



Universidad de la República

Facultad de Química

Tesis para la obtención del título de Magister en Química

Estudio de arabinosilanos presentes en harinas de trigos uruguayos

Lic. Lucía Garófalo

Directores de tesis:

Dra. Silvia Soule y Dr. Daniel Vázquez

Laboratorio de Carbohidratos y Glicoconjugados

Departamento de Química Orgánica

Montevideo, Uruguay

2017

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Silvia por recibirme en mis inicios como investigadora en el Laboratorio de Productos Naturales (UdelaR). Especialmente por orientar cada una de las iniciativas que nos propusimos, y continuamos proponiendo, en el área y confió en mí para recorrer caminos que nos permitirían iniciar nuevas líneas de estudio aún escasamente exploradas en nuestra región.

A Daniel por proponer e intercambiar para encontrar caminos buscando explorar nuevas temáticas hasta el momento no investigadas desde el Laboratorio, por su apoyo y lugar en el Laboratorio de Calidad Industrial de Granos (INIA) y orientación en este y otros trabajos en los que hemos trabajado y continuaremos haciendo.

A mis compañeros de Laboratorio, a Fernando, Clara, a Inés y sus aprendizajes sobre cromatografía HPSEC. A los que estuvieron antes a Norma y Mono.

A la empresa Fradec S.A. representante en Uruguay de Novozymes y a NutriGold Uruguay S.A. por el suministro de las enzimas.

A ANII y PEDECIBA-Química por el apoyo financiero para la realización de esta tesis.

Y especialmente a mi familia y amigos.

FINANCIACIÓN

- ANII en el marco del proyecto en la línea InnovAgro PR_FSA_2009_1_1455
“Complejos supramoleculares de arabinoxilanos / gliadinas / gluteninas
como criterio de calidad en la selección de variedades de trigo panadero”,
responsable Dra. QF Silvia Soulé
- ANII en el marco de la beca de Maestría 2012 código
POS_NAC_2012_1_8676
- Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas (PEDECIBA)

RESUMEN

A nivel internacional existen importantes avances en el estudio de granos y harinas de diferentes cereales. En particular el estudio en trigo ha estado vinculado a las modificaciones en las propiedades reológicas de las masas formadas a partir de las harinas de este en función del contenido proteico. Existen también estudios que vinculan a componentes minoritarios, los arabinoxilanos, en relación a las propiedades anteriormente indicadas, donde las evidencias según los diferentes autores, resulta contradictoria. Estas contradicciones posiblemente se deben a que las investigaciones generalmente estudian el efecto del agregado de compuestos aislados en lugar de estudiar el efecto en las variaciones de los mismos presentes en las harinas. En nuestro país, este trabajo es la primera aproximación a evaluar la influencia de la composición química de los carbohidratos no amiláceos sobre los parámetros tradicionalmente asociados a la calidad panadera de las harinas de variedades locales. Se seleccionaron harinas representativas de la variabilidad local con respecto a los principales parámetros predictores de calidad, con contenidos de proteínas de acuerdo a los requerimientos para su comercialización, de las cuales se encontró que, en su mayoría, desarrollarán el gluten de manera adecuada durante el amasado. Se encontró que el volumen del pan, la formación del gluten y la proporción de proteínas que lo forman son afectados negativamente por los arabinoxilanos, posiblemente por la competencia en la absorción de agua durante el amasado la cual es afectada por las propiedades estructurales de éstos últimos, tanto por sus ramificaciones como por la presencia de ácidos fenólicos que influyen sobre su capacidad para formar agregados durante el amasado. Se determinaron asimismo variaciones estructurales en los arabinoxilanos por el proceso de amasado y panificación con el agregado de enzimas específicas confirmando la influencia sobre las interacciones que ocurren entre estos componentes minoritarios y el gluten. Se encontró que las muestras demasiado elásticas que resisten a ser extendidas presentan mayores contenidos de arabinoxilanos insolubles. Del análisis de componentes principales se encontró que la cantidad y estructura de arabinoxilanos resultan de gran importancia en el conjunto de las variables y presentan una fuerte relación inversa con respecto a la extensibilidad de las masas.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
1 - ANTECEDENTES.....	5
1.1 - Grano de trigo.....	6
1.2 - Harina de trigo.....	8
1.2.1 - Almidón.....	9
1.2.2 - Proteínas.....	11
1.2.3 - Polisacáridos no amiláceos.....	12
1.2.4 - Ácidos fenólicos.....	15
1.3 - Elaboración del pan.....	16
1.4 - Calidad panadera.....	17
1.4.1 - Efectos de los componentes minoritarios sobre la calidad.....	21
1.4.2 - Mejora de la calidad panadera.....	24
1.5 - Investigaciones previas del equipo.....	26
2 - OBJETIVOS.....	28
2.1 - General.....	28
2.2 - Específicos.....	28
3 - MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1 Materiales.....	29
3.2 - Parámetros predictores de calidad.....	31
3.2.1 - Proteínas.....	31
3.2.2 - Parámetros asociados al gluten.....	31
3.2.3 - Volumen de pan.....	31
3.3 - Caracterización química de los componentes de la harina.....	31
3.3.1 - Procedimientos generales.....	31
3.3.2 - Pentosas libres.....	33
3.3.3 - Arabinoxilanos totales, solubles e insolubles.....	33
3.3.4 - Distribución de peso molecular de AXi.....	34
3.3.5 - Ácidos fenólicos.....	35
3.4 - Propiedades reológicas y estructurales de la masa.....	36
3.4.1 - Alveograma.....	36
3.4.2 - Mixograma.....	37
3.4.3 - Farinograma.....	37
3.5 - Efectos de la panificación y la acción de xilanas sobre AX.....	37
3.6 - Análisis estadístico.....	38

4 - RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1 - Parámetros asociados a proteínas y su funcionalidad	39
4.1.1 - Proteínas	40
4.1.2 - Gluten	41
4.1.3 - Volumen de sedimentación.....	45
4.1.4 - Volumen de pan.....	46
4.1.5 - Consideraciones en relación a proteínas y su funcionalidad	48
4.2 - Polisacáridos no amiláceos.....	49
4.2.1 - Pentosas libres.....	50
4.2.2 - Arabinosilanos	50
4.2.3 - Distribución de peso molecular de AXi	57
4.2.4 - Ácidos fenólicos	56
4.3 - Influencia de los AX sobre los parámetros asociados a proteínas y su funcionalidad.....	60
4.4 - Propiedades reológicas y estructurales de la masa.....	63
4.4.1 - Alveograma	64
4.4.2 - Farinograma.....	66
4.4.3 - Mixograma.....	68
4.5 - Efectos de la panificación y la acción de xilanasas sobre AX.....	70
4.6 - Análisis estadístico de los resultados obtenidos.....	76
4.6.1 - Correlaciones múltiples.....	77
4.6.2 - Análisis de componentes principales.....	79
5 - CONCLUSIONES.....	83
6 - BIBLIOGRAFÍA.....	85
APÉNDICE I - Tablas de resultados.....	92
ANEXO I - Publicaciones.....	97

ABREVIACIONES

A/X	Relación entre Ara y Xil
Áa/Áb	Relación entre cantidad de grupos de AXi
ABS	Absorción de agua
ACP	Análisis de componentes principales
Af	Ácido Ferúlico
AF	Ácido fenólico
ANOVA	Análisis de la varianza
Ara	Arabinosa
AX	Arabinosilano
AXi	Arabinosilano insoluble
AXs	Arabinosilano soluble
EST	Estabilidad
FrR	Relación entre alto y ancho de pan francés
GC	Cromatografía gaseosa
GH	Gluten húmedo
GI	Índice de gluten
Glc	Glucosa
HMAX	Altura máxima
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
HP-SEC	Cromatografía de alta presión de exclusión por tamaño
L	Extensibilidad
P	Tenacidad
P/L	Relación entre P y L
PM	Peso molecular
PMa	Peso molecular alto
PMb	Peso molecular bajo
Pt	Proteínas
SDS	Volumen de sedimentación
TLC	Cromatografía en capa fina
TMEZ	Tiempo de mezclado
Tr	Tiempo de retención
VPF	Volumen de pan francés
VPM	Volumen de pan de molde
W	Fuerza panadera
Xil	Xilosa

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición química del grano de trigo y sus partes en base seca.	8
Tabla 2: Variedad de trigo y localidad en la que fueron cultivadas para la obtención de las muestras de harina.....	30
Tabla 3: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a proteínas y su funcionalidad.	40
Tabla 4: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a cantidad y densidad de ramificaciones de AX.....	49
Tabla 5: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros estructurales de AXi aislados.	49
Tabla 6: Promedio, rango y desviación estándar de los compuestos fenólicos conjugados a AX.....	50
Tabla 7: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros obtenidos del Alveograma.	63
Tabla 8: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros obtenidos del Farinograma.	63
Tabla 9: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros obtenidos del Mixograma.....	63
Tabla 10: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a AXs determinados en relación a los efectos de panificación.	71
Tabla 11: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a AXs determinados en relación a la acción de xilanasa.	71
Tabla 12: p-valores obtenidos para las diferencias en AXs para las distintas fracciones estudiadas.	72
Tabla 13: p-valores obtenidos para las diferencias en la relación A/X para las distintas fracciones estudiadas.	75
Tabla 14: p-valores obtenidos de la correlación múltiple.	77
Tabla 15: Resultados determinados para los parámetros asociados al contenido de proteínas y su funcionalidad.	92
Tabla 16: Resultados determinados relacionados al contenido y densidad de ramificaciones en AX.	93
Tabla 17: Resultados determinados en relación a la fracción aislada de Axi.....	94
Tabla 18: Resultados determinados en relación a los derivados fenólicos y AF.....	94
Tabla 19: Resultados obtenidos de la determinación de parámetros reológicos.....	95
Tabla 20: resultados obtenidos de la determinación de AXs y su relación A/X durante el amasado y panificación.	96
Tabla 21: Resultados obtenidos de la determinación de AXs y su relación A/X durante el amasado y panificación con el agregado de xilanasa comercial.....	96

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Producción mundial de trigo.....	5
Figura 2: Esquema de la estructura del grano de trigo con sus diferentes fracciones.	6
Figura 3: Sección transversal de las cubiertas exteriores del grano de trigo adaptado de Hemdane et al. (2016).	7
Figura 4: esquema de la estructura de A) amilosa y B) amilopectina.	10
Figura 5: Esquema de la estructura de la red de gluten evidenciando A) retención de gas y B) extensión de la red.	12
Figura 6: Esquema de la estructura química de AX de endospermo.	13
Figura 7: Naturaleza de las interacciones entre AX entre sí o con Pt mediadas por Af.	17
Figura 8: Panes elaborados con trigo de diferente calidad (Verges y Vázquez 2004).	18
Figura 9: Variaciones estructurales propuestas de AX a) más y B) menos sustituídos. Adaptado de Revanappa et al. (2015).	24
Figura 10: Mapa de Uruguay indicando las localidades de las que se obtuvieron las muestras.....	29
Figura 11: Gráfica del porcentaje de Pt en las harinas estudiadas.	41
Figura 12: Gráfica del porcentaje de GH en las harinas estudiadas.	42
Figura 13: Gráfica de porcentaje de Pt en función de GH.....	42
Figura 14: Gráfica del porcentaje de GI en las harinas estudiadas.....	43
Figura 15: Gráfico de GI en función de GH.	44
Figura 16: Gráfica de SDS en las harinas estudiadas.....	45
Figura 17: Gráfica de Pt (izquierda) y GI (derecha) en función de SDS.....	46
Figura 18: Gráficas de VPM (izquierda) y VPF (derecha) en función de SDS.	47
Figura 19: Gráficas de FrR en función de SDS (izquierda) y GH (derecha).....	48
Figura 20: TLC de AX. Carriles: 1 y 5 estándares de Xil y xilano, 2 y 6 estándar de Glc, 3 hidrolizado de harina, 4 producto de digestión del hidrolizado de harina.....	51
Figura 21: Cromatograma de GC para la determinación de AX en M1.....	51
Figura 22: TLC de AXs. Carriles: 1 y 6 estándar de Xil, 2 y 7 estándar de Glc, 3 y 8 estándar de xilano, 4 fracción soluble de la harina, 5 hidrolizado de la fracción soluble de la harina.	52
Figura 23: Cromatograma de GC para la determinación de AXs en M1.....	53
Figura 24: Gráficas del porcentaje de AX en harina y la relación A/X para todas las muestras.....	53
Figura 25: Porcentaje de AXs y AXi para las muestras estudiadas.....	54

Figura 26: Gráfica de la relación A/X para las distintas fracciones de AX.....	55
Figura 27: Gráfica de porcentaje de AX _i en función de AX (izquierda) y relación A/X en AX _i en función de en AX (derecha).....	56
Figura 28: Gráficas de A/X en AX (izquierda) y en AX _i (derecha) en función del porcentaje de cada una de las fracciones.	57
Figura 29: Perfil cromatográfico de HP-SEC obtenido para las fracciones de AX _i aisladas.	52
Figura 30: Perfil cromatográfico obtenido mediante HP-SEC obtenido de las fracciones de AX _i aisladas para las muestras M4, M7, M11, M13 y M24.	53
Figura 31: Curva de calibración de HPSEC.....	54
Figura 32: Gráfica de PM _b en función de PM _a	55
Figura 33: Gráfica de Á _b en función de Á _a	56
Figura 34: Cromatograma de HPLC de la fracción aislada de AF no extraíbles en metanol para la M21.....	57
Figura 35: Gráfica del contenido de AF y af en las muestras M2, M4, M5, M12 y M21.....	58
Figura 36: Gráfica de la concentración de AF en función de Af.....	59
Figura 37: Concentración de Af en función de AXs (izquierda). Concentración de AF en función de PM _a (derecha).	59
Figura 38: Gráfica de SDS en función de AX.	60
Figura 39: Gráfica de GH en función de Á _a /Á _b	61
Figura 40: Gráficas de VPM (izquierda) y VPF (derecha) en función de AX.	61
Figura 41: Gráficas de F _{rr} en función de AX (izquierda) y de Á _a /Á _b (derecha).	62
Figura 42: Gráfico de W en función del contenido de AX.	64
Figura 43: Gráficas de L (izquierda) y P/L (derecha) en función de ax.....	65
Figura 44: Gráficas de EST (izquierda) y ABS (derecha) en función de AX.....	67
Figura 45: Gráfica de ABS en función de la relación a/x (izquierda) y la relación entre la cantidad de ambos grupos de AX _i (derecha).....	68
Figura 46: Gráfico de HMAX en función del porcentaje de AX.	69
Figura 47: Gráfico de TMEZ en función de W.	69
Figura 48: Panes obtenidos a partir de las muestras seleccionadas.....	70
Figura 49: Gráfica del contenido de AXs en la harina, masa y pan.	73
Figura 50: Gráfica del contenido de AXs en la harina, masa y pan con el agregado de xilanasa.	74
Figura 51: Gráficas de A/X en la harina, masa y pan sin (izquierda) y con (derecha) el agregado de xilanasa.....	75
Figura 52: Gráficas de AXs (izquierda) y A/X (derecha) en AXs en las masas con y sin xilanasa.	76

Figura 53: Gráfico de correlaciones parciales y del modelo.	78
Figura 54: Resultado del análisis de componentes principales.....	81

INTRODUCCIÓN

La harina de trigo, y sus productos derivados, juega un importante rol en la alimentación mundial. Actualmente su producción en Uruguay ha alcanzado niveles récord, constituyéndose en una de las mayores cadenas agroindustriales. La industria molinera nacional es muy heterogénea en lo que respecta al desarrollo de la tecnología para la producción. La especie de trigo destinada a panadería *Triticum aestivum* presenta diversas variedades las cuales, cultivadas en condiciones climáticas distintas, condicionan la obtención de harinas y panes con diferencias en cuanto a sus constituyentes y propiedades.

La harina de trigo es la única que tiene la habilidad de formar una masa cohesiva y tenaz, capaz de retener gases y dar productos aireados y livianos después de su cocción (J.A. Delcour y Hoseney 2010). Durante el proceso de elaboración del pan ocurren complejas transformaciones fisicoquímicas, las cuales afectan y son afectadas por los constituyentes de la harina (Goesaert et al. 2005).

En la actualidad, además de los parámetros reológicos de las masas, el contenido de proteínas es el principal indicador de calidad. Estas contribuyen a la plasticidad, extensibilidad, viscosidad y fuerza cohesiva de la masa (Veraverbeke y Delcour 2002). Sin embargo han sido sugeridos otros constituyentes minoritarios, aunque poco estudiados, con influencia sobre las propiedades reológicas de las masas y la calidad del producto final.

Los arabinoxilanos constituyen cerca del 3% de carbohidratos en la harina, los cuales son los más importantes desde el punto de vista tecnológico (Wang et al. 2004). Tienen la capacidad de absorber agua hasta diez veces su propio peso (Courtin y Delcour 2002) y se ha supuesto que podrían actuar como un agente lubricante en la masa (Rouillé et al. 2005). Desde el punto de vista químico consisten de cadenas lineales de Xilosa, las cuales pueden estar sustituidas en su posición 2 y/o 3 con Arabinosa. Existe un elevado grado de heterogeneidad causada por la variación en el grado de polimerización debido a las ramificaciones y su proporción a lo largo de la cadena. Estas diferencias generan variaciones

sustanciales en su estructura y peso molecular (Izydorczyk et al. 1991) entre las distintas variedades.

La distribución espacial, el grado de sustitución y la interacción o no con otras estructuras presentes permite diferenciar entre arabinosilanos extraíbles y no extraíbles en agua (Izydorczyk y Biliaderis 1995). Las proporciones entre ambos suelen verse modificadas luego del proceso de amasado, posiblemente por interacciones o entrecruzamientos entre ellos o incluso con otros componentes (Hartmann et al. 2005).

El efecto de los arabinosilanos en el proceso de producción del pan, se ha estudiado desde la década de los 60 existiendo evidencia sobre la contribución de los mismos en la modificación de la calidad de la masa, sin embargo la información experimental es escasa y contradictoria. Algunos autores indican que tienen efecto negativo sobre calidad de la masa formada durante la elaboración del pan (Verjans et al. 2010; Zhang et al. 2014), mientras que otros sostienen que tienen efectos positivos (Courtin et al. 2002; Noort et al. 2010; Hemdane et al. 2016).

Actualmente la selección de variedades destinadas a la obtención de harina se realiza en función de las propiedades de la masa y su contenido de proteínas sin tener en consideración las interacciones que surgen durante el amasado entre las proteínas formadoras de gluten y estos carbohidratos. De esta manera se subestiman en la determinación de la calidad panadera los procesos que ocurren durante el amasado.

Partiendo de la hipótesis de que su cantidad y composición afectan la calidad panadera de las harinas de trigo, el objetivo de esta Tesis es estudiar la estructura de los componentes minoritarios, su relación con el contenido proteico y los parámetros reológicos, y determinar el efecto del amasado sobre los componentes durante la elaboración del pan.

La variada tecnología en la producción harinera nos guía hacia el desarrollo de nuevas alternativas que permitan efectuar una clasificación más rigurosa y selectiva en relación a las variedades de trigo a cultivar. De esta manera se busca

contribuir a una selección más racional y sustentable de los recursos agropecuarios

Se seleccionaron para el estudio harinas obtenidas a partir de diferentes variedades de trigo cultivadas en tres ambientes de Uruguay completando en total más de 30 muestras de harina. Las mencionadas muestras fueron analizadas en distintos aspectos: Determinación de arabinosilanos totales, solubles e insolubles, la relación entre los monosacáridos constituyentes y estudio de sus propiedades reológicas y cantidad de proteínas. Determinación de la distribución de peso molecular de la fracción de arabinosilanos insolubles aislados. También se obtuvo, para algunas variedades seleccionadas, la masa y el pan con y sin el agregado de enzima xilanas y se estudió la variación en las propiedades estructurales de los arabinosilanos solubles debido a estos procesos. Por último se estimaron estadísticamente las posibles correlaciones entre los parámetros analizados.

Se encontró a partir de los resultados obtenidos que el contenido de proteínas se encuentra fuertemente vinculado al volumen del pan y la extensibilidad de la masa, en conjunto estos parámetros muestran una relación inversa con el grupo de parámetros que describen el contenido de arabinosilanos, la cantidad de insolubles y la relación entre los monosacáridos constituyentes. Por otro lado es posible predecir la relación que existe, para las muestras estudiadas entre la estructura de la fracción insoluble con la capacidad de retención de agua, y la estabilidad, de la harina y la funcionalidad de las proteínas formadoras de gluten.

