r = 0,573$, $p < 0,01$) y una correlación moderada y negativa entre el porcentaje de α -tocoferol y la concentración total de tocoles ($r = 0,559$, $p < 0,01$). Por lo tanto, se puede inferir que en genotipos ricos en tocoles existe generalmente una alta proporción de β -tocotrienoles, mientras la proporción de β -tocoferoles es baja (Lampi et al., 2008).

Asimismo, se encontró una relación débil positiva y estadísticamente significativa entre el contenido total de tocoles y de lípidos, en cultivares de trigo pan ($r = 0,192$, $p < 0,005$); particularmente en trigos pan tipo primavera, la relación fue moderada y positiva ($r = 0,685$, $p < 0,01$). Esto indica que en trigos con concentraciones altas de lípidos, el contenido de tocoles también tiende a incrementar (Lampi et al., 2008).

Shewry et al. (2010), estudiaron la magnitud de los componentes de varianza del genotipo (G), el ambiente (A) y la interacción del G por el A (G x A) en las 26 líneas

de trigo cultivadas en seis ambientes y resultó que la proporción de la varianza del G en el total de la varianza fue alta en los tocoles totales (77 %). Consecuentemente, parecería posible obtener cultivares con mayor contenido en estos compuestos.

1.5.1.2 Tocoferoles y tocotrienoles en las fracciones del grano

Los tocoferoles y tocotrienoles se concentran en el germen y en las capas externas del grano, y su contenido es mucho más bajo a nivel del endospermo. En el germen predominan los α - y β -tocoferoles, mientras que el contenido de tocotrienoles es despreciable (Bramley et al., 2000; Chung y Ohm, 2000). En cambio, los tocotrienoles se concentran en el pericarpio y en la aleurona, y su proporción con relación a los tocoles es significativa en el endospermo. Del contenido total de tocotrienoles del grano, el 15 % deriva del endospermo y el 85% de las capas externas (Morrison, 1978).

Según Ward et al. (2008) y Lampi et al. (2008), una correlación moderada, positiva y estadísticamente significativa fue observada entre los tocoles totales presentes en el salvado ($r = 0,499$, $p < 0,001$) y el rendimiento del salvado, y se observó una relación moderada, negativa y significativa con respecto al tamaño del grano ($r = - 0,543$, $p < 0,001$) en 120 genotipos de trigo de invierno estudiados en el proyecto Healthgrain. En los trigos primavera, estas correlaciones presentaron una tendencia similar, pero no llegaron a ser significativas, posiblemente porque el número de genotipos fue mucho menor (20 variedades). Estas correlaciones entre el contenido de tocoles y ciertas características del grano se explican por la localización que tienen estos compuestos bioactivos en las distintas fracciones del grano.

1.5.1.3 Rol en la nutrición y en la salud

El término «vitamina E» describe una familia de ocho moléculas liposolubles: cuatro isoformas del tocoferol (α -, β -, γ -, y δ -tocoferol) y cuatro isoformas del tocotrienol (α -, β -, γ -, y δ -tocotrienol).

Todos los isómeros tienen una importante actividad antioxidante. Los tocoferoles y tocotrienoles ejercen su actividad antioxidante fundamentalmente retardando la

propagación de la reacción en cadena en la oxidación lipídica, mientras que los tocoferoles, además, estabilizan las hidroxilperoxidasas lipídicas (Stone y Papas, 2003; Wagner et al., 2004). Por lo tanto, la vitamina E tiene un efecto protector en la prevención y progresión de las enfermedades en las cuales el estrés oxidativo es un factor desencadenante (Ruíz y Nelina, 2005; Liu, 2007; Institute of Medicine, 2000), incluyendo las cardiovasculares, fundamentalmente a través de la inhibición de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, y las enfermedades degenerativas. Previene, además, la evolución de algunos tipos de cánceres en animales de experimentación (Constantinou et al., 2008) y contribuye al mantenimiento del sistema inmune (Ahsan et al., 2014; Bramley et al., 2000). Estos efectos beneficiosos han sido establecidos con suficiente grado de evidencia y rigor científicos como para ser aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) y la European Food Safety Authority (EFSA) para realizar la declaración nutricional de propiedades saludables (Shewry y Heys, 2015a; Ward et al., 2008).

Estudios recientes han evidenciado que los tocotrienoles y el γ -tocoferol son mejores secuestradores de radicales peroxilo y de especies reactivas de nitrógeno, respectivamente, que el α -tocoferol (Jiang 2014; Yoshida et al., 2003; Wagner et al 2001). A pesar de ello, en humanos solo el α -tocoferol es el que se considera para estimar los requerimientos de vitamina E (Institute of Medicine, 2000), debido a que es la forma de la vitamina E que se encuentra en mayor concentración en la sangre y en los tejidos.

El α -tocoferol es a su vez el más inestable de todos los tocoferoles y, por lo tanto, el primero en consumirse. Esta propiedad disminuye su potencial como antioxidante en los sistemas alimentarios, por tal razón, en general se prefiere una mezcla de tocoles para ejercer la actividad antioxidante.

La mayor fuente de tocoferoles y tocotrienoles en la dieta occidental la constituyen el grupo de las grasas y aceites y el grupo de los cereales integrales y sus derivados. En Estados Unidos estos dos grupos de alimentos aportan el 20 y el 15 % del total de equivalentes de α -tocoferol provenientes de la alimentación (Murphy et al., 1990).

1.5.2 Compuestos fenólicos

1.5.2.1 Contenido y composición

Los compuestos fenólicos son los fitoquímicos más abundantes en el grano de trigo y el mayor grupo de antioxidantes (Shewry y Hey, 2015b).

El término fenólicos abarca una gran cantidad de compuestos, que se caracterizan por presentar uno o más anillos fenólicos (anillos aromáticos) y al menos un grupo hidroxilo (Piironen et al., 2009). En el trigo han sido identificados varios compuestos fenólicos, que incluyen los ácidos fenólicos, alquilresorcinoles, lignanos y flavonoides (Peñalvo et al., 2005; Run et al., 2001). A su vez, los ácidos fenólicos pueden encontrarse en tres formas: como ácidos libres solubles, como conjugados solubles que están esterificados con azúcares y otros componentes de bajo peso molecular y como complejos insolubles unidos a polisacáridos, proteínas o componentes de la pared celular. En el trigo predominan los complejos insolubles, y solo aproximadamente un 15 % está en la forma libre (Piironen et al., 2009). Según Shewry et al. (2010), la proporción de los ácidos fenólicos complejos insolubles constituyeron aproximadamente el 77 % del total de los ácidos fenólicos en las variedades de trigo estudiadas en el proyecto Healthgrain.

El ácido fenólico predominante es el ácido ferúlico, que representa entre el 50 y el 70 % del total de los ácidos fenólicos contenidos en el grano de trigo (Kequan et al., 2005, 2004). En menor proporción, se encuentran el ácido vanílico, el ácido murámico y el ácido sinérgico (Li et al., 2008).

La cantidad y el tipo de ácido fenólico cambia según los estadios de maduración y germinación de la planta reflejando las funciones fisiológicas de los componentes (Moore et al., 2005; Lachman et al., 2003; Yang et al., 2001) y entre cultivos de un mismo genotipo crecidos en diferentes ambientes (Orozco et al., 2010; Beta et al., 2005; Kequan et al., 2004). A su vez, el contenido de ácidos fenólicos del grano de trigo reportado en diferentes investigaciones es variable debido fundamentalmente a la diversidad de métodos de extracción y de análisis utilizados (Piironen et al., 2009).

En el Cuadro 10 se puede observar el contenido de compuestos fenólicos totales cuantificados en trabajos de investigación para diferentes cultivares de trigo.

Cuadro 10. Contenido de compuestos fenólicos totales para diferentes cultivares de trigo

Trigos analizados	N. ° de variedades y de localidades	Contenido promedio (µg/g b. s.)	Rango (µg/g b. s.)	Método analítico	Ref.
s./d.	s./d.	600-960		Espect.	1
s./d.	s./d.	700 - 1100		Espect.	2
s./d.	s./d.	1500		HPLC	3
Trigo pan invierno	130 variedades 1 localidad ^a	664±15	326-1171	HPLC	4
Trigo pan primavera	20 variedades 1 localidad ^a	612±31	456-892	HPLC	
Trigo duro	10 variedades 1 localidad ^a	699±51	536-1086	HPLC	
Trigo espelta	5 variedades 1 localidad ^a	579±57	382-726	HPLC	
Trigo duro	6 variedades 4 localidades ^b		1709-1990 ^c	Espect. (Folin ciocalteau)	5

^aProyecto integrado de la Unión Europea, FP6 Healthgrain (HGP) 2005-2010, genotipos provenientes de Europa, Asia, América, Australia, cultivados en una localidad de Hungría. ^bCanadá. ^cEquivalentes de ácido ferúlico. Ref.: referencias. Espect.: espectofotometría.

Referencias: 1. Lachman et al., 2003; 2. Wende et al., 2005; 3. Mattila y Hellstrom, 2005; 4. Shewry et al., 2012; 5. Mpoufou et al., 2006.

Garnero et al. (2009) estudiaron la concentración de los compuestos fenólicos libres, conjugados y totales en la fracción de salvado de 35 variedades de trigo argentinos pertenecientes a la Red de Estudios de Trigo, zona 2, Marcos Juárez, y el contenido

promedio en compuestos fenólicos fue de $5862 \pm 82\mu\text{g/g}$ de equivalente en ácido gálico en salvado⁴.

Según Shewry et al. (2010), al determinar la influencia relativa del genotipo (G), el ambiente (A) y la interacción del G por el A (G x A) en la variabilidad en el contenido de ácidos fenólicos de 26 variedades de trigo cultivadas en seis ambientes (proyecto Healthgrain), la proporción de la varianza del G en el total de la varianza fue de 28 %. Estos resultados son acordes con los publicados por Mpoufou et al. (2006), que muestran que el efecto del A en la variabilidad del contenido de compuestos fenólicos es mayor que el efecto del G. Según estos últimos autores, la proporción atribuible al A, al G y a la G x A fue de 58 %, 38 % y 3 %, respectivamente.

Contrariamente a otros compuestos bioactivos, el contenido de compuestos fenólicos totales se correlacionó débil y positivamente con el promedio de temperaturas desde la siembra hasta la cosecha ($r = 0,317$, $p < 0,541$). Asimismo, la correlación con el total de precipitaciones fue débil y negativa ($r = -0,250$, $p = 0,633$). Sin embargo, el contenido de compuestos fenólicos libres evidenció una fuerte correlación positiva estadísticamente significativa con el promedio de temperaturas ($r = 0,899$, $p = 0,015$) y una fuerte asociación negativa con el total de precipitaciones ($r = -0,706$, $p = 0,117$) (Shewry et al., 2010).

1.5.2.2 Capas del grano

Debido a su rol en la fisiología celular, la cantidad y la calidad de los compuestos fenólicos son diferentes en las distintas capas del grano. Principalmente se localizan en el salvado y en menor cantidad en el germen (Adom et al., 2005; Zielinski y Kozłowska, 2000). Según Antoine et al. (2004, 2003), existen diferencias en la composición de ácidos fenólicos en los tejidos que constituyen el salvado. Es así que el ácido ferúlico monomérico está fundamentalmente concentrado en la capa de aleurona, mientras que los dímeros y trímeros predominan en el pericarpio.

⁴ Según Verma et al. (2008), al comparar las curvas de calibrado de ácido gálico y ácido ferúlico no se encontraron diferencias sustanciales.

1.5.2.3 Rol en la nutrición y en la salud

Numerosos estudios informan sobre la acción neuroprotectora, cardioprotectora y las acciones quimiopreventivas de los compuestos fenólicos que se incluyen habitualmente en la dieta. Si bien su acción beneficiosa se ha focalizado en su actividad antioxidante, hay una nueva corriente que establece que algunos compuestos fenólicos y sus metabolitos en vivo pueden ejercer efectos moduladores en las células a través de acciones selectivas sobre las múltiples cascadas de señalización intracelular, que son vitales para las funciones celulares, tales como el crecimiento, la proliferación y la muerte (apoptosis) (Williams et al., 2004).

Entre los últimos cinco y diez años se han realizado varios ensayos para evaluar la acción de los compuestos fenólicos en la salud, no obstante, presentan debilidades en el diseño, ya que carecen de controles adecuados, no proporcionan un análisis detallado de la composición de los alimentos que se están probando o carecen de una población de estudio pertinente. Por lo tanto, para confirmar si los polifenoles son responsables de los efectos anteriormente mencionados, se requiere realizar ensayos clínicos aleatorizados a largo plazo y con intervenciones debidamente diseñadas y controladas (Del Río et al., 2013).

1.5.3 Selenio

1.5.3.1 Contenido y composición

El selenio es un micronutriente esencial para los humanos, aunque no para las plantas. Los cereales son depósitos efectivos de este mineral en sus carióspsides.

En el grano de trigo se han detectado dos formas químicas de selenio: la orgánica y la inorgánica, siendo la primera la predominante y la de mayor bioactividad. La forma orgánica se halla unida a proteínas, y varios autores reportan que la selenometionina alcanza entre el 65 y el 87 % del total de las especies presentes en el grano (Lazo-Vélez et al., 2015; Hart et al., 2011).

Su concentración en el grano está fuertemente determinada por la disponibilidad de este elemento en el suelo en que se desarrolla el cultivo (Lyon et al., 2005a). Otros factores determinantes de la concentración de selenio en el grano son las condiciones climáticas y geoquímicas (Al-Saleh y Al-Doush, 1997) y la disponibilidad de azufre en el suelo. El azufre compite a nivel de la planta para prevenir la ingesta de selenio, por lo tanto, muchos de los fertilizantes con azufre aplicados para mejorar la calidad del grano podrían tener un impacto negativo en el contenido de selenio del grano (Fan et al., 2008; Zhao et al., 2009).

El contenido de selenio en los granos varía ampliamente según la localidad donde se desarrollaron los cultivos (Garvin et al., 2011; Hart et al., 2011), abarcando de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hasta más de 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (FAO/WHO/UNU, 2001; Combs, 2001). Los valores promedio de selenio asociados al grano de trigo correspondiente a estudios realizados en diferentes países se observa en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Concentración promedio de selenio en trigo cultivados en diferentes países ($\mu\text{g Se}/\text{kg}$)

País	Concentración promedio	Referencias
Australia	175 \pm 105	1
Canadá	400 \pm 200/760	2
Estados Unidos	400 \pm 200	2
España	35,5	3
Francia	36,5	4
Hungría	120 \pm 115	2
México	115 \pm 85	1
Portugal	46,8 \pm 8	5
Reino Unido	28	6

Referencias: 1. Lyons et al., 2005a; 2. Beladel et al., 2013; 3. López-Bellido y López Bellido, 2013; 4. Mehdi et al., 2013; 5. Galinha et al., 2012; 6. Fairweather-Tait et al., 2011.

De acuerdo a estos datos publicados, el trigo crecido en Europa Occidental contiene, en su mayoría, solo una décima parte del selenio presente en muestras de trigo

desarrolladas en Norteamérica, alcanzando un valor mínimo de 28 µg/kg el trigo proveniente de Reino Unido.

Según Lyons et al. (2005a), la concentración de selenio en variedades modernas de trigo cultivadas en México y Australia osciló entre 5-720 µg/kg y estuvo determinado por la variación en los suelos, mientras que no se encontró una variación significativa entre los diferentes genotipos.

1.5.3.2 Capas del grano

Los granos enteros contienen mayor cantidad de selenio comparado con la harina refinada, lo que indica que este mineral está concentrado en los tejidos del salvado, en la capa de aleurona y del germen, estando presente donde se encuentra el azufre (Lazo-Vélez et al., 2015; Fan et al., 2008; Lyons et al., 2005b).

1.5.3.3 Rol en la nutrición y en la salud

El selenio es un micronutriente antioxidante que ejerce su efecto principalmente a través de su incorporación en las enzimas glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa y otras selenio-enzimas (Arthur et al., 1997). En los humanos, múltiples condiciones de salud son afectadas por el estatus individual de selenio, entre las que se incluyen funciones endócrinas, cardíacas, inmunológicas y cognitivas (Rayman, 2012; Li, 2007). Adicionalmente, el selenio tiene un rol protector en las enfermedades en las que el estrés oxidativo es un factor determinante, incluyendo las enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Stroud et al., 2010).

La actividad cardioprotectora se basa en la capacidad antioxidante y en la fuerte e inversa correlación entre la concentración sérica de selenio y las enfermedades coronarias en humanos (Tanguy et al., 2012). A pesar de que se han realizado varios estudios en modelos animales que evidencian que el selenio tiene un alto efecto cardioprotector (Tanguy, 2004; Boucher et al., 1995), muchas de las intervenciones realizadas en humanos han revelado resultados inconsistentes con relación a la asociación de la suplementación de selenio y factores de riesgo cardiovasculares

(Tanguy et al., 2012). Además, el selenio tiene un rango de seguridad muy estrecho (Rayman, 2008) y altas concentraciones se asocian con el aumento de los niveles de lípidos y diabetes (Bleys et al., 2008; Stranges et al., 2007). Se requieren, por lo tanto, más evidencias para conocer el rol del selenio en la biología de las enfermedades cardiovasculares y para determinar el efecto causal que tiene este mineral en la protección de los factores de riesgo cardiovasculares.

El papel del selenio en la prevención del cáncer se ha demostrado en numerosos ensayos celulares *in vitro*, en modelos animales y en varios ensayos clínicos (Chen et al., 2013; Lener et al., 2013; Combs et al., 2012). Sin embargo, persiste la controversia sobre las posibles ventajas y riesgos del selenio en la prevención del cáncer. Según Lippman et al. (2009), el reconocido ensayo en humanos SELECT (Selenium and Vitamina E Cancer Prevention Trial) llegó a la conclusión de que la suplementación con selenio no proporciona un eminente beneficio. En contraposición, Combs et al. (2012) mostraron que el consumo diario de 1,2 µg de selenio por kg redujo de manera segura el riesgo de cáncer.

1.5.4 Correlación entre componentes bioactivos

Autores como Li et al. (2008) y Shewry et al. (2010) estudiaron la correlación entre los compuestos bioactivos en 26 líneas de trigo desarrolladas en seis ambientes (proyecto Healthgrain). Los resultados muestran una correlación fuertemente positiva entre el contenido en tocoles, estroles y compuestos fenólicos totales. También evidencian una correlación positiva entre el contenido de los componentes de la fibra dietética y los esteroides y compuestos fenólicos insolubles, pero no encontraron correlación con los otros grupos de compuestos bioactivos.

Las correlaciones positivas entre los grupos no implican una relación directa; en la mayoría de los casos, resulta de efectos indirectos. Por ejemplo, los tocoles, esteroides y los compuestos fenólicos libres y conjugados muestran una correlación similar positiva con la temperatura y negativa con las precipitaciones, lo que significa que se observará una correlación entre estos grupos de componentes cuando se comparen muestras de trigo que crezcan en diferentes condiciones ambientales.

De acuerdo a los datos publicados, existe una amplia variabilidad en el contenido de compuestos fenólicos, tocoles y selenio entre los materiales genéticos estudiados, lo que muestra la importancia de contar con información respecto a la concentración de estos compuestos bioactivos en trigos cultivados a nivel nacional.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

2.1.1 Material genético

Los materiales genéticos de trigo evaluados fueron cultivares comerciales del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y líneas en evaluación pertenecientes al Programa de Mejoramiento Genético de INIA. Se seleccionaron según su año de comienzo de evaluación y variabilidad genética. Los granos de muestra se conservaron desde su cosecha hasta su molienda en cámara de frío a 6 °C. Se incluyeron 12 genotipos de trigo pan (*Triticum aestivum*): seis de ciclo largo (CL) y seis de ciclo corto (CC) (Cuadro 12).

Las muestras de granos fueron obtenidas de ensayos de la Evaluación Nacional de Cultivares, del convenio entre INIA y el Instituto Nacional de Semillas (INASE), sembrados en dos localidades, La Estanzuela (Colonia) y Young, y en dos años, 2011 y 2012. Se seleccionó una localidad al norte y otra al sur de la zona de mayor densidad de cultivos de trigo y dos años diferentes para abarcar variedad de condiciones climáticas. Se evaluó un total de 60 muestras. Los ambientes estuvieron definidos por la combinación de localidad, año y período de siembra.

En cada ambiente, el trigo fue sembrado en diseños de bloques al azar con tres repeticiones. Los tratamientos agronómicos fueron los protocolizados por la Evaluación Nacional de Cultivares (INASE, 2009).

Cuadro 12. Características de los cultivares de trigo

Genotipo	Año de comienzo de evaluación	Ciclo
LE 2331 INIA DON ALBERTO	2004	Corto
LE 2332 INIA MADRUGADOR	2004	Corto
LE 2333 INIA CARPINTERO	2004	Corto
LE 2354 GÉNESIS 2354	2006	Corto
LE 2375 GÉNESIS 2375	2009	Corto
LE 2381 GÉNESIS 6.81	2010	Corto
LE 2210 INIA TIJERETA	1994	Largo
LE 2346 GÉNESIS 2346	2006	Largo
LE 2358 GÉNESIS 2358	2007	Largo
LE 2359 GÉNESIS 2359	2007	Largo
LE 2366 GÉNESIS 2366	2008	Largo
LE 2377 GÉNESIS 8.77	2010	Largo

Fuente: elaboración propia.