En el primer apartado de esta Tesis se describen los antecedentes de diversos autores que han estudiado el tema anteriormente así como los primeros avances que se han obtenido en nuestro país en esta nueva línea de investigación iniciada recientemente en nuestro laboratorio que permiten fundamentar la relevancia de este trabajo en la actualidad. Posteriormente se detalla la estrategia experimental desarrollada que nos permitió acercarnos a responder las interrogantes propuestas como objetivos de este trabajo. Los resultados se presentan y discuten de la siguiente manera: Inicialmente se presentan los resultados en relación a los parámetros tradicionales que permiten predecir la

calidad panadera del trigo y de su harina. A continuación se detallan los resultados encontrados del estudio químico de los arabinoxilanos y sus conjugados. Luego se presenta el análisis y la vinculación de los aspectos químicos con los tradicionales anteriormente descritos. A continuación se incorporan al análisis los parámetros determinados en relación al comportamiento de la harina durante el amasado. Posteriormente se presentan los resultados que describen las transformaciones de los arabinoxilanos por el proceso de amasado y panificación y las variaciones que ocurren por la acción de enzimas xilanasas. Por último en relación con los resultados encontrados se presenta el estudio estadístico de comparaciones múltiples y de componentes principales de los resultados encontrados. En el último apartado de la tesis se presentan los aspectos más relevantes y consideraciones finales encontrados a partir de este estudio.

1 - ANTECEDENTES

El trigo es el principal cereal cultivado en todo el mundo y desde el punto de vista del consumo humano, el más importante (Wrigley 2009). Sus productos derivados han formado parte de la dieta humana desde la antigüedad y juegan un rol fundamental en la alimentación mundial tanto por sus propiedades nutricionales como por el aporte calórico, de carbohidratos y de proteínas (Pt) (Valencia Ojeda 2013).

La gran producción de trigo a nivel mundial, proponen Delcour y Hosney (2010), se debe probablemente a dos razones. En primer lugar, la planta de trigo es muy resistente, de gran versatilidad y adaptabilidad, y puede crecer bajo una amplia variedad de condiciones ambientales y del suelo. En segundo lugar describen que a una parte significativa de la población mundial le gustan los alimentos a base de trigo. Se muestra en la Figura 1 la evolución desde 1955 de la producción mundial de trigo; en la actualidad supera los 700 millones de toneladas por año (OPYPA 2014; USDA 2016).

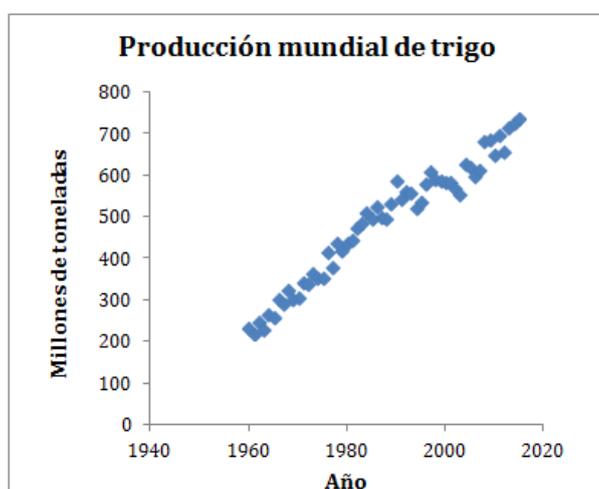


FIGURA 1: Producción mundial de trigo.

La especie de trigo cultivada en nuestro país es *Triticum aestivum* o trigo pan. En Uruguay el trigo es el segundo cultivo industrial con más hectáreas sembradas desde hace al menos diez años; el primero lo representa la soja, que actualmente duplica el área sembrada de trigo (MGAP 2014). La cantidad de trigo producido ha permitido que no solo sea una de las mayores cadenas

agroindustriales del país, sino que además el grano y la harina sean productos de volumen de exportación significativo.

La producción de trigo en Uruguay tradicionalmente ha estado mayoritariamente destinada al mercado interno para la elaboración de harinas de consumo doméstico y como insumo para la panadería tradicional. La industria molinera nacional es muy heterogénea en tamaño y desarrollo en la tecnología para la producción. El 70% de la harina producida es destinada a panadería, teniendo menor incidencia en la fabricación de galletas (9%) y pastas (8%) (Souto 1999).

1.1 - Grano de trigo

Se muestra en la Figura 2 un esquema del grano de trigo. De acuerdo a su estructura y su aplicación industrial el grano puede ser dividido en 3 partes o fracciones: el endospermo (81-84% del grano), el germen (2-3%), y la cubierta exterior denominada comúnmente salvado (13-17%) (Valencia Ojeda 2013; Pavlovich et al. 2016). A su vez, esta cubierta exterior está formada por capas distintas, como se puede observar en la Figura 3.

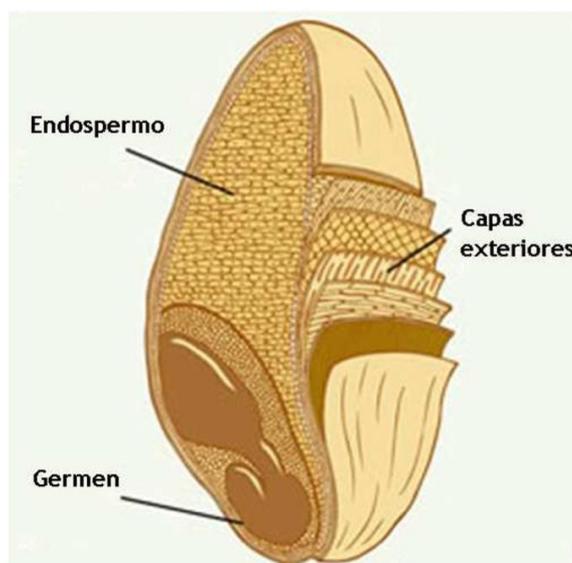


FIGURA 2: Esquema de la estructura del grano de trigo con sus diferentes fracciones.

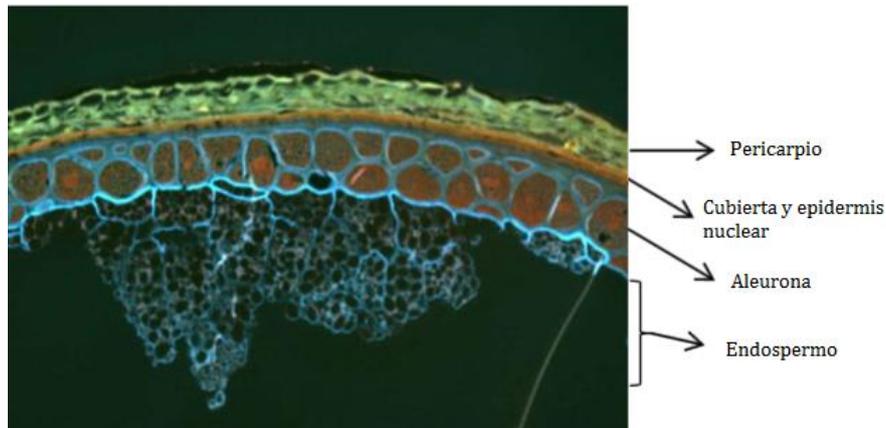


FIGURA 3: Sección transversal de las cubiertas exteriores del grano de trigo adaptado de Hemdane et al. (2016).

El grano de trigo maduro está compuesto principalmente por almidón, Pt y polisacáridos no amiláceos, que en conjunto representan aproximadamente el 90% del peso seco del grano, la fracción restante del grano está conformada por lípidos, terpenoides, fenoles, minerales y vitaminas (Shewry et al. 2013).

Los distintos componentes que conforman el grano se encuentran distribuidos diferencialmente en sus distintas partes. En la Tabla 1, adaptada de Belderok (2000), se presenta la composición del grano entero de trigo y la proporción de sus componentes en las distintas fracciones del grano. En particular el endospermo amiláceo, contiene el material de reserva y representa en peso más de la mitad del grano (Barron et al. 2007), contiene aproximadamente 80% de almidón y 10% de Pt con bajos contenidos de polisacáridos no amiláceos y minerales (Shewry et al. 2013). Por otro lado tanto las cubiertas exteriores como el germen están enriquecidos en componentes menores. Mientras que las cubiertas exteriores son más ricas en fibras y cenizas, el germen contiene mayor proporción de Pt y lípidos. Además de las diferencias en las proporciones de los componentes en las distintas fracciones del grano éstos pueden presentar diferencias en su composición química en función de su ubicación (Noort et al. 2010).

TABLA 1: Composición química del grano de trigo y sus partes en base seca.

Componente	Grano	Endospermo	Cubiertas	Germen
Proteínas	16	13	16	22
Lípidos	2	1.5	5	7
Almidón	68	82	16	40
Carbohidratos no amiláceos	11	1.5	53	25
Cenizas	1.8	0.5	7.2	4.5
Otros	1.2	1.5	2.8	1.5
Total	100	100	100	100

1.2 - Harina de trigo

Para la obtención de la harina a partir del grano de trigo una gran parte del endospermo se separa del germen y del salvado a través de etapas consecutivas de molienda, tamizado y purificación. El endospermo posteriormente es triturado y sometido a diferentes grados de refinamiento. El salvado junto a la fracción exterior del endospermo y el germen, terminan en una gama de subproductos, que se recuperan en diferentes etapas de la molienda. En contraste con la harina refinada, estos productos ricos en salvado se usan típicamente para la alimentación animal (Hemdane et al. 2016).

Si bien lo anterior describe la estrategia tradicional para la obtención de harina, existen estrategias experimentales de molienda alternativas. Mientras que a partir de la molienda tradicional se obtiene la harina únicamente del endospermo, otras estrategias pueden obtenerla incluyendo fracciones exteriores del grano (Lijuan et al. 2007) . El porcentaje del grano original que permanece en la harina después de la molienda se denomina índice de extracción, a través de los métodos tradicionales este índice puede encontrarse entre un 60 y 80% (Mendoza Moreno 2016). Asimismo, el nivel de contaminación en la harina con las fracciones exteriores (endospermo exterior, aleurona) depende también del cultivar, y agrega variabilidad a la harina obtenida (Ordaz-Ortiz y Saulnier 2005). Es por lo anterior que la composición del grano de trigo y la estrategia de molienda que se siga definirá el tipo de harina que se obtenga, sus componentes y su proporción relativa.

Dado que la harina tradicional de trigo se obtiene de la molienda de las partes internas del grano de trigo, se compone principalmente de endospermo. Es por esto que la proporción de los distintos componentes que la conforman resultan ser similares a los descritos en la Tabla 1 para la fracción del endospermo. La harina está principalmente compuesta por carbohidratos amiláceos y Pt, éstos superan ampliamente el 90% en masa de la misma. Mientras que los carbohidratos representan la principal fuente de reserva en el grano, las Pt juegan un rol fundamental en el comportamiento de la harina y sobre las propiedades nutricionales de los alimentos que de ésta se derivan.

Se describen a continuación los principales grupos de compuestos, relevantes para este estudio, que conforman la harina comenzando por aquellos con mayor proporción.

1.2.1 - Almidón

El almidón es el carbohidrato más importante en todos los cereales, siendo el constituyente de reserva se concentra principalmente en el endospermo del grano de trigo formando gránulos grandes (25-40 μm) comparado a su disposición en otros cereales (Gil y Ruiz López 2010).

A nivel molecular, sus principales constituyentes son los polímeros de glucosa (Glc): amilosa y amilopectina. La amilosa es esencialmente una molécula lineal formada por hasta 6000 unidades de Glc unidas por enlaces α -(1-4). En contraste la amilopectina, que se encuentra en mayor proporción y es de mayor tamaño (2 millones de Glc), es un polisacárido altamente ramificado constituido por cadenas lineales cortas, de 10 a 60 unidades y ramificaciones α -(1-6) con 15 a 45 unidades (Miguel et al. 2013).

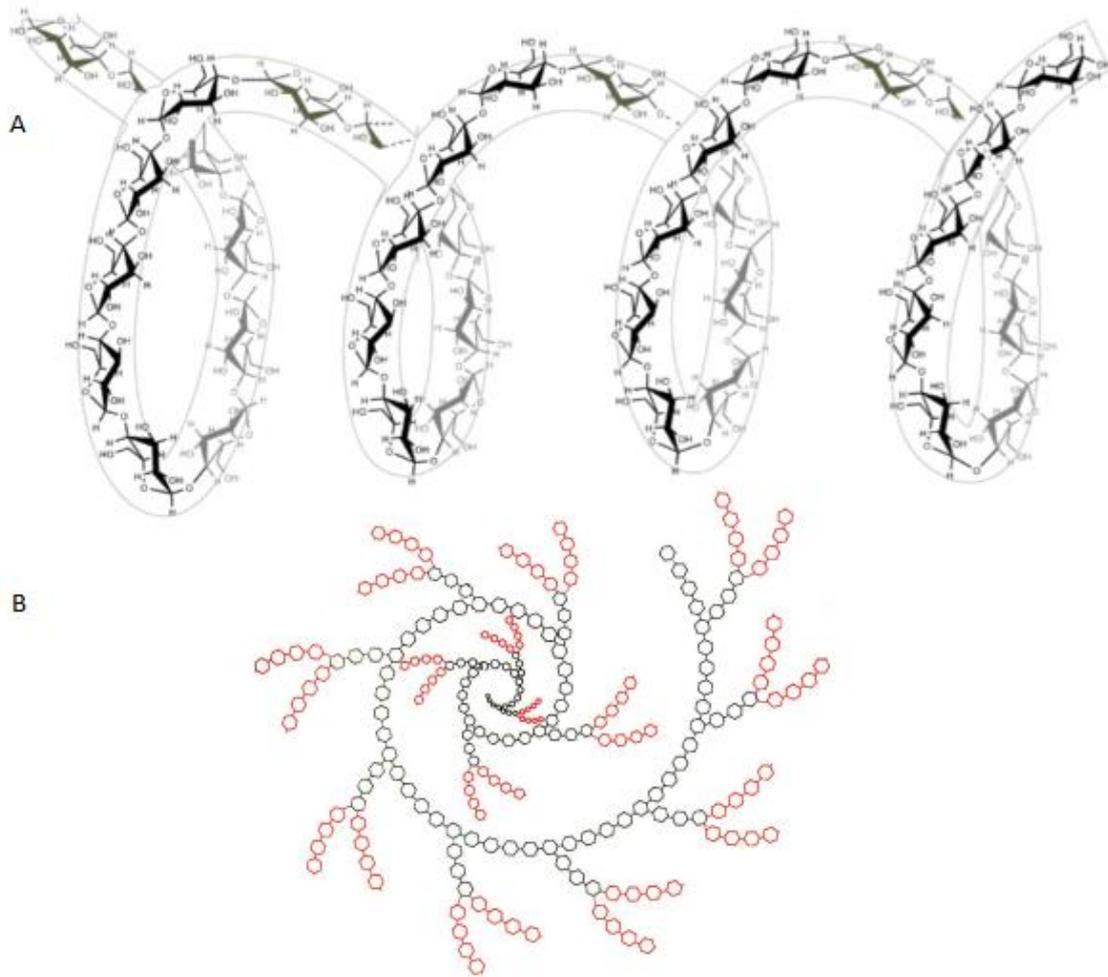


FIGURA 4: esquema de la estructura de A) amilosa y B) amilopectina.

En el trigo, y en la harina, los componentes del almidón se encuentran agregados formando gránulos insolubles. Por el proceso de la molienda pueden dañarse estos gránulos generando lo que se denomina almidón dañado. Al hidratarse el almidón pierde parcialmente su estructura granular y al combinar esta hidratación con el calentamiento ocurre su gelatinización, produciendo una suspensión viscosa (Gil et al. 2010). A nivel molecular lo que ocurre durante la gelatinización es la reorientación de los cristales del almidón y la pérdida y reorientación parcial de las dobles hélices de la amilopectina. Al enfriarse la pasta de almidón gelatinizada aumenta la viscosidad por la rápida reasociación de las cadenas lineales de amilosa (Gunaratne y Corke 2007).

1.2.2 - Proteínas

Se ha reportado que el contenido de Pt dentro del grano de trigo cualitativamente es determinado genéticamente, mientras que cuantitativamente es influenciado por las condiciones de crecimiento, generándose interacciones significativas genotipo-ambiente (Huebner et al. 1997; Zhu y Khan 2001).

Las Pt presentes en el endospermo, resultan ser diferentes a las del resto del grano, poseen cualidades únicas en comparación con las encontradas en otros cereales (J. a Delcour et al. 2010). Aproximadamente el 80% de las Pt en la harina de trigo son insolubles en agua, las cuales son capaces de formar una red viscoelástica continua, luego del agregado de agua y amasado, denominada gluten.

De acuerdo a la solubilidad en soluciones alcohólicas las Pt formadoras de gluten se dividen en dos grupos: aquellas que se solubilizan se denominan gliadinas y las que no, se denominan gluteninas (Wieser 2007). Las gliadinas forman un grupo heterogéneo de Pt globulares monoméricas que contribuyen a la plasticidad, extensibilidad y viscosidad de la masa de harina de trigo. Las gluteninas consisten en una mezcla de polímeros lineales, unidos y estabilizados mediante puentes disulfuro con un amplio rango de masa molecular. Se ha descrito que son responsables de la elasticidad y la fuerza cohesiva de la masa (Veraverbeke et al. 2002; Miguel et al. 2013).

Las Pt del gluten resultan ser de las redes de Pt más complejas en la naturaleza debido a la cantidad de componentes de diversos tamaños que a su vez incrementan en diversidad por diferencias genéticas, de ambiente y procesos tecnológicos. Asimismo esta complejidad se ve incrementada por las interacciones del gluten con otros componentes presentes en la harina. Estas Pt juegan un rol fundamental en proporcionar las propiedades reológicas y de panificación únicas de las masas obtenidas de harina de trigo (Wieser 2007). El gluten formado durante el amasado mantiene al resto de los componentes de la harina y permite la retención de CO₂ producido por la fermentación durante el leudado de las masas (Figura 5). Es por tanto que la cantidad y calidad de las Pt determinan la calidad panadera de las harinas de trigo (Rosell et al. 2005).

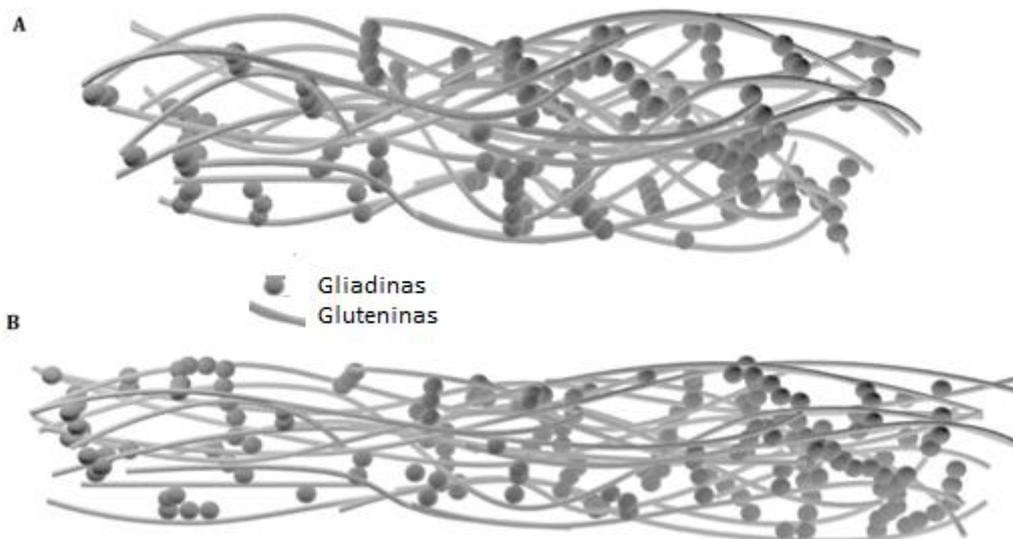


FIGURA 5: Esquema de la estructura de la red de gluten evidenciando A) retención de gas y B) extensión de la red.

1.2.3 - Polisacáridos no amiláceos

Si bien los cereales pueden contener distintos tipos de polisacáridos no amiláceos, que generalmente forman parte de las paredes celulares en los granos, en el endospermo de trigo resultan ser mayoritariamente arabinosilanos (AX) (Saulnier et al. 2007). En el endospermo hay menor proporción de AX en comparación con las restantes fracciones del grano y además éstos tienen la particularidad de ser menos complejos y estar formados solo por arabinosa (Ara) y xilosa (Xil) (Du et al. 2009).

A pesar de constituir una fracción minoritaria de la harina, entre 1- 2 %, son los carbohidratos más importantes desde el punto de vista tecnológico y constituyen gran parte de la fibra alimentaria en la harina (Wang et al. 2004; J. a Delcour et al. 2010; Skendi et al. 2011).

Debido a que los AX no están sometidos a un control genético estricto, los polímeros aislados, incluso hasta de una misma planta, pueden presentar microheterogeneidades estructurales (Izydorczyk y Biliaderis 2007). Si bien las variaciones son principalmente determinadas genéticamente, aparentemente las condiciones ambientales afectan la cantidad y estructura de los AX en el endospermo (Saulnier et al. 2007). Asimismo la diversidad de AX presentes en la harina de trigo puede verse afectada en función de la estrategia de molienda que se

siga y el índice de extracción de la harina que se obtenga. Es por esto que es posible encontrar una gran diversidad tanto en el largo de la cadena principal como en la cantidad y distribución de las ramificaciones, siendo éstas últimas distribuidas aleatoriamente y de manera irregular.