Un breve resumen de las localidades y de las temperaturas medias y precipitaciones durante el período transcurrido entre las siembras y las cosechas se describen en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Características de las localidades, temperaturas medias y precipitaciones totales durante el período transcurrido desde la siembra hasta la cosecha de trigo en los años 2011 y 2012

Ciclo	Fecha siembra	Fecha cosecha	Localidad	Año	Precipitaciones (mm)		Temperatura °C	
					Media	Histórico	Media	Histórico
CC	13/06	25/11	Young	2011	544	507	15,3	15,2
CC	6/07	8/12	LE	2011	220	450	14,3	14,3
CC	8/06	3/12	LE	2012	835	533	14,2	13,8
CC	17/07	13/12	LE	2012	845	478	15,7	15
CL	5/05	25/11	Young	2011	688	601	14,9	15,2
CL	12/05	8/12	LE	2011	357	590	13,8	13,7
CL	8/05	3&12	LE	2012	900	620	14,4	13,8
CL	9/05	28/11	Young	2012	1070	601	16,1	15,2

LE: La Estanzuela.

Fuente: elaboración propia.

2.1.2 Preparación de las muestras

Los granos de trigo se molieron usando un molino de laboratorio (Perten, 3100, Suecia). Las muestras molidas se acondicionaron en bolsas de polietileno y se distribuyeron en los laboratorios para realizar las determinaciones analíticas correspondientes.

2.2 CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE LAS MUESTRAS DE TRIGO

2.2.1 Determinación de humedad

Se pesó una muestra de alrededor de 5 g y se secó en estufa de aire forzado (Blue M., Blue Islands, IL, Estados Unidos) a 130 °C, durante 90 minutos, de acuerdo con las

normas UNIT 712:1994 e ISO 712:1985 (UNIT, 1985). Se realizaron dos repeticiones en el Laboratorio de Calidad de Granos de INIA La Estanzuela.

A partir del contenido de humedad porcentual se calculó para cada muestra el porcentaje de base seca por diferencia.

2.2.2 Determinación de cenizas

El contenido en cenizas se determinó en el Laboratorio de Calidad de Granos de INIA La Estanzuela por incineración de 5 g de muestra fresca en una mufla (Thermolyne 6000 de VWR, Radnor, PA, Estados Unidos) a 600 °C por 5 horas. Se calculó el contenido de cenizas por diferencia de pesada entre el peso de la muestra fresca y el peso de la muestra incinerada según técnica 08-01 de la American Association of Cereal Chemists (AACC, 2000). Se calculó posteriormente el contenido porcentual de cenizas en base seca.

2.2.3 Determinación de proteínas

El contenido de proteínas se determinó por espectrofotometría de infrarrojo cercano (Unity Spectra Star 2200, Unity Scientific, MA, Estados Unidos) calibrado por Kjeldahl según técnica 46-12 de la AACC (2000). Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Calidad de Granos de INIA La Estanzuela.

2.2.4 Determinación de lípidos

La extracción y la cuantificación de lípidos fueron realizadas en el laboratorio de calidad de granos de INIA La Estanzuela sobre 5 g de muestra usando hexano durante 3 horas con un extractor Twisselman.

2.2.5 Determinación de fibra dietética total

Las cuantificaciones de fibra dietética fueron realizadas por método enzimático de acuerdo a la técnica de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990) en el Laboratorio de Nutrición Animal y Evaluación de Alimentos de la Facultad de

Agronomía (FAGRO), Universidad de la República. Se utilizaron como enzimas solución de α -amilasa termoestable (n.º 120 L, Novo, Laboratories, Inc., Wilton, CT 06897), proteasa (n.º P-3910, Sigma Chemical Co) y amiloglucosidasa (n.º A-9913, Sigma Chemical Co).

2.2.5.1 Cuantificación de fibra dietética total

La digestión con enzimas se realizó pesando por duplicado 1g de cada muestra, con una precisión de 0,1 mg en vasos Berzelius de 400 ml, agregando a cada una 50 ml de buffer fosfato pH 6,0 y ajustando el pH a $6,0 \pm 0,2$. Luego se adicionó 0,1 ml de solución de amilasa en cada vaso de Berzelius y se incubaron tapados en un baño de agua hirviendo hasta alcanzar los 95-100 °C, agitando suavemente por intervalos de 5 minutos. Posteriormente, se enfrió la solución de cada muestra a temperatura ambiente y se ajustó en cada una de ellas el pH a $7,5 \pm 0,2$ agregando 10 ml de solución de NaOH 0,275 N. A continuación, se agregó a cada una de las soluciones 5 mg de proteasa, se incubó durante 30 minutos a 60 °C con agitación continua, se enfrió y se ajustó en cada una de ellas el pH hasta un valor final de 4,0 a 4,6 adicionando a cada muestra 10 ml de solución 0,325 M de HCl. Finalmente, se agregó 0,3 ml de amiloglucosidasa en cada vaso de Berzelius y se incubó nuevamente durante 30 minutos a 60 °C con agitación continua. Luego se adicionó 280 ml de etanol 95 % precalentado a 60 °C y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 60 minutos para que se formara el precipitado.

Para realizar la cuantificación de la fibra dietética, se utilizaron crisoles de vidrio con placa filtrante, se agregó una cucharadita de celite, distribuyéndola con alcohol al 78 %, aplicando succión para formar una superficie homogénea. Los crisoles fueron muflados y pesados fríos para obtener el peso inicial. Posteriormente, se transfirió cuantitativamente el contenido del Berzelius de cada muestra a un crisol y se lavó cada residuo sucesivamente con tres porciones de 20 ml de alcohol al 78 %, dos porciones de 10 ml de alcohol al 95 % y dos porciones de 10 ml de acetona. Por último, se secaron los crisoles que contenían los residuos de las muestras durante toda la noche en estufa a 105 °C, se enfriaron en desecador y se pesaron a 0,1 mg.

Después, se analizaron las proteínas en el residuo de cada uno de los duplicados usando el método Kjeldahl. En otro duplicado se determinaron las cenizas, para lo cual se llevó el crisol a mufla de 600 °C por 2 horas.

A lo largo del procedimiento se corrieron blancos con las muestras para medir cualquier contribución de los reactivos a los residuos. Para el cálculo de fibra dietética total se procedió de la siguiente forma:

Determinación del blanco:

$$B = \text{blanco} = \text{peso residuo} - PB - CB$$

Donde peso residuo = promedio de pesos (mg) del duplicado de las determinaciones de blancos, y PB y CB = pesos (mg) de la proteína y cenizas respectivamente determinadas en el primer y segundo blanco.

a) Cálculo de fibra dietética total:

$$Fd \% = [(\text{peso residuo} - P - C) / \text{peso muestra}] \times 100$$

Donde peso residuo = promedio de pesos (mg) del duplicado de las muestras, P y C = pesos (mg) de la proteína y cenizas, respectivamente, en la primera y segunda repetición, y peso muestra = promedio de los pesos de las dos muestras (mg) tomadas.

2.2.6 Determinación de carbohidratos

La determinación de carbohidratos disponibles se realizó por diferencia (Monro y Burlingame, 1997) a partir de los resultados obtenidos en las determinaciones de lípidos, cenizas, proteínas, humedad y fibra dietética:

Hidratos de carbono (%) = 100 – (lípidos + cenizas + proteínas + humedad + fibra dietética), todos expresados como porcentaje.

2.2.7 Determinaciones de compuestos fenólicos totales

Las determinaciones de compuestos fenólicos totales fueron realizadas en el Laboratorio de Poscosecha de INIA Las Brujas. La cuantificación se hizo a través del reactivo de Folin Denis mediante espectrofotometría visible de acuerdo con Naczka y Shahidib (2004).

2.2.7.1 Extracción de las muestras

Se extrajeron 10 g de muestras de trigo con 80:20 etanol/agua (50 ml). Las soluciones fueron agitadas usando un shaker (Mike Seisakusho) durante 15 a 16 horas. Posteriormente, las soluciones de cada muestra se filtraron y se llevaron a un volumen final de 50 ml con 80:20 etanol/agua.

2.2.7.2 Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

Para cada muestra se dosificó en tubo de ensayo de 10 ml de volumen final: 8,5 ml de agua destilada, 0,5 ml de solución saturada de carbonato de sodio al 25 %, 0,5 muestra y 0,5 ml de reactivo de Folin Denis. El blanco se preparó del mismo modo, pero utilizando 0,5 ml etanol/agua en lugar de la muestra. Paralelamente se preparó una solución patrón de ácido gálico (10 mg/100 ml). A partir de ella se construyeron soluciones de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/l. Se dosificó 1 ml de cada una de ellas y se agregó 0,5 ml de reactivo de Folin-Denis, 0,5 ml de solución de carbonato de Na al 25 % y se llevó a un volumen final de 10 ml con agua destilada. Los estándares así preparados se dejaron estabilizar 15 minutos y se trazó la curva de calibración midiendo la absorbancia de ellos a 760 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-160A). Posteriormente se procedió a medir la absorbancia de las muestras y los resultados fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de extracto de trigo.

2.2.8 Determinaciones de tocoferoles y tocotrienoles

Las determinaciones se realizaron utilizando Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC), a partir de la técnica propuesta por Ziegler et al. (2015) optimizada para tocoferoles y tocotrienoles, en el laboratorio de Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas del Instituto Pasteur.

2.2.8.1 Extracción, evaporación y resolubilización de las muestras

Las muestras de trigo (0,7 g) se solubilizaron con acetona (2 ml). Se agitaron en vórtex dos veces por 20 segundos y se centrifugaron a 2000 g por 5 minutos. El sobrenadante fue extraído tres veces con acetona calidad ACS (5 ml). Posteriormente, el extracto acetónico fue evaporado usando N₂ gaseoso (aproximadamente 1,5 horas). El material residual se resolubilizó en 500 µl de acetonitrilo calidad ACS mediante agitación en vórtex por 40 segundos dos veces, y luego se transfirieron 400 µl de solución a un microtubo y se centrifugó por 10 minutos a 16100 g. Por último, se transfirieron en 100 µl del sobrenadante a tubos de plástico aptos para el robot automuestreador.

2.2.8.2 Análisis cromatográfico

El análisis HPLC fue realizado en un equipo cromatógrafico Agilent 1200.

Los tocoferoles fueron separados utilizando dos columnas en serie de fase reversa C18 de 4,6 mm de diámetro interno y 15 y 10 cm de largo respectivamente, usando una precolumna C18 con una fase móvil A (90 % metanol calidad HPLC ACS, 2 % acetato de amonio ~ 1M, 8 % agua nanopura tipo A1) y otra B (79,0 % acetonitrilo calidad HPLC ACS, 1,6 % acetato de amonio ~ 1M, 19,4 % metanol calidad HPLC ACS), con un flujo de 1,2 ml/min. El gradiente de solvente fue programado de la siguiente manera: 0-8 min, 0 % B; 8-40 min, 0-50 % B; 40-47 min, 50-100 % B; 47-53 min, 100 % B; 53-54 min, 100-0 % B; 54-60 min, 0 % B.

La cromatografía se realizó a temperatura ambiente. Las muestras se mantuvieron por no más de 9 horas a 4 °C en el automuestreador, protegidas de la luz. Las

siguientes fracciones fueron cuantificadas: tocoferoles totales, α -tocoferol, β -tocoferol, α -tocotrienol y β -tocotrienol. La identificación de las fracciones de tocoferoles se llevó a cabo utilizando los estándares analíticos correspondientes adquiridos en Sigma Aldrich: α -tocoferol (47783 SUPELCO), δ -tocoferol (47784 SUPELCO) y γ -tocoferol (47784 SUPELCO).

Los análisis de HPLC se realizaron por duplicado.

Se usó un detector fluorimétrico con $\lambda_{exc} = 295$ nm y $\lambda_{em} = 330$ nm, y un detector UV-visible con $\lambda_1 = 275$ nm, $\lambda_2 = 295$ nm y $\lambda_3 = 450$ nm.

2.2.9 Determinación de selenio

Las determinaciones de selenio se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica (Cabrera et al., 2010) en el Laboratorio de Nutrición y Calidad de Alimentos de la FAGRO.

Se pesaron muestras de alrededor de 10 g y se secaron en estufa de aire forzado Labtech a 105 °C hasta obtener peso constante. A continuación, se incineró en mufla con gradiente de temperatura en crisoles cubiertos, hasta obtener cenizas blancas, a 580 °C. Las cenizas se disolvieron en HNO₃ 1 M y HCl 6 M y se llevaron a matraz aforado de 25 ml con agua doblemente destilada a <18 Ω . Finalmente se analizó el selenio (Se IV) por EAA HG (Analyst 300 Perkin Elmer) con estándares de selenio (Perkin Elmer) y modificador de matriz (Cabrera et al., 2010).

2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental comprendió dos sets de muestras de trigo, uno correspondiente a trigo de ciclo largo (CL) y el otro a trigo de ciclo corto (CC). Cada set de muestras incluyó seis genotipos y cuatro ambientes, definidos por la combinación de año de cultivo, localidad y fecha de siembra. De uno de los ambientes de cada ciclo se usaron dos repeticiones, y de los otros, una repetición.

Para estimar los componentes de varianza en los datos obtenidos se utilizó un modelo con efectos fijos y el método de estimación por máxima verosimilitud restringida (REML).

Se compararon las medias de las variedades, utilizando un modelo mixto, considerando el genotipo como efecto fijo. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de la comparación de las medias por el test de Student para muestras pareadas de CC y CL para cada material genético ($p \leq 0,05$). Se realizó, además, un análisis de correlación entre el promedio de los componentes estudiados y entre estos y el peso hectolítrico, utilizando el coeficiente de Pearson ($p \leq 0,01$).

Los datos se procesaron en el programa estadístico SAS, versión 9.4.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LOS GRANOS DE TRIGO

Los materiales genéticos de trigo estudiados presentaron un valor similar en el contenido promedio de macronutrientes y fibra dietética en trigos de ciclo corto (CC) y ciclo largo (CL). Los valores hallados se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido porcentual en proteínas, lípidos, carbohidratos, fibra dietética y cenizas en granos de trigo de ciclo corto y de ciclo largo en base seca

A. Trigo de ciclo corto				
Componente	Promedio	DS	Rango	
			Min.	Máx.
Proteínas	14,50	1,19	12,30	17,70
Lípidos	2,05	0,21	1,60	2,46
Carbohidratos	68,30	2,08	64,50	72,10
Fibra dietética	13,40	1,35	10,00	15,70
Cenizas	1,77	0,16	1,43	2,09
B. Trigo de ciclo largo				
Proteínas	15,80	2,39	11,60	20,80
Lípidos	2,21	0,17	2,00	2,64
Carbohidratos	67,70	2,92	60,90	72,30
Fibra dietética	12,30	1,36	9,90	15,40
Cenizas	2,03	0,17	1,70	2,46

Se informa el promedio, desviación estándar (DS), mínimo (mín.) y máximo (máx.).

3.1.1 Proteínas

Los valores promedio, mínimo y máximo de proteínas obtenidos en los cultivares estudiados de CC y CL son similares a los reportados por Belderok (2000), a los publicados en la base de datos del United States Department of Agriculture (USDA)

para la harina de trigo proveniente del grano entero y del trigo tipo Hard Red Spring y a los valores reportados por Vogel et al. (1978) de la colección mundial de trigo de USDA. Sin embargo, al comparar el contenido promedio de proteínas con el de las zafas de trigo nacional 2011 y 2012 (11,9 y 13,8 % en b. s., respectivamente) (MGAP/DGSA, 2014), los valores de los trigos estudiados fueron algo superiores. Asimismo, el contenido mínimo y máximo de proteínas obtenidos en las muestras de trigos de CC y CL son también algo superiores a los valores característicos de los trigos crecidos en condición de chacra (10-15 % en b. s.) (Shewry y Hey, 2015a). En los trigos de CL el valor máximo obtenido alcanza casi al doble del valor mínimo. La variabilidad en el contenido en proteínas del grano de trigo está determinado por factores genéticos y ambientales durante el desarrollo, particularmente por la disponibilidad de nitrógeno en el suelo (Shewry y Hey, 2015a; García Lamothe, 2006).

En todos los casos, la proporción de las proteínas de reserva aumenta con el incremento de nitrógeno en la fertilización (Shewry y Hey, 2015a; García Lamothe 2006), por lo tanto, las diferencias encontradas podrían atribuirse a que la disponibilidad de nitrógeno es mayor en los suelos de trigos que se desarrollan en condiciones experimentales con relación a los de trigos crecidos en condición de chacra.

Para permitir un incremento en el porcentaje de proteína y también la máxima expresión del potencial genético en el rendimiento del grano es esencial conocer la interacción entre las prácticas agronómicas y la respuesta al nitrógeno, sembrar en la época óptima, obtener una población de plantas adecuada o corregir otros factores limitantes del crecimiento, como ser otras restricciones nutricionales o problemas de la condición física del suelo, entre otros. A su vez, las condiciones ambientales controlan la posibilidad de concretar el rendimiento potencial durante el llenado del grano, la fotosíntesis, la asimilación de nutrientes y la traslocación al grano, y pueden provocar amplias fluctuaciones entre años en el rendimiento del grano, su calidad y porcentaje de proteína. Por lo tanto, el manejo adecuado del nitrógeno para incrementar su proporción en el grano y obtener a su vez un buen rendimiento es

complejo y debería estar sincronizado con las demandas del cultivo, así como contemplar, además, las condiciones ambientales en que se desarrollan los cultivares (García Lamothe, 2006).

3.1.2 Lípidos

Los lípidos son macronutrientes relativamente menores del grano, sin embargo, son componentes importantes nutricionalmente, así como para el almacenamiento y procesamiento de los granos (Davis et al., 1980; Clayton y Morrison, 1972).

El contenido promedio, mínimo y máximo de lípidos en las muestras de trigo evaluadas fueron algo superiores en las variedades de CL con relación a las de CC, con una variación entre 1,3 a 1,5 veces la relación entre los valores máximos y mínimos hallados en los genotipos de CL y CC, respectivamente (Tabla 1).

El contenido promedio de lípidos en las variedades estudiadas es acorde con lo publicado por Belderok (2000) y algo inferior a los datos provenientes de trigos internacionales publicados por Chung et al. (2009), tanto en el valor promedio como en el contenido mínimo y máximo (promedio 2,63 %, mínimo 1,20 % y máximo 3,90 % en b. s).

La concentración de lípidos varía principalmente por la variedad y el ambiente, pero también puede ser por el grado de maduración del grano cuando se cosecha (Chung y Ohm, 2000).

Al comparar los valores obtenidos con datos nacionales de granos de trigo provenientes de diferentes molinos (Russo et al., 2011) (promedio 2,14 %, mínimo 1,90 % y máximo 2,30 % en b. s.), los valores fueron similares tanto para la media como para el contenido mínimo y máximo, aun cuando los genotipos y el ambiente en que se desarrollaron los cultivos no fueron los mismos.

3.1.3 Carbohidratos

Los carbohidratos constituyen el componente mayoritario del grano de trigo maduro, de los cuales la mayoría corresponden a carbohidratos digeribles, compuestos principalmente por almidón.

Los contenidos promedio y máximo de carbohidratos digeribles fueron similares para trigos de CC y de CL, siendo algo inferior el valor mínimo en trigos de CL (Tabla 1). En los resultados obtenidos se puede observar una relación inversa entre el contenido promedio de proteínas y el valor promedio de carbohidratos digeribles. Este resultado se fundamenta en la relación inversa que existe entre el contenido proteico del grano y su rendimiento (Shewry y Hey, 2015a), el cual presenta, en general, una correlación positiva con el grado de llenado y el contenido en carbohidratos del grano (Becker y Hanners, 1991; García Lamothe, 2006). Asimismo, puede atribuirse a que el método que se utilizó para cuantificar los carbohidratos de las muestras fue por diferencia.

El contenido promedio de los materiales genéticos evaluados es similar al publicado en la base de datos USDA (2015) de la harina integral y del trigo tipo Hard Red Spring. No obstante, al compararlo con datos nacionales (Russo et al., 2011), el valor encontrado es algo menor, lo cual puede atribuirse a las variedades de trigo y fundamentalmente a las diferentes condiciones ambientales (Becker y Hanners, 1991), en particular al clima, las enfermedades y su interacción durante los períodos en que se desarrollaron los cultivos de trigo, que son factores determinantes en el llenado del grano (García Lamothe, 2006).

3.1.4 Fibra dietética

El contenido promedio de fibra dietética en las muestras de trigo estudiadas fue algo superior en trigo de CC con relación a los de CL, sin embargo, los valores mínimos y máximos fueron similares en ambos ciclos. Los valores máximos de fibra dietética en trigos de CC y de CL son acordes con los resultados reportados por Andersson et al. (2013) y algo superiores a otros datos nacionales publicados por Russo et al. (2011).

La relación entre el valor mínimo y máximo es mayor en los trigos estudiados (1,6 veces) respecto a la relación obtenida en los cultivos analizados en el proyecto Healthgrain (1,3 veces) (Andersson et al., 2013) y en otros cultivos nacionales (1,2 veces) (Russo et al., 2011). El contenido de fibra dietética varía en los diferentes tejidos del grano y se concentra en las capas externas, por lo tanto, cualquier factor que afecte la proporción del salvado (incluido el tamaño) podría afectar la concentración en el grano entero (Shewry et al., 2010; Belitz, 2009).

3.1.5 Cenizas

El contenido promedio de cenizas en trigos de CC y de CL varía entre 1,77 y 2,03 % en b. s., siendo acorde con los de las zafas de trigo nacional 2011 y 2012 (1,68 y 1,92 % en b. s., respectivamente) (MGAP/DGSA, 2104). El contenido de minerales varía entre diferentes genotipos y en un mismo cultivar según las condiciones ambientales, fundamentalmente las determinadas por la calidad de los suelos, el clima y las prácticas agronómicas (Shewry et al., 2010). A su vez, según Hussain et al. (2010) la localidad tuvo un efecto importante en la concentración de minerales en 321 genotipos de trigos de invierno y de primavera estudiados en varias localidades y años en Suecia.

Por lo tanto, la mayor concentración de cenizas encontrada en este trabajo con relación a las muestras evaluadas en el año 2009 por Russo et al. (2011) podría atribuirse a las diferentes variedades de trigo estudiadas y principalmente a las condiciones climáticas durante el desarrollo de los cultivares y las prácticas agronómicas.

Se puede observar que existe una relación inversa entre los valores promedio de carbohidratos digeribles y cenizas tanto en trigos de CC como en los de CL, lo que se fundamenta en que la concentración de minerales se diluye con el incremento del almidón en el grano (Gooding et al., 2012).

3.2 COMPOSICIÓN EN COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LOS GRANOS DE TRIGO

Los compuestos bioactivos analizados mostraron diferencias entre las muestras. Asimismo, la magnitud de estas variaciones osciló entre 1,3 veces para los compuestos fenólicos y 9,6 para los tocoles.

3.2.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son los fitoquímicos más abundantes en el grano de trigo y abarcan una gran cantidad de compuestos (Shewry y Hey, 2015b), siendo el predominante el ácido ferúlico. El contenido en compuestos fenólicos de los materiales estudiados se resume en la Tabla 2. En las muestras de trigos de CC y de CL se obtuvieron valores similares en el contenido promedio, mínimo y máximo.

Tabla 2. Contenido en compuestos fenólicos $\mu\text{g/g}$ (equivalentes en ácido gálico) y de Selenio (mg/kg) en base seca, en trigo de ciclo corto y de ciclo largo

A. Trigo de ciclo corto					
Componente	Promedio	DS	Rango		Máx./mín.
			Min.	Máx.	
Comp. fenólicos	442,3	31,1	380,6	508,7	1,3
Selenio	0,67	0,22	0,22	1,17	5,3
B. Trigo de ciclo largo					
Comp. fenólicos	438,4	36,9	350,9	499,4	1,4
Selenio	1,09	0,30	0,57	1,66	2,9

Se informa el promedio, desviación estándar (DS), mínimo (mín.) y máximo (máx.).

El valor promedio de los compuestos fenólicos obtenidos en los granos evaluados es inferior de los compuestos fenólicos obtenidos en los granos de trigo evaluados es inferior al reportado por otros autores (Shewry et al., 2012; Wende et al., 2005; Lachman et al., 2003) para diferentes especies y variedades de trigo. A su vez, al

comparar el contenido promedio de compuestos fenólicos en el grano entero (879 $\mu\text{g/g}$ de equivalentes en ácido gálico) a partir de los resultados que obtuvieron Garnero et al. (2009) al estudiar la concentración de compuestos fenólicos en la fracción de salvado de variedades de trigo argentinos con las muestras estudiadas en este trabajo, el valor obtenido por estos autores alcanzó casi el doble.

Para calcular la concentración promedio de compuestos fenólicos en el grano entero a partir de los valores publicados por Garnero et al. (2009) en la fracción del salvado, se consideró que los compuestos fenólicos se concentran en el salvado y que este constituye entre el 13 y el 17 % del grano en b. s. (Vázquez, 2009).

El contenido en compuestos fenólicos cambia entre las variedades y entre cultivos de un mismo genotipo crecidos en diferentes ambientes (Beta et al., 2005). Es bien sabido además que el contenido de los compuestos fenólicos está influenciado por las reacciones defensivas de la planta frente al ataque de patógenos (Mpfou et al., 2006) y por el grado de maduración de la panta. A su vez, los métodos analíticos para su determinación podrían ser en parte responsables de las variaciones en los valores publicados (Piironen et al., 2009).

Corresponde aclarar que si bien los resultados obtenidos en este trabajo se expresan en $\mu\text{g/g}$ (equivalentes en ácido gálico) y la literatura consultada refiere, en general, la concentración en $\mu\text{g/g}$ de compuestos fenólicos totales, los valores pueden ser comparables, ya que según Verma et al. (2008), no hay diferencias sustanciales entre las curvas de calibrado de ácido gálico y ácido ferúlico (el más abundante en trigo).

Los compuestos fenólicos presentaron la menor diferencia entre los valores máximo y mínimo (1,3 veces) respecto a los otros compuestos bioactivos estudiados. Estos resultados difieren de los valores reportados por Shewry et al. (2012), en los cuales la relación entre los valores máximo y mínimo alcanzó 3,6 veces. La mayor variabilidad encontrada entre las muestras evaluadas en el proyecto Healthgrain y las analizadas en este trabajo podría atribuirse a que las muestras seleccionadas en el primero abarcan mayor variabilidad de genotipos y, a su vez, su origen geográfico es mucho más diverso que el de las variedades de trigo utilizadas en este trabajo.

3.2.2 Selenio

El contenido promedio de selenio en las variedades de CL casi duplicó el valor promedio de los trigos de CC, tal como se puede observar en la Tabla 2. A su vez, al comparar los valores de cada uno de los genotipos evaluados se evidencia una mayor concentración en el contenido de selenio en la mayoría de las muestras correspondientes a trigos de CL con relación a las muestras de trigos de CC. Estas diferencias encontradas entre los trigos de CL y de CC podrían fundamentarse en que los trigos de CL permanecen mayor tiempo en contacto con el suelo, desde su siembra hasta su cosecha, con relación a los trigos de CC y en que la concentración de selenio en el grano está fuertemente determinada por la disponibilidad de este elemento en el suelo.

A su vez, la mayor parte del selenio contenido en el grano se haya unida a las proteínas bajo la forma de selenometionina (Lazo-Vélez et al., 2015; Hart et al., 2011), por lo cual el mayor contenido promedio de proteínas encontrado en las muestras estudiadas de CL podría ser otro factor que contribuya a explicar el mayor contenido de selenio obtenido en las muestras de CL con relación a las de CC.

El contenido de selenio en trigo es muy variable, abarcando desde 10 µg/kg hasta más de 2000 µg/kg según la localidad donde se desarrolle el trigo, ya que está influenciado no solo por la concentración de este mineral en el suelo, sino también por la presencia de fertilizantes con azufre (FAO/WHO/UNU 2001; Combs, 2001). En las muestras evaluadas el contenido de selenio varió entre 2,9 a 5,3 veces entre los valores mínimo y máximo en trigos de CC y de CL, respectivamente. Si bien existe diferencia entre ambos valores extremos, su magnitud es mucho menor a lo anteriormente referido, lo que puede deberse a que las muestras estudiadas provienen de un mismo país y de dos localidades con suelos de similares características.

3.2.3 Tocoferoles y tocotrienoles

Los tocoles están integrados por los tocoferoles y tocotrienoles. Cada uno de estos componentes existe a su vez en cuatro formas químicas que se denominan α , β , γ y δ .

En las muestras analizadas, al determinar la abundancia absoluta en unidades de área (RFU min) se identificaron cuatro compuestos: α -tocoferoles, β -tocoferoles, γ -tocoferoles y β -tocotrienoles. Sin embargo, en el análisis cromatográfico, el β -tocoferol no se incluyó porque coeluye con el γ -tocoferol, por lo tanto, en la Tabla 3 se describen los resultados de las diferentes cantidades (moles por ng de harina) de α -tocoferoles, γ -tocoferoles (que incluyen los β -tocoferoles) y β -tocotrienoles hallados en trigos de CC y de CL.

Este perfil de compuestos identificados en las muestras evaluadas difiere con el reportado en el proyecto Healthgrain respecto a la fracción de los tocotrienoles. En las muestras evaluadas en el proyecto Healthgrain se detectaron α - y β -tocotrienoles, mientras que en este estudio no se detectaron los α -tocotrienoles.

Tabla 3. Contenido en α -tocoferoles, γ -tocoferoles y β -tocotrienoles y tocoles totales ($\mu\text{g/g}$) en trigos de ciclo corto y ciclo largo

A. Trigo de ciclo corto					
Componente	Promedio	DS	Rango		Máx./mín.
			Min.	Máx.	
α -tocoferoles	2,54	2,14	0,68	9,98	14,7
γ -tocoferoles	1,54	0,82	0,33	3,26	9,9
β -tocotrienoles	32,81	20,38	9,65	90,11	9,3
Tocoles totales	36,46	23,35	10,71	103,34	9,6
B. Trigo de ciclo largo					
α -tocoferoles	4,83	2,89	0,78	12,00	15,4
γ -tocoferoles	2,09	0,80	0,53	3,70	7,0
β -tocotrienol	43,98	20,97	12,38	93,21	7,5
Tocoles totales	50,90	24,46	13,84	108,64	7,8

Se informa el promedio, desviación estándar (DS), mínimo (mín.) y máximo (máx.).

El contenido del total de tocoles y de sus fracciones individuales fue superior en las muestras de trigo de CL con relación a las de CC. Según Lampi et al. (2008), en trigos con concentraciones altas de lípidos, el contenido de tocoles también tiende a incrementar, por lo tanto, el mayor contenido de tocoles encontrado en los materiales de CL evaluados podría en parte explicarse porque el contenido de lípidos es mayor en las muestras de CL con relación a las de CC.

En las muestras de los cultivares de ambos ciclos, la concentración promedio de β -tocotrienol fue la predominante y en segundo lugar le siguió el α -tocoferol, coincidiendo estos resultados con lo publicado por Piironen et al. (2009) y Lampi et al. (2008).

La proporción del contenido promedio de β -tocotrienol en las muestras de trigos de CL y de CC representan con relación al total de tocoles el 87 y 90 % respectivamente, mientras que los α -tocoferoles alcanzaron una proporción de 9 % en trigos de CL y casi de 7 % en los de CC. Al comparar estos porcentajes con los datos publicados por Lampi et al. (2008) y Piironen et al. (2009), las muestras evaluadas en este trabajo presentan una mayor proporción de β -tocotrienol y menor porcentaje de α -tocoferoles con relación a las otras variedades de trigo. Según lo publicado por estos autores, la proporción promedio de β -tocotrienol con relación a los tocoles totales es de 50,8 % con un rango de 31,3 a 68,5 % y la de α -tocoferol es de 26,8 % con un rango de 12,2 a 40,8 %.

Existe además una amplia variación en la concentración de tocoles y sus fracciones individuales en los materiales estudiados, con una diferencia entre el valor máximo y el mínimo que oscila entre 7 y 15,3 veces. En ambos ciclos, la mayor variación la presenta el α -tocoferol, a diferencia de lo hallado en las muestras del trigo primavera evaluadas en el proyecto Heathgrain (Lampi et al., 2008), en las cuales la máxima variación estuvo entre las concentraciones máxima y mínima de los β -tocotrienoles. A pesar de que los tocotrienoles predominan en las capas externas del grano (Bramley et al., 2000; Chung y Ohm, 2000; Morrison, 1978) y consecuentemente cualquier factor que afecte la proporción del salvado (incluido el tamaño del grano) podría

afectar la concentración en el grano entero (Shwery et al 2010; Belitz et al., 2009), en la muestras estudiadas estos compuestos resultaron tener menor variabilidad en su concentración con relación a los tocoferoles, cuyo contenido predomina en el germen (Bramley et al., 2000; Chung y Ohm, 2000).

La variabilidad entre los valores tiene relación con la diversidad genética y ambiental donde se desarrollan los cultivos (Lampi et al., 2008). Al comparar la diferencia entre los valores máximos y mínimos obtenidos de tocoles en las muestras estudiadas y los reportados por Lampi et al. (2008) para las variedades de trigo primavera, la amplitud del rango fue superior en este trabajo, a pesar de que la diversidad genética de los trigos evaluados en el proyecto Healthgrain fue mayor. Los cultivares de trigo primavera crecieron en un mismo lugar, en cambio las muestras evaluadas en este trabajo se desarrollaron en distintos ambientes, por lo tanto, las diferencias halladas, en parte, podrían explicarse porque las condiciones en que crecen los cultivares tienen un importante efecto en la concentración de los tocoles (Lampi et al., 2008).

3.3 CONTRIBUCIÓN DEL GENOTIPO, EL AMBIENTE Y SU INTERACCIÓN EN LA VARIABILIDAD DEL CONTENIDO DE LOS COMPONENTES

El genotipo (G) del trigo, el ambiente (A) en el que creció y posiblemente la interacción del genotipo por el ambiente (G x A) pueden influenciar fuertemente en la concentración de los nutrientes y compuestos bioactivos. La magnitud de los componentes de varianza del G, el A y la interacción G x A indica su relativa importancia en la variabilidad de los componentes estudiados (Mpfou et al., 2006).

3.3.1 Influencia relativa del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de proteínas, carbohidratos, lípidos, cenizas y fibra dietética

Los resultados obtenidos para estos componentes en las muestras de trigo de CC y de CL analizadas se describen en el Gráfico 1.

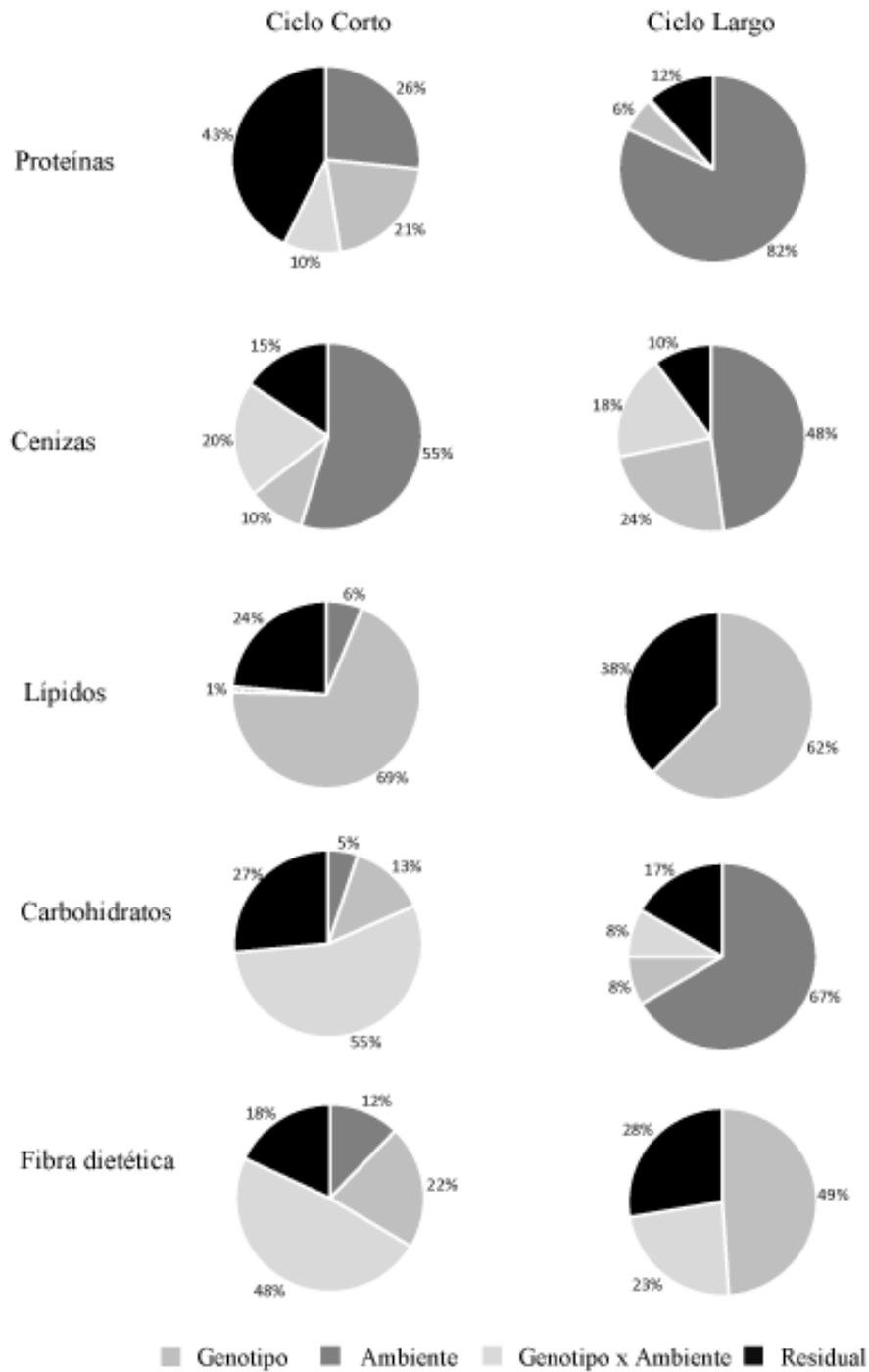
En el contenido de proteínas y cenizas, tanto en trigos de CC como en los de CL, los efectos del A fueron considerablemente mayores que los efectos del G, alcanzando 26 % (CC) y 82 % (CL) en las proteínas y 55 % (CC) y 48 % (CL) en las cenizas. Estos resultados son acordes con lo esperado, ya que el contenido de cenizas varía entre los diferentes genotipos y en un mismo cultivar fundamentalmente por el clima, la calidad de los suelos y el manejo agronómico (Shewry et al., 2010), mientras que la proporción de las proteínas está determinada principalmente por la disponibilidad de nitrógeno en el suelo (Shewry y Hey, 2015a; García Lamothe, 2006).

En cambio, resulta de interés que en la concentración de lípidos, tanto en los trigos de CC como en los de CL, la variabilidad relativa al G fue sustancialmente mayor que la variabilidad por efecto del A (69 % y 62 % respectivamente).

Este resultado es relevante desde el punto de vista nutricional, ya que la fracción lipídica incluye además de triglicéridos varios compuestos con beneficios para la salud, tales como tocoferoles, estanoles y carotenoides. Es de interés, por lo tanto, analizar si existe correlación entre el contenido lipídico y algunos de estos compuestos bioactivos.

Particularmente en los carbohidratos, la variabilidad debida al G se encontró en baja proporción tanto en cultivares de CC como en los de CL, mientras que la contribución del A no indicó una tendencia clara, ya que alcanzó desde el 5 % en trigos de CC hasta el 65 % en los de CL.

Gráfico 1. Componentes de varianza del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de proteínas, cenizas, lípidos, carbohidratos y fibra dietética en genotipos de ciclo corto y de ciclo largo



En el caso de la fibra dietética, el comportamiento fue muy diferente en trigos de CL y en trigos de CC. En los de CL la variabilidad relativa al G fue de 49 %, mientras que en los de CC alcanzó únicamente el 22 %. La alta proporción de la variabilidad atribuible al G en trigos de CL es comparable con los resultados obtenidos por Shewry et al. (2010) al estudiar la influencia del G, el A y la interacción G x A en la variabilidad del contenido de arabinoxilanos totales en trigo, salvado y harina, ya que evidenciaron que el porcentaje correspondiente al G fue de entre 39 % a 75 %.

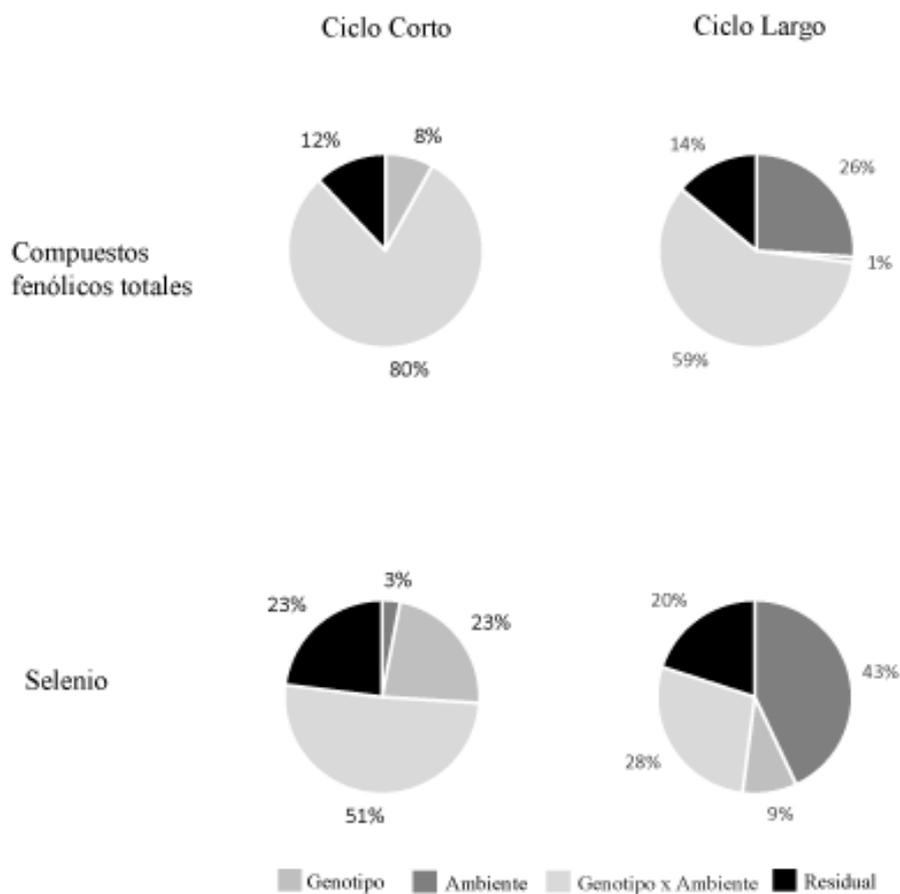
Se requiere, por lo tanto, de más estudios para investigar la contribución del A, el G y la interacción G x A en la variabilidad de la fibra dietética contenida en variedades nacionales, ya que en las muestras estudiadas los resultados obtenidos en trigos de CC y en los de CL no indican la misma tendencia.

3.3.2 Influencia relativa del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de compuestos bioactivos

La contribución del A, el G y su interacción en la variabilidad de la concentración de los compuestos bioactivos fue diferente dependiendo del parámetro estudiado (Gráfico 2).