A pesar de no tener una estructura única, los AX cuentan con características estructurales claramente definidas. Químicamente pueden describirse como heteropolisacáridos que constan de un esqueleto de unidades de β -D-Xilopiranosil unidas mediante enlaces (1-4), cuyos residuos pueden estar sustituidos en O-2 y/o O-3 con α -Arabinofuranosa (Figura 6), aunque es relativamente raro encontrar residuos monosustituídos en O-2. Particularmente en la harina aproximadamente el 66% de los residuos de Xil no tienen ramificaciones de Ara, mientras que los que las tienen son principalmente monosustituciones (Pavlovich et al. 2016). En los residuos de Xil que sí se encuentran sustituidos a su vez pueden encontrarse residuos de AF unidos a Ara mediante su O-5 como se esquematiza en la Figura 6 (Skendi et al. 2011; Miguel et al. 2013). La presencia de ácido ferúlico (Af) le confiere a los AX características particulares que serán descritas en el apartado siguiente.

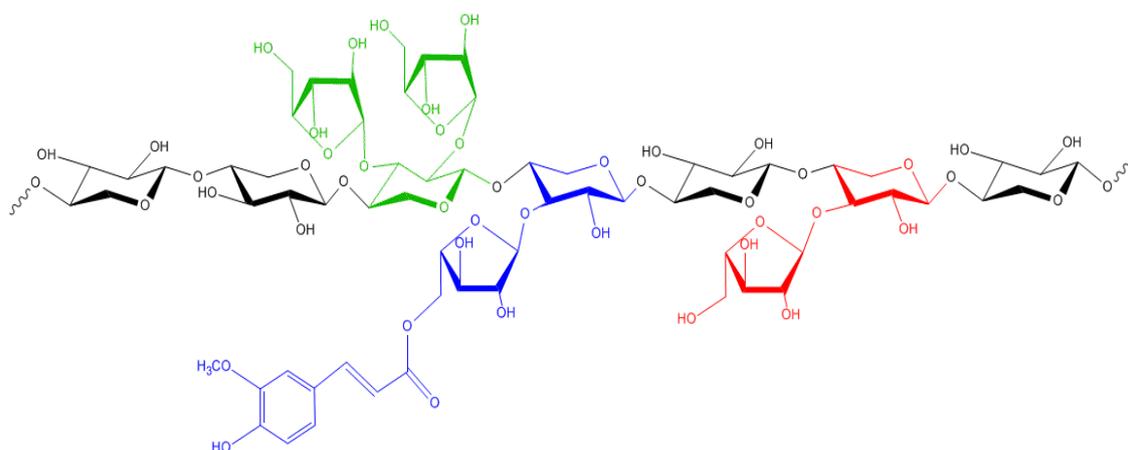


FIGURA 6: Esquema de la estructura química de AX de endospermo.

La relación entre la cantidad Ara y Xil (A/X) es usualmente utilizada para caracterizar, de manera aproximada, la estructura de los AX, aunque para conocer con detalle su estructura es necesario conocer el patrón de sustitución de Ara en la cadena lineal de Xil (Saulnier et al. 2007). Pavlovich et al. (2016) reporta valores de A/X que varían de 0.4 a 1.07, extremos que según plantean Izydorczyk and

Biliaderis (2007) corresponden a valores sensiblemente bajos y altos respectivamente.

La solubilidad o no en agua de los AX se ha utilizado ampliamente con el objetivo de separar fracciones de las cuales se ha demostrado cuentan con diferencias estructurales, tecnológicas y nutricionales. Como en todos los polisacáridos, la solubilidad en agua depende del balance entre las interacciones entre moléculas y con el solvente; las características estructurales como el largo de la cadena, la presencia y distribución de ramificaciones y/o cadenas laterales afecta este balance y por ende la solubilidad en agua (Izydorczyk et al. 1995; Pavlovich et al. 2016). En los AX la solubilidad no solo depende de las características estructurales, sino que también influyen en gran medida las interacciones covalentes que estos presenten con otros componentes de la pared celular (Saulnier et al. 2007).

Se ha reportado que de los AX presentes en la harina, entre el 25 y 33 % son solubles en agua (AXs) (Saulnier et al. 2007; J. a Delcour et al. 2010). Estos valores representan rangos de 0.5-0.8 % de AXs en la harina para algunos autores (Izydorczyk, Biliaderis, y Bushuk 1991) y entre 0.3 -0.7 % para otros (Autio 2006). Se reporta que la cantidad de AX insolubles (AXi) es aproximadamente 1.7% (Ordaz-Ortiz et al. 2005; Autio 2006; Saulnier et al. 2007).

Las características estructurales de los AXs están ampliamente estudiadas, pero se dispone menos información sobre los AXi, posiblemente debido a las dificultades experimentales encontradas por su insolubilidad. Dado que éstos a su vez representan en la harina la mayor parte de estos polisacáridos, es de amplio interés su estudio. Para su análisis generalmente ha sido necesario implementar estrategias de solubilización alternativas mediante soluciones alcalinas o extracciones por digestiones enzimáticas (Saulnier et al. 2007). El tratamiento con soluciones alcalinas permite romper algunos de los enlaces covalentes y de hidrógeno entre los AX y otros componentes de la matriz celular, permitiendo de esta manera solubilizarlos parcialmente para su posterior análisis (Zhang et al. 2014).

En general se ha encontrado que, si bien ambas fracciones presentan estructuras similares existen diferencias en las características estructurales entre los AXs y los AXi. Algunos autores atribuyen estas similitudes que las fracciones solubles posiblemente sean precursores de aquellos insolubles (J. a Delcour et al. 2010). Las diferencias reportadas tanto en su tamaño como en el grado y patrón de sustitución se describen a continuación.

El rango de peso molecular (PM) de los AXs es de 200.000 a 300.000 g/mol mientras que para los AXi se entiende que estos valores resultan ser mayores (Saulnier et al. 2007). Para las fracciones de AXi aisladas mediante tratamientos alcalinos se han reportado tamaños menores posiblemente debido a que se liberan, por el tratamiento alcalino, fracciones de AXi de menor tamaño capaces de solubilizarse. En todos los casos las fracciones contienen polímeros con un amplio rango de masa molecular y estructuras variadas, lo cual se define como alto índice de polidispersión (Izydorczyk et al. 2007)

Se ha demostrado que la relación típica de A/X en los AX presentes en la harina de trigo es aproximadamente 0.5-0.6 para los AXs, pero valores extremos entre 0.31 - 1.06 han sido reportados (Izydorczyk et al. 2007). En investigaciones de Pavlovich et al. (2016) se plantea que la baja sustitución de Ara conlleva a una conformación más extendida favoreciendo mayores interacciones y el agregado de moléculas limitando así su solubilidad. Estos investigadores proponen que cuando la relación A/X es menor a 0.43 la solubilidad decrece abruptamente.

1.2.4 - Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos (AF) son un componente que, aún encontrándose en muy pequeña proporción en los alimentos, resultan importantes desde el punto de vista nutricional por su capacidad antioxidante. En los cereales dentro de este grupo de compuestos predomina el Af (Kováčová y Malinová 2007).

En la harina de trigo se encuentra Af formando parte de los AX, tal como se mencionó anteriormente, unido a los residuos de Ara en su posición O-5 mediante enlace éster (Zhang et al. 2014). Se ha reportado que los AXs con A/X bajos contienen mayores cantidades de Af, lo cual sugiere que estos residuos podrían

estar esterificados solo a sustituyentes de Ara unidas a residuos de Xil en la posición O-3 (Saulnier et al. 2007).

A pesar de que el Af es un factor estructural importante en los AX, la cantidad de éste unido a los mismos es muy pequeña. En la literatura se encuentran grandes variaciones con respecto al contenido de Af en AX (Skendi et al. 2011). Lo normal es que aparezca unido por enlaces éster con los AX, detectándose del orden de 0,3 a 0,5 $\mu\text{mol/g}$ de harina (Copa Patiño et al. 2005).

Mientras que para los AXs se encuentran en el rango de 2 a 4 residuos de Af, los AXi cuentan con 6-10 por cada 1000 residuos de Xil (Bonnin et al. 2005). Esto representa entre 0.2-0.4 % de AXs (m/m) y 0.6-0.9 % en AXi (Saulnier et al. 2007).

1.3 - Elaboración del pan

La harina de trigo es la única que tiene la habilidad de formar una masa cohesiva y tenaz, capaz de retener gases y dar productos aireados y livianos después de su cocción (Hamer et al. 2009). Las masas elaboradas a partir de harina de trigo presentan simultáneamente características de líquido viscoso y de sólido elástico, y es por esto que se clasifican como viscoelásticas (Rouillé et al. 2005).

El proceso de elaboración del pan puede dividirse en tres operaciones básicas: mezclado, fermentación y horneado. A pesar de ser una práctica que se ha realizado desde hace largo tiempo, el proceso no puede entenderse completamente posiblemente debido a que ocurren varios procesos físicos y moleculares acoplados (Miguel et al. 2013). Durante el proceso de elaboración del pan ocurren complejas transformaciones físicas, químicas y bioquímicas, las cuales afectan y son afectadas por los constituyentes de la harina (Goesaert et al. 2005).

Durante la primer etapa se agregan agua y otros aditivos (al menos sal y levadura) y se mezclan los ingredientes. Además de homogeneizar la mezcla se hidratan las partículas de la harina, siendo el agua absorbida por las Pt, el almidón y los AX, y se consiguen las características plásticas de la masa por el desarrollo de la red de gluten (Valencia Ojeda 2013). La consistencia de la masa será influenciada tanto por la cantidad de agua agregada, por la capacidad de la harina para absorber el agua, y por las propiedades del gluten formado.

Ha sido reportado que durante el mezclado de los ingredientes y amasado entre el 10 y 15% de los AXi son solubilizados (Autio 2006). Asimismo, se produce un entrecruzamiento, por uniones covalentes, entre AX y con Pt, las cuales son mediadas por Af (Figura 7) (Michniewicz et al. 1991).

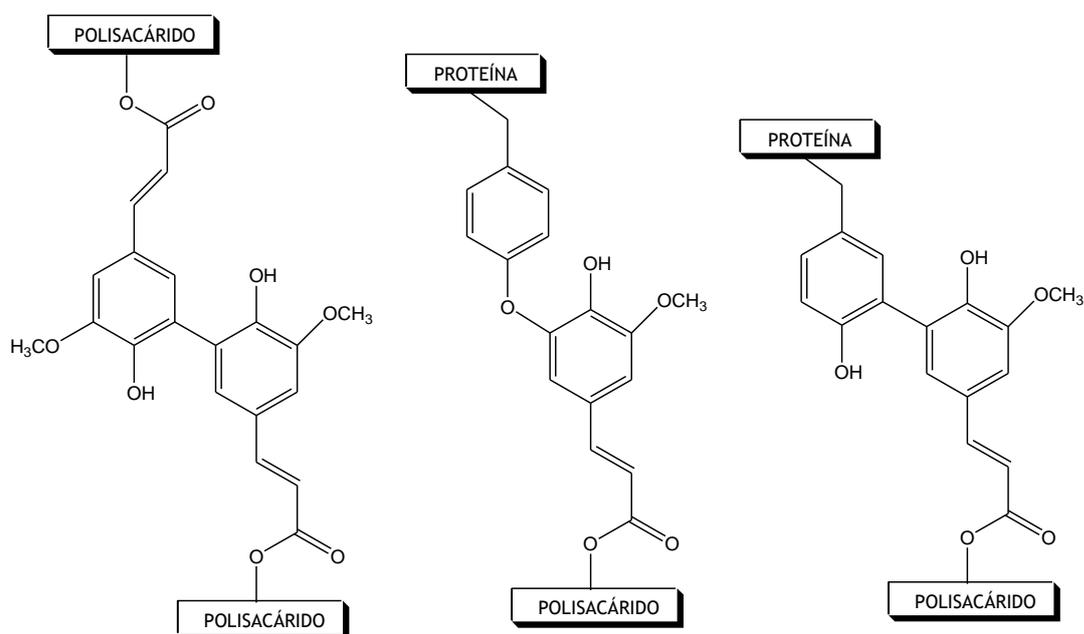


FIGURA 7: Naturaleza de las interacciones entre AX entre sí o con Pt mediadas por Af.

Durante la siguiente etapa, la fermentación, la levadura se reproduce utilizando los azúcares y los gases que se generan son retenidos en la masa. Por consiguiente, además de la fermentación de azúcares ocurre la modificación del gluten para un desarrollo óptimo de la masa y la posterior retención de los gases liberados durante la fermentación (Valencia Ojeda 2013).

Durante el horneado ocurren otras transformaciones que implican la formación de la cubierta, expansión del gas, evaporación de agua, formación de una estructura porosa, gelatinización del almidón, desnaturalización del gluten y reacciones de coloración de la corteza (Miguel et al. 2013).

1.4 - Calidad panadera

Se entiende que un trigo es de buena calidad cuando satisface los requisitos del comprador, en este sentido puede considerarse que un trigo pueda ser de buena calidad molinera (siendo por ejemplo en este caso relevante el rendimiento

del trigo para la obtención de la harina), o de buena calidad panadera, considerando las cualidades de la harina para la obtención de productos panificables. De manera general se entiende que un trigo tiene buena calidad panadera cuando tiene propiedades que le permiten producir el pan con las características deseadas por el consumidor (J.A. Delcour et al. 2010). En la Figura 8 pueden observarse diferencias en los panes obtenidos de harinas de trigos de distinta calidad.



FIGURA 8: Panes elaborados con trigo de diferente calidad (Verges y Vázquez 2004).

A pesar de que los distintos componentes de la harina influyen en la calidad de los panes obtenidos, es el gluten lo que confiere a la masa de extensibilidad, viscosidad, elasticidad, cohesión y contribuye a la capacidad de absorción de agua de la masa. La presencia de estas Pt formadoras de gluten son las que hacen únicas a las masas viscoelásticas elaboradas a partir de harina de trigo con, entre otras cualidades, la capacidad de retención de gases (Miguel et al. 2013).

En la actualidad, la cantidad de Pt es el principal indicador de calidad, la cantidad recomendable es de al menos 11.5% aunque valores por encima de 12% son deseables (Vázquez 2009). Como se mencionó anteriormente el contenido de Pt está relacionado con la proporción de éstas que formarán el gluten durante el amasado y le confieren a los productos panificados de trigo cualidades únicas (Döring et al. 2015). Sin embargo, para la determinación de la calidad de una harina para panificación es de gran importancia conocer cómo se comporta la masa formada. Estas características suelen conocerse estudiando sus propiedades

reológicas, lo cual permite predecir el comportamiento de una harina durante el proceso de panificación.

La reología estudia la respuesta de un cuerpo al que se le aplica una fuerza o deformación definida. En el proceso de panificación resulta importante estudiar la reología en las dos primeras etapas del proceso de panificación, durante el amasado se pueden conocer las propiedades de mezclado y durante la fermentación es posible determinar las propiedades de extensión de las masas.

Se entiende que un trigo es de buena calidad cuando tiene elasticidad y extensibilidad adecuadas, esto ocurre cuando es posible equilibrar la resistencia a la deformación y la extensibilidad en la masa. La elasticidad está relacionada con la capacidad de la harina de volver a su forma original luego de sufrir una deformación y es fundamental para poder conservar la forma de la masa. Por otro lado la extensibilidad refiere a la capacidad de la masa de extenderse sin romperse, y esta cualidad es la que permite que la masa crezca (Vázquez 2009).

La estrategia para estudiar la reología de las masas de trigo generalmente incluye la obtención del farinograma, el mixograma y el alveograma.

El farinograma es utilizado principalmente para determinar la capacidad de absorción de agua de la harina y el comportamiento durante el mezclado de la masa (Kieffer et al. 1998). El parámetro más importante que se puede obtener es el de estabilidad de la masa (EST) y refleja tolerancia al exceso de mezclado, o sobreamasado (Dowell et al. 2008). Otro parámetro relevante, que es necesario determinar para obtener el farinograma, es la absorción de agua (ABS) y dado que refleja la cantidad de agua que la harina absorbe hasta lograr una consistencia determinada, estará relacionado con los componentes capaces de absorberla. El valor deseable de ABS se encuentra por encima del 60% siendo los menores a 55 % demasiado bajo (Vázquez 2009).

El mixograma permite estimar el tiempo óptimo y la resistencia de la masa al mezclado, esto está directamente relacionado a la extensibilidad de la masa y la resistencia a romperse. Los principales parámetros que se utilizan para predecir las propiedades de la masa son el tiempo de amasado, desarrollo o mezclado de la

masa (TMEZ), y la altura máxima del mixograma (HMAX). Los resultados obtenidos del mixograma están altamente correlacionados a los del farinograma, dado que miden características similares pero ofrecen información complementaria.

El alveograma es utilizado para determinar la fuerza y extensibilidad de la masa (Kieffer et al. 1998). El equipo registra la presión necesaria para inflar una burbuja de aire en la masa hasta que esta se rompe. Si bien se pueden determinar distintos parámetros, el más importante es la fuerza panadera (W) que determina el trabajo necesario para inflar la burbuja hasta que se rompe. A partir de este parámetro es posible clasificar a los trigos según este parámetro en fuertes ($W > 300 \times 10^{-4} \text{ J}$) o débiles ($W < 200 \times 10^{-4} \text{ J}$) (Verges et al. 2004). Se entiende en este sentido que cuanto mayor sea W , mejor será el pan que se elabore con ese trigo.

Del alveograma también se obtienen los parámetros asociados a la tenacidad o resistencia máxima de la masa (P) y la extensibilidad (L). El cociente entre estos dos parámetros refleja el balance entre la elasticidad y la extensibilidad de la masa (P/L). Cuando este cociente supera 1.5 se tiene una masa demasiado elástica que resiste a ser extendida, por lo que se espera que el pan tenga poco volumen. Cuando este valor no supera 0.5 la falta de elasticidad posiblemente impida que el pan mantenga su forma, por lo que valores entre 0.5 y 1.5 se entienden óptimos (Vázquez 2009).

En general las harinas obtenidas de variedades de trigos uruguayos suelen formar masas con fuerza intermedia o alta (valores de W superiores a $200 \times 10^{-4} \text{ J}$). A pesar de esto, la baja extensibilidad es el mayor problema que presentan (Vazquez y Watts 2004).

Si bien estos ensayos reológicos permiten predecir el comportamiento de la masa durante el proceso de panificación, como se puede evidenciar son diversos los factores que afectan la calidad del producto final. En este sentido se entiende que otra manera de predecir qué tan bueno será el pan que se obtenga es elaborando el pan correspondiente. También se mencionó anteriormente que para distintos productos son necesarias propiedades particulares del trigo y la harina, a pesar de esto existe consenso general en que un trigo será mejor cuanto mayor sea el volumen del pan que de él se obtenga (J.A. Delcour et al. 2010).

Se ha descrito que el volumen de pan está directamente relacionado con la cantidad de Pt en la harina (Roels et al. 1993). Durante el proceso de panificación la capacidad que tenga la masa para retener los gases, proporcionada por el gluten desarrollado durante el amasado, influenciará directamente su capacidad para expandirse durante el horneado.

1.4.1 - Efectos de los componentes minoritarios sobre la calidad

El efecto de los AX en el proceso de producción del pan, se ha estudiado desde la década de los 60 existiendo evidencia sobre la contribución de los mismos en la modificación de la calidad de la masa; sin embargo la información experimental es escasa y contradictoria. Algunos autores indican que tienen efecto negativo sobre la calidad de la masa formada (Verjans et al. 2010; Zhang et al. 2014), mientras que otros sostienen que tienen efectos positivos (Courtin et al. 2002; Noort et al. 2010; Hemdane et al. 2016).

Las diferencias en las evidencias experimentales encontradas posiblemente se deben a distintos factores. Por un lado, se encuentran diferencias sustanciales por el estudio a partir de polímeros con diferente grado de purificación y composición, distintas estrategias de experimentación como amasado y panificación por parte de los distintos autores (Izydorczyk et al. 2007). Por otro lado, se encuentran diversos estudios que parcialmente permiten entender el efecto de los componentes minoritarios sobre las propiedades panaderas de las harinas a partir del agregado tanto de AX como de Af, con poca evidencia de que esto pueda ser representativo de las variaciones originales de la harina en el contenido de estos compuestos y su efecto en la panificación. Se describen a continuación los efectos que se entiende provocan los componentes minoritarios en el proceso de amasado y panificación.

A pesar de ser constituyentes minoritarios de la harina, los AX tienen la capacidad de afectar significativamente las propiedades de las masas y panes. Las principales propiedades que influyen en la panificación son su capacidad de absorción de agua y su capacidad para formar soluciones viscosas. De igual importancia resultan las transformaciones que éstos pueden sufrir durante el amasado, principalmente por la presencia de Af.

Las propiedades de hidratación de los AX pueden tener un fuerte impacto en las propiedades funcionales de la harina. A pesar de que las Pt formadoras de gluten, el almidón y los AX están presentes en la harina en distintas proporciones, se ha reportado que pueden afectar la capacidad de absorción de agua de manera similar; contribuyendo aproximadamente en un 28, 34 y 25 % respectivamente (Guzmán et al. 2015), aunque estos valores pueden variar en función de la composición de la harina.

De esta manera, cuando están presentes en grandes cantidades, los AX limitan el agua disponible tanto para el adecuado desarrollo del gluten como para la gelatinización del almidón (Houben et al. 1997; Autio 2006). Además de competir por el agua con el gluten, pueden limitar su movimiento impidiendo la formación de agregados más grandes al tener la capacidad de formar redes entre ellos (Wang et al. 2004).

Por otro lado, la viscosidad de las soluciones de AX depende principalmente de su proporción y tamaño molecular, mientras que las propiedades estructurales tienen un efecto limitado (Bettge y Morris 2007). A pesar de esto, la formación de puentes de AF entre AX, sobre todo la fracción soluble, puede afectar la viscosidad al aumentar en gran medida el PM de los agregados de AX (Saulnier et al. 2007). Estos entrecruzamientos provocan la obtención de polímeros de mayor tamaño que interactúan con la red de gluten durante el amasado (Wang et al. 2009).

El aumento en la viscosidad provocada por el contenido de AX asimismo puede incrementar la permeabilidad de los gases contribuyendo a la elasticidad de la matriz de Pt formadas a su alrededor. Se ha descrito que esto provoca efectos positivos sobre la estructura de la masa y su estabilidad, permitiendo alcanzar mayores volúmenes de pan y mejorando la estructura y firmeza de la miga (Izydorczyk et al. 2007; Miguel et al. 2013).

Por las interacciones que ocurren durante la formación del gluten mediadas por AF, el contenido de éste último se entiende como un indicador de la calidad de la harina para panificación. Se ha demostrado que estas interacciones entre Pt y AX mediadas por AF reducirían la elasticidad y tolerancia al mezclado de algunas masas (Koh y Ng 2009; Skendi et al. 2011).

Sumado a esto, se han descrito efectos divergentes sobre la calidad panadera de las fracciones solubles e insolubles de los AX. Esto posiblemente se deba a las diferencias estructurales y/o interacciones con otros componentes que le confieren o no la capacidad de solubilizarse en agua. Mientras que los AXs, de medio o alto PM, tendrían un efecto positivo sobre el volumen del pan, los AXi provocarían efectos negativos sobre la calidad panadera (Courtin et al. 2001).

Se ha demostrado que los AXs aportan a la formación del gluten, se ha determinado que éstos aumentan la estabilidad y la estructura esponjosa de la masa, resultando esto en un volumen mayor de pan y una miga más fina y homogénea (Courtin et al. 2002).

Por otro lado, se ha descrito que la fracción insoluble tiene un efecto negativo sobre las propiedades reológicas y la calidad de la masa al interferir con los procesos que ocurren durante el amasado. Además de sufrir variaciones estructurales durante el proceso (Verjans et al. 2010), pueden alterar las interacciones con y entre otros componentes o formar barreras físicas, distorsionando así la formación del gluten (Courtin et al. 2002; Wang et al. 2005; Autio 2006; Collins et al. 2006).

Este efecto descrito para los AXi provoca la disminución en la estabilidad de las masas, resultando en panes de menor volumen y de miga más áspera y firme (Courtin et al. 2002; Izydorczyk et al. 2007).

En suma, las diferencias en cantidad y estructurales de los AX, incluyendo la proporción de AF que contienen sustituido, afectan sensiblemente las propiedades de la harina al momento de la panificación. Se muestra en la Figura 8 las variaciones estructurales que podrían encontrarse en los AX de trigo. De acuerdo con esto, Saulnier et al. (2007) propone que altas concentraciones de AF, altos PM y un esqueleto de Xil poco sustituido son aspectos favorables para la formación de geles fuertes, y por ende positivos para la calidad panadera de la harina. Por el contrario, Revanappa et al. (2015) propone que un esqueleto más sustituido aportaría a las propiedades funcionales de la harina.

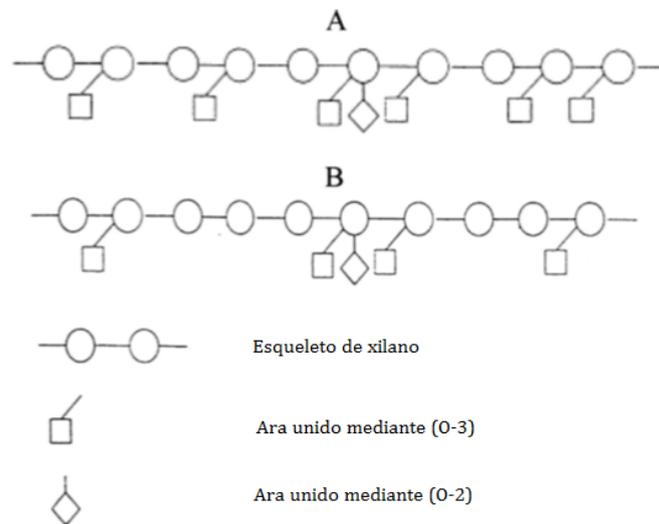


FIGURA 9: Variaciones estructurales propuestas de AX A) más y B) menos sustituidos. Adaptado de Revanappa et al. (2015).

1.4.2 - Mejora de la calidad panadera

En general se ha buscado mejorar la calidad de los productos panificados obtenidos de trigo. En nuestro país se cuenta con más de un siglo de avances en la mejora genética del trigo para la obtención de variedades con mejores cualidades, incluyendo en estas la calidad panadera, por parte de INIA.

Con el objetivo de mejorar la calidad de los productos obtenidos se han utilizado y se continúan utilizando aditivos de diversos orígenes, éstos han sido tanto químicos como naturales. Los aditivos incorporados generalmente afectan las interacciones, que ocurren durante el amasado, entre el gluten y otros componentes de la harina (Autio 2006).

En la actualidad debido a los avances en la industria panadera y la siempre creciente demanda por la utilización de productos seguros y naturales, sumado a las recientes restricciones con respecto al uso de aditivos químicos, las enzimas han ganado importancia en la industria panadera (Ahmad 2009; Miguel et al. 2013).

El agregado de mejoradores enzimáticos a la harina y la masa es una práctica habitual que permite la estandarización de la harina como mejorador para la panificación. Las enzimas suelen agregarse para modificar la reología de las

masas, la retención de gases y el ablandado de la miga en los productos panificados (Miguel et al. 2013).

Las enzimas xilanasas desde hace décadas son extensamente utilizadas como coadyuvantes tecnológicos en la industria panadera por sus beneficios tecnológicos. Se ha reportado que influyen positivamente sobre el volumen del pan, la flexibilidad de la masa, la mayor durabilidad del producto y la mejora de la estructura de la miga (Collins et al. 2006). Particularmente las endo-1,4- β -xilanasas (E.C. 3.2.1.8) son enzimas hidrolíticas que catalizan la degradación de los xilanos, rompiendo al azar los enlaces glicosídicos β -(1-4) de las cadenas de xilosa presentes en la hemicelulosa de la pared celular vegetal (Obando Garz 2013). Si bien el uso de estas enzimas puede mejorar algunas de las características de la masa, el agregado excesivo puede provocar una pérdida de la fuerza de la masa generando una masa húmeda y pegajosa.

Solo las enzimas xilanasas de las familias GH10 y GH11 aparentemente han sido evaluadas en panificación y solamente la última se ha encontrado útil con este fin (Collins et al. 2006). Las diferencias en su acción se deben a que las enzimas de la familia GH11, de las cuales la Pentopan ® mono es la más utilizada en panadería, son más susceptibles al impedimento estérico provocado por las ramificaciones de Ara, no tienen tan amplia especificidad y liberan fragmentos relativamente más grandes de AX (Miguel et al. 2013). En contraste las GH10 hidrolizan liberando fragmentos más pequeños, produciendo un efecto similar al que ocurre por excesivo agregado de enzima GH11, generando masas pegajosas y con menor capacidad de absorción de agua (Collins et al. 2006).

Las xilanasas más favorables para utilizar en la panificación son aquellas que preferencialmente actúan sobre los AXi, ya que remueven la fracción insoluble, que interfiere con la formación del gluten, y liberan AXs de alto PM, provocando un aumento en la viscosidad, la flexibilidad y la estabilidad de la masa. Como consecuencia se obtienen masas más estables, flexibles y fáciles de manejar (Collins et al. 2006).

1.5 - Investigaciones previas del equipo

Se inicia a partir del año 2008 en el Laboratorio de Carbohidratos y Glicoconjugados de los Departamentos de Química Orgánica y de Desarrollo Biotecnológico, UdelaR, una nueva línea de investigación buscando abordar la complejidad que representan los carbohidratos no amiláceos sobre las propiedades funcionales del trigo.

En los primeros trabajos de la autora se buscó una primera aproximación al entendimiento de la relación entre la caracterización química de los carbohidratos y los parámetros tradicionales de predicción de calidad. En estos casos se obtuvieron resultados preliminares, necesarios de profundizar, dado que se trabajó con un pequeño set de muestras de harina (3 variedades, una de ellas obtenidas de distintos ambientes totalizando 5 muestras).

Los siguientes trabajos dan cuenta de las primeras investigaciones en el área:

- Garófalo, L. (2008) *Caracterización y cuantificación de pentosanos en harinas obtenidas de diferentes variedades de trigo que se cultivan en Uruguay*. Presentación en el ciclo de Seminarios del Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, UdelaR. Montevideo, Uruguay.
- Garófalo, L., Ferreira, F., Soule, S. y Vazquez, D. (2008) *Cuantificación y Caracterización de Pentosanos en Harinas Uruguayas*. En VII Congreso Nacional de Trigo. Santa Rosa, Argentina.
- Garófalo, L. (2010) *Purificación, Caracterización Y Cuantificación de Pentosanos En Harinas de Trigo Uruguayas*. Tesina de grado, Facultad de Ciencias, Universidad de la República.
- Garófalo, L. (2010) *Purificación, cuantificación y caracterización de pentosanos en harinas uruguayas*. Presentación oral en ciclo de Seminarios del Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, UdelaR. Montevideo, Uruguay.
- Garófalo, L., Ferreira, F., Vazquez, D. y Soule, S. (2011) *Impact of arabinoxylans on uruguayan wheat flour quality*. II Conferencia Latinoamericana del Cereal, Santiago de Chile, Chile.

- Garófalo, L., Vazquez, D., Ferreira, F., and Soule, S. (2011) *Wheat Flour Non-Starch Polysaccharides and Their Effect on Dough Rheological Properties*. *Industrial Crops and Products* 34(2): 1327–1331.

Estas investigaciones permitieron arribar a conclusiones preliminares sobre la relación existente entre las características de los AX presentes en la harina y el comportamiento de la muestra durante el proceso de amasado y panificación.

Se encontró que existe una relación entre el contenido de la fracción insoluble de AX y los parámetros P y L obtenidos de los alveogramas. Se concluyó entonces que cuando la cantidad de AX_i es mayor, aumenta la resistencia a la extensión, y por el contrario, disminuye la elasticidad. Conllevando esto a una correlación directa entre el contenido de AX_i y la relación P/L.

A partir de lo anterior fue que nos propusimos, en el marco de este trabajo de posgrado y proyectos financiados de investigación, profundizar en las investigaciones en el tema propuesto.

2 - OBJETIVOS

2.1 - General

Evaluar la influencia de la composición química de arabinosilanos sobre la calidad panadera de las harinas.

2.2 - Específicos

- Determinar la influencia de AX sobre los parámetros de proteínas y su funcionalidad.
- Determinar la influencia de AX sobre las propiedades reológicas de las masas.
- Determinar compuestos fenólicos presentes en las harinas de trigo.
- Estudiar del efecto de la panificación y una xilanaso comercial sobre los AX.
- Analizar grupalmente las relaciones estadísticas entre los parámetros estudiados.

3 - MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

Fueron estudiadas 31 muestras de harina de trigo obtenidas a partir de 13 variedades o líneas experimentales de *Triticum aestivum* (INIA Tijereta, INIA Garza, INIA Chimango, Génesis 2346, Génesis 2359, LE 2360, Génesis 2354, INIA Churrinche, INIA Carpintero, INIA Don Alberto, INIA Mirlo, INIA Madrugador y LE 2350) cultivadas en hasta 3 regiones uruguayas (Figura 9) en los campos experimentales de INIA (Uruguay).



Figura 10: Mapa de Uruguay indicando las localidades de las que se obtuvieron las muestras.

Todas las muestras fueron obtenidas a partir de la molienda de los cultivos de trigo cosechados durante 2011 en un molino experimental Buhler MLU – 202. Se detalla en la Tabla 2 a partir de qué variedad y de cuál localidad fueron obtenidas las muestras a estudiar.

TABLA 2: Variedad de trigo y localidad en la que fueron cultivadas para la obtención de las muestras de harina.

* R2 ubicado en la ruta 2 (ciudad de Mercedes); Dol en ruta 21 km 325,5 (ciudad de Dolores); y LE en ruta 50 km 11.

Muestra	Genotipo	Localidad*
1	INIA TIJERETA	R2
2	INIA GARZA	R2
3	INIA CHIMANGO	R2
4	Génesis 2346	R2
5	Génesis 2359	R2
6	LE 2360	R2
7	Génesis 2354	R2
8	INIA CHURRINCHE	R2
9	INIA CARPINTERO	R2
10	INIA DON ALBERTO	R2
11	INIA MIRLO	R2
12	INIA MADRUGADOR	R2
13	LE 2350	R2
14	INIA TIJERETA	Dol
15	INIA GARZA	Dol
16	INIA CHIMANGO	Dol
17	Génesis 2346	Dol
18	Génesis 2359	Dol
19	LE 2360	Dol
20	Génesis 2354	Dol
21	INIA CHURRINCHE	Dol
22	INIA CARPINTERO	Dol
23	INIA DON ALBERTO	Dol
24	INIA MIRLO	Dol
25	INIA MADRUGADOR	Dol
26	LE 2350	Dol
27	Génesis 2354	LE
28	INIA DON ALBERTO	LE
29	INIA MIRLO	LE
30	INIA MADRUGADOR	LE
31	LE 2350	LE

Los solventes y reactivos utilizados fueron puros para análisis. La enzima endo- β -(1 \rightarrow 4)-xilanasas (Pentopan® mono) fue facilitada por el Centro de Industriales Panaderos del Uruguay. Las enzimas α -amilasa (Liquozyme®SC 4X), glucoamilasa (Spirizyme® Excel XHS) y endopeptidasa (Alcalase® 2.4 L FG)

fueron suministradas por Novozyme (Uruguay). Todos los análisis fueron realizados por duplicado salvo que se especifique lo contrario.

3.2 - Parámetros predictores de calidad

3.2.1 - Proteínas

El contenido de Pt en trigo se determina siguiendo el método clásico de Kjeldahl (AACC 2000) ajustando por un factor de 5.7 necesario para la estimación en trigo.

3.2.2 - Parámetros asociados al gluten

Se determinó gluten húmedo (GH) e índice de gluten (GI) según el método de la norma UNIT-ISO 944-94 y el SDS con la técnica de determinación del coeficiente de sedimentación (Amaya 1991).

3.2.3 - Volumen de pan

Se elaboraron panes de molde según la técnica (AACC 2000) y pan francés según Paulley et al. (2004). Se determinó el volumen de pan de molde (VPM) y de pan francés (VPF) por desplazamiento de semillas y la relación entre el alto y ancho del pan francés (FrR).

3.3 - Caracterización química de los componentes de la harina

3.3.1 - Procedimientos generales

3.3.1.1 - Cromatografía en Capa Fina

En los casos en que se realizó cromatografía en capa fina (TLC) la misma se desarrolló en las mismas condiciones descritas en Soule (2001). Se utilizó como fase sólida una placa de sílica Gel Alugram SIL G/UV254. Se utilizó como fase móvil una mezcla de MeOH:CHCl₃:C₃H₆O:NH₄OH en una proporción 42:17:25:17 y para revelar se sumergieron las placas en una solución de Orcinol (SIGMA) al 0.2 % en una mezcla de EtOH:H₂SO₄ en una proporción 9:1 y posteriormente se quemó la placa.

3.3.1.2 - Cromatografía gaseosa

Las condiciones particulares se describen en los casos en que se utilizó esta estrategia. Se describen aquí las condiciones generales para la preparación de las muestras y condiciones de análisis de Cromatografía Gaseosa (GC).

Se realizó la reducción y acetilación de azúcares según Tomati et al. (2004). Se agregó a los sólidos 0.1 ml de Myonitol (2 mg/ml) como estándar interno. Se agregó 0.1 mL de NH_3 1 M y 1.0 mL de NaBH_4 (2 % en DMSO) y se mantuvo a 40 °C durante 90 min. El exceso de NaBH_4 fue destruido con 0.1 mL de ácido acético glacial. Se obtuvieron los acetatos de pentitol agregando 0.2 ml de N-Metilimidazol y 1.0 ml de Anhídrido Acético y se dejó alcanzar temperatura ambiente. Luego del agregado de 4 ml de H_2O se adicionó 1.0 ml de AcOEt. La fase orgánica se extrajo, se secó con Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó el solvente. Los acetatos de pentitol se retomaron en 10 μl de AcOEt.

Se inyectó 1 μl de esta solución en un GC Hewlett Packard HP 6860 series equipado con un detector FID. Se utilizó una columna capilar, HO-5 con 5 % de Fenilmetil Siloxano de 30.0 m x 250 μm x 0.25 μm , con N_2 como gas portador a una presión de 13.9 PSI y un flujo total de 44.4 ml/min. Las temperaturas del inyector y detector fueron 300 y 280 °C respectivamente. El programa de temperatura utilizado fue el reportado en Soule (2001), la temperatura inicial de la columna fue de 150 °C, se mantuvo a esta temperatura durante 2 min y luego se aumentó hasta 250 °C a una velocidad de 5 °C por minuto.

La identidad de los distintos picos en los cromatogramas para cada acetato de pentitol se determinó por comparación con los tiempos de retención (T_r) para las soluciones estándar de los distintos acetatos de monosacáridos.

Para el cálculo del factor de respuesta de Ara y Xil con respecto al estándar interno se realizó el procedimiento descrito en Fernández y García (2012). Se elaboraron una serie de soluciones mezcla de cada uno de los analitos de interés a distintas concentraciones (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mg) y estándar interno (0.2 mg) a un volumen final de 10 μl . Se determinó la curva de respuesta para cada

monosacárido con respecto al estándar interno para calcular posteriormente el factor de respuesta a partir de la pendiente y corte con el origen.

3.3.2 - Pentosas libres

Para la determinación de presencia de pentosas libres se tomaron 100 mg de la harina, se le agregó 10 ml de H₂O y se mantuvo a 30 °C con agitación durante 30 min, se centrifugó y el sobrenadante fue liofilizado. El sólido obtenido se lo sometió a reducción, acetilación y análisis según se describe en el apartado 3.3.1.

3.3.3 - Arabinosilanos totales, solubles e insolubles

Pentosas totales

Para la cuantificación de Ara y Xil se hidrolizó químicamente la harina, empleando las condiciones descritas en Garófalo et al. (2008). A 100 mg de harina se le agregó 1.0 ml de TFA 2 M y se mantuvo a 120 °C durante 1 h. Posteriormente se le agregó a la solución obtenida 1.0 ml de MeOH y se llevó a sequedad. Los azúcares fermentables se removieron por el agregado de 2.0 ml de una suspensión de buffer fosfato 0.2 M pH 7.0 con 25 mg/ml de levadura fresca *Saccharomyces cerevisiae*, se incubó 1 h a 37 °C con agitación cada 20 min (Hashimoto et al. 1987), se centrifugó y el sobrenadante fue liofilizado. Al producto obtenido se lo analizó mediante los procedimientos descritos en el apartado 3.3.1. Mediante TLC se estudió en simultáneo al producto obtenido luego de la hidrólisis y el producto obtenido luego de la digestión con levaduras.

Pentosas solubles

Para la cuantificación de Ara y Xil en la fracción soluble se tomaron 100 mg de harina, se le agregó 1 ml de H₂O, se agitó durante 30 min, se centrifugó y el sobrenadante se liofilizó. Al sólido resultante se lo hidrolizó de igual manera que se describió en el párrafo anterior. Al producto obtenido se lo analizó mediante los procedimientos descritos en el apartado 3.3.1. Mediante TLC se estudió en simultáneo al producto obtenido de la fracción soluble de la harina y el producto obtenido luego de su hidrólisis.

Pentosas insolubles

La determinación de la cantidad de pentosas insolubles se calculó mediante la diferencia entre la cantidad total y la cantidad soluble. Para ello se utilizaron las Ecuaciones 1 y 2.

$$\text{ARA (I)} = \text{ARA} - \text{ARA (S)} \quad \text{ECUACIÓN 1}$$

$$\text{XIL (I)} = \text{XIL} - \text{XIL (S)} \quad \text{ECUACIÓN 2}$$

Arabinoxilanos

Los porcentajes de AX, AXs y AXi se determinaron a partir de la Ecuación 3, utilizando para el cálculo las cantidades de pentosas encontradas para cada una de las fracciones de AX (Du et al. 2009).

$$\text{AX} = (\text{ARA} + \text{XIL}) \times 0.88 \quad \text{ECUACIÓN 3}$$

La relación A/X se determinó a partir del cociente entre la cantidad de Ara y Xil de cada una de las fracciones utilizando la Ecuación 4.

$$\text{A/X} = \text{ARA} / \text{XIL} \quad \text{ECUACIÓN 4}$$

3.3.4 - Distribución de peso molecular de AXi

Para el aislamiento y purificación de AXi se combinaron estrategias descritas por Escarnot et al. (2011) y Du et al. (2009) ambas basadas en el procedimiento descrito por Hollmann and Lindhauer (2005).