En los compuestos fenólicos, la variabilidad en su concentración es atribuible fundamentalmente a la interacción G x A (Gráfico 2), lo que indica que los patrones de respuesta de los cultivares no son uniformes a través de los diversos ambientes donde se evaluaron y que seguramente estos cambiarán de acuerdo a los lugares en donde los agricultores los siembren. A su vez, el significado de la interacción G x A en la concentración de compuestos fenólicos dependerá del grado de interacción entre el G y el A, quedando de manifiesto en los cambios en el ordenamiento de los cultivares al cambiar de ambiente o en la magnitud de la variación entre genotipos en diferentes ambientes (Mpfou et al., 2006). Por lo tanto, el aumento estable en el contenido de estos componentes no se podría lograr fácilmente en el desarrollo de cultivares.

Gráfico 2. Componentes de varianza del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de compuestos fenólicos y selenio en genotipos de ciclo corto y de ciclo largo

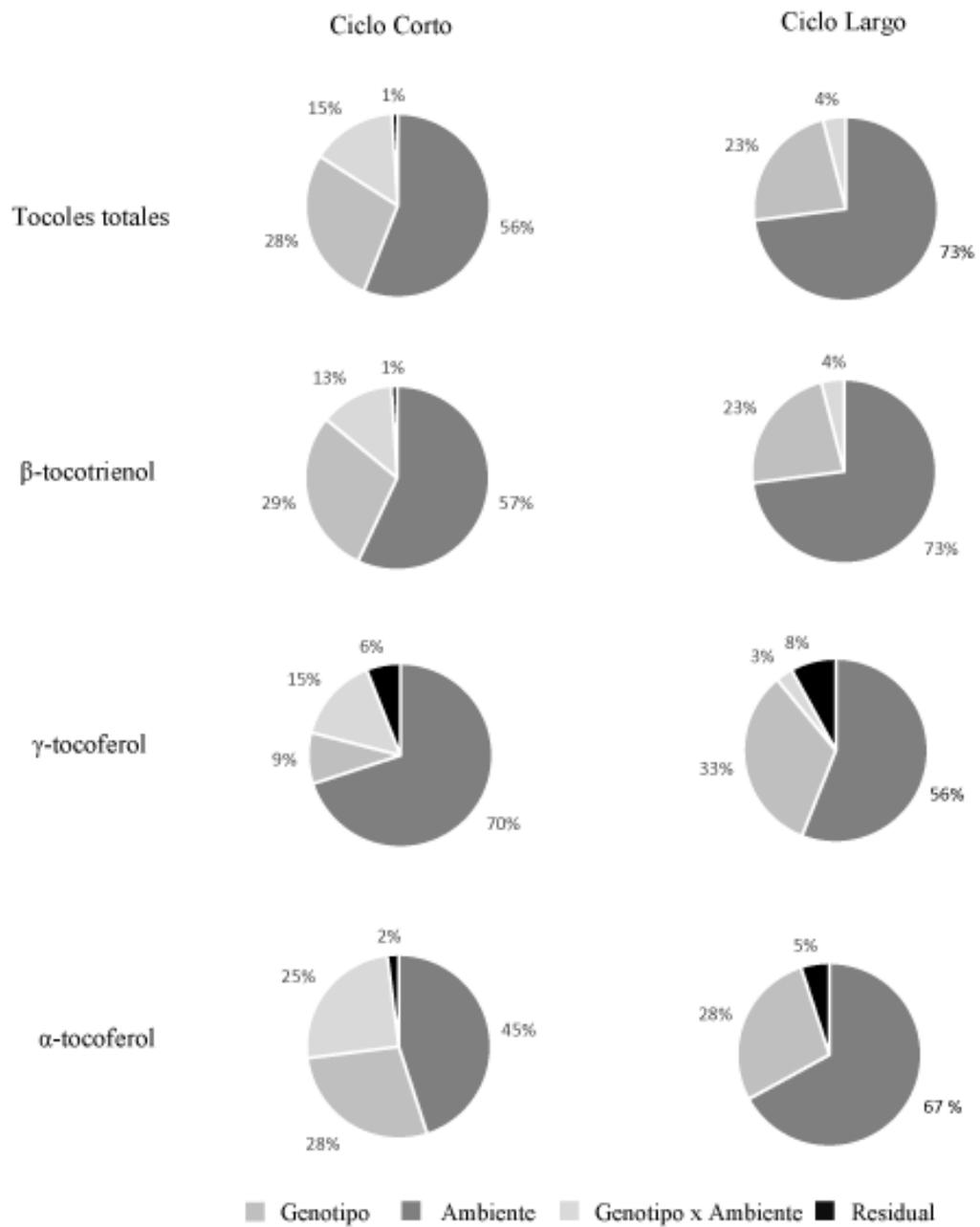


En el caso del selenio, si bien su concentración en el grano está fuertemente determinada por la disponibilidad de este elemento en el suelo y las condiciones climáticas y geoquímicas (Garvin et al., 2011; Hart et al., 2011), en las muestras estudiadas la contribución del A en la variabilidad de su concentración no indica una tendencia clara, debido a que en los trigos de CC representa el 3 % mientras que en los de CL alcanza el 43 % (Gráfico 2). Esto puede explicarse porque el número de muestras estudiadas fue limitado y, a pesar de que provenían de dos localidades diferentes, solo evidencian una parte de la diversidad de los suelos

La variabilidad en la concentración de los tocoles totales y las fracciones individuales en las muestras evaluadas se debió en su mayor proporción al A, tanto en los trigos de CC como en los de CL, oscilando entre 45 y 73 %, mientras que la contribución del G varió entre 9 y 33 % (Gráfico 3).

Estos resultados difieren de los valores reportados por Shewry et al. (2010), al estudiar la magnitud de los componentes de varianza del G, el A y la interacción G x A en 26 líneas de trigo cultivadas en seis ambientes (proyecto Healthgrain). Según estos autores, la proporción atribuible al genotipo fue alta, alcanzando el 77 % del total de la varianza. Si bien los diferentes genotipos y las condiciones en que crecen los cultivares tienen un importante efecto en la concentración y el perfil de los tocoles (Lampi et al., 2008), en los materiales evaluados en este trabajo el principal componente que influyó en la variabilidad de la concentración de los tocoles y las fracciones individuales fue el ambiente.

Gráfico 3. Componentes de varianza del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de tocoles y sus fracciones individuales en genotipos de ciclo corto y de ciclo largo



En suma, la alta proporción de la variabilidad atribuible al G en lípidos observada en las muestras estudiadas parecería indicar que ellos podrían ser objetivos reales en la selección de cultivares. En contraste con ello, la baja proporción atribuible al G del total de la variabilidad en los compuestos fenólicos y en el selenio sugiere que el aumento estable en el contenido de estos componentes no se podría lograr fácilmente en el desarrollo de cultivares. En el caso de la fibra y de los tocoles y sus fracciones individuales, se requiere de más estudios, puesto que los resultados obtenidos no marcan una tendencia clara o difieren con los datos reportados por otros autores.

3.4 VARIACIONES GENÉTICAS EN LA CONCENTRACIÓN DE LÍPIDOS ENTRE LAS VARIEDADES

Dado que el efecto del genotipo fue significativo en la variabilidad del contenido de lípidos de las muestras estudiadas, se analizó si las diferencias entre los genotipos fueron estadísticamente significativas. En la Tabla 4 se observan los resultados obtenidos considerando un valor $p \leq 0,05$.

Tabla 4. Contenido porcentual promedio de lípidos en base seca en 12 genotipos de trigo de ciclo corto y de ciclo largo.

Trigo de ciclo corto		Trigo de ciclo largo	
Genotipos	Lípidos	Genotipos	Lípidos
LE 2333 INIA Carpintero	2,29a	LE 2346 Génesis 2346	2,42a
LE 2354 Génesis 2354	2,18ab	LE 2377 Génesis 8.77	2,40a
LE 2381 Génesis 6.81	2,09bc	LE 2358 Génesis 2358	2,13b
LE 2331 INIA Don Alberto	2,08bc	LE 2359 Génesis 2359	2,11b
LE 2375 Génesis 2375	2,00c	LE 2210 INIA Tijereta	2,12b
LE 2332 INIA Madrugador	1,72d	LE 2366 Génesis 2366	2,09b

El promedio en la misma columna seguido de letras diferentes indica diferencia significativa ($p \leq 0,05$).

En trigos de CC, el contenido promedio fue mayor para los cultivares INIA Carpintero y Génesis 2354, seguido de la variedad Génesis 6.81e INIA Don Alberto.

El genotipo INIA Madrugador fue el que tuvo menor contenido.

En trigos de CL, los cultivares con mayor porcentaje de lípidos fueron Génesis 2346 y Génesis 8.77, ambos con un valor similar. Los otros cuatro genotipos evaluados tuvieron el menor contenido en lípidos y presentaron también un valor similar entre ellos.

Al comparar el contenido promedio de lípidos en trigos de CC y de CL se observa que la concentración tiende a ser más alta en los trigos de CL con relación a los de CC. A su vez, entre los trigos de CC, los tres genotipos de mayor valor son los que corresponden al ciclo intermedio y los tres de menor valor corresponden al ciclo corto; entre los trigos de CL, el valor inferior corresponde a la variedad más corta. Estos resultados parecen indicar que la duración del ciclo podría tener influencia en la concentración de los lípidos.

Otro aspecto a destacar es que los tres genotipos de CL con menor contenido en lípidos están relacionados genéticamente entre sí, ya que LE 2359 Génesis 2359 y LE 2366 Génesis 2366 son hijos de LE 2210 INIA Tijereta, mientras que las otras variedades no lo están. Por otro lado, dos de los cultivares de CC que están entre los de menor contenido en lípidos tienen relación genética con LE 2210 INIA Tijereta: LE 2331 INIA Don Alberto es hijo y comparte ancestro con LE 2332 INIA Madrugador. Por ello, se podría inferir que el factor genético parece tener un efecto considerable en la concentración de lípidos en los granos de trigo evaluados.

3.5 CORRELACIÓN ENTRE LOS COMPONENTES Y EL PESO HECTOLÍTRICO EN LAS VARIEDADES DE TRIGO

La correlación entre los contenidos promedios de nutrientes y compuestos bioactivos evaluados y su correlación con el pH del grano se ilustra en el siguiente cuadro.

Cuadro 14. Matriz que ilustra los coeficientes de correlación de Pearson entre el contenido de los componentes evaluados y el peso hectolítrico en los materiales genéticos

	Pt	Cn	Lp	CH	Fd	CF	Se	β -tt	γ -tf	α -tf	Toc.	PH
Pt	1,00											
Cn	0,72	1,00										
Lp	0,28	0,37	1,00									
CH	-0,82	-0,55	-0,33	1,00								
Fd	-0,07	-0,22	0,00	-0,50	1,00							
CF	0,40	0,19	0,15	-0,42	0,14	1,00						
Se	0,63	0,69	0,34	-0,43	-0,26	0,05	1,00					
β -tt	-0,37	-0,04	0,38	0,39	-0,23	-0,19	0,05	1,00				
γ -tf	-0,24	0,03	0,37	0,28	-0,22	-0,09	0,16	0,92	1,00			
α -tf	-0,30	0,07	0,44	0,30	-0,19	-0,15	0,09	0,91	0,88	1,00		
Toc.	-0,36	-0,02	0,40	0,39	-0,24	-0,19	0,06	1,00	0,93	0,93	1,00	
PH	0,00	0,09	-0,04	0,08	-0,15	-0,03	0,20	-0,05	-0,09	-0,07	-0,05	1,00

Los números en negrita representan una correlación fuerte ($r > 0,325$; $p \leq 0,01$). Pt: proteínas, Cn: cenizas, Lp: lípidos, CH: carbohidratos, Fd: Fibra dietética, CF: compuestos fenólicos, Se: selenio, β -tt: β -tocotrienoles, γ -tf: γ -tocoferoles, α -tf: α -tocoferoles, Toc: tocoles totales, PH: peso hectolítrico.

3.5.1 Correlación entre macronutrientes

Se observó una correlación positiva y significativa entre el contenido de cenizas y proteínas, lo que puede explicarse porque ambos constituyentes presentan una relación inversa entre su contenido y la posibilidad de concretar el rendimiento potencial durante el llenado del grano, el que a su vez está fundamentalmente determinado por la cantidad de almidón almacenado en el grano (Shewry y Hey, 2015a; García Lamothe, 2006).

La correlación inversa y significativa entre los carbohidratos y los demás componentes (proteínas, cenizas y lípidos) responde a la metodología utilizada en su determinación.

3.5.2 Correlación entre compuestos bioactivos y otros componentes presentes en el grano

En lo que respecta a las correlaciones entre los compuestos bioactivos estudiados, se observó una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el contenido de tocoles y la concentración de lípidos. Esta relación podría ser de interés para utilizar la medición del contenido de lípidos como predictor del contenido de tocoles. Es decir que para conocer cuáles son los cultivares de mayor contenido de tocoles, en lugar de realizar directamente la determinación analítica de estos compuestos, se podría analizar el contenido de lípidos, que implica una técnica sencilla y económica. Luego a partir de esos resultados se podría inferir cuáles son las variedades de mayor contenido en tocoferoles y tocotrienoles. No obstante, para ello se requiere de estudios más robustos que permitan validar las ecuaciones de regresión de los lípidos como predictores del contenido de tocoles (Shewry et al., 2012).

Con relación al selenio, existe una correlación positiva entre su contenido y el de proteínas. Esta correlación se fundamenta en que la forma química predominante en el grano del trigo (la orgánica) se halla unida a proteínas. A su vez, varios autores reportan que la selenometionina alcanza entre el 65 y el 87 % del total de las especies presentes en el grano (Lazo-Vélez et al., 2015; Hart et al., 2011). Por lo tanto, en suelos de similar disponibilidad de selenio, parecería que en la medida que aumente el contenido de proteínas en el grano se incrementará también el contenido de selenio.

En contraste, no hubo correlación entre los contenidos de compuestos fenólicos, fibra dietética y tocoles, a pesar de que los tres componentes se concentran en las capas externas del grano y que cualquier factor que afecta la proporción de las capas externas en el grano influye también en la concentración de los compuestos que predominan en esta fracción.

La correlación entre los grupos de componentes no necesariamente implica una relación directa y generalmente resulta de factores indirectos. En primer lugar, como ya ha sido mencionado, la fibra dietética y muchos de los compuestos bioactivos se concentran en las capas externas del grano y por lo tanto cualquier factor que afecta la proporción del salvado (incluido el tamaño del grano) afectará su concentración en el grano entero. En segundo lugar, muchos de los compuestos bioactivos (tocolos, ácidos fenólicos) se correlacionan positivamente con la temperatura y negativamente con las precipitaciones, lo que significa que las correlaciones entre estos grupos de componentes también observarán cuando se comparen muestras de trigo que crecen en varios ambientes (Shewry et al., 2010).

3.5.3 Correlación entre compuestos bioactivos y peso hectolítrico

El contenido de los compuestos bioactivos no está correlacionado en ninguno de los componentes con el PH. El PH se define como el peso en kilogramos de un volumen de grano de 100 litros. Es un parámetro muy utilizado para evaluar la calidad física y molinera del trigo, estima la densidad de una partida de granos, la que, a su vez, depende de la densidad de cada grano, de su homogeneidad y de cómo los granos se acomodan. Resume en un solo valor qué tan sano es el grano (menor cantidad de impurezas, granos dañados o quebrados, picados, fusariosos o con presencia de cualquier enfermedad); cuanto mayor sea el PH, mejor será el trigo (Vázquez, 2009).

La no correlación, por lo tanto, es un aspecto relevante y probablemente resulte de que los compuestos evaluados se concentran en las distintas capas del grano, las cuales podrán estar en mayor o menor proporción según el tamaño del grano, pero no se asocian con la forma, textura exterior ni uniformidad de los granos, que a su vez son componentes esenciales del PH (Vázquez, 2009).

Por lo tanto, según estos resultados la variabilidad en el contenido de compuestos bioactivos podría ser explotada para desarrollar cultivos con beneficios para la salud sin

afectar el PH de los granos y, por tanto, la calidad física del grano. Este resultado es consistente con lo reportado por Shewry et al. (2012, 2010) con relación a que no existen obstáculos para combinar trigos con altas concentraciones de compuestos bioactivos, buenas propiedades agronómicas y tecnológicas y altos rendimientos.

4. CONCLUSIONES

Los materiales de trigo evaluados presentaron amplia variabilidad, fundamentalmente en la concentración de los compuestos bioactivos. Los tocoferoles y los tocotrienoles presentaron las máximas diferencias entre los valores máximos y mínimos respecto a los otros compuestos estudiados.

La variabilidad en el contenido de los componentes analizados estuvo determinada en distinta proporción por el genotipo (G), el ambiente (A) y por la interacción genotipo por ambiente (G x A). En lípidos predominó el efecto del G, por lo que parecería posible que estos compuestos sean objetivos reales en la selección de cultivares. En contraste, la alta proporción atribuible al G x A en los compuestos fenólicos sugiere que el aumento estable en el contenido de estos componentes no se podría lograr fácilmente en el desarrollo de cultivares. La contribución del A, el G y su interacción en la variabilidad de la concentración de fibra y selenio no marcan una tendencia clara, mientras que en los tocoles y sus fracciones individuales predomina el A y esto difiere con los datos reportados por otros autores.

Las diferencias significativas observadas en el contenido de lípidos entre los materiales evaluados parecerían ser favorables para seleccionar cultivares por este rasgo en programas de mejoramiento genético. Las muestras de mayor contenido fueron las correspondientes a los genotipos INIA Carpintero y Génesis 2354 en los trigos de CC, y Génesis 2354 y Génesis 8.77 en los de CL, lo cual indica que el factor genético y el ciclo podrían influir en la concentración de lípidos en el grano.

La correlación positiva y significativa encontrada entre los contenidos en lípidos y tocoles puede ser de interés para utilizar la medición del contenido de lípidos como predictor del contenido de tocoles. Sin embargo, no hubo correlación entre los contenidos de compuestos fenólicos y fibra dietética ni entre compuestos fenólicos y tocoles a pesar de que estos tres compuestos se concentran en las capas externas del grano.

No se evidenció correlación entre el contenido de los compuestos bioactivos analizados y el pH de los granos, por lo que parecería posible desarrollar cultivares con componentes beneficiosos para la salud sin afectar las propiedades físicas del grano que definen este parámetro.

Los resultados obtenidos en este trabajo son los primeros generados a nivel nacional y permiten revalorizar el rol del trigo en la dieta humana y, en particular, los genotipos cultivados en Uruguay con relación a su contenido en proteínas, lípidos, carbohidratos, fibra dietética, cenizas, compuestos fenólicos, tocoles y selenio.

Dentro de las limitaciones de este estudio, se reconoce que las muestras se seleccionaron por conveniencia y que el número de genotipos fue restringido, lo que no permitió abarcar toda la diversidad genética que se cultiva en Uruguay. A su vez, se realizaron repeticiones en solo algunos experimentos básicos para estimar el error experimental y mejorar la precisión de la media, en lugar de hacerlo en todos los casos. Otro aspecto a considerar es la diversidad de condiciones en que se mantuvieron las muestras en los laboratorios hasta su determinación analítica, lo que podría determinar modificaciones en la concentración de algunos compuestos lábiles a temperatura/tiempo (por ejemplo, los tocoferoles).

En conclusión, si bien existe la necesidad de realizar más estudios para comprender el efecto de los factores genéticos y ambientales en la concentración de los diversos compuestos presentes en los granos de trigo, los resultados hallados en los componentes evaluados son auspiciosos para el desarrollo de cultivares con propiedades beneficiosas para la salud combinados con buenas propiedades físicas.

5. BIBLIOGRAFÍA

- AACC (American Association of Cereal Chemists). 2000. Approved Methods of the AACC, 10.^a ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 1200 p.
- Adom KK, Sorrells ME, Liu RH. 2005. Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2297-2306.
- Ahsan H, Ahad A, Iqbal J, Siddiqui WA. 2014. Pharmacological potential of tocotrienols: a review. *Nutrition and Metabolism*, 11 (1): 52.
- Al-Saleh JA, Al-Doush I. 1997. Selenium levels in wheat grains grown in Saudi Arabia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 590-594.
- Anderson JW, Baird P, Davis RH, Knudtson M, Koraym A. 2009. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*, 67: 188-205.
- Anderson JW. 2003. Whole grains protect against atherosclerotic cardiovascular disease. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 62 (1): 135-142.
- Andersson AA, Andersson R, Piironen V, Lampi AM, Nystrom L, Boros D. 2013. Contents of dietary fibre components and their relation to associated bioactive components in whole grain wheat samples from the HEALTHGRAIN diversity screen. *Food Chemistry*, 136: 1243-1248.
- Antoine C, Peyron S, Lullien PV, Abecassis J y Rouau X. 2004. Wheat bran tissues fractionation using biochemical markers. *Journal of Cereal Science*, 39: 387-393.
- Antoine C, Peyron S, Mabile F, Abecassis J, Rouau X, Lapierre C, Bouchet B. 2003. Individual contribution of grain outer layers and their cell wall structure of the mechanical properties of wheat bran. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 2026-2033.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Official Methods of Analysis, 15.^a ed., vol. I. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, Inc. 672 p.