A 1.0 g de harina se le agregó 7.0 ml de Buffer fosfato 0.05 M pH 5,8 y se lo mantuvo a 100 °C durante 5 min. Luego se dejó alcanzar una temperatura de 85 °C, se agregaron 10 µl de Liquozyme (dilución 1/10 en buffer) y se mantuvo a esta temperatura durante 150 min. Posteriormente se llevó a 65 °C y se mantuvo a esa temperatura con el agregado de 10 µl de Spirizyme (dilución 1/10 en buffer) durante 10 min. Luego se llevó a 55 °C y se mantuvo durante 4 h con el agregado de 50 µl de Alcalase. Por último se aumentó la temperatura a 100 °C y se mantuvo durante 15 min, se filtró con papel y el sólido obtenido se lavó con H₂O y se dejó secar a 50 °C durante 48 h.

Para la purificación de los AXi, al sólido obtenido se le agregó 12 ml de H₂O₂ 2 %, 0.01 ml de silicona para prevenir la formación de espuma, se ajustó el pH a 11 y se mantuvo con agitación a 60 °C durante 4 h. Posteriormente se centrifugó la suspensión. Los AXi se precipitaron del sobrenadante por el agregado de una mezcla de EtOH:MeOH (95:5) hasta alcanzar una concentración al 65 % de alcohol. Se mantuvo a 4 °C durante 48 h luego se filtró. El sólido obtenido se secó y guardó para posterior análisis.

Para la determinación de la distribución de PM de los AXi, se utilizó un sistema de cromatografía líquida de alta eficacia de exclusión por tamaño (HP-SEC) equipado con una columna Shodex® OH-Pack SB-804 HQ, utilizando como fase móvil buffer Tris-HCl 0,2 M pH 9 a un flujo de 0.5 ml/min con un volumen de inyección de 200 µL. Se inyectaron Glc, rafinosa y Pululanos (Shodex® P-82) como marcadores de PM de tamaños: 180, 504, 6200, 10000 y 21700 g/mol respectivamente.

3.3.5 - Ácidos fenólicos

El aislamiento y la cuantificación de los AF se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Kováčová y Malinová (2007) sobre cinco muestras seleccionadas de harina (M2, M4, M5, M12 y M21).

3.3.5.1 - Ácidos fenólicos extraíbles en metanol

A partir de 2.0 g de harina se efectuaron 2 extracciones sucesivas con 20 ml de MeOH 80 % y con agitación durante 10 min. Los sobrenadantes fueron separados por centrifugación y luego de mezclados se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo obtenido fue secado bajo corriente de N₂ y guardado en la oscuridad para posterior análisis.

Parte de este residuo, fue solubilizado en 5 mL de MeOH, filtrado y sometido a análisis por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) utilizando un cromatógrafo HP1200 series (Hewlett Packard) equipado con una columna de fase reversa (LiChrospher® 100 RP-18 5µ) y detección UV a $\lambda = 280$ nm. La elución fue realizada en forma isocrática utilizando como fase móvil una mezcla de H₂O_d:C₂H₃N:CH₃COOH (88:10:2) a un flujo de 0.5 ml/min. La cuantificación de los

AF libres se efectuó a partir de la curva de calibración obtenida utilizando soluciones estándar de ácido ferúlico (SIGMA F3500).

La otra parte del residuo fue utilizada para la cuantificación de los AF esterificados solubles en MeOH 80%. El residuo fue sometido a hidrólisis alcalina por el agregado de 40 ml de NaOH 2M a temperatura ambiente, en oscuridad y con agitación durante 1 h. La solución, así obtenida, fue acidificada hasta pH 2, por el agregado de HCl 12 M. Los compuestos fenólicos fueron obtenidos por extracciones repetidas de AcOEt (5x40 ml). El solvente orgánico fue destilado a presión reducida y el residuo retomado en MeOH para su posterior análisis por HPLC en las condiciones descritas anteriormente. La estimación de los compuestos esterificados fue realizada por la diferencia entre el valor obtenido en esta cuantificación y la determinada en el punto anterior.

3.3.5.2 - Ácidos fenólicos no extraíbles en metanol

El residuo obtenido luego de la primera extracción fue secado bajo corriente de nitrógeno, sometido a hidrólisis alcalina en las mismas condiciones descritas anteriormente y efectuado su análisis por HPLC según lo indicado en 3.3.5-1.

3.4 - Propiedades reológicas y estructurales de la masa

3.4.1 - Alveograma

Se obtuvo el alveograma utilizando un Alveógrafo Chopin MA 95 estandarizado por el método de la AACC 54-30 y por la norma UNIT-ISO 5530-4-93. A 250 g harina se le agregaron aproximadamente 125 ml de agua, según el contenido de humedad de la harina, y NaCl y se amasó durante 8 min. La masa se laminó y se cortaron cinco discos, que se dejaron descansar 20 min a 25 °C. Los discos sobre una base se sujetaron y se inflaron con aire a velocidad de volumen constante. La presión necesaria para inflar la burbuja se registró hasta que ésta se rompió. Del área del alveograma se obtuvo W, de la altura máxima P, de la distancia entre el inicio del inflado y hasta que la burbuja se rompe se estimó L. Se informa también el cociente P/L.

3.4.2 - Mixograma

Se obtuvo el mixograma utilizando un Mixógrafo National Manufacturing (TMC0, Lincoln, NE, USA) con amasadora de 10 g, estandarizado por el método AACC 54-40. La cantidad de agua que se agregó dependió de la cantidad total de Pt de la harina. Se obtuvo HMAX y TMEZ.

3.4.3 - Farinograma

Para la obtención del farinograma se utilizó un Farinógrafo Brabender modelo 810105 (Brabender GmbH & Co KG, Alemania) siguiendo el procedimiento descrito en la norma 54-21 de la AACC (2009). Fue posible a partir de éste estimar los parámetros EST y ABS de la masa.

3.5 - Efectos de la panificación y la acción de xilanasa sobre AX

Se obtuvieron los panes a partir de las cinco muestras seleccionadas (M2, M4, M12, M21 y M24). A partir de 10 g de harina se elaboró la masa mediante el agregado de agua, sal y levadura. La masa obtenida se fraccionó en dos partes iguales. La primera fracción se cortó y secó en cámara a temperatura ambiente y una humedad aproximada del 10 % para luego obtener la harina de masa. La segunda fracción se moldeó y horneó para obtener un pequeño pan francés, el cual se cortó y secó en cámara en las mismas condiciones antes descritas para luego moler y así obtener la harina de pan.

Por otro lado se elaboraron y obtuvieron las harinas de masa y pan de manera similar a lo descrito en el párrafo anterior salvo por el agregado de Pentopan ® mono (0,15 mg/10g de harina) a la mezcla inicial de harina, agua, sal y levadura.

De igual modo que en la sección 3.3.3 se obtuvieron a partir de las harinas de masa y de pan elaboradas las fracciones para la determinación de AX y de AXs.

A partir de las fracciones obtenidas fue posible determinar el contenido en AX, AXs y AXi y su relación de Ara/Xil tanto para la harina de masa y de pan siguiendo el procedimiento descrito en 3.3.1.2.

3.6 - Análisis estadístico

Se estudiaron los coeficientes de correlación simples entre los parámetros determinados utilizando Microsoft Excel. Considerando $p > 0.05$, existieron diferencias significativas entre dos variables cuando $r^2 > 0.349$ y $r^2 > 0.811$ al analizar los resultados obtenidos para $n = 31$ o $n = 5$ respectivamente (Steel y Torrie 1985).

Los resultados obtenidos de AXs en los experimentos de panificación fueron analizados mediante el programa Statistica versión 6.1. Se examinó la normalidad de los datos por el test de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Bartlett. En los casos donde la distribución de los datos fue normal y las varianzas homogéneas, se evaluaron para cada variable las diferencias entre los tratamientos mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía y el test de Tukey HSD (Honestly Significant Difference). En los casos restantes se realizó el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis.

Se analizó el efecto de las distintas variables sobre los parámetros reológicos mediante el estudio de correlaciones múltiples utilizando el software SAS.

Se realizaron análisis de componentes principales (ACP) utilizando el programa Statistica versión 6.1.

4 - RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se seleccionaron para este estudio variedades de trigo que fuesen representativas de la variabilidad local de las distintas harinas comercializadas en el país, en relación a los principales parámetros predictores de calidad panadera. A su vez las variedades seleccionadas fueron cultivadas en distintas localidades uruguayas. Fue posible de esta manera contar con muestras de harina que contaran con gran variabilidad en sus propiedades permitiendo el estudio de la influencia de la composición sobre estos factores. No es objetivo de este estudio analizar el efecto que causa el ambiente y/o la genética sobre las propiedades del trigo y la harina.

En el proceso de obtención de las muestras de harina a partir del trigo, utilizando un molino experimental que reproduce el proceso industrial, se logró la separación del endospermo del resto del grano, y su posterior disminución de tamaño. De esta forma se obtuvo para cada muestra un polvo blanco denominado harina.

En este apartado inicialmente se presentan los resultados en relación a los parámetros asociados a proteínas y los que permiten describir su funcionalidad, a continuación se detallan los resultados encontrados del estudio químico de los AX y luego se presenta el análisis y la vinculación de los aspectos químicos con los tradicionales anteriormente descritos. A continuación se incorporan al análisis los parámetros determinados en relación al comportamiento de la harina durante el amasado, como también aquellos resultados que describen las transformaciones de los AX por el proceso de amasado y panificación y las variaciones que ocurren por la acción de enzimas xilanasas. Por último se presenta el estudio estadístico de comparaciones múltiples y de componentes principales de los resultados encontrados.

4.1 - Parámetros asociados a proteínas y su funcionalidad

Tal como se describió anteriormente el contenido de Pt resulta ser el principal indicador de calidad panadera de una harina. Asimismo la calidad de las Pt presentes y la proporción de éstas que serán capaces de formar el gluten

durante el amasado resultan un factor determinante de las propiedades de la harina durante la panificación.

Los parámetros que tradicionalmente se utilizan para conocer parcialmente la calidad de las Pt son GH y GI. Su capacidad para retener agua se suele estimar a partir de una estrategia experimental simple y rápida como lo es el SDS.

Sumado a lo anterior, y dado que el volumen que pueden alcanzar los panes es uno de los principales criterios de aceptación del consumidor, se incluyeron en el análisis el volumen de pan francés (VPF), de molde (VPM) y la relación entre la altura y el ancho del pan francés (FrR).

Los resultados determinados para la totalidad de las muestras se presentan en el Apéndice I (Tabla 15). En la Tabla 3 se presenta el resumen estadístico de los resultados con respecto a estos parámetros descritos.

TABLA 3: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a proteínas y su funcionalidad.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
Pt (%)	14,2	12,5	16,2	0,9
GH (%)	37,3	29,5	50,6	4,1
GI (%)	90,7	59,7	100,0	11,9
SDS (mL/g)	16,9	6,5	23,0	4,8
VPM (cm³/100g)	630	430	803	80
VPF (cm³/100g)	499	333	655	82
FrR	0,73	0,59	0,83	0,06

Se describen y discuten a continuación estos resultados obtenidos en relación a estos parámetros para la totalidad de las muestras.

4.1.1 - Proteínas

Se encontró que el porcentaje de Pt se encuentra en el rango entre 12,5 y 16,2 %. Además de representar un amplio rango en este parámetro, estos resultados están de acuerdo con lo reportado en la literatura y con los requerimientos para su comercialización la cual hace referencia a un mínimo recomendado de 11.5 % de Pt (Vázquez 2009).

Se presenta en la Figura 11 el porcentaje de Pt determinado para las 31 muestras. Para su representación gráfica fueron agrupados los resultados encontrados según la variedad de trigo con el propósito de permitir evidenciar las variaciones en el set de muestras, no se buscó así establecer relaciones entre las distintas variedades.

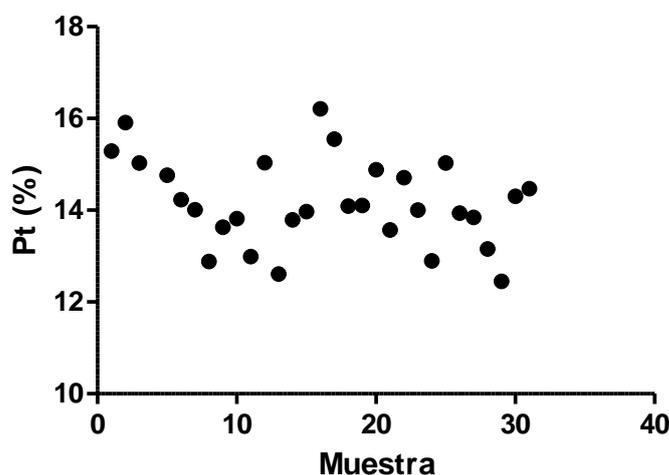


FIGURA 11: Gráfica del porcentaje de Pt en las harinas estudiadas.

Considerando que el contenido de Pt es el principal factor en la predicción de la calidad panadera y de acuerdo a la variación encontrada en este parámetro, es posible anticipar que existirá variación con respecto a la calidad de las muestras seleccionadas, la cual a su vez sería representativa de la variabilidad local.

4.1.2 - Gluten

La fracción de Pt que son capaces de formar el gluten durante el amasado son las más importantes desde el punto de vista tecnológico. Éstas juegan un rol fundamental y le confieren a la harina de trigo cualidades únicas para la panificación. Estas Pt están relacionadas a la capacidad de absorción de agua, cohesividad, viscosidad y elasticidad a las masas (Wieser 2007).

La cantidad de Pt formadoras de gluten y el agua que éstas retienen puede estimarse a partir de GH. En general cuando este valor supera el 30 % se entiende que la harina tendrá buenas cualidades para el desarrollo del gluten (Vázquez 2009). Las muestras estudiadas están comprendidas en el rango de 29.5 a 50.6 %

de GH, por lo que se entiende entonces que a partir de la mayoría de las harinas podrá desarrollarse el gluten de manera adecuada.

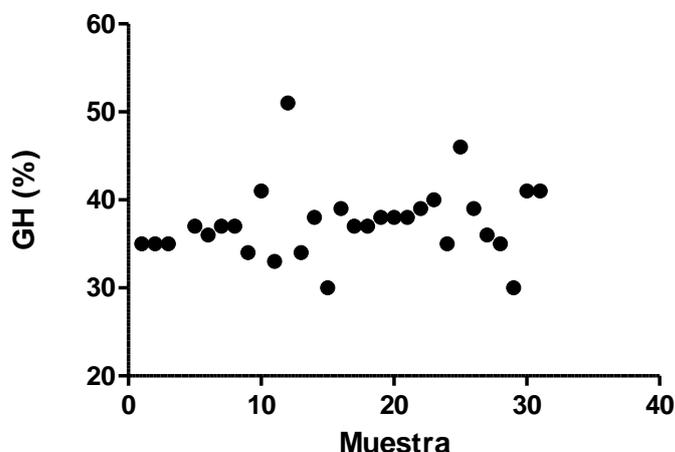


FIGURA 12: Gráfica del porcentaje de GH en las harinas estudiadas.

Asimismo se estudió la relación existente entre los resultados determinados para Pt y GH. Se encontró que los valores encontrados de GH tienen una correlación directa, estadísticamente significativa, con los valores determinados para el porcentaje de Pt ($r^2 = 0,42$). Se presenta en la Figura 13 el gráfico de dispersión que permite visualizar la correlación entre ambos parámetros.

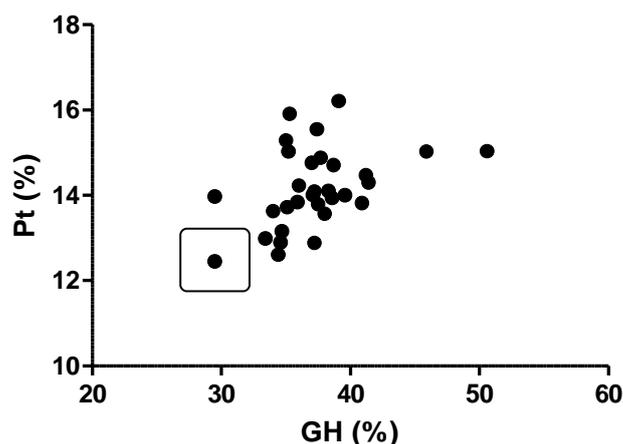


FIGURA 13: Gráfica de porcentaje de Pt en función de GH.

Siendo que GH es un indicador de la proporción de Pt formadoras de gluten en la harina se entiende entonces que éstas, si bien presentan cierta variación en su cantidad, resultan estar en similar proporción en las muestras estudiadas. Por

lo anterior, es posible afirmar que la proporción de Pt que formaran el gluten durante el amasado es similar más allá de que varíe el contenido total de Pt.

Se encontró que la única muestra que presenta un porcentaje de GH por debajo de lo recomendado es la M28, ésta se indica en la gráfica de la Figura 13 mediante un recuadro. Particularmente, resulta interesante destacar, que esta muestra también presenta bajos valores de Pt, el menor reportado para el conjunto de muestras.

Otro de los parámetros que permite describir las propiedades del gluten que se forma durante el amasado es GI. Tal como se mencionó en el capítulo Antecedentes, este parámetro permite identificar la proporción de componentes del gluten que se denominan fuertes, dado que depende de la cantidad de GH que atraviesa un filtro al ser centrifugado, siendo los componentes más fuertes del gluten retenidos en el filtro (Dowell et al. 2008). A partir de esto entonces, es posible clasificar a los trigos en fuertes o débiles. Un trigo es considerado fuerte cuando su GI es superior a 90 %.

Como ya se mencionó en apartado anterior en nuestro país es muy común encontrar trigos fuertes. En el conjunto de muestras se determinaron valores de GI que se encuentran en el rango entre 60 a 100 % de GI. Se puede observar en la Figura 14 la distribución de los resultados encontrados para la totalidad de las muestras analizadas.

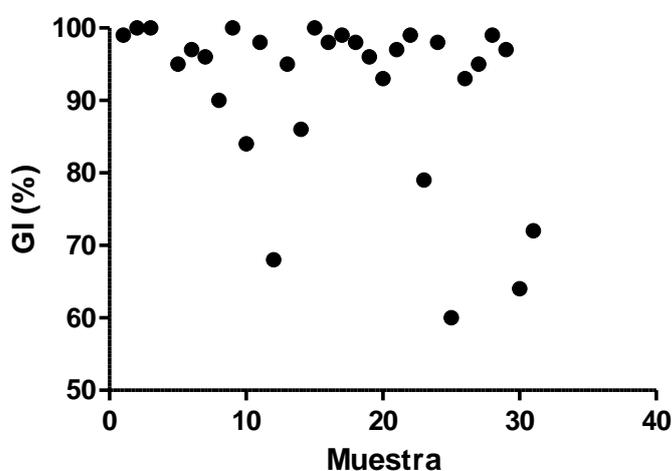


FIGURA 14: Gráfica del porcentaje de GI en las harinas estudiadas.

Si bien en la mayoría de las muestras se encontraron valores de porcentaje de GI que permiten clasificar a estos trigos como fuertes, se encontró que el 25 % de las muestras se encuentra por fuera de este rango. Esto representa una desviación, con relación a lo recomendado para su comercialización, sensiblemente mayor en comparación con lo determinado tanto para el contenido de Pt como para GH.

Este grupo de harinas, que presentan GI por debajo de 90 %, provenientes entonces de trigos débiles, particularmente presentan valores elevados de GH. Al analizar la relación entre ambos parámetros del gluten se encontró una fuerte correlación significativa negativa entre ellos ($r^2 = -0.70$). Se muestra en la Figura 15 la gráfica de GI en función de GH para la totalidad de las muestras evidenciándose la relación negativa entre ambos parámetros.

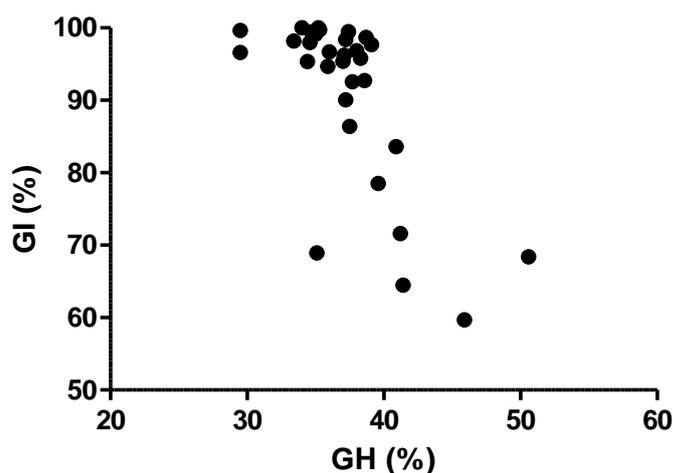


FIGURA 15: Gráfico de GI en función de GH.