- Araya L, Lutz R. 2003. Alimentos funcionales y saludables [en línea]. *Revista Chilena de Nutrición*, 30 (1). Consultado 23 setiembre de 2016. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182003000100001>.
- Arthur JR, Brown KM, Fairweather-Tait SJ, Crews HM. 1997. Dietary selenium: why do we need it and how much is enough. *Nutrition and Foods Science*, 97 (6): 225-228.
- Asp NG. 1992. Resistant starch. Proceedings from the second plenary meeting of EURESTA: European FLAIR-Concerted Action n.º 11 on the physiological implications of the consumption of resistant starch in man. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46 (sup. 2): S1.
- Aune D, Norat T, Romundstad P, Vatten LJ. 2013. Whole grain and refined grain consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies. *European Journal of Epidemiology*, 28 (11): 845-858.
- Bach Knudsen KE. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 67: 319-338.
- Badui S. 2013. Hidratos de Carbono. En: Badui S. (ed). *Química de los alimentos*. Nauclapan de Juárez: Pearson. 31-91.
- Bates B, Lennox A, Prentice A, Bates C, Page P, Nicholson S, Sawn G. 2014. National Diet and Nutrition Survey. Results from Years 1, 2, 3 and 4 (combined) of the Rolling Programme (2008/2009-2011/2012). A survey carried out on behalf of Public Health England and the Food Standards Agency. Executive Summary. Londres: Dandy Bookseller Limited. 27 p.
- Bazzano LA, Song Y, Bubes V, Good CK, Manson JE, Liu S. 2005. Dietary intake of whole and refined grain breakfast cereals and weight gain in men. *Obesity Research Journal*, 13: 1952-1960.
- Bechtel DB, Abecassis J, Shewry PR, Evers AD. 2009. Development structure and mechanical properties of the wheat grain. En: Khalil K y Shewry PR (eds.).

- Wheat: Chemistry and Technology. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 51-95.
- Becker R, Hanners GD. 1991. Carbohydrate composition of cereal grains. En: Lorenz KJ y Kulp K. (eds.). Handbook of Cereal Science and Technology. Nueva York: Marcel Dekker Inc. 469-496.
- Beladel B, Nedjimi B, Mansouri A, Tahtat D, Belamri M, Tchanchane A, Khelfaoui F, Benamar M. 2013. Selenium content in wheat and estimation of the selenium daily intake in different regions of Algeria. Applied .Radiation. Isotopes, 71 (1): 7-10.
- Belderok B. 2000. The wheat grain. Plant Foods for Human Nutrition, 55: 15-20.
- Belitz HD, Grosh W, Schieberle P. 2009. Cereal an cereals products. En: Belitz HD, Grosh W y Schieberle P. (eds). Food chemistry. Heidelberg: Springer 670-770.
- Beta T, Shin N, Dexter JE, Sapirstein HD. 2005. Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. Cereal Chemistry, 82: 390-393.
- Betschart AA. 1988. Nutritional quality of wheat and wheat foods. En: Pomeranz Y. (ed). Wheat: Chemistry and Technology, 3.^a ed., vol. II. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 91-130.
- Bleys J, Navas-Acien A, Stranges S, Menke A, Miller ER. 2008. Serum Selenium and Serum lipids in US adults. American Journal of Clinical Nutrition, 88: 416-423.
- Bock MA. 2000. Minors constituents of cereales. En: Kulp K y Ponte JG. (eds). Handbook of Cereal Science and Technology. Nueva York: Marcel Dekker. 479-504.
- Bodinham CL, Hitchen KL, Youngman PJ, Frost GS, Robertson MD. 2011. Short-term effects of whole-grain wheat on appetite and food intake in healthy adults: a pilot study. British Journal of Nutrition, 106: 327-330.
- Bonafine O, Cañizares A, Laverde D. 2006. Importancia de los fitoquímicos en la alimentación. En INIA Divulga 7. Maturín, Venezuela: INIA (Instituto Nacional

- de Investigaciones Agrícolas). 9-12. Consultado 30 de julio de 2016. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/inia_divulga/divulga_07/rid7_bonafine_9-12.
- Borron C, Surget A, Rouau X. 2007. Relative amounts of tissues in mature wheat (*Triticum Aestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *Journal of Cereal Science*, 45: 88-96.
- Botticella E, Sestili F, Hernández-López A, Phillips A, Lafiandra D. 2011. High resolution melting analysis for the detection of EMS induced mutations in wheat *SbeIIa* genes. *BMC Plant Biology*, 11 (1): 142-156.
- Boucher F, Coudray C, Tirard V, Barandier C. 1995. Oral selenium supplementation in rats reduces cardiac toxicity of adriamycin during ischemia and reperfusion. Impact of dietary selenium intake on cardiac disease. *Nutrition*, 11: 708-711.
- Bozzini A, Jacques D, Vicenzo N. 2012. Origin, distribution and production of durum wheat genetic diversity in the world. En: Sisson M, Abecassis J, Brian M y Carcea M. (eds). *Durum wheat: Chemistry and Technology*. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 1-14.
- Bramley PM, Elmadfa I, Kafatos A, Kelly FJ, Manios Y, Roxborough HE, Schuch W, Sheehy PJ, Wagner KH. 2000. Vitamine E. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 80: 913-938.
- Brownlee IA. 2011. The physiological roles of dietary fiber. *Food Hydrocolloids*, 25 (2): 238-250.
- Cabrera MC, Ramos A, Saadoun A, Brito GW. 2010. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, 84: 518-528.
- Carvalho-Wells AL, Helmolz K, Nodet C, Molzer C, Leonard C, McKevith B, Thielecke F, Jackson KG, Tuohy KM. 2010. Determination of the in vivo prebiotic potential of a maize-based whole grain breakfast cereal: a human feeding study. *British Journal of Nutrition*, 104: 1353-1356.

- Castro M, Díaz de Ackermann M, Vázquez D, Sastre M. 2005. Ensayos de trigo con control total de enfermedades. La Estanzuela, Colonia, Uruguay: INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria). 14 p.
- Chen Y-C, Prabhu K, Mastro A. 2013. Is selenium a potential treatment for cáncer metastasis? *Nutrients*, 5 (4): 1149-1168.
- Chung OK, Ohm JB, Ram MS, Park SH, Howitt CA. 2009. Wheat Lipids. En Khan K y Shewry PR (eds.). *Wheat: Chemistry and Technology*, 4.^a ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 363-399.
- Chung OK, Ohm J. 2000. Cereals lipids. En: Kulp K y Ponte JG (eds.). *Handbook of Cereal Science and Technology*. Nueva York: Marcel Dekker. 417-477.
- Clayton TA, Morrison WR. 1972. Changes in flour lipids during the storage of wheat flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23: 721-736.
- Codex Alimentarius Commission. 2008. Report of the 30th session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. Ciudad del Cabo, Sudáfrica, 3-7 noviembre. Consultado 21 de julio de 2017. Disponible en: http://www.fao.org/input/download/report/710/al32_26e.pdf
- Combs GF, Jackson MI, Watts JC, Johnson LA, Zeng H, Idso J, Schomburg L, Hoeg A, Hoefig CS, Chiang EC, Waters DJ, Davis CD, Milner JM. 2012. Differential responses to selenomethionine supplementation by sex and genotype in healthy adults. *British Journal of Nutrition*, 107: 1514-1525.
- Combs GF. 2001. Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*, 85: 517-547.
- Constantinou C, Papas A, Constantinou AI. 2008. Vitamin E and cancer: An insight into the anticancer activities of vitamin E isomers and analogs. *International Journal of Cancer*, 123 (4): 739-752.
- Davis KR, Litteneker N, Le Tourneau D, Cain F, Peters LJ, Mc Ginnis J. 1980. Evaluation of the nutrient composition of wheat. I. Lipid constituents. *Cereal Chemistry*, 57: 178-184.

- Del Río D, Rodríguez A, Spencer JP, Tognolini M, Borges G, Crozier A. 2013. Dietary (Poly) phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18 (14): 1818-1892.
- Englyst HN, Cummings JH. 1985. Digestion of the polysaccharides of some cereal foods in the human small intestine. *American Journal of Clinical Nutrition*, 42: 778-787.
- Ernest O, Cadenazzi M, Bentancur O, Gestido V, Suburú G, Vázquez D, Godiño M. 2006. Rendimiento y calidad de trigo. Resultados del relevamiento 2004-2005. En: VIII Jornadas de Rendimiento y Calidad de Trigo, Mesa Nacional de Trigo, Mercedes, Uruguay.
- Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, Collings R, Ford D, Hesketh JE, Hurst R. 2011. Selenium in human health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 14: 1337-1383.
- Fan MS, Zhao FJ, Fairweather-Tait, SJ, Poulton PR, Dunham SJ, Mc Grath SP. 2008. Evidence of decreasing mineral density in wheat grain over the last 160 years. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 22: 315-324.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2013. Food balance sheets [en línea]. Consultado 28 marzo de 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>
- FAO/WHO/UNU (Food and Agriculture Organization / World Health Organization / United Nations University). 2007. Protein and amino acid requirements in human nutrition. Génova: WHO Press. 265 p. (Technical report n.º 935).
- FAO/WHO/UNU (Food and Agriculture Organization / World Health Organization / United Nations University). 2001. Human vitamin and mineral requirements. En: Human Energy Requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. Roma: FAO. 96 p. (Food and Nutrition Technical Report Series n.º 1).

- FDA (Food and Drug Administration). 2006. Guidance for Industry and FDA Staff. Whole grain label statements [en línea]. Consultado 15 de mayo de 2014. Disponible en: <https://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/06d-0066-gdl0001.pdf>
- Galinha C, Freitas MC, Pacheco A, Coutinho J, Maças B, Almeida A. 2012. Determination of selenium in bread-wheat samples grown under a Se supplementation regimen in actual field conditions. *Journal Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 291 (1): 231-235.
- García Lamothe A. 2006. El efecto de la nutrición mineral sobre el rendimiento y la calidad del grano de trigo. En: Jornadas de cultivos de invierno “Trigo: Calidad vs. Rendimiento”. La Estanzuela, Colonia, Uruguay: INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria). 8-21 p. (Serie Actividades de Difusión; n.º 444).
- Garnero S, Caporali V, Carrillo E, Panero M. 2009. Compuestos fenólicos en la fracción de salvado de variedades de trigos argentinos y su actividad antioxidante [en línea]. Córdoba, Argentina: Universidad Tecnológica Nacional. Consultado 20 de marzo de 2013. Disponible en: http://www.edutecne.utn.edu.ar/cytal_frm/CyTAL_2012/TF/TF007.pdf
- Garvin DF, Hareland G, Gregoire BR, Finley J. 2011. Impact of wheat grain selenium content variation on milling and bread baking. *Cereal Chemistry*, 88: 195-200.
- Garvin DF, Welch RM, Finley JW. 2006. Historical shifts in the seed mineral micronutrient concentration of US hard red winter wheat germplasm. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 86: 2213-2220.
- Gerbruers K, Dornez E, Bedo Z, Rakszegi M, Courtin CM, Delcour JA. 2010. Variability in xylanase and xylanase inhibitor activities in different cereals in the HELATHGRAIN diversity screen and contribution of environment and genotype to this variability in common wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (17): 9362-9371.
- Gil A, Ortega RM, Maldonado J. 2011. Wholegrain cereals and bread: a duet of the Mediterranean diet for the prevention of chronic diseases. *Public Health Nutrition*, 14 (12): 2316-2322.

- Gnagnarella P, Gandini S, La Vecchia C, Maisonneuve P. 2008. Glycemic index, glycemic load, and cancer risk: A meta- analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87: 1793-1801.
- Gómez Pallarés M, Edel León AE, Rosell CM. 2007. Trigo. En: Edel León AE y Rosell CM (eds.). *De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica*. Córdoba, Argentina: Baez H. 17-73.
- Gooding MJ, Fan M, McGrath SP, Shewry PR, Zhao FJ. 2012. Contrasting effects of dwarfing alleles and nitrogen availability on mineral concentrations in wheat grain. *Plant Soil*, 360: 93-107.
- Hart D, Fairweather-Tait S, Broadley M, Dickinson S, Foot I, Knott P, McGrath SP, Mowat H, Norman K, Scott P, Stroud J, Tucker M, White P, Zhao F, Hurst R. 2011. Selenium concentration and speciation in biofortified flour and bread. Retention of selenium during grain fortification, processing and production of Se-enriched food. *Food of Chemistry*, 126: 1771-1778.
- Heiniö RL, Myllymaki O, Pihlava JM, Adlercreutz H, Heinonen SM, Liukkonen KH, Poutanen K. 2008. Quantities of phenolic compounds and their impacts on the perceived flavor attributes of rye grain. *Journal of Cereal Science*, 47: 566-575.
- Henry RJ, Saini HS. 1989. Characterization of cereal sugars and oligosaccharides. *Cereal Chemistry*, 66: 362-365.
- Henry RJ. 1987. Pentosan and (1-3), (1-4)- β -glucan concentrations in endosperm and wholegrain of wheat, barley, oats and rye. *Journal of Cereal Science*, 6: 253-258.
- Horvath G, Wessjohann L, Bigirimana J, Jansen M, Gomes Y, Cubergs R, Horemans N. 2006. Differential distribution of tocopherols and tocotrienols in Photosynthetic and non- photosynthetic tissues. *Phytochemistry*, 206 (67): 1185-1195.
- Hoseney RC. 1991. Estructura de los cereales. En: Hoseney RC (ed.). *Principios de ciencia y tecnología de los cereales*. Zaragoza, España: Acribia. 1-30.
- Hussain A, Larsson H, Kuktaite R, Johansson E. 2010. Mineral Composition of organically Grown Wheat Genotypes: Contribution to Daily Minerals Intake.

- International Journal of Environmental Research and Public Health, 7 (9): 3442-3456.
- INASE (Instituto Nacional de Semillas). 2009. Evaluación Nacional de Cultivares. Protocolo de Evaluación del trigo (*Triticum aestivum* L) [en línea]. Consultado 6 de marzo de 2016. Disponible en: www.inase.org.uy/files/doc.ashx?id=146ABB03BE80A76E
- INIA/INASE (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria / Instituto Nacional de Semillas). 2012. Resultados experimentales de la evaluación nacional de cultivares de trigo ciclo intermedio. Colonia, Uruguay: INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria). 62 p.
- INE (Instituto Nacional de Estadística). 2008. Encuestas Nacional de Gastos e Ingresos de los hogares 2005-2006. Los alimentos y las bebidas en los hogares en Uruguay [en línea]. Consultado 6 de marzo de 2016. Disponible en: <http://www.ine.gub.uy/documents/10181/36026/Encuesta+Nacional+de+Gastos+e+Ingresos+de+los+Hogares+2005+-+2006/83d8c75c-a0f7-49d3-b5c1-1cb9548ddf1a>
- Institute of Medicine. 2000. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids [en línea]. Washington, DC: The National Academies Press. Consultado 6 de marzo de 2016. Disponible en www.nap.edu/catalog/9810/dietary-reference-intakes-for-vitamin-c-vitamin-e-selenium-and-carotenoids.
- Jensen MK, Koh-Banerjee P, Franz M. 2006. Whole grains, bran, and germ in relation to homocysteine and markers of glycemic control, lipids, and inflammation. *Am Journal Clinical Nutrition*, 83: 275-283.
- Jensen SA, Martens H. 1983. The botanical constituents of wheat and wheat milling fractions. II. Quantification by amino acids. *Cereal Chemistry*, 60: 170-177.
- Jiang Q. 2014. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biology and Medicine*, 72: 76-90.

- Jones JM, Peña RJ, Korczak R, Braun HJ. 2016. Carbohydrates, grains, and wheat in nutrition and health: Their relation to digestion, digestive disorders, blood glucose, and inflammation. *Cereal Foods World*, 61: 4-17.
- Karl JP, Saltzman E. 2012. The role of whole grains in body weight regulation. *Advances in Nutrition*, 3 (5): 697-707.
- Karppinen S, Myllymaki O, Forssell P, Poutanen K. 2003. Fructan content of rye and rye products. *Cereal Chemistry*, 80: 168-171.
- Kequan Z, Jun J, Liangli Y. 2005. Phenolic acid, tocopherol and carotenoid composition and antioxidant functions of hard red winter bran. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53: 3961-3922.
- Kequan Z, Lan S, Liangli Y. 2004. Phytochemicals and Antioxidant Properties in Wheat Bran. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 52 (20): 6108-6114.
- Kim W, Johnson JW, Graybosch RA, Gaines CS. 2003. Physicochemical properties and end-use quality of wheat starch as a function of waxy protein alleles. *Journal of Cereal Science*, 37: 195-204.
- Lachman J, Dudjak J, Orsak M, Pivec V. 2003. Effect of accelerated ageing on the content and composition of polyphenolic complex of wheat (*Triticum Aestivum* L.) grains. *Plant Soil Environment*, 49: 1-17.
- Lafiandra D, Riccardi G, Shewry PR. 2014. Improving cereal grain carbohydrates for diet and health. *Journal of Cereal Science*, 59 (3): 312-326.
- Lampi AM, Nurmi T, Ollilainen V, Piironen V. 2008. Tocopherols and tocotrienols in wheat genotypes in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of Agriculture. Food Chemistry*, 56: 9716-9721.
- Lazo-Vélez MA, Chávez-Santoscoy A, Serna-Saldivar SO. 2015. Selenium-Enriched Breads and Their Benefits in Human Nutrition and Health as Affected by Agronomic, Milling, and Baking Factors. *Cereal Chemistry*, 92 (2): 134-144.
- Lener MR, Gupta S, Scott RJ, Tootsi M, Kulp M, Tammesoo ML, Viitak A, Metspalu A, Serrano-Fernández P, Kładny J, Jaworska-Bieniek K, Durda K, Muszyńska

- M, Sukiennicki G, Jakubowska A, Lubiński J. 2013. Can selenium levels act as a marker of colorectal cancer risk? *BMC Cancer*, 13: 214.
- Li C. 2007. Selenium deficiency and endemic heart failure in China: A case study of biogeochemistry for human health. *Ambio*, 36 (1): 90-93.
- Li L, Sewry P, Ward J. 2008. Phenolic Acids in Wheat varieties in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 9732-9739.
- Lineback DR, Rasper VF. 1988. Wheat carbohydrates. En: Pomeranz Y. (ed.). *Wheat Chemistry and Technology*, 3.^a ed., vol. I. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 277-372.
- Lippman SM, Klein EA, Goodman JP, Lucia MS, Thompson IM, Ford LG, Parnes HL, Minasian LM, Gaziano JM, Hartline JA, Parsons JK, Bearden JD, Crawford ED, Goodman GE, Claudio J, Winkler E, Cook ED, Karp DD, Walther P, Lieber MM, Kristal AR, Darke AK, Arnold KB, Ganz PA, Santella RM, Albanes D, Taylor PR, Probstfield JL, Jaqpal TJ, Crowley JJ, Meyskens FL Jr, Baker LH, Coltman CA Jr. 2009. Effect of selenium and vitamin E on risk of prostate cancer and other cancers: the selenium and vitamin E cancer prevention trial (SELECT). *Journal of the American Medical Association*, 301 (1): 39-51.
- Liu L, Zubik L, Collins FW, Marko M, Meydani M. 2004. The antiatherogenic potential of oat phenolic compounds. *Atherosclerosis*, 175 (1): 39-49.
- Liu RH. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Science*, 46: 207-219.
- Liu S, Manson JE, Willet WC, Hu FB, Rosner F, Colditz G. 2003. Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products changes in weight and development of obesity among middle age women. *Journal Clinical Nutrition*, 78: 920-927.
- Lookhart G, Bean S. 2000. Cereal proteins: composition of their major fractions and methods for identification. En: Kulp K y Ponte JG Jr. (eds.). *Handbook of Cereal Science and Technology*, 2.^a ed. New York: Marcel Dekker Inc. 363-383.

- López-Bellido FJ, López Bellido L. 2013. Selenio y salud: valores de referencia y situación actual de la población española. *Nutrición Hospitalaria*, 28 (5): 1396-1406.
- Lyons GH, Ortiz-Monasterio I, Stanqoulis J, Graham RD. 2005a. Selenium concentration in wheat grain: Is there sufficient genotypic variation to use in breeding? *Plant Soil*, 269: 369-380.
- Lyons GH, Genc Y, Stanqoulis J, Palmer LT, Graham RD. 2005b. Selenium distribution in wheat grain, and the effect of postharvest processing on wheat selenium content. *Biological Trace Element Research*, 103 (2): 155-168.
- Mares DJ, Stone BA. 1973. Studies on wheat endosperm. I. Chemical composition and ultrastructure of the cell walls. *Australian Journal of Biological Science*, 26: 793-812.
- Mattila JB, Hellstrom J. 2005. Contents of phenolics acids, alkyl- and alkenyresorcinols, and avenanthramides in comercial grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8290-8295.
- Mc Keown NM, 2004. Whole grain intake and insulin sensitivity: evidence from observational studies. *Nutrition Reviews*, 62: 286-291.
- Mehdi Y, Hornick JL, Istasse L, Dufrasne I. 2013. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules*, 18 (3): 3292-3311.
- Mellen P, Walsh T, Herrington D. 2007. Whole grain intakes and cardiovascular disease: a meta- analysis. *Nutrition Metabolism Cardiovascular Disease*, 18 (4): 283-290.
- Mergoum M, Singh PK, Anderson JA, Peña RJ, Singh RP, Xu SS, Ransom JK. 2009. Spring Wheat Breeding. En: Carena MJ (ed.). *Cereals*. Nueva York: Springer Science + Business Media LLC. 127-156.
- MGAP/DGSA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca / Dirección General de Servicios Agrícolas). 2014. Caraterización de la zafra de trigo 2012-2013 [en línea]. Consultado 5 de marzo de 2015. Disponible en:

www.inia.uy/Documentos/Públicos/INIA%20La%20Estanzuela/Mesa%20de%20Trigo/caracterizacion%20calidad%20zafra%201213.pdf

MGAP/DIEA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca / Dirección de Estadística Agropecuaria). 2016. Anuario Estadístico Agropecuario [en línea]. Montevideo, Uruguay. 73 p. Consultado 3 de marzo de 2017. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-diea/anuario2016>

MGAP/OPYPA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca / Oficina de Programación Política y Agropecuaria). 2016. Anuario OPYPA 2016 [en línea]. Montevideo, Uruguay. 117 p. Consultado 3 de marzo de 2017. Disponible en: www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-opypa/2016

Monro J, Burlingame B. 1997. Carbohidratos y componentes alimentarios relacionados: identificadores de Infoods, significados y usos. En: Moron C, Zacarías I, Saturnino DP. (eds.). Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. Santiago de Chile: FAO (Dirección de Alimentos y Nutrición oficina regional de la FAO para America y el Caribe). 327-356.

Moore J, Hao Z, Zhou K, Luther M, Costa J, Yu L. 2005. Carotenoid, tocopherol, phenolic acid, and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 6649-6657.

Morales P. 2011. Vegetales silvestres de uso alimentario: determinación de compuestos bioactivos y valoración de la capacidad antioxidante. Tesis doctoral. Madrid, España. Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Farmacología, Departamento de Nutrición y Bromatología. 359 p.

Morrison WR. 1978. Wheat Lipid Composition. *Cereal Chemistry*, 55 (5): 548-558.

Mosby T, Cosgrove M, Sarkardei S, Platt K, Kaina B. 2012. Nutrition in adult and Childhood cáncer: Role of carcinogens and anti_carcinogens. *Anticancer Reserach*, 32 (10): 4171-4192.

- Mpfou A, Sapirstein H, Beta T. 2006. Genotype and environmental variation in phenolics content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 54: 1265-1270.
- MSP (Ministerio de Salud Pública), Dirección General de la Salud, Área Programática Nutrición. 2016. Diagnóstico de la situación alimentaria nutricional. Revisión para la elaboración de la Guía Alimentaria para la población uruguaya [en línea]. Consultado 5 de marzo de 2017. Disponible en: http://www.msp.gub.uy/sites/default/files/archivos_adjuntos/MSP_Situacion%20alimentario%20y%20nutricional.pdf
- Murphy SP, Subar AF, Block G. 1990. Vitamin E intakes and sources in the United States. *American Journal of Clinical Nutrition*, 52: 361-367.
- Naczka M, Shahidib F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111.
- NRC (National Research Council). 2002. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients) [en línea]. Washington, DC: The National Academies Press. Consultado 30 de mayo de 2017. Disponible en: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=10490.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2003. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Bread Wheat (*Triticum aestivum*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Toxicants. París: Head of Publications Service, OECD. 38 p.
- Okarter N, Liu RH. 2010. Health benefits of whole grain phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50: 193-208.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2003. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas no transmisibles. Informe de una consulta mixta FAO/OMS. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. 151 p. (Serie de Informes Técnicos 916).

- Ordaz JJ, Devaux MF, Saulnier L. 2005. Classification of wheat endoxylanase treatment of flour grain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 8349-8356.
- Orozco R, Li L, Shewry PR. 2010. Effects of Environment and Genotype on Phenolic Acids in Wheat in the HEALTHGRAIN Diversity Screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (17): 9341-9352.
- Orth RA, Shellenberger JA. 1988. Origin, production, and utilization of wheat. En: Pomeranz Y. (ed). *Wheat Chemistry and Technology*, 3.^a ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 1-14.
- Palmer R, Cornuault V, Marcus SE, Knox JP, Shewry PR, Tosi P. 2015. Comparative in situ analyses of cell wall matrix polysaccharide dynamics in developing rice and wheat grain. *Planta*, 241 (3): 669-685.
- Pellny TK, Lovegrove A, Freeman J, Tosi P, Love CG, Knox JP, Shewry PR, Mitchell RA. 2012. Cell walls of developing wheat starchy endosperm: comparison of composition and RNA-Seq transcriptome. *Plant Physiology*, 158: (2) 612-627.
- Peñalvo JL, Aldercreutz H, Haajanen KM, Botting N. 2005. Quantification of lignanin in food using isotope dilution gas chromatography / mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9342-9347.
- Piironen V, Lampi AM, Ekholm P, Salmenkallio M, Liukkonen KH. 2009. Micronutrients and phytochemicals in wheat grain. En: Khan K y Shewry PR (eds.). *Wheat: chemistry and technology*, 4.^a ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 179-222.
- Pounten K. 2012. Past and future of cereals grain as food for health. *Trends in Food Science and Technology*, 25 (2): 58-62.
- Rayman MP. 2012. Selenium and human health. *The Lancet*, 379: 1256-1258.
- Rayman MP. 2008. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition*, 100: 254-268.
- Ritsema T, Smeekens S. 2003. Fructans: beneficial for plants and humans. *Current Opinion in Plant Biology*, 6 (3): 223-230.

- Ruibal LN, Delacroix DL, Meurens M. 2002. A Comparative Analysis of Free, Bound and Total Lipid Content on Spelt and Winter Wheat Wholemeal. *Journal of Cereal Science*, 35 (3): 337-342.
- Ruíz F, Nelina A. 2005. Efectos beneficiosos de una dieta rica en granos enteros [en línea]. *Revista Chilena de Nutrición*, 32 (3): 191-199. Consultado 30 de mayo de 2015. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182005000300003&lng=es.doi: 10.4067/S0717-75182005000300003
- Run CS, Xiao FS, Shi HZ. 2001. Quantitive determination of hydrocinamic in wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, oil palm frond fiber, and fast-growing poplar wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5122-5129.
- Russo M, Elichalt M, Vázquez D, Suburú G, Gioscia D, Gilardi V, Almandos V, Obregón P, Tihista H, Godiño M. 2011. Nutritional composition of wheat products in Uruguay. En: Conferencia Latinoamericana de Cereales: “Key for cereal chain innovation” (2, 2011, Santiago, Chile). Santiago, Chile: Granotec. 70 p.
- SACN (Scientific Advisory Committee on Nutrition). 2015. Dietary Fibre. En: *Carbohydrates and Health* [en línea]. Londres: The Stationery Office. 104-143. Consultado 1.º de julio de 2017. Disponible en: https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/445503/SACN_Carbohydrates_and_Health.pdf
- Sanclemente T, Márques I, Fajó M, Puzo J. 2012. Beneficios dietéticos asociados a la ingesta habitual de dosis moderada de fitoesteroles presentes de forma natural en los alimentos. *Clinica e Investigación en Aterosclerosis*, 24 (1): 21-29.
- Satya SJ, Harnack L, Liu RH, McKeown N, Seal C, Liu S, Fahey GC. 2011. Putting the Whole Grain Puzzle Together: Health Benefits Associated with Whole Grains-Summary of American Society for Nutrition 2010 Satellite Symposium. *Journal of Nutrition*, 141: 1011S-1022S.

- Shelton DR y Lee WJ. 2000. Cereal carbohydrates. En: Kulp K, Ponte JG Jr. (eds.). Handbook of Cereal Science and Technology, 2.^a ed. Nueva York: Marcel Dekker Inc. 385-416.
- Shewry PR y Hey S. 2015a. Improving Wheat Grain Quality for Health and Processing (Strategic Objectives 1 and 4 (also 9). Report funded by Wheat CRP Competitive Partner Grants 241p.
- Shewry PR y Hey S. 2015b. The contribution of wheat to human diet and health security [en línea]. Food and Energy Security, 4 (3): 178-202. Consultado 20 de octubre de 2016. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/fes3.64/pdf>
- Shewry PR, Charmet G, Branlard G, Lafiandra D, Gergely S, Sago A, Sauliner L, Bedó Z, Clare EN, Ward J. 2012. Developing new types of wheat with enhanced health benefits. Trends in Food Science and Technology, 25 (2): 70-77.
- Shewry PR, Gerbrüers K, Andersson AA, Piironen PA, Lampi A, Boros D, Rakszegi M, Bedo Z, Ward J. 2011. Relationship between the Contents of Bioactive Components in Grain and the Release Dates of Wheat lines in the HEALTHGRAIN diversity screen. Journal of Agriculture and Food, 59: 928-933.
- Shewry PR, Piironen V, Lampi AM, Edelman M, Kariluoto S, Nurmi T, Orozco R, Ravle C, Charmet G, Andersson AM, Aman P, Boros D, Gerbrüers K, Dornmeier E, Courtin C, Delcour J, Rakszegi M, Bedo Z, Ward J. 2010. The HEALTHGRAIN Wheat Diversity Screen: Effects of Genotype and Environment on Phytochemical and Dietary Fiber Components. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 9291-9298.
- Shewry PR. 2009. Wheat. Journal of Experimental Botany, 60 (6): 1537-1553.
- Shewry PR, Tatham AS, Halford NG, Barker JH, Hannappel U, Gallois P, Thomas M, Kreis M. 1994. Opportunities for manipulating the seed protein composition of wheat and barley in order to improve quality. Transgenic Research, 3: 3-12.
- Slavin JL. 2004. Whole grains and human health. Nutrition Research Reviews, 17: 99-110.

- Slavin JL. 2003. Why Whole Grains are protective: Biological mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62: 129-134.
- Slavin JL. 2000. Mechanisms for the impact of whole grain on cancer risk. *Journal of the American College of Nutrition*, 19 (3 suppl.): 300S-307S.
- Smith AT, Kuznesof S, Richardson DP, Seal CJ. 2003. Behavioural, attitudinal and dietary responses to the consumption of wholegrain foods. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 62 (2): 455-467.
- Stone B, Morell MK, 2009. Carbohydrates. En: Khan K y Shewry PR (eds.). *Wheat Chemistry and Technology*, 4.^a ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists. 299-362.
- Stone WL, Papas A. 2003. Tocopherols, tocotrienols and vitamina E. En: Gunstone FD (ed.). *Lipids for Functional Food and Nutraceuticals*. Bridgewater: The Oil Press. 53-72.
- Stranges S, Maeshall JR, Natarajan R, Donahue RP, Trevisan M, Combs GF, Capuccio FP, Ceriello A, Reid ME. 2007. Effects of long term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes: a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 147: 217-223.
- Stroud JL, Zhao FJ, Buchna P, Shinmachi F, Groth SP, Abecassis J, Hawkesford MJ, Shewry PR. 2010. Impacts of Sulphur nutrition on selenium and molybdenum concentrations in wheat grain. *Journal of Cereal Science*, 52: 111-113.
- Tang G, Wang D, Long J, Yang F, Si L. 2015. Meta-Analysis of the Association Between Whole Grain Intake and Coronary Heart Disease Risk. *American Journal of Cardiology*, 115 (5): 625-629.
- Tanguy S, Grauzam S, Leiris J, Boucher F. 2012. Impact of the dietary selenium on cardiac health: experimental approaches and humans studies. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56: 1106-1121.
- Tanguy S, Morel S, Berthonneche C, Toufektsian MC. 2004. Preischemic selenium status as a major determinant of myocardial infarct size in vivo in rats. . *Antioxidants & Redox Signaling*, 6 (4): 792-796.

- Theuwissen E, Mensink RP. 2008. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology & Behavior*, 94: 285-292.
- Topping D. 2007. Cereal complex carbohydrates and their contribution to human health. *Journal of Cereal Science*, 46: 220-229.
- UNIT (Instituto Uruguayo de Normas Técnicas). 1985. Cereales y productos derivados. Determinación del contenido de humedad (método rutinario de referencia). Normas UNIT 712:1994 e ISO 712:1985. Montevideo, Uruguay: UNIT.
- Uruguay XXI, Instituto de Promoción de Inversiones y Exportaciones. 2013. Informe de Comercio Exterior en Uruguay. Año 2012. [en línea]. Consultado 20 de julio de 2014. Disponible en: <http://www.uruguayxxi.gub.uy/informacion/wp-content/uploads/sites/9/2015/05/Informe-de-Comercio-Exterior-de-Uruguay-2012.pdf>
- USDA (United States Department of Agriculture). 2015. 2015-2020 Dietary Guidelines for Americans, 8.^a ed. [en línea]. Consultado 8 de julio de 2017. Disponible en: <http://health.gov/dietaryguidelines/2015/guidelines>.
- Van de Vijver LP, Van den Bosch LM, Van den Brandt PA, Goldbohm RA. 2009. Whole-grain consumption, dietary fibre intake and body mass index in the Netherlands cohort study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63 (1): 31-38.
- Vázquez D. 2009. Aptitud industrial del trigo. Montevideo: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. 37 p. (Serie técnica n.º 177).
- Verma B, Hucl P, Chibber R. 2008. Phenolic Content and Antioxidant properties of bran in 51 wheat cultivar. *Cereal Chemistry*, 85: 544-549.
- Vogel KP, Johnson VA, Mattern PJ. 1978. Protein and lysine contents of endosperm and bran of the parents and progenies of crosses of common wheat. *Crop Science*, 18: 751-754.
- Wagner KH, Kamal-Eldin A, Elmadfa I. 2004. Gamma-tocopherol, an underestimated vitamin? *Annals of Nutrition Metabolism*, 48: 169-188.

- Wagner KH, Wotruba F, Elmadfa I. 2001. Antioxidative potential of tocotrienols and tocopherols in coconut fat at different oxidation temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 103: 746-751.
- Walter J, Martínez I, Rose DJ. 2013 Holobiont nutrition: considering the role of the gastrointestinal microbiota in the health benefits of whole grains. *Gut Microbes*, 4: 340-346.
- Ward JL, Poutanen K, Gebruers K, Piironen V, Lampi AM, Nystrom L, Andersson AM, Aman P, Boreos D, Rakszegi M, Bedo Z, Shewry PR. 2008. The HEALTHGRAIN cereal diversity screen. Concept, results and prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 9699-9709.
- Wende L, Fang S, Shancheng S, Corke H, Beta T. 2005. Free radical scavenging properties and phenolic content of Chinese black-grained wheat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 8533-8536.
- Williams PG. 2012. Evaluation of the evidence between consumption of refined grains and health outcomes. *Nutrition Reviews*, 20 (2): 80-99.
- Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. 2004. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules. *Free Radical Biology and Medicine*, 36 (7): 838-849.
- Yang F, Basu TK, Oraikul B. 2001. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 52 (4): 319-330.
- Yoshida Y, Niki E, Noguchi N. 2003. Components study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidants, chemical and physical effects. *Chemical Physics Lipids*, 123 (1): 63-75.
- Zhao FJ, Su YH, Dunham SJ, Rakszegi M, Bedo Z, McGrath SP, Shewry PR. 2009. Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin. *Journal of Cereal Science*, 49: 290-295.
- Ziegler JU, Schweiggert RM, Carle R. 2015. A method for the simultaneous extraction and quantitation of lipophilic antioxidants in *Triticum sp* by HPLC-DAD/FLD-MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 39: 94-102.

Zielinski H, Kozłowska H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agriculture*, 48 (6): 2008-2016.

6. ANEXO

Artículo para presentar en la revista Agrociencia Uruguay

Caracterización por contenido de compuestos bioactivos y fibra dietética de trigo producido en Uruguay: variabilidad de genotipos y ambientes

Russo, M. ¹; Vazquez, D. ².

¹ Universidad de la República, Escuela de Nutrición, Unidad del Nivel Profesional.

Av. Paysandú 984. CP 11100. Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico: monrusso@gmail.com

² INIA La Estanzuela, Programa Nacional de Cultivos de Secano. Colonia, Uruguay.

Título abreviado: Contenido en compuestos bioactivos y fibra dietética de trigo uruguayo

Resumen

El trigo es uno de los principales rubros agrícolas en Uruguay y el cereal más importante en la alimentación humana. Existen evidencias epidemiológicas de una asociación entre el consumo regular de dietas ricas en granos enteros y la disminución en el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas de alta prevalencia. El efecto beneficioso se atribuye a diferentes sustancias bioactivas presentes en el grano de trigo entero que reducen el estrés oxidativo. El objetivo de este trabajo fue caracterizar cultivares comerciales y líneas en evaluación de trigo de ciclo largo (CL) y ciclo corto (CC) del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) por contenido en compuestos bioactivos: compuestos fenólicos, selenio y tocoles y fibra dietética. Se determinó además la contribución del ambiente (A), genotipo (G) y su interacción (GxA) en el contenido de estos compuestos. El valor promedio de fibra dietética y compuestos fenólicos en trigos de CC y CL fue de 13,4 % y 12,3 %; y de 442,3 $\mu\text{g/g}$ y 438,4 respectivamente. El selenio alcanzó 0,67 mg/kg en trigos de CC y 1,09 en los CL. Entre los tocoles, el β -tocotrienol fue el predominante (79,91 moles/ng CC y 17,10 CL). En fibra dietética el porcentaje de la variabilidad aplicable al G, fue de 48 % y 23 % en trigos de CL y CC respectivamente; en compuestos fenólicos predominó la interacción GxA (59 % CC y 80 % CL); en tocoles, el A (45 % a 73 %); y en selenio no hubo una tendencia clara en ambos ciclos

Palabras clave: trigo, grano entero, salud, nutrición, concentración.

Summary

Bioactive compounds and dietary fibre characterization of wheats produced in Uruguay: genotype and environmental variation

Wheat is one of Uruguay's main agricultural products, and the most important cereal in human food. Epidemiological studies show that the consumption of whole grain decreases the risk of developing chronic diseases of high prevalence. Health beneficial properties of whole-wheat grains can be largely ascribed to the presence of bioactive compounds in the diet that reduce oxidative stress. The aims of this study were to characterize varieties of Uruguayan wheat from the National Institute of Agricultural Research (INIA) with short cycles (SC) and long cycles (LC) in total content of bioactive compounds: phenolic compounds, selenium, tocopherols and dietary fibre, and determine the effect of genotype (G), environment (E) and their interaction (GxE) on bioactive compositions. Average values of dietary fibre and phenolic compounds in SC and LC wheat were 13.4% and 12.3%; and 442.3 $\mu\text{g/g}$ and 438.4 $\mu\text{g/g}$ respectively. For selenium, the average value for LC materials was 0.67 mg/kg for SC, and 1.09 for LC. Among tocopherols, β -tocotrienol was predominant (79.91 moles/ng for SC, and 17.10 for LC). For dietary fibre the variability percentage referred to G was 48% for LC, and 23% for SC. The GxE interaction was predominant for phenolic compounds (59% for SC, and 80% for LC), while E was predominant for tocopherols (45% to 73 %). For the case of selenium, the trends were unclear in both cycles.

Keywords: wheat, whole grain, health, nutrition, concentration.

Introducción

El trigo es uno de los mayores productos agrícolas a nivel mundial, con una producción anual global de 600 a 700 millones de toneladas (Shewry et al., 2012). En Uruguay, la producción ha oscilado en los últimos ocho años entre 0,98 a 2,02 millones de toneladas, alcanzando su valor máximo en la cosecha del año 2012 (MGAP/DIEA, 2016). La especie que se cultiva es *Triticum aestivum* o simplemente trigo. A su vez, el trigo ocupa un lugar de privilegio en la cultura alimentaria nacional y en el equilibrio de la dieta humana. Es el cereal más consumido y constituye la primera fuente de energía alimentaria de la población. Según las hojas de balance de la Food and Agriculture Organization (FAO, 2013), el suministro medio de trigo diario por persona es de 790 kcal, lo cual representa el 33 % de la energía total diaria en una dieta de 2400 kcal/día.

El grano de trigo entero es una fuente importante de nutrientes que incluye proteínas, carbohidratos, lípidos, fibra dietética, vitaminas y minerales. Provee además de fitoquímicos, es decir, sustancias que exhiben un potencial para modular el metabolismo de modo favorable para prevenir ciertas enfermedades (Bonafine, Cañizares y Laverde, 2006), que se encuentran heterogéneamente distribuidos en las distintas partes que constituyen el grano. Los fitoquímicos y muchas de las vitaminas y minerales presentes en el grano de trigo se incluyen dentro de los denominados compuestos bioactivos.

Existen evidencias epidemiológicas y clínicas de una asociación entre el consumo regular de dietas ricas en granos enteros y la disminución en el riesgo de desarrollar muchas de las enfermedades no transmisibles (ENT) de alta prevalencia a nivel mundial y nacional, especialmente las vinculadas al síndrome metabólico, como las enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, algunas patologías de carácter inflamatorio y algunos tipos

de cáncer (Mosby et al., 2012; Liu, 2007; Anderson, 2003). El efecto beneficioso se atribuye a una combinación natural y acción sinérgica de los diferentes compuestos bioactivos presentes en los granos enteros y a la fibra dietética (Slavin, 2003).

Con base en estos hallazgos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda incrementar el consumo de granos enteros, como estrategia para alcanzar las recomendaciones diarias de fibra, contribuir a una alimentación saludable y prevenir las ENT (OMS, 2003). Sin embargo, su ingesta promedio en Uruguay es muy baja (INE, 2008) y su consumo se realiza, mayoritariamente, luego de haber sido procesado en harina blanca.

En los granos enteros los compuestos bioactivos que han despertado mayor interés con relación a las ENT por su efecto protector son los compuestos fenólicos, los fitoesteroles, los tocoles, los folatos y el selenio. La actividad antioxidante posiblemente sea uno de los mecanismos principales por los cuales estos componentes disminuyen el riesgo de ENT (Ruíz y Nelina, 2005). La fibra dietética del grano es otro de los componentes que ha sido particularmente asociado con una reducción significativa en el desarrollo de ENT (MSP, 2016). Todos estos compuestos se encuentran en mayor concentración en las capas externas del grano en comparación con las internas (Heiniö et al., 2008)

El contenido de todos estos compuestos bioactivos en el grano de trigo está influenciado por el genotipo, la fracción del grano, la localidad, las condiciones ambientales y el año de producción (Liu, 2007).

Históricamente, el trigo ha sido estudiado y clasificado por sus propiedades tecnológicas y potencial agronómico, pero solo algunos trabajos a niveles regional e internacional han estudiado, el contenido y la composición de los compuestos bioactivos importantes para la salud humana en genotipos de trigo crecidos en diferentes ambientes (Shewry et al., 2012;

Garnero et al., 2009; Mpfou, Sapirstein y Beta, 2006).