Esta correlación significativa negativa entre los parámetros GH y GI permitiría predecir que a mayor cantidad de Pt formadoras de gluten, asociado a GH, menor será la proporción de componentes fuertes del gluten, asociado a GI.

En relación a lo anterior, ha sido reportado que los polímeros de glutenina son responsables de la fuerza de la masa y su elasticidad, mientras se asocia a la gliadina como responsable de la viscosidad y elasticidad de las masas (Barak et al. 2013). Dada entonces la funcionalidad distinta de ambos grupos de Pt formadoras de gluten, las variaciones en su proporción podría alterar su funcionalidad. Estas

variaciones en GI entonces estarían evidenciando variaciones en la proporción de estos componentes del gluten.

4.1.3 - Volumen de sedimentación

Se muestra en la Figura 16 la distribución de los resultados encontrados en relación a SDS, el cual como se menciona anteriormente es, reflejo de la cantidad de agua que las Pt formadoras de gluten pueden absorber. Se describe que las harinas para desarrollar un gluten de manera adecuada deben presentar un SDS superior a 12 mL, aunque superior a 15 se entiende ideal.

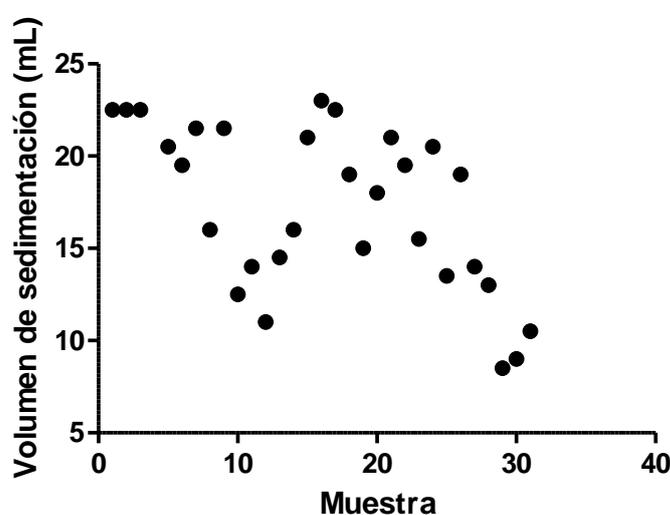


Figura 16: Gráfica de SDS en las harinas estudiadas.

Se encontró que el SDS está en el rango comprendido entre 6,5 y 23,0 mL. Estos resultados evidencian una gran variabilidad entre las muestras estudiadas dado que se cuenta con muestras que presentan valores de absorción de agua hasta casi 4 veces superior a otras.

Es posible observar de las gráficas presentadas en la Figura 13 que la distribución de los datos está de acuerdo con la correlación positiva encontrada entre este parámetro tanto con Pt como con GI ($r^2 = 0,43$ y $r^2 = 0,69$ respectivamente). Si bien con ambos existe una correlación significativa, el coeficiente de correlación al comparar el SDS con GI resulta mayor que con Pt. Este hecho podría estar asociado a que los dos primeros están directamente vinculados con la funcionalidad de las proteínas formadoras de gluten, que si bien se ha descrito tiene relación con Pt este parámetro considera únicamente cantidad e

incluye una pequeña proporción de proteínas que posteriormente no formarán parte del gluten.

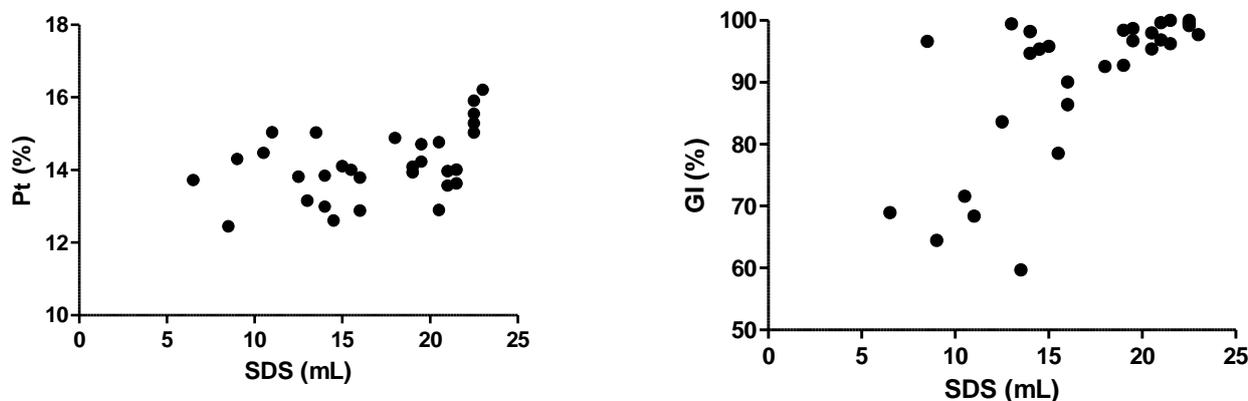


FIGURA 17: Gráfica de Pt (izquierda) y GI (derecha) en función de SDS.

Estos resultados están de acuerdo con estudios anteriores que reportan la correlación positiva entre el SDS y la capacidad de absorción de agua de la harina (Najafian 2012), resultando esto último de importancia ya que se entiende que a mayor cantidad de agua que éstas Pt puedan absorber mejor será el comportamiento de la harina durante la panificación (Vázquez 2009).

4.1.4 - Volumen de pan

Se encontró que el volumen de pan para las muestras estudiadas se encuentra en el rango de 430 a 803 mL para el caso del pan de molde y entre 333 y 655 mL para el pan francés. Se evidencia de estos resultados las grandes variaciones que presentan las distintas muestras siendo que algunas alcanzan prácticamente el doble de volumen que otras.

Del análisis de estos resultados en relación a los anteriores es posible determinar la fuerte correlación positiva entre SDS con VPM y VPF ($r^2 = 0.60$ y 0.84 respectivamente), las gráficas de dispersión de los resultados determinados se pueden observar en la Figura 18. De igual manera fueron determinadas correlaciones positivas significativas entre el VPM y VPF con GI ($r^2 = 0.43$ y 0.63 respectivamente).

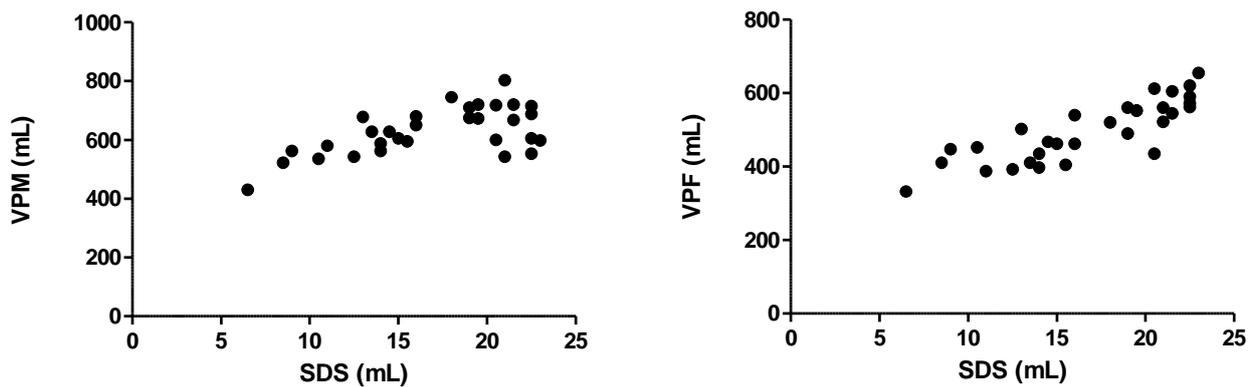


FIGURA 18: Gráficas de VPM (izquierda) y VPF (derecha) en función de SDS.

Del análisis del parámetro FrR es posible indicar que no existe una correlación significativa con Pt. En este sentido se encuentra que para muestras de similar FrR existen notorias diferencias en el contenido de Pt. Si consideramos la funcionalidad de las Pt por medio del SDS se encuentra que las muestras con mayores valores de FrR (M1, M8 y M15) resultan ser las que presentan mayor SDS. Sumado a esto, se confirmó la relación directa entre estos parámetros ($r^2 = 0.67$) y se puede observar en la Figura 19 el comportamiento del total de muestras en este sentido, en la cual se indica con un recuadro el grupo de muestras con alto FrR mencionado. Por otro lado, en la misma figura, es posible evidenciar la relación negativa entre los parámetros FrR y el porcentaje de GH ($r^2 = - 0.54$), lo cual resulta coherente con lo descrito anteriormente con respecto a la relación entre SDS y GH.

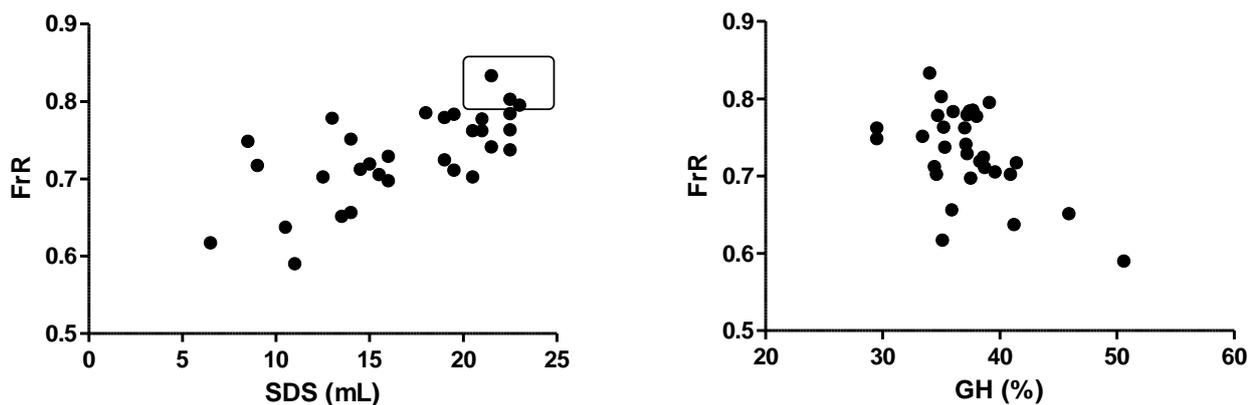


FIGURA 19: Gráficas de FrR en función de SDS (izquierda) y GH (derecha).

4.1.5 - Consideraciones en relación a proteínas y su funcionalidad

Con los resultados hasta aquí descritos, en relación al contenido de proteínas y aquellos parámetros que permiten describir su funcionalidad, es posible entonces confirmar la variabilidad en el conjunto de las muestras estudiadas.

Si tomamos en cuenta que el volumen del pan está directamente vinculado a la capacidad de retención de gases y a la calidad del gluten formado, estamos confirmando la fuerte relación entre los parámetros descritos en el presente apartado. Esto está de acuerdo con la relevancia del volumen de pan y la importancia de la determinación de los parámetros asociados con Pt y gluten para predecir la calidad panadera de las harinas.

Se encontró diversidad con respecto a la cantidad y también a la calidad de las Pt totales y aquellas formadoras de gluten, a la fuerza panadera del trigo del que provienen, y a su capacidad de formar panes de gran volumen. A pesar de esto las mayores variaciones se determinaron en relación a los parámetros que describen la funcionalidad del gluten (GI y SDS) más que las que describen el contenido de Pt y gluten (Pt y GH).

4.2 - Polisacáridos no amiláceos

Si bien los polisacáridos no amiláceos se encuentran en la harina en pequeña proporción, se ha descrito que estos juegan un rol determinante sobre las propiedades de las harinas durante el proceso de amasado y panificación.

En la Tabla 4 se presenta el resumen estadístico de los resultados obtenidos en relación a la cantidad de AX, las cantidades determinadas de su fracción soluble e insoluble en la harina, así como la relación entre los monosacáridos constituyentes en estas fracciones. Se incluye asimismo la proporción de AX que son solubles dentro de este grupo de compuestos (porcentaje de AXs sobre el total de AX). Los resultados determinados para todas las muestras se detallan en el Apéndice I (Tabla 16).

TABLA 4: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a cantidad y densidad de ramificaciones de AX.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
AX (%)	0,98	0,72	1,49	0,19
AXs (%)	0,31	0,16	0,62	0,10
AXi (%)	0,67	0,35	0,98	0,18
Proporción AXs (%)	32,3	20,7	63,7	10,7
A/X en AX	0,27	0,18	0,43	0,05
A/X en AXs	0,50	0,39	0,66	0,07
A/X en AXi	0,18	0,00	0,34	0,09

En la Tabla 5 se presentan el resumen estadístico de los resultados obtenidos en relación a la fracción insoluble aislada de AX incluyendo el porcentaje de extracción y purificación, el PM de ambos grupos de AXi determinados y su cantidad relativa determinada a partir del área (Áa y Áb). Los resultados determinados para todas las muestras se detallan en el Apéndice I (Tabla 17).

TABLA 5: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros estructurales de AXi aislados.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
PMa (g/mol)	12212	8033	16995	2521
PMb (g/mol)	4239	3178	5558	595
Áa	72,6	32,7	198,5	35,9
Áb	63,2	11,9	263,9	46,3
Áa/Áb	1,9	0,4	16,6	2,9

En la tabla 6 se presenta el resumen estadístico de los resultados determinados de los compuestos conjugados a ax, el contenido de af y af. Los resultados determinados para todas las muestras se detallan en el apéndice i (tabla 18).

TABLA 6: Promedio, rango y desviación estándar de los compuestos fenólicos conjugados a AX.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
Af* (µg/g de harina)*	6,1	2,7	12,5	4,4
AF* (µg/g de harina)*	7,7	3,1	17,3	6,3

*(µg/g de harina) determinados sobre 5 muestras seleccionadas.

4.2.1 - Pentosas libres

Del análisis por GC de los azúcares libres no fue posible identificar picos correspondientes a monosacáridos de pentosas. Se entiende entonces que la concentración de estos compuestos en las muestras de harina resulta menor que el límite de detección para el instrumento y la técnica (0,002 y 0,004 % para Ara y Xil respectivamente). Por lo anterior es posible predecir que las pentosas solo se encontrarán formando parte de compuestos de mayor tamaño, AX en este caso.

4.2.2 - Arabinosilanos

La determinación de AX requirió de la hidrólisis total de las muestras y de la digestión selectiva de la Glc liberada debido a que su gran proporción en la harina interfiere con el análisis necesario para cuantificar Ara, Xil y AX. En este sentido existen estudios que demuestran que el tratamiento llevado a cabo para la remoción de la Glc liberada no afecta a las pentosas presentes (Hashimoto et al. 1987).

Se puede observar en la Figura 20 la composición de azúcares del producto de hidrólisis (carril 3) y del producto de la digestión de Glc (carril 4). Si bien no es posible identificar pentosas a las concentraciones trabajadas, se verifica la presencia de grandes cantidades de Glc luego de la hidrólisis (carril 3) y su disminución prácticamente total, al comparar la intensidad de las manchas, luego de la digestión con levadura. Si bien se puede evidenciar que la digestión no removió la totalidad de la Glc, la disminución en su cantidad permite el posterior análisis mediante GC.

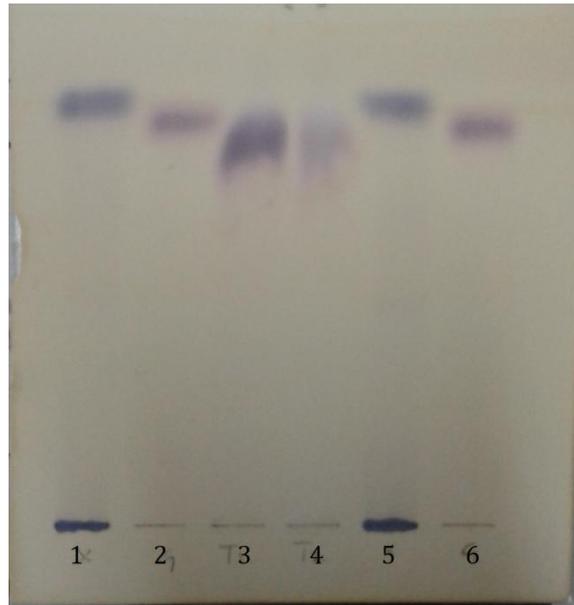


FIGURA 20: TLC de AX. Carriles: 1 y 5 estándares de Xil y xilano, 2 y 6 estándar de Glc, 3 hidrolizado de harina, 4 producto de digestión del hidrolizado de harina.

Luego de la derivatización de las muestras y a partir de los perfiles cromatográficos obtenidos se identificaron por comparación de los Rf de estándares los picos de Ara y Xil. Por el método de estándar interno, utilizando Myoinositol, se determinó la proporción relativa en la harina de Ara y de Xil. En la Figura 21 se muestra el cromatograma obtenido para una de las muestras (M1), teniendo las restantes un perfil similar.

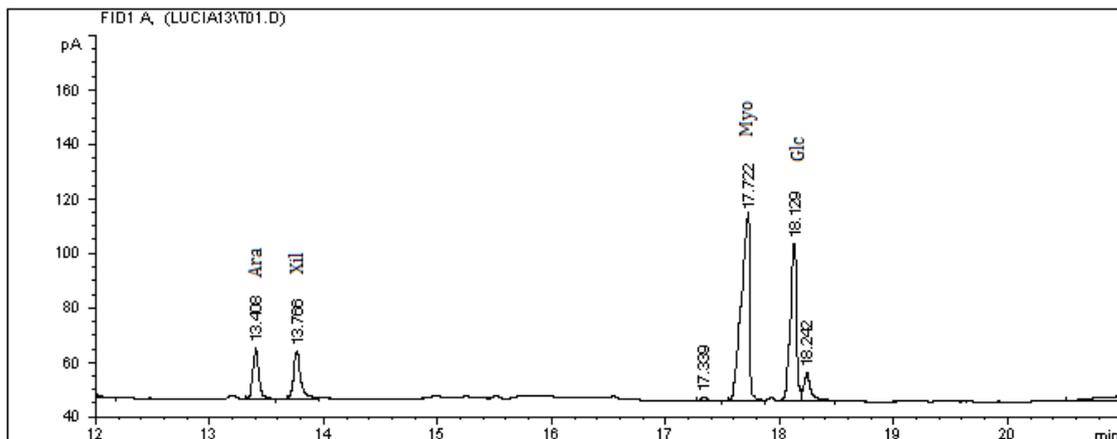


FIGURA 21: Cromatograma de GC para la determinación de AX en M1.

De manera similar se estudió la composición en AX de la fracción soluble. El análisis mediante TLC (Figura 22) permitió determinar la presencia de mono-, oligo- y polisacáridos (carril 4). Fue posible conocer los monosacáridos

constituyentes de éstos a partir del perfil obtenido luego de la hidrólisis de esta fracción soluble (carril 5), los cuales se determinó que se encuentran formados principalmente por hexosas y pentosas por comparación con los Tr de estándares.

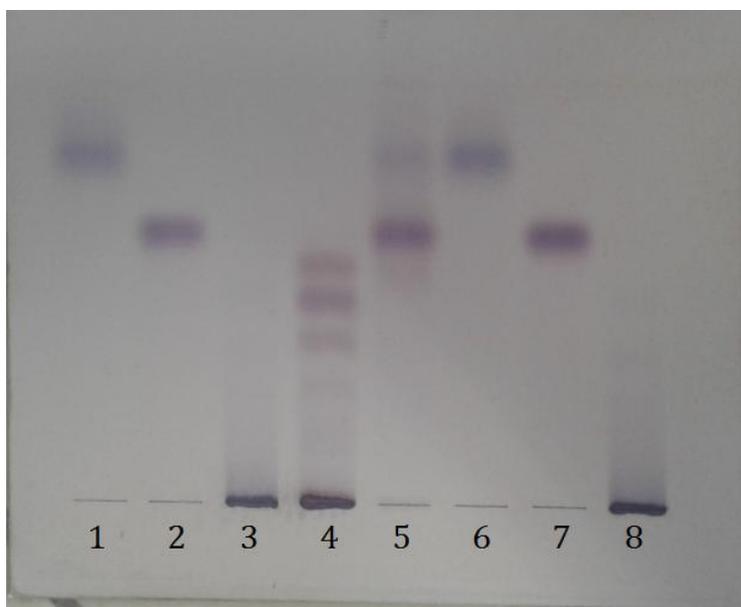


FIGURA 22: TLC de AXs. Carriles: 1 y 6 estándar de Xil, 2 y 7 estándar de Glc, 3 y 8 estándar de xilano, 4 fracción soluble de la harina, 5 hidrolizado de la fracción soluble de la harina.

El análisis mediante GC del producto de hidrólisis de la fracción soluble de la harina fue coherente con lo determinado mediante TLC. Se muestra en la Figura 23 el perfil cromatográfico obtenido para una de las muestras (M1), resultando similar para las restantes. Se identificaron residuos de Ara, Xil y Glc y se cuantificaron, como se describió anteriormente para la fracción de AX, a partir del método de estándar interno.

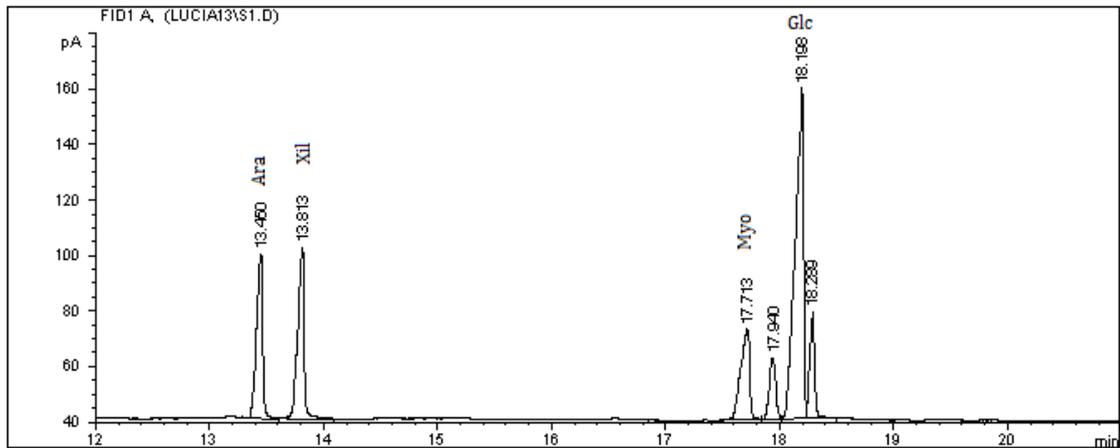


FIGURA 23: Cromatograma de GC para la determinación de AXs en M1.

Las cantidades relativas de Ara y Xil, el porcentaje de AX, AXs y AXi y la relación A/X para todas las muestras se determinaron a partir de las Ecuaciones 1-4.

Para las muestras estudiadas la cantidad de AX totales osciló entre 0.72 y 1.49 % siendo en promedio 1.0 %. Este promedio obtenido coincide con el límite inferior esperado descrito en Antecedentes. En relación a la densidad de ramificaciones, y la proporción entre los monosacáridos constituyentes se encontró para las muestras que las ramificaciones se distribuyen, en promedio, cada 2 a 5 residuos de la cadena principal de Xil. Esto representa una relación A/X en el rango entre 0.2 a 0.5. Se muestra en la Figura 24 el porcentaje de AX y la densidad de ramificaciones determinada.

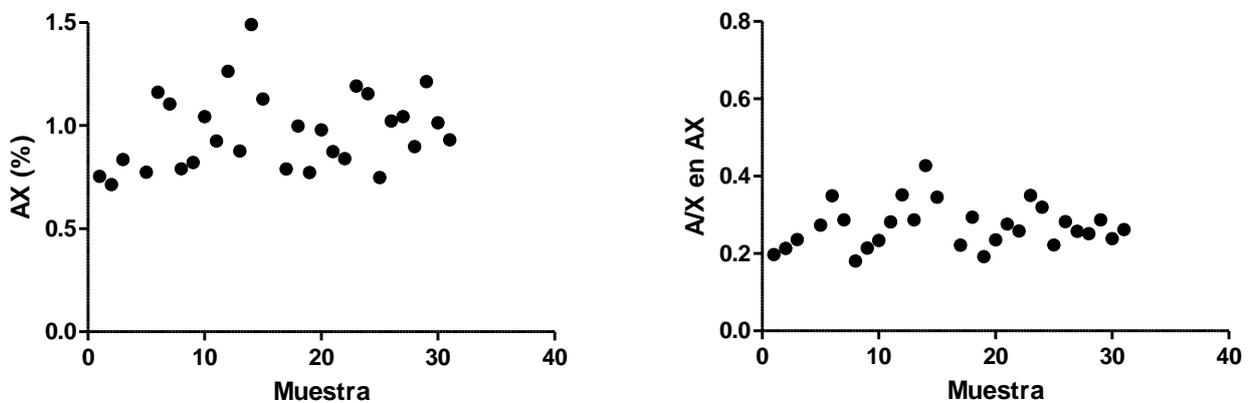


Figura 24: Gráficas del porcentaje de AX en harina y la relación A/X para todas las muestras.

Los AXs representan entre el 0.16 y 0.62 % (0.31 % el promedio). Este promedio encontrado, al igual que lo descrito para la fracción total de AX, coincide con el límite inferior de los datos reportados en la literatura. En el caso de las muestras estudiadas asimismo se evidencian muestras que presentan valores que abarcan el rango entre la mitad y el doble de este valor. El porcentaje de AX que son insolubles se encontró que se resultan ser entre el 0,35 y 0,98 % de la harina (promedio 0,67 %). A partir de las gráficas presentadas en la Figura 25 se pueden observar la distribución de los resultados encontrados con respecto al porcentaje de las distintas fracciones de AX.

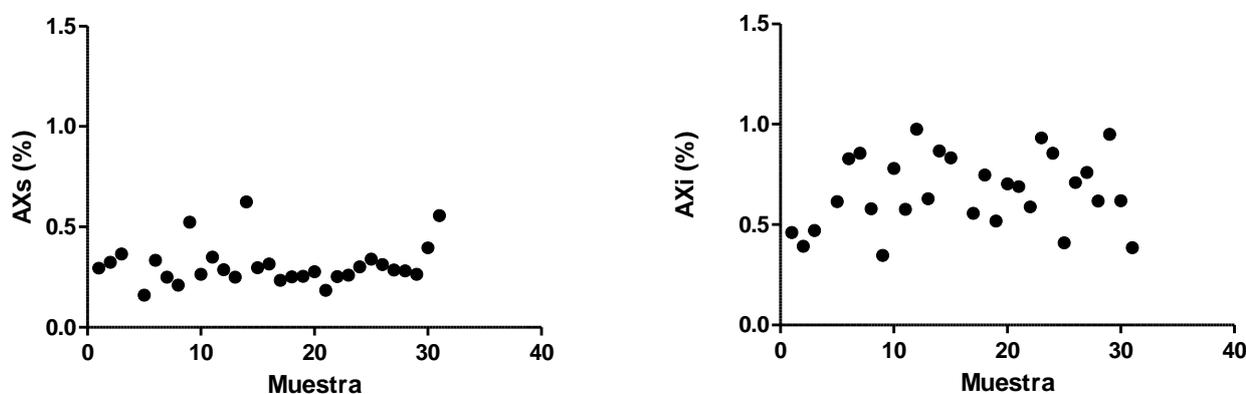


FIGURA 25: Porcentaje de AXs y AXi para las muestras estudiadas.

De acuerdo a los valores reportados en la literatura, los resultados obtenidos en este estudio se encuentran por debajo de lo esperado con relación al contenido de AX totales, solubles e insolubles. Sin embargo, en consonancia con estudios reportados, tal como se describió anteriormente, la proporción de los AXs en relación al total resultó ser en promedio del 32 %, con una gran variabilidad en este parámetro; mientras que el rango esperado a partir de la bibliografía se encuentra entre el 25 y 33% (J. a Delcour et al. 2010) para las harinas estudiadas se encuentra entre 21 y 64%.

En relación a la proporción de monosacáridos constituyentes en las distintas fracciones, soluble e insoluble, se encontraron diferencias que reflejan las variaciones estructurales de los AX presentes en cada una. La relación A/X encontrada en los AXs es mayor en comparación con lo encontrado para los AXi,

siendo en promedio 0,49 y 0,19 respectivamente. En todas las muestras se encuentra que la relación es menor a 0.35 para los AXi y mayor a este valor en los AXs. Estos resultados pueden observarse de las gráficas de la Figura 26.

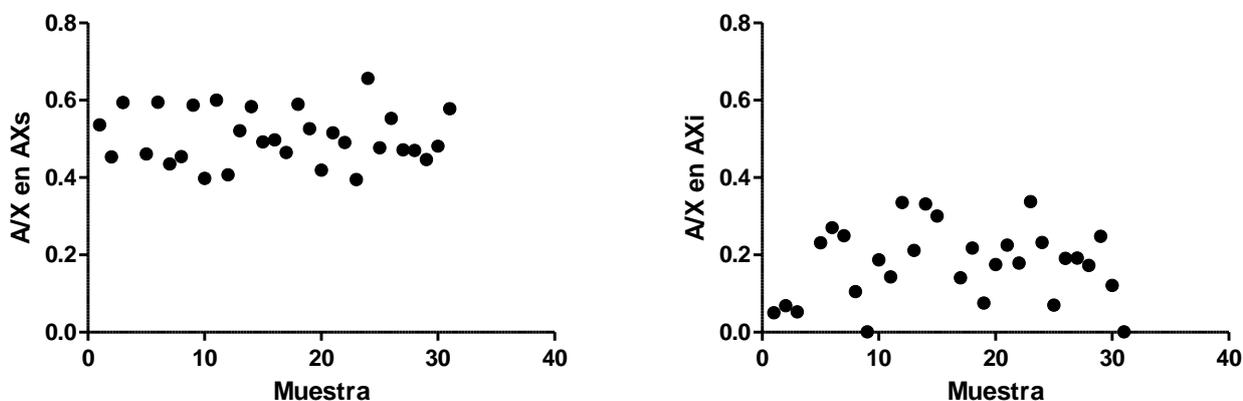


FIGURA 26: Gráfica de la relación A/X para las distintas fracciones de AX.

Este resultado confirma una diferencia estructural importante en las distintas fracciones ya que una relación mayor, como la encontrada en el caso de los AXs indica directamente una mayor proporción de Ara y por ende de ramificaciones de la estructura primaria de AX.

El grado de sustitución y la distribución de los residuos de Ara a lo largo de la cadena de Xil resultan de gran importancia ya que afectan la capacidad de los AX para interactuar entre ellos y con otros componentes de las paredes celulares. Se ha reportado que los AX que cuentan con bajo grado de sustitución tienden a conformar complejos insolubles limitando así la absorción de agua. Por otro lado aquellos que se encuentran altamente sustituidos retienen gas y agua, y pueden proporcionar textura suave y flexibilidad a la masa (Revanappa et al. 2015).

A partir de este grupo de parámetros presentados es que se pueden evidenciar algunas relaciones tanto entre la cantidad como con la densidad de ramificaciones de los AX y de cada una de las fracciones de AX, soluble e insoluble, estudiadas.

Por un lado es posible evidenciar la relación entre los datos obtenidos para AX con los de AXi (Figura 27), tanto del porcentaje de éstos como de la relación A/X, una tendencia positiva. Esto se confirma a partir de los análisis de correlación para estos datos encontrándose en ambos casos una correlación positiva significativa ($r^2 = 0.86$ y 0.83 respectivamente). Esta correlación en los parámetros presentados podría estar explicado por la gran proporción que resulta significar la cantidad de AXi con respecto a la totalidad de AX (en promedio el 68% de AX son AXi). Por lo anterior es que resultaría esperable que entre AX y AXi existan características compartidas.

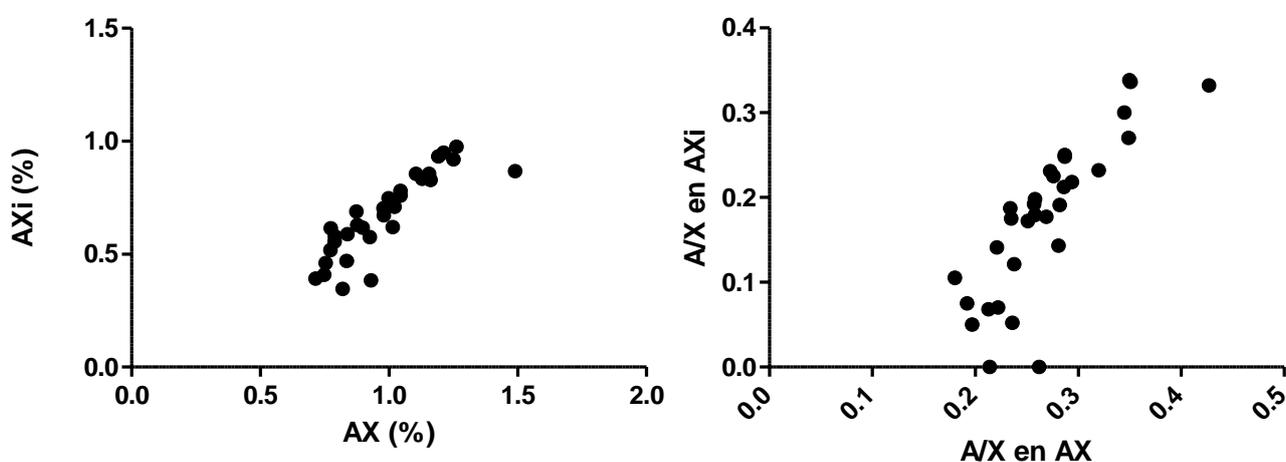


Figura 27: Gráfica de porcentaje de AXi en función de AX (izquierda) y relación A/X en AXi en función de en AX (derecha).

Por otro lado, para cada una de las fracciones de AX estudiada se encontró una relación directa entre la cantidad de éstos en la harina y su relación A/X. Esto indicaría que a mayores cantidades de AX, AXs y AXi mayor será entonces la proporción de Ara en la cadena ($r^2 = 0.82$, 0.47 y 0.91 respectivamente). Se muestra en la Figura 28 la distribución de los resultados que permiten comparar la relación de A/X con el contenido de la misma en la harina tanto para AX como para AXi, teniendo la fracción AXs un comportamiento similar. Esto es evidencia de que a mayor cantidad en la harina de estas fracciones entonces más ramificaciones presentaran.

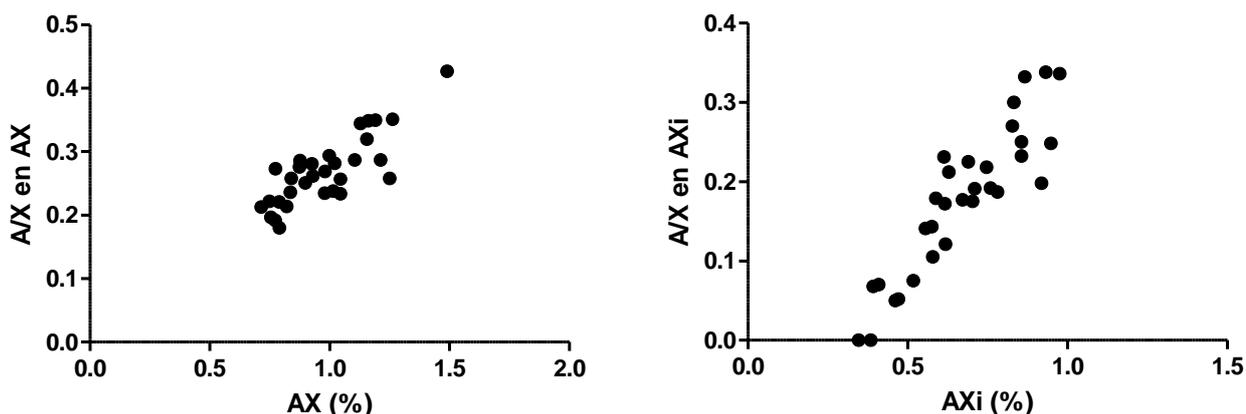


Figura 28: Gráficas de A/X en AX (izquierda) y en AXi (derecha) en función del porcentaje de cada una de las fracciones.

4.2.3 - Distribución de peso molecular de AXi

La fracción insoluble de AX fue obtenida a partir de la combinación de distintas estrategias experimentales que involucraron diversas etapas. Inicialmente se gelatinizó el almidón e inactivó las enzimas endógenas que pudieran estar presentes en la harina. Luego se degradó el almidón y proteínas a componentes de menor tamaño que fuesen capaces de solubilizarse en agua, para conservar la fracción insoluble de la harina enriquecida en AX. Para permitir el análisis de esta fracción se la trató con un medio alcalino, dado que la ruptura de las uniones éster permite solubilizar parcialmente a los AXi en agua.

Se obtuvieron porcentajes de extracción y purificación de AXi que presentaron grandes diferencias entre las distintas muestras de harina. Fue posible recuperar en la purificación entre el 14 y el 73 % de los AXi con un promedio de 34 %. Estas diferencias pueden deberse tanto a la naturaleza de los AXi y su capacidad para solubilizarse en soluciones alcalinas como a la eficacia del proceso de extracción y purificación.

El tratamiento alcalino hidroliza los enlaces éster que unen a los AX con otros componentes de la harina. En consecuencia, se purificaron aquellos AXi capaces de solubilizarse en soluciones alcalinas, principalmente aquellos que fueran insolubles debido a interacciones con otros componentes de la harina.

A partir de los cromatogramas de HP-SEC se obtuvo el perfil de distribución de PM de los compuestos aislados. Este análisis, que permite obtener la distribución de PM, separa los componentes de la fracción aislada en función de su tamaño. Dado que los compuestos de mayor tamaño resultan ser menos retenidos en la columna de cromatografía, entonces arrojarán señales a tiempos menores, mientras que los compuestos de menor tamaño se identificarán en los perfiles a mayores Tr.

Se muestran en la Figura 29 los perfiles cromatográficos obtenidos para las muestras estudiadas. Cabe destacar que los perfiles de las fracciones aisladas presentan ciertas variaciones aunque comparten características comunes.

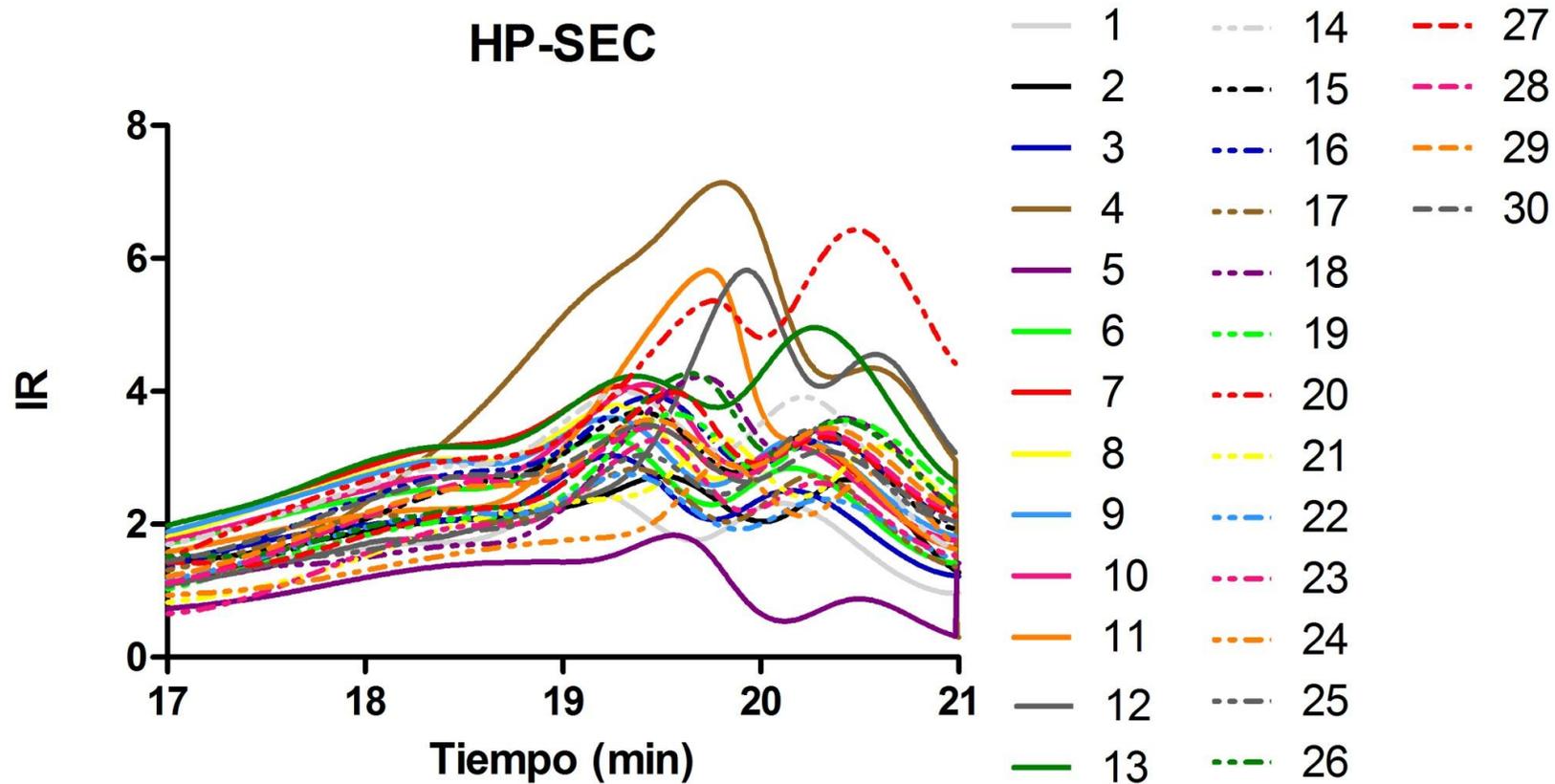


FIGURA 29: Perfil cromatográfico de HP-SEC obtenido para las fracciones de AXi aisladas.