En los resultados obtenidos se observa amplia variación entre los diferentes materiales genéticos estudiados con relación a estos compuestos. El grado de variación depende del tipo de compuesto: abarca desde 1,39 veces para los esteroides y 3,60 veces para los ácidos fenólicos y 1,93 veces para los β -glucanos (Shewry et al., 2012).

La proporción de los efectos del ambiente, el genotipo y la interacción genotipo por ambiente fue variable en los diferentes componentes estudiados. Asimismo, se reportó que no hay relación entre la composición de compuestos bioactivos y la época de liberación comercial (año de cruce, origen y variedades de trigos) ni con las propiedades funcionales y agronómicas de los cultivos (Shewry et al., 2012; Garnero et al., 2009). Entonces, en teoría, es posible desarrollar nuevos cultivos con niveles altos de compuestos bioactivos seleccionados, combinados con altos rendimientos, buenas propiedades agronómicas y cualidades tecnológicas.

Sobre esta base y en función de lo que ya ha sido demostrado a través de otros estudios, se espera encontrar diferencias entre el contenido de compuestos bioactivos en distintos genotipos de trigo cultivados en Uruguay en diversos ambientes. Los objetivos de este trabajo fueron caracterizar materiales genéticos de trigo cultivados localmente en el contenido de compuestos fenólicos, tocoles, selenio y fibra dietética y determinar la contribución del genotipo (G), el ambiente (A) y su interacción (GxA) en el contenido de los compuestos seleccionados.

Materiales y métodos

Los materiales genéticos de trigo evaluados fueron cultivares comerciales del Instituto

Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y líneas en evaluación pertenecientes al Programa de Mejoramiento Genético de INIA. Se seleccionaron según su año de comienzo de evaluación y variabilidad genética. Los granos de muestra se conservaron desde su cosecha hasta su molienda en cámara de frío a 6 °C. Se incluyeron 12 genotipos de trigo pan (*Triticum aestivum*): seis de ciclo largo (CL) (LE 2210 INIA Tijereta, LE 2346 Génesis 2346, LE 2358 Génesis 2358, LE 2359 Génesis 2359, LE 2366 Génesis 2366 y LE 2377 Génesis 8,77) y seis de ciclo corto (CC) (LE 2331 INIA Don Alberto, LE 2332 INIA Madrugador, LE 2333 INIA Carpintero, LE 2354 Génesis 2354, LE 2375 Génesis 2375, LE 2381 Génesis 6,81).

Las muestras de granos fueron obtenidas de ensayos de la Evaluación Nacional de Cultivares, del convenio entre INIA y el Instituto Nacional de Semillas (INASE), sembrados en dos localidades, La Estanzuela (Colonia) y Young, y en dos años, 2011 y 2012. Se seleccionó una localidad al norte y otra al sur de la zona de mayor densidad de cultivos de trigo y dos años diferentes para abarcar variedad de condiciones climáticas. Se evaluó un total de 60 muestras. Los ambientes estuvieron definidos por la combinación de localidad, año y período de siembra.

En cada ambiente, el trigo fue sembrado en diseños de bloques al azar con tres repeticiones. Los tratamientos agronómicos fueron los protocolizados por la Evaluación Nacional de Cultivares (INASE, 2009).

Preparación de las muestras

Los granos de trigo se molieron usando un molino de laboratorio (Perten, 3100, Suecia). Las muestras molidas se acondicionaron en bolsas de polietileno y se distribuyeron en los

laboratorios para realizar las determinaciones analíticas correspondientes.

Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales

La cuantificación se hizo a través del reactivo de Folin Denis mediante espectrofotometría visible de acuerdo con Naczka y Shahidib (2004). Se extrajeron 10 g de muestras de trigo con 80:20 etanol/agua (50 mL). Las soluciones fueron agitadas usando un shaker (Mike Seisakusho) durante 15 a 16 horas. Posteriormente, las soluciones de cada muestra se filtraron y se llevaron a un volumen final de 50 mL con 80:20 etanol/agua. Para cada muestra se dosificó en tubo de ensayo de 10 ml de volumen final: 8,5 mL de agua destilada, 0,5 mL de solución saturada de carbonato de sodio al 25 %, 0,5 muestra y 0,5 mL de reactivo de Folin Denis. El blanco se preparó del mismo modo, pero utilizando 0,5 mL etanol/agua en lugar de la muestra. Paralelamente se preparó una solución patrón de ácido gálico (10 mg/100 mL). A partir de ella se construyeron soluciones de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/L. Se dosificó 1 mL de cada una de ellas y se agregó 0,5 mL de reactivo de Folin-Denis, 0,5 mL de solución de carbonato de Na al 25 % y se llevó a un volumen final de 10 mL con agua destilada. Los estándares así preparados se dejaron estabilizar 15 minutos y se trazó la curva de calibración midiendo la absorbancia de ellos a 760 nm en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-160A). Posteriormente se procedió a medir la absorbancia de las muestras y los resultados fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por cada 100 g de extracto de trigo.

Determinación del contenido de tocoferoles y tocotrienoles

Las determinaciones se realizaron utilizando Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC), a partir de la técnica propuesta por Ziegler et al. (2015)

optimizada para tocoferoles y tocotrienoles. Las muestras de trigo (0,7 g) se solubilizaron con acetona (2 mL). Se agitaron en vórtex dos veces por 20 segundos y se centrifugaron a 2000 g por 5 minutos. El sobrenadante fue extraído tres veces con acetona calidad ACS (5 mL). Posteriormente, el extracto acetónico fue evaporado usando N₂ gaseoso (aproximadamente 1,5 horas). El material residual se resolubilizó en 500 uL de acetonitrilo calidad ACS mediante agitación en vórtex por 40 segundos dos veces, y luego se transfirieron 400 uL de solución a un microtubo y se centrifugó por 10 minutos a 16100 g. Por último, se transfirieron en 100 uL del sobrenadante a tubos de plástico aptos para el robot automuestreador. El análisis HPLC fue realizado en un equipo cromatográfico Agilent 1200. Los tocoferoles fueron separados utilizando dos columnas en serie de fase reversa C18 de 4,6 mm de diámetro interno y 15 y 10 cm de largo respectivamente, usando una precolumna C18 con una fase móvil A (90 % metanol calidad HPLC ACS, 2 % acetato de amonio ~ 1M, 8 % agua nanopura tipo A1) y otra B (79,0 % acetonitrilo calidad HPLC ACS, 1,6 % acetato de amonio ~ 1M, 19,4 % metanol calidad HPLC ACS), con un flujo de 1,2 mL/min. El gradiente de solvente fue programado de la siguiente manera: 0-8 min, 0 % B; 8-40 min, 0-50 % B; 40-47 min, 50-100 % B; 47-53 min, 100 % B; 53-54 min, 100-0 % B; 54-60 min, 0 % B. La cromatografía se realizó a temperatura ambiente. Las muestras se mantuvieron por no más de 9 horas a 4 °C en el automuestreador, protegidas de la luz. Las siguientes fracciones fueron cuantificadas: tocoferoles totales, α -tocoferol, β -tocoferol, α -tocotrienol y β -tocotrienol. La identificación de las fracciones de tocoferoles se llevó a cabo utilizando los estándares analíticos correspondientes adquiridos en Sigma Aldrich: α -tocoferol (47783 SUPELCO), δ -tocoferol (47784 SUPELCO) y γ -tocoferol (47784 SUPELCO). Los análisis de HPLC se realizaron por duplicado. Se usó un detector fluorimétrico con $\lambda_{exc} = 295$ nm y $\lambda_{em} = 330$ nm, y un detector UV-visible con $\lambda_1 = 275$ nm,

$\lambda_2 = 295 \text{ nm}$ y $\lambda_3 = 450 \text{ nm}$.

Determinación del contenido de selenio

Las determinaciones de selenio se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica (Cabrera et al., 2010). Se pesaron muestras de alrededor de 10 g y se secaron en estufa de aire forzado Labtech a 105 °C hasta obtener peso constante. A continuación, se incineró en mufla con gradiente de temperatura en crisoles cubiertos, hasta obtener cenizas blancas, a 580 °C. Las cenizas se disolvieron en HNO₃ 1 M y HCl 6 M y se llevaron a matraz aforado de 25 mL con agua doblemente destilada a <18 Ω. Finalmente se analizó el selenio (Se IV) por EAA HG (Analyst 300 Perkin Elmer) con estándares de selenio (Perkin Elmer) y modificador de matriz (Cabrera et al., 2010).

Determinación del contenido de fibra dietética total

Las cuantificaciones de fibra dietética (Fd) fueron realizadas por método enzimático de acuerdo a la técnica de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990). Se utilizaron como enzimas solución de α-amilasa termoestable (n.º 120 L, Novo, Laboratories, Inc., Wilton, CT 06897), proteasa (n.º P-3910, Sigma Chemical Co) y amiloglucosidasa (n.º A-9913, Sigma Chemical Co). La digestión con enzimas se realizó pesando por duplicado 1g de cada muestra, con una precisión de 0,1 mg en vasos Berzelius de 400 mL, agregando a cada una 50 mL de buffer fosfato pH 6,0 y ajustando el pH a $6,0 \pm 0,2$. Luego se adicionó 0,1 mL de solución de amilasa en cada vaso de Berzelius y se incubaron tapados en un baño de agua hirviendo hasta alcanzar los 95-100 °C, agitando suavemente por intervalos de 5 minutos. Posteriormente, se enfrió la solución de cada muestra a temperatura ambiente y se

ajustó en cada una de ellas el pH a $7,5 \pm 0,2$ agregando 10 mL de solución de NaOH 0,275 N. A continuación, se agregó a cada una de las soluciones 5 mg de proteasa, se incubó durante 30 minutos a 60 °C con agitación continua, se enfrió y se ajustó en cada una de ellas el pH hasta un valor final de 4,0 a 4,6 adicionando a cada muestra 10 mL de solución 0,325 M de HCl. Finalmente, se agregó 0,3 mL de amiloglucosidasa en cada vaso de Berzelius y se incubó nuevamente durante 30 minutos a 60 °C con agitación continua. Luego se adicionó 280 mL de etanol 95 % precalentado a 60 °C y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 60 minutos para que se formara el precipitado. Para cuantificar la fibra dietética, se utilizaron crisoles de vidrio con placa filtrante, se agregó una cucharadita de celite, distribuyéndola con alcohol al 78 %, aplicando succión para formar una superficie homogénea. Los crisoles fueron muflados y pesados fríos para obtener el peso inicial. Posteriormente, se transfirió cuantitativamente el contenido del Berzelius de cada muestra a un crisol y se lavó cada residuo sucesivamente con tres porciones de 20 mL de alcohol al 78 %, dos porciones de 10 mL de alcohol al 95 % y dos porciones de 10 mL de acetona. Por último, se secaron los crisoles que contenían los residuos de las muestras durante toda la noche en estufa a 105 °C, se enfriaron en desecador y se pesaron a 0,1 mg. Después, se analizaron las proteínas (P) en el residuo de cada uno de los duplicados usando el método Kjeldahl. En otro duplicado se determinaron las cenizas (C), para lo cual se llevó el crisol a mufla de 600 °C por 2 horas.

Se calculó el porcentaje de fibra dietética total con la siguiente ecuación: $Fd \% = [(peso\ residuo - P - C) / peso\ muestra] \times 100$. Donde peso residuo = promedio de pesos (mg) del duplicado de las determinaciones de las muestras, P y C = pesos (mg) de la proteína y cenizas, respectivamente, en la primera y segunda repetición, y peso muestra = promedio de

los pesos de las dos muestras (mg). A lo largo del procedimiento se corrieron blancos con las muestras para medir cualquier contribución de los reactivos a los residuos.

Diseño experimental

El diseño experimental comprendió dos sets de muestras de trigo, uno correspondiente a trigo de ciclo largo (CL) y el otro a trigo de ciclo corto (CC). Cada set de muestras incluyó seis genotipos y cuatro ambientes, definidos por la combinación de año de cultivo, localidad y fecha de siembra. De uno de los ambientes de cada ciclo se usaron dos repeticiones, y de los otros, una repetición.

Para estimar los componentes de varianza en los datos obtenidos se utilizó un modelo con efectos fijos y el método de estimación por máxima verosimilitud restringida (REML).

Se compararon las medias de las variedades, utilizando un modelo mixto, considerando el genotipo como efecto fijo. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de la comparación de las medias por el test de Student para muestras pareadas de CC y CL para cada material genético ($p \leq 0,05$). Los datos se procesaron en el programa estadístico SAS, versión 9.4

Resultados y discusión

Los compuestos bioactivos analizados mostraron diferencias entre las muestras. Asimismo, la magnitud de estas variaciones osciló entre 1,3 veces para los compuestos fenólicos y 9,6 para los tocoles.

Contenido de compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos son los fitoquímicos más abundantes en el grano de trigo y abarcan una gran cantidad de compuestos (Shewry y Hey, 2015), siendo el predominante el ácido ferúlico. El contenido en compuestos fenólicos de los materiales estudiados se resume en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido en compuestos fenólicos $\mu\text{g/g}$ (equivalentes en ácido gálico) y de Selenio (mg/kg) en base seca, en trigo de ciclo corto y de ciclo largo

A. Trigo de ciclo corto					
Componente	Promedio	DS	Rango		Máx./mín.
			Min.	Máx.	
Comp. fenólicos	442,3	31,1	380,6	508,7	1,3
Selenio	0,67	0,22	0,22	1,17	5,3
B. Trigo de ciclo largo					
Comp. fenólicos	438,4	36,9	350,9	499,4	1,4
Selenio	1,09	0,30	0,57	1,66	2,9

Se informa el promedio, desviación estándar (DS), mínimo (mín.) y máximo (máx.).

El valor promedio de los compuestos fenólicos obtenidos en los granos evaluados es inferior al reportado por otros autores (Shewry et al., 2012; Wende et al., 2005) para diferentes especies y variedades de trigo. A su vez, al comparar el contenido promedio de compuestos fenólicos en el grano entero ($879 \mu\text{g/g}$ de equivalentes en ácido gálico) a partir de los resultados que obtuvieron Garner et al. (2009) al estudiar la concentración de compuestos fenólicos en la fracción de salvado de variedades de trigo argentinos con las muestras estudiadas en este trabajo, el valor obtenido por estos autores alcanzó casi el doble.

El contenido en compuestos fenólicos cambia entre las variedades y entre cultivos de un

mismo genotipo crecidos en diferentes ambientes (Beta et al., 2005). Es bien sabido además que el contenido de los compuestos fenólicos está influenciado por las reacciones defensivas de la planta frente al ataque de patógenos (Mpfou, Sapirstein y Beta, 2006) y por el grado de maduración de la planta. A su vez, los métodos analíticos para su determinación podrían ser en parte responsables de las variaciones en los valores publicados (Piironen et al., 2009).

Los compuestos fenólicos presentaron la menor diferencia entre los valores máximo y mínimo (1,3 veces) respecto a los otros compuestos bioactivos estudiados. Estos resultados difieren de los valores reportados por Shewry et al. (2012), en los cuales la relación entre los valores máximo y mínimo alcanzó 3,6 veces. La mayor variabilidad encontrada entre las muestras evaluadas en el proyecto Healthgrain⁵ y las analizadas en este trabajo podría atribuirse a que las muestras seleccionadas en el primero abarcan mayor variabilidad de genotipos y, a su vez, su origen geográfico es mucho más diverso que el de las variedades de trigo utilizadas en este trabajo.

Contenido de Selenio

El contenido promedio de selenio en las variedades de CL casi duplicó el valor promedio de los trigos de CC, tal como se puede observar en la Tabla 1. A su vez, al comparar los valores de cada uno de los genotipos evaluados se evidencia una mayor concentración en el contenido de selenio en la mayoría de las muestras correspondientes a trigos de CL con relación a las muestras de trigos de CC. Estas diferencias encontradas entre los trigos de CL y de CC podrían fundamentarse en que los trigos de CL permanecen mayor tiempo en contacto con el suelo, desde su siembra hasta su cosecha, con relación a los trigos de CC y

⁵Healthgrain, proyecto integrado del Sexto Programa Marco de la Unión Europea 2005-2010 (www.healthgrain.org)

en que la concentración de selenio en el grano está fuertemente determinada por la disponibilidad de este elemento en el suelo.

El contenido de selenio en trigo es muy variable, abarcando desde 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ hasta más de 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ según la localidad donde se desarrolle el trigo, ya que está influenciado no solo por la concentración de este mineral en el suelo, sino también por la presencia de fertilizantes con azufre (FAO/WHO/UNU 2001; Combs, 2001). En las muestras evaluadas el contenido de selenio varió entre 2,9 a 5,3 veces entre los valores mínimo y máximo en trigos de CC y de CL, respectivamente. Si bien existe diferencia entre ambos valores extremos, su magnitud es mucho menor a lo anteriormente referido, lo que puede deberse a que las muestras estudiadas provienen de un mismo país y de dos localidades con suelos de similares características.

Contenido de tocoferoles y tocotrienoles

Los tocoles están integrados por los tocoferoles y tocotrienoles. Cada uno de estos componentes existe a su vez en cuatro formas químicas que se denominan α , β , γ y δ .

En las muestras analizadas, al determinar la abundancia absoluta en unidades de área (RFU min) se identificaron cuatro compuestos: α -tocoferoles, β -tocoferoles, γ - tocoferoles y β -tocotrienoles. Sin embargo, en el análisis cromatográfico, el β -tocoferol no se incluyó porque coeluye con el γ -tocoferol, por lo tanto, en la Tabla 2 se describen los resultados de las diferentes cantidades (moles por ng de harina) de α -tocoferoles, γ - tocoferoles (que incluyen los β -tocoferoles) y β -tocotrienoles hallados en trigos de CC y de CL.

Tabla 2. Contenido en α -tocoferoles, γ -tocoferoles y β -tocotrienoles y tocoles totales ($\mu\text{g/g}$) en trigos de ciclo corto y ciclo largo

A. Trigo de ciclo corto					
Componente	Promedio	DS	Rango		Máx./mín.
			Min.	Máx.	
α -tocoferoles	2,54	2,14	0,68	9,98	14,7
γ -tocoferoles	1,54	0,82	0,33	3,26	9,9
β -tocotrienoles	32,81	20,38	9,65	90,11	9,3
Tocoles totales	36,46	23,35	10,71	103,34	9,6
B. Trigo de ciclo largo					
α -tocoferoles	4,83	2,89	0,78	12,00	15,4
γ -tocoferoles	2,09	0,80	0,53	3,70	7,0
β -tocotrienol	43,98	20,97	12,38	93,21	7,5
Tocoles totales	50,90	24,46	13,84	108,64	7,8

Se informa el promedio, desviación estándar (DS), mínimo (mín.) y máximo (máx.).

El contenido del total de tocoles y de sus fracciones individuales fue superior en las muestras de trigo de CL con relación a las de CC. Según Lampi et al. (2008), en trigos con concentraciones altas de lípidos, el contenido de tocoles también tiende a incrementar, por lo tanto, el mayor contenido de tocoles encontrado en los materiales de CL evaluados podría en parte explicarse porque el contenido de lípidos es mayor en las muestras de CL con relación a las de CC.

En las muestras de los cultivares de ambos ciclos, la concentración promedio de β -tocotrienol fue la predominante y en segundo lugar le siguió el α -tocoferol, coincidiendo estos resultados con lo publicado por Piironen et al. (2009) y Lampi et al. (2008). La proporción del contenido promedio de β -tocotrienol en las muestras de trigos de CL y de CC representan con relación al total de tocoles el 87 y 90 % respectivamente, mientras que los α -tocoferoles alcanzaron

una proporción de 9 % en trigos de CL y casi de 7 % en los de CC. Al comparar estos porcentajes con los datos publicados por Lampi et al. (2008) y Piironen et al. (2009), las muestras evaluadas en este trabajo presentan una mayor proporción de β -tocotrienol y menor porcentaje de α -tocoferoles con relación a las otras variedades de trigo. Según lo publicado por estos autores, la proporción promedio de β -tocotrienol con relación a los tocoles totales es de 50,8 % con un rango de 31,3 a 68,5 % y la de α -tocoferol es de 26,8 % con un rango de 12,2 a 40,8 %.

Existe además una amplia variación en la concentración de tocoles y sus fracciones individuales en los materiales estudiados, con una diferencia entre el valor máximo y el mínimo que oscila entre 7 y 15,3 veces. En ambos ciclos, la mayor variación la presenta el α -tocoferol, a diferencia de lo hallado en las muestras del trigo primavera evaluadas en el proyecto Heathgrain (Lampi et al., 2008), en las cuales la máxima variación estuvo entre la concentraciones máxima y mínima de los β -tocotrienoles. A pesar de que los tocotrienoles predominan en las capas externas del grano (Bramley et al., 2000; Chung y Ohm, 2000) y consecuentemente cualquier factor que afecte la proporción del salvado (incluido el tamaño del grano) podría afectar la concentración en el grano entero (Shwery et al 2010), en la muestras estudiadas estos compuestos resultaron tener menor variabilidad en su concentración con relación a los tocoferoles, cuyo contenido predomina en el germen (Bramley et al., 2000; Chung y Ohm, 2000).

La variabilidad entre los valores tiene relación con la diversidad genética y ambiental donde se desarrollan los cultivos (Lampi et al., 2008). Al comparar la diferencia entre los valores máximos y mínimos obtenidos de tocoles en las muestras estudiadas y los reportados por Lampi et al. (2008) para las variedades de trigo primavera, la amplitud del rango fue superior

en este trabajo, a pesar de que la diversidad genética de los trigos evaluados en el proyecto Healthgrain fue mayor. Los cultivares de trigo primavera crecieron en un mismo lugar, en cambio las muestras evaluadas en este trabajo se desarrollaron en distintos ambientes, por lo tanto las diferencias halladas, en parte podrían explicarse porque las condiciones en que crecen los cultivares tienen un importante efecto en la concentración de los tocoles (Lampi et al., 2008).

Contenido en fibra dietética total

El contenido promedio de fibra dietética en las muestras de trigo estudiadas fue algo superior en trigo de CC con relación a los de CL, sin embargo, los valores mínimos y máximos fueron similares en ambos ciclos (Tabla 3).

Tabla 3. Contenido porcentual en fibra dietética en granos de trigo de ciclo corto y de ciclo largo en base seca

Contenido promedio	DS	Rango	
		Min.	Máx.
13,40	1,35	10,00	15,70
12,30	1,36	9,90	15,40

Se informa el promedio, desviación estándar (DS), mínimo (mín.) y máximo (máx.).

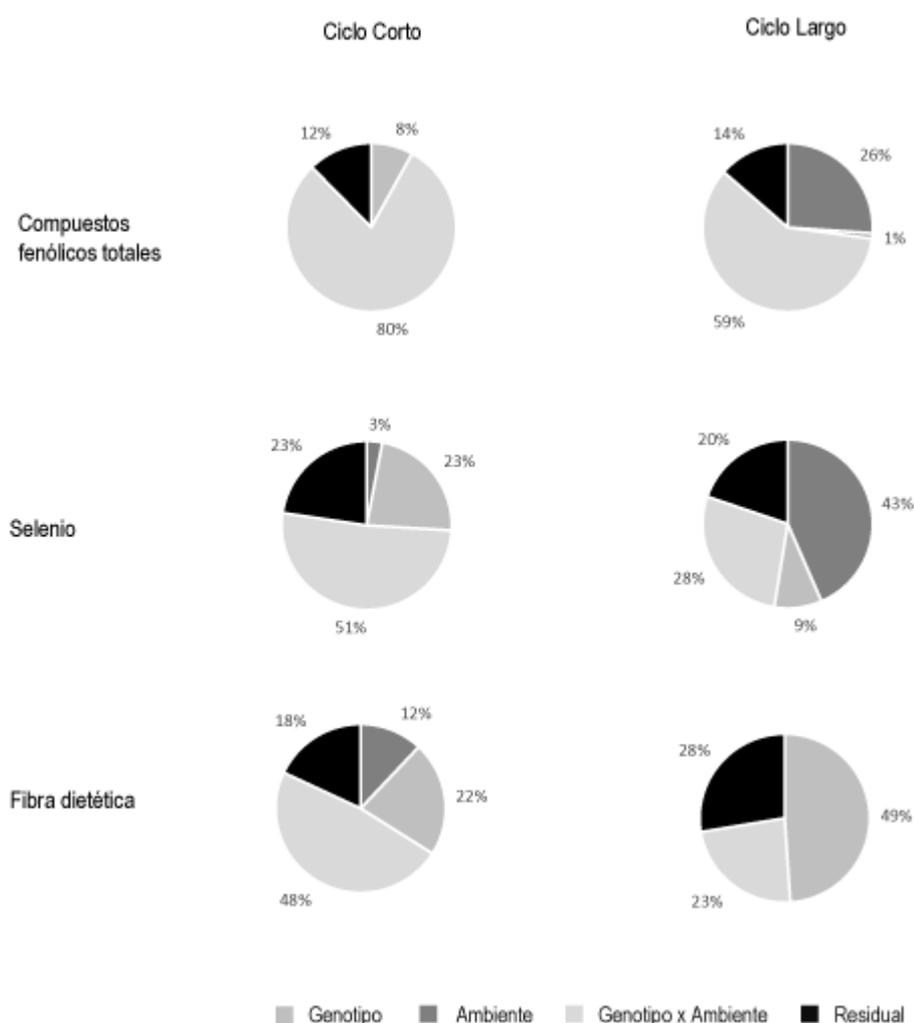
Los valores máximos de fibra dietética en trigos de CC y de CL son acordes con los resultados reportados por Andersson et al. (2013) y algo superiores a otros datos nacionales publicados por Russo et al. (2011). La relación entre el valor mínimo y máximo es mayor en los trigos estudiados (1,6 veces) respecto a la relación obtenida en los cultivos analizados en

el proyecto Healthgrain (1,3 veces) (Andersson et al., 2013) y en otros cultivos nacionales (1,2 veces) (Russo et al., 2011). El contenido de fibra dietética varía en los diferentes tejidos del grano y se concentra en las capas externas, por lo tanto, cualquier factor que afecte la proporción del salvado (incluido el tamaño) podría afectar la concentración en el grano entero (Shewry et al., 2010).

Contribución del genotipo, ambiente y su interacción en la variabilidad del contenido de los componentes bioactivos y fibra dietética

El genotipo (G) del trigo, el ambiente (A) en el que creció y posiblemente la interacción del genotipo por el ambiente (GxA) pueden influenciar fuertemente en la concentración de los compuestos bioactivos. La magnitud de los componentes de varianza del G, el A y la interacción GxA indica su relativa importancia en la variabilidad de los componentes estudiados (Mpfou, Sapirstein y Beta, 2006). En los materiales evaluados la contribución del A, el G y su interacción en la variabilidad de la concentración de los compuestos fue diferente dependiendo del parámetro estudiado (Gráfico 1).

Gráfico 1. Componentes de varianza del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de compuestos fenólicos, selenio y fibra dietética en genotipos de ciclo corto y de ciclo largo



En los compuestos fenólicos, la variabilidad en su concentración es atribuible fundamentalmente a la interacción GxA (Gráfico 1), lo que indica que los patrones de respuesta de los cultivares no son uniformes a través de los diversos ambientes donde se evaluaron y que seguramente estos cambiarán de acuerdo a los lugares en donde los agricultores los siembren. A su vez, el significado de la interacción GxA en la concentración de compuestos fenólicos dependerá del grado de interacción entre el G y el A, quedando de

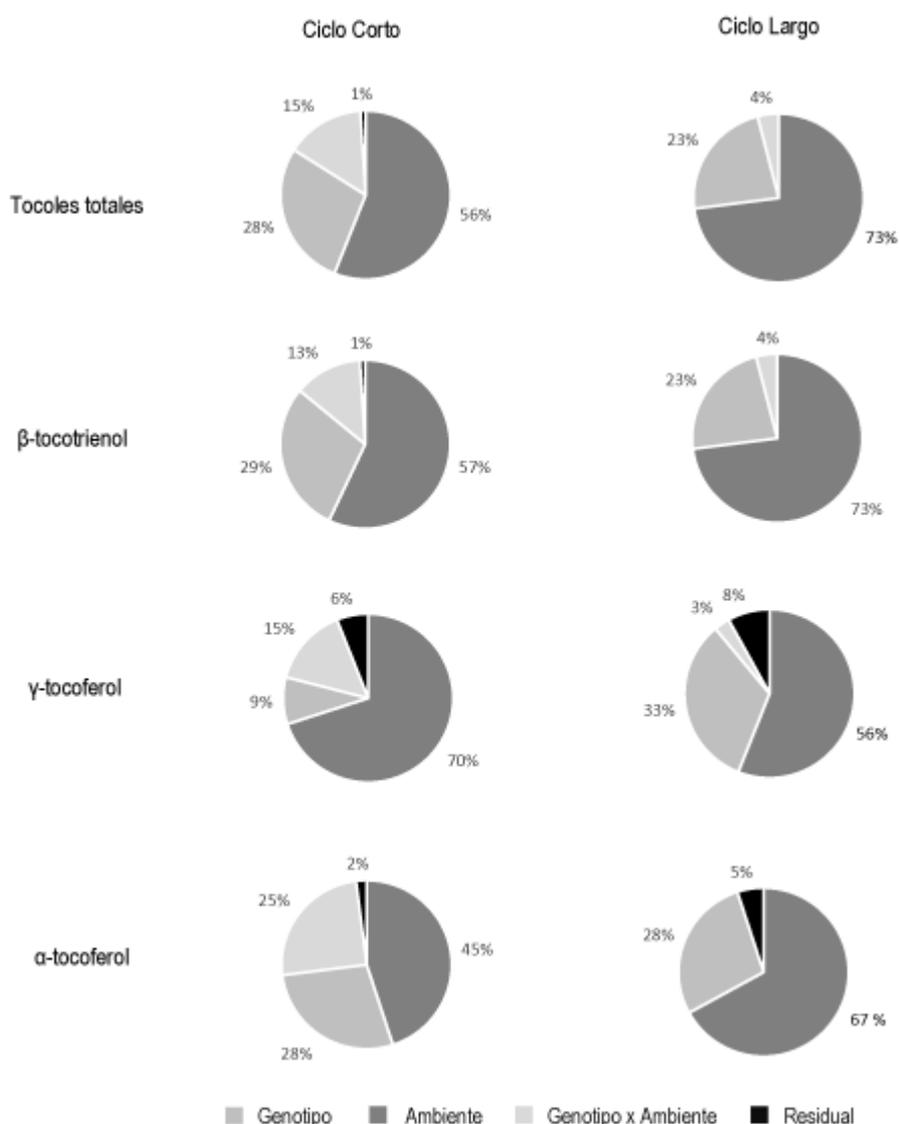
manifiesto en los cambios en el ordenamiento de los cultivares al cambiar de ambiente o en la magnitud de la variación entre genotipos en diferentes ambientes (Mpfou, Sapirstein y Beta, 2006). Por lo tanto, el aumento estable en el contenido de estos componentes no se podría lograr fácilmente en el desarrollo de cultivares.

En el caso del selenio, si bien su concentración en el grano está fuertemente determinada por la disponibilidad de este elemento en el suelo y las condiciones climáticas y geoquímicas (Garvin et al., 2011), en las muestras estudiadas la contribución del A en la variabilidad de su concentración no indica una tendencia clara, debido a que en los trigos de CC representa el 3 % mientras que en los de CL alcanza el 43 % (Gráfico 1).

En la fibra dietética, el comportamiento fue muy distinto en trigos de CL y en trigos de CC. En los de CL la variabilidad relativa al G fue de 49 %, mientras que en los de CC alcanzó únicamente el 22 % (Gráfico 1). La alta proporción de la variabilidad atribuible al G en trigos de CL es comparable con los resultados obtenidos por Shewry et al. (2010) al estudiar la influencia del G, el A y la interacción GxA en la variabilidad del contenido de arabinosilanos totales en trigo, salvado y harina, ya que evidenciaron que el porcentaje correspondiente al G fue de entre 39 % a 75 %. Se requiere, por lo tanto, de más estudios para investigar la contribución del A, el G y la interacción GxA en la variabilidad de la fibra dietética contenida en variedades nacionales, ya que en las muestras estudiadas los resultados obtenidos en trigos de CC y en los de CL no indican la misma tendencia.

La variabilidad en la concentración de los tocoles totales y las fracciones individuales en las muestras evaluadas se debió en su mayor proporción al A, tanto en los trigos de CC como en los de CL, oscilando entre 45 y 73 %, mientras que la contribución del G varió entre 9 y 33 % (Gráfico 2).

Gráfico 2. Componentes de varianza del genotipo, el ambiente y la interacción genotipo por ambiente en el contenido de tocoles y sus fracciones individuales en genotipos de ciclo corto y de ciclo largo



Estos resultados difieren de los valores reportados por Shewry et al. (2010), al estudiar la magnitud de los componentes de varianza del G, el A y la interacción GxA en 26 líneas de trigo cultivadas en seis ambientes (proyecto Healthgrain). Según estos autores, la proporción

atribuible al genotipo fue alta, alcanzando el 77 % del total de la varianza. Si bien los diferentes genotipos y las condiciones en que crecen los cultivares tienen un importante efecto en la concentración y el perfil de los tocoles (Lampi et al., 2008), en los materiales evaluados en este trabajo el principal componente que influyó en la variabilidad de la concentración de los tocoles y las fracciones individuales fue el ambiente.

Conclusiones

Los materiales de trigo evaluados presentaron amplia variabilidad en la concentración de los compuestos bioactivos. Los tocoferoles y los tocotrienoles presentaron las máximas diferencias entre los valores máximos y mínimos respecto a los otros compuestos estudiados. La variabilidad en el contenido de los componentes analizados estuvo determinada en distinta proporción por el genotipo, el ambiente y su interacción. La alta proporción atribuible a la interacción del genotipo por el ambiente en los compuestos fenólicos sugiere que el aumento estable en el contenido de estos componentes no se podría lograr fácilmente en el desarrollo de cultivares. La contribución del ambiente, el genotipo y su interacción en la variabilidad de la concentración de fibra y selenio no marcan una tendencia clara, mientras que en los tocoles y sus fracciones individuales predomina el ambiente; lo cual difiere con los datos reportados por otros autores. Los resultados obtenidos en este trabajo son los primeros generados a nivel nacional y permiten revalorizar el rol del trigo en la dieta humana y en particular valorizar los genotipos cultivados en Uruguay con relación a su contenido en fibra dietética, compuestos fenólicos, tocoles y selenio. Asimismo, ha permitido conocer la contribución del genotipo, el ambiente y su interacción en la concentración de diversos compuestos presentes en los granos de trigo. Si bien se requiere de más estudios para

investigar en que proporción contribuyen el genotipo, el ambiente y su interacción en la variabilidad de los compuestos contenidos en variedades nacionales de trigo, las diferencias encontradas entre los materiales evaluados parecen ser auspiciosas para el desarrollo de trigo con alta concentración de compuestos beneficiosos para la salud.

Agradecimientos

A los grupos de trabajo de los siguientes laboratorios: Calidad de granos de INIA, La Estanzuela; Post cosecha de INIA, Las Brujas; Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas del Instituto Pasteur; Nutrición Animal y Evaluación de Alimentos y Nutrición y Calidad de Alimentos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República, por el apoyo en la ejecución del trabajo y los aportes académicos realizados. A INIA, por su apoyo financiero para la realización de este trabajo, a través del Proyecto INIA L2 CS13 «Desarrollo de herramientas para lograr trigos de calidad»

Bibliografía

- Anderson, J.W.** (2003). Whole grains protect against atherosclerotic cardiovascular disease. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 135-142.
- Andersson, A.A., Andersson, R., Piironen, V., Lampi, A.M, Nystrom, L. y Boros, D.** (2013). Contents of dietary fibre components and their relation to associated bioactive components in whole grain wheat samples from the HEALTHGRAIN diversity screen. *Food Chemistry*, 136, 1243-1248.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists).** (1990). *Official Methods of Analysis*, 15.^a ed., vol. I. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, Inc. 672 p.

- Beta, T., Shin, N., Dexter, J.E. y Sapirstein, H.D.** (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal Chemistry*, 82, 390-393.
- Bonafine, O., Cañizares, A. y Laverde, D.** (2006). Importancia de los fitoquímicos en la alimentación. En INIA Divulga 7. Maturín, Venezuela: INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas). 9-12. Consultado 30 de julio de 2016. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/inia_divulga/divulga_07/rid7_bonafine_9-12.
- Bramley, P.M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F.J., Manios, Y., Roxborough, H.E., Schuch, W., Sheehy, P.J. y Wagner, K.H.** (2000). Vitamine E. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 80, 913-938.
- Cabrera, M.C., Ramos, A., Saadoun, A. y Brito, G.W.** (2010). Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Braford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*, 84, 518-528.
- Chung, O.K. y Ohm, J.** (2000). Cereals lipids. En: Kulp K y Ponte JG (Eds.), *Handbook of Cereal Science and Technology* (pp. 417-477). New York: Marcel Dekker.
- Combs, G.F.** (2001). Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*, 85, 517-547.
- FAO (Food and Agriculture Organization).** (2013). *Food balance sheets*. Recuperado de <http://www.fao.org/faostat/en/#data/FBS>
- FAO/WHO/UNU (Food and Agriculture Organization / World Health Organization / United Nations University).** (2001). Human vitamin and mineral requirements. En: *Human Energy Requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation*. Roma: FAO. 96 p. (Food and Nutrition Technical Report Series n.º 1).
- Garnero, S., Caporali, V., Carrillo, E. y Panero, M.** (2009). *Compuestos fenólicos en la*

fracción de salvado de variedades de trigos argentinos y su actividad antioxidante. Córdoba, Argentina: Universidad Tecnológica Nacional. Recuperado de http://www.edutecne.utn.edu.ar/cytal_frm/CyTAL_2012/TF/TF007.pdf

Garvin, D.F., Hareland, G., Gregoire, B.R. y Finley, J. (2011). Impact of wheat grain selenium content variation on milling and bread baking. *Cereal Chemistry*, 88, 195-200.

Heiniö, R.L., Myllymaki, O., Pihlava, J.M., Adlercreutz, H., Heinonen, S.M., Liukkonen, K.H. y Poutanen, K. (2008). Quantities of phenolic compounds and their impacts on the perceived flavor attributes of rye grain. *Journal of Cereal Science*, 47, 566-575.

INASE (Instituto Nacional de Semillas). (2009). *Evaluación Nacional de Cultivares. Protocolo de Evaluación del trigo (Triticum aestivum L)* [en línea]. Consultado 6 de marzo de 2016. Disponible en: www.inase.org.uy/files/doc.ashx?id=146ABB03BE80A76E

INE (Instituto Nacional de Estadística). (2008). *Encuestas Nacional de Gastos e Ingresos de los hogares 2005-2006. Los alimentos y las bebidas en los hogares en Uruguay.* Recuperado de <http://www.ine.gub.uy/documents/10181/36026/Encuesta+Nacional+de+Gastos+e+Ingresos+de+los+Hogares+2005+-+2006/83d8c75c-a0f7-49d3-b5c1-1cb9548ddf1a>.

Lampi, A.M., Nurmi, T., Ollilainen, V. y Piironen, V. (2008). Tocopherols and tocotrienols in wheat genotypes in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of Agriculture. Food Chemistry*, 56, 9716-9721.

Liu, R.H. (2007). Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Science*, 46, 207-219.

MGAP/DIEA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca / Dirección de Estadística

Agropecuaria). (2016). *Anuario Estadístico Agropecuario*. Recuperado de <http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-diea/anuario2016..>

Mosby, T., Cosgrove, M., Sarkardei, S., Platt, K. y Kaina, B. (2012). Nutrition in adult and Childhood cáncer: Role of carcinogens and anti_carcinogens. *Anticancer Reserach*, 32(10), 4171-4192.

Mpfou, A., Sapirstein, H. y Beta, T. (2006). Genotype and environmental variation in phenolics content, phenolic acid composition, and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 54, 1265-1270.

MSP (Ministerio de Salud Pública), Dirección General de la Salud, Área Programática Nutrición. (2016). *Diagnóstico de la situación alimentaria nutricional. Revisión para la elaboración de la Guía Alimentaria para la población uruguaya* [en línea]. Consultado 5 de marzo de 2017. Disponible en: http://www.msp.gub.uy/sites/default/files/archivos_adjuntos/MSP_Situacion%20alimentario%20y%20nutricional.pdf

Naczka, M. y Shahidib, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.

OMS (Organización Mundial de la Salud). (2003). *Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas no transmisibles. Informe de una consulta mixta FAO/OMS*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. 151 p. (Serie de Informes Técnicos 916).

Piironen, V., Lampi, A.M., Ekholm, P., Salmenkallio, M. y Liukkonen, K.H. (2009). Micronutrients and phytochemicals in wheat grain. En: Khan K y Shewry PR (Eds.), *Wheat: chemistry and technology* (pp. 179-222) 4.^a ed. Saint Paul: American

Association of Cereal Chemists.

- Ruíz, F. y Nelina, A.** (2005). Efectos beneficiosos de una dieta rica en granos enteros. *Revista Chilena de Nutrición*, 32 (3), 191-199. Recuperado de [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182005000300003](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182005000300003&lng=es) &lng=es.doi: 10.4067/S0717-75182005000300003
- Russo, M., Elichalt, M., Vázquez, D., Suburú, G., Gioscia, D., Gilardi, V., Almandos, V., Obregón, P., Tihista, H. y Godiño, M.** (2011). Nutritional composition of wheat products in Uruguay. En: II Conferencia Latinoamericana de Cereales. "Key for cereal chain innovation". Santiago, Chile: Granotec.70 p.
- Shewry, P.R., Piironen, V., Lampi, A.M., Edelman, M., Kariluoto, S., Nurmi, T., Orozco, R., Ravle, C., Charmet, G., Andersson, A.M., Aman, P., Boros, D., Gerbuer, K., Dornmeier, E., Courtin, C., Delcour, J., Rakszegi, M., Bedo, Z. y Ward, J.** (2010). The HEALTHGRAIN Wheat Diversity Screen: Effects of the Genotype and Environment on Phytochemical and Dietary Fiber Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 9291-9298.
- Shewry, P.R., Charmet, G., Branlard, G., Lafandra, D., Gergely, S., Sago, A., Sauliner, L., Bedó, Z., Clare, E.N. y Ward, J.** (2012). Developing new types of wheat with enhanced health benefits. *Trends in Food Science and Technology*, 25(2), 70-77.
- Shewry, P.R. y Hey, S.** (2015). The contribution of wheat to human diet and health security. *Food and Energy Security*, 4(3), 178-202. Recuperado de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/fes3.64/pdf>
- Slavin, J.L.** (2003). Why Whole Grains are protective: Biological mechanisms. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 129-134.

Wende, L., Fang, S., Shancheng, S., Corke, H. y Beta, T. (2005). Free radical scavenging properties and phenolic content of Chinese black-grained wheat. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 8533-8536.

Ziegler, J.U., Schweiggert, R.M. y Carle, R. (2015). A method for the simultaneous extraction and quantitation of lipophilic antioxidants in *Triticum* sp by HPLC-DAD/FLD-MS n. *Journal of Food Composition and Analysis*, 39, 94-102.