Dado que resulta poco claro el estudio de los perfiles a partir de la Figura anterior, se muestra en la Figura 30 el mismo perfil cromatográfico de HP-SEC obtenido para algunas muestras seleccionadas, con el propósito de permitir visualizar de una manera más clara las diferencias y similitudes en algunos perfiles que se describen a continuación.

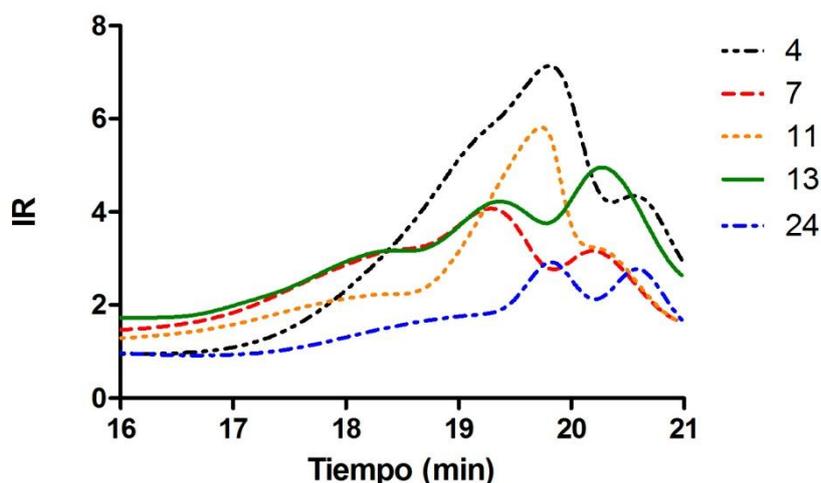


FIGURA 30: Perfil cromatográfico obtenido mediante HP-SEC obtenido de las fracciones de AXi aisladas para las muestras M4, M7, M11, M13 y M24.

Los perfiles cromatográficos no permiten, por la forma particular de las señales, identificar compuestos de tamaño único, sino que representan grupos de compuestos de tamaño similares en cada una de las muestras, esto se describe comúnmente como alto índice de polidispersión. Esto, y en consonancia con la literatura, indica que los AX no presentan un PM único sino que están presentes en la harina como grupos de compuestos de tamaños similares, que posiblemente presentan variaciones tanto en el largo de la cadena de Xil como en la cantidad de ramificaciones de Ara.

Fue posible identificar, en todos los perfiles cromatográficos, dos grupos de compuestos con rangos de PM diferentes entre sí. Los grupos de compuestos que presentan el máximo en las señales de IR entre los 19 y 20 min se denominaron de PM alto (PMa), mientras que aquellos que lo hacen entre los 20 y 21 min como de PM bajo (PMb).

A partir de la relación logarítmica entre el Tr y el PM de estándares de tamaño conocido (Figura 31) se estimó el PM medio de los picos identificados. Para el primer grupo (PMA) se encontraron máximos comprendidos en el rango de 8000 a 17000 g/mol, indicando que se tratan de compuestos de pentosas conformados por entre 60 y 128 unidades. Por otro lado, los del segundo grupo (PMB) presentan mayoritariamente compuestos entre los 3000 y 6000 g/mol (conformados por entre 23 y 41 unidades de pentosas).

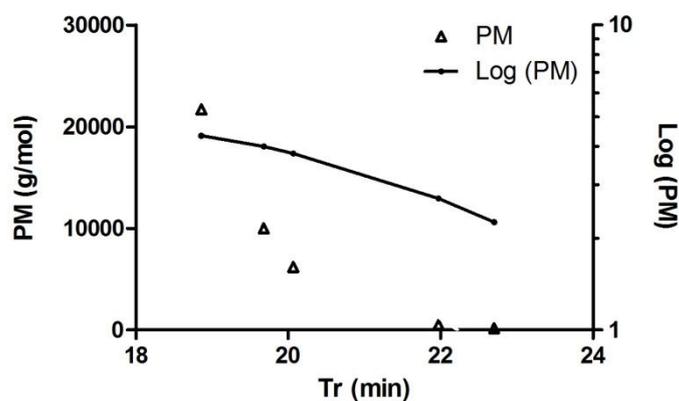


FIGURA 31: Curva de calibración de HPSEC.

Con respecto al PM de los grupos encontrados, si bien en la literatura se reporta la presencia de estos dos grupos que se diferencian entre sí por su tamaño, se describen valores mayores en relación al tamaño. Estos estudios, se basan en el estudio de los AXi aislados de las partes externas del grano, de los cuales se sabe que tendrán diferencias en su tamaño y estructurales en comparación con los AXi aislados de la harina (Escarnot et al. 2011). Por lo que no resulta adecuado establecer comparaciones entre lo reportado y lo determinado del mencionado análisis. Es necesario considerar que el tratamiento alcalino fuerte rompe enlaces éster que pueden tener los AX entre sí o con otros compuestos. Por lo que es relevante considerar que el análisis estudia las fracciones no degradadas que se liberan al romper los estos enlaces, lo que se podría denominar como las unidades básicas o monoméricas que se encuentran formando a los AXi.

Al comparar el PM de ambos grupos se encontró una correlación significativa positiva ($r^2 = 0.44$) (Figura 32). Esta relación está de acuerdo con lo

planteado por Cleemput et al. (1995), quienes proponen que si bien existen variaciones para cada harina, proponen también que todas las fracciones de AXi presentan dos grupos de compuestos de similar PM pero que están presentes en diferentes cantidades relativas.

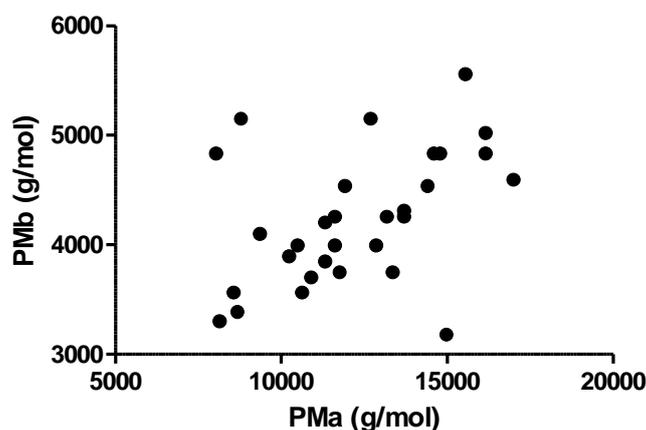


FIGURA 32: Gráfica de PMb en función de PMa.

Por otro lado, este análisis permitió estimar la cantidad relativa de cada uno de los grupos de AXi identificados. Dado que la intensidad de las señales está directamente relacionada con la concentración de los compuestos, esta cantidad relativa se estimó integrando el área debajo de las curvas (definidas como \bar{A}_a y \bar{A}_b para los grupos de PMa y PMb respectivamente).

Esta cantidad relativa resulta ser una medida arbitraria que, estudiada de manera independiente a los restantes parámetros determinados de este estudio, aporta escasa información. De todas maneras, esta determinación permite por un lado determinar la relación entre ambas (\bar{A}_a/\bar{A}_b) indicando la proporción de componentes de alto y bajo PM en la fracción insoluble de AX y por otro lado permite correlacionar esta información con otros factores.

En la figura 33 se comparan las áreas relativas, representando de esta manera la proporción relativa de cada uno de los grupos en el total de la fracción insoluble aislada, para cada grupo.

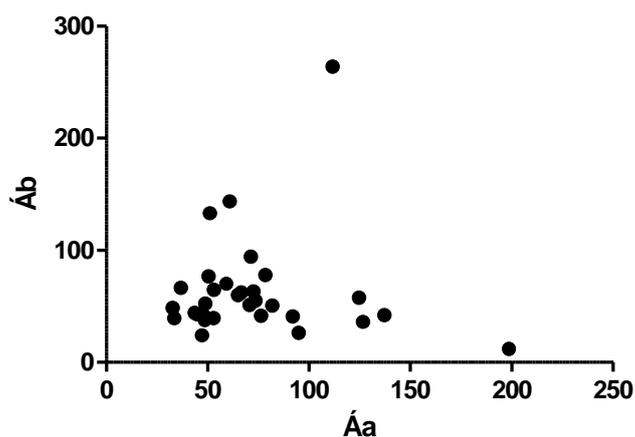


FIGURA 33: Gráfica de Áb en función de Áa.

Cabe destacar que la muestra M11 presenta Áa sensiblemente por encima de las demás, e incluso una relación $\text{Áa}/\text{Áb}$ casi 9 veces mayor que el promedio, indicando la mayor proporción de componentes de alto PM en la fracción insoluble aislada. Se evidencian las particularidades de esta muestra al combinar altos valores de Pt con bajo SDS, parámetros que presentan una correlación positiva al analizar la totalidad de las muestras, indicando que aún en gran proporción, la funcionalidad de las Pt, o más específicamente su capacidad de retención de agua, en la M11 resultaría ser limitada. Por otro lado la muestra M26 que presenta mayor Áb, presenta valores cercanos al promedio para los restantes parámetros estudiados.

4.2.4 - Ácidos fenólicos

A partir de la estrategia experimental desarrollada fue posible determinar distintas fracciones de AF presentes en las muestras. Por un lado las fracciones extraídas en metanol contienen a aquellos compuestos fenólicos que se encuentran o bien libres o bien unidos a compuestos de bajo PM, liberados estos últimos de la hidrólisis alcalina. Del análisis por HPLC de estas fracciones no se detectaron cantidades significativas de AF. Por otro lado, al estudiar las fracciones no extraíbles en metanol, fue posible determinar los AF que en las muestras se encuentran unidos mediante enlaces éster a compuestos de alto PM, encontrándose a los AX y Pt dentro de este grupo.

El análisis por HPLC, dado que detecta señales de compuestos que absorben en el espectro ultravioleta, permite identificar Af y otros AF. La cantidad de estos compuestos fueron estimados a partir de la curva de calibración elaborada a partir de soluciones de distintas concentraciones de Af, por lo que se reportan los valores que corresponden a cantidades de éste. Se muestra en la Figura 34 el cromatograma de HPLC obtenido para una de las muestras (M21), evidenciándose la señal de Af (Tr 12,7 min), obteniéndose para las restantes perfiles similares.

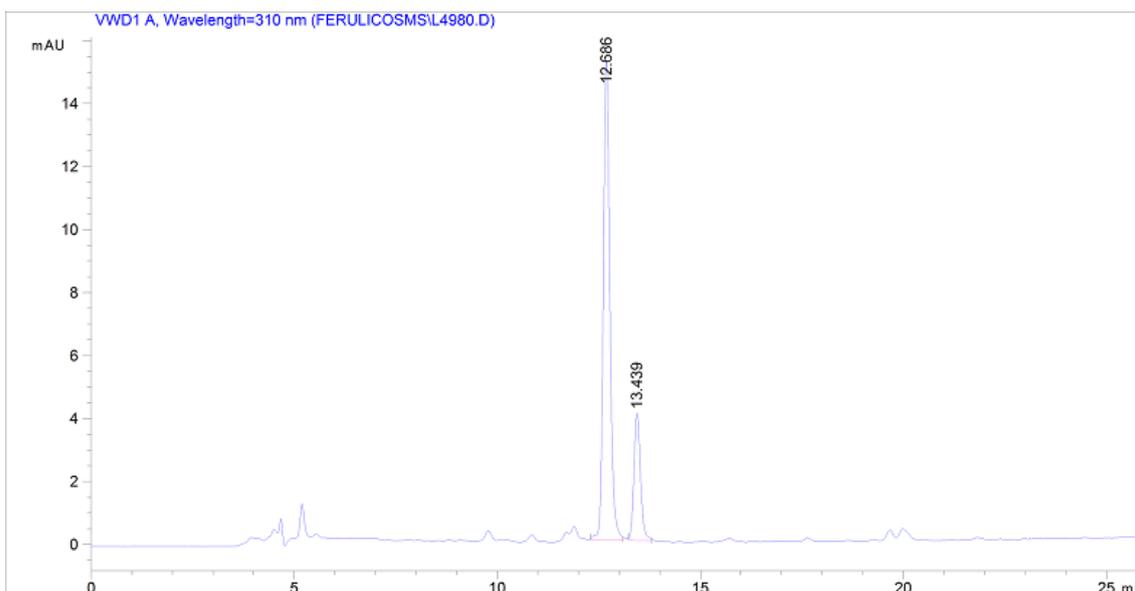


Figura 34: Cromatograma de HPLC de la fracción aislada de AF no extraíbles en metanol para la M21.

Se muestra en la gráfica de la Figura 35 la concentración de las distintas fracciones para las 5 muestras analizadas. El contenido de Af se encontró en el rango de 2,7 a 12,5 μg por g de harina, mientras que el de AF totales resultó entre 3,1 y 17,3 μg por g de harina. Si bien, tal como se mencionó anteriormente, se han reportado previamente grandes variaciones en el contenido de compuestos fenólicos presentes en harina de trigo, los resultados se encuentran en consonancia con lo reportado por Skendi et al. (2011).

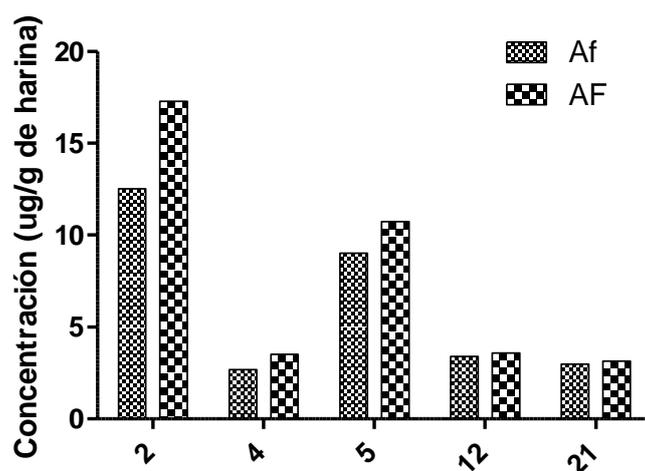


FIGURA 35: Gráfica del contenido de AF y Af en las muestras M2, M4, M5, M12 Y M21.

A partir de los valores determinados se pudo estimar que la proporción de Af resulta ser entre 72 y 95 % con respecto a la totalidad de fenólicos. Confirmando esto entonces su gran proporción, ya que el Af es el principal aporte a los AF en trigo, aspecto descrito anteriormente en la literatura.

A partir de estos resultados, en relación a los compuestos fenólicos, se evidencia una fuerte correlación positiva, significativa estadísticamente, entre Af y AF ($r^2 = 0.99$), lo cual a su vez puede observarse claramente a partir de la Figura 36. Es decir, más allá de que varíe la concentración, o la cantidad de compuestos derivados de AF, éstos lo hacen en la misma proporción en cada harina.

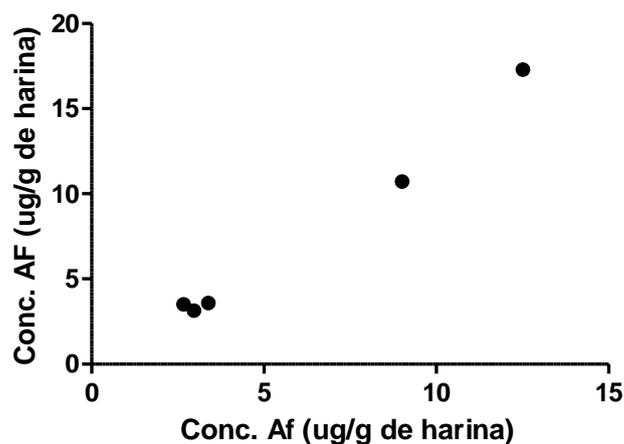


FIGURA 36: Gráfica de la concentración de AF en función de Af.

Sumado a la relevancia ya descrita de estos compuestos en la funcionalidad de las harinas se encontró una correlación directa entre el contenido de Af y otros parámetros estudiados, tanto con el contenido de AXs y PMA. Se muestra en la Figura 37 las gráficas que permiten evidenciar la distribución de los datos al comparar estos parámetros.

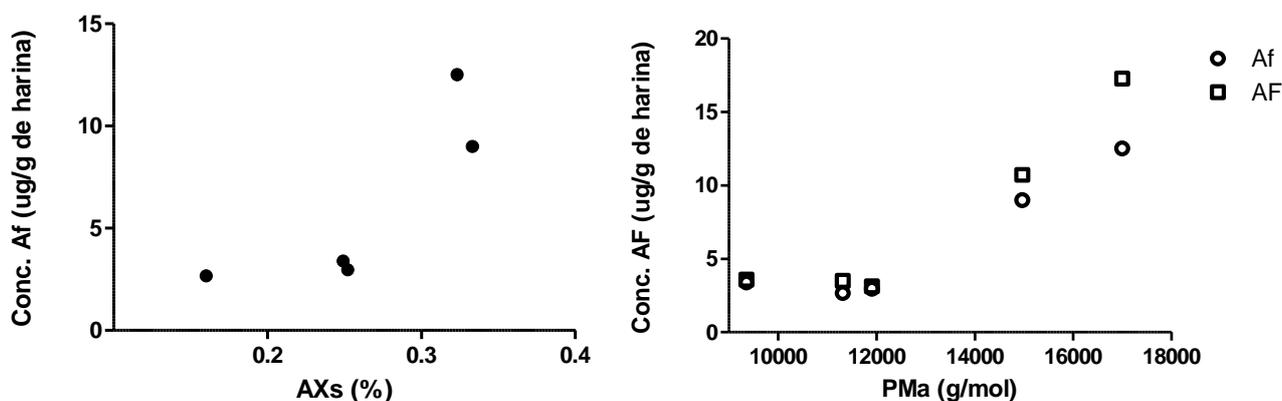


FIGURA 37: Concentración de Af en función de AXs (izquierda).
Concentración de AF en función de PMA (derecha).

Por un lado es interesante destacar la correlación del contenido de Af con el de AXs ($r^2 = 0.82$). Es relevante recordar la relación encontrada entre el contenido de AXs y su densidad de ramificaciones. En este caso el mayor contenido de Af estaría asociado a una mayor cantidad de AXs y a una mayor proporción de residuos sustituidos. Por otro lado se encontraron correlaciones significativas

entre las cantidades de fenólicos, tanto Af como AF, y el PM del grupo de AXi de mayor tamaño ($r^2 = 0.93$ y 0.94 respectivamente), indicando que posiblemente la presencia de estos compuestos en las fracciones insolubles de AX resulta ser proporcional a su tamaño.

4.3 - Influencia de los AX sobre los parámetros asociados a proteínas y su funcionalidad

Inicialmente se estudió la influencia de los AX sobre los parámetros predictores de calidad a partir de las correlaciones simples. Resulta relevante de destacar que no se encontró correlación alguna entre los parámetros determinados en relación a AX y el contenido de Pt en las harinas.

Por otro lado, se encontró relación entre los parámetros de AX con aquellos que están directamente vinculados con las propiedades de las proteínas formadoras de gluten. Existe una correlación significativa negativa entre el contenido de AX y el SDS ($r^2 = -0.37$). La distribución de estos datos puede observarse en la gráfica de la Figura 38.

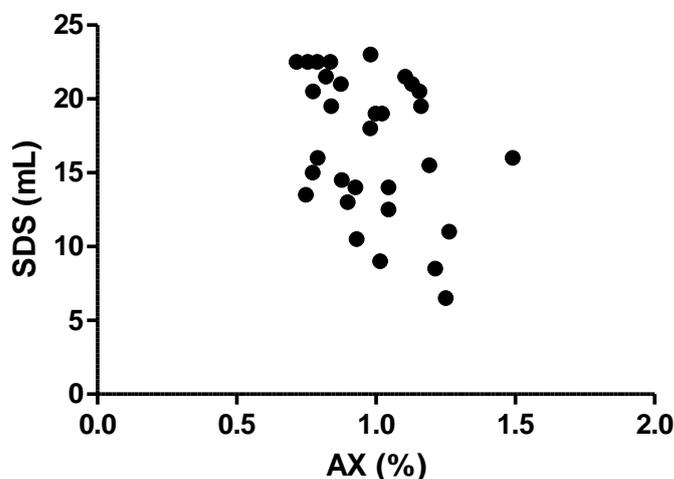


FIGURA 38: Gráfica de SDS en función de AX.

También se encontró una correlación significativa entre la relación entre las cantidades de los grupos de AXi purificados, Áa/Áb, y el porcentaje de GH ($r^2 = 0.53$). Se muestra en la Figura 39 la distribución de los datos de GH en función de Áa/Áb. Particularmente la muestra que presenta mayores valores de Áa/Áb, M11,

también tiene la menor relación FrR, el mayor porcentaje de GH y coincide con altos valores de Pt y AX y bajo SDS y relación A/X en la fracción soluble.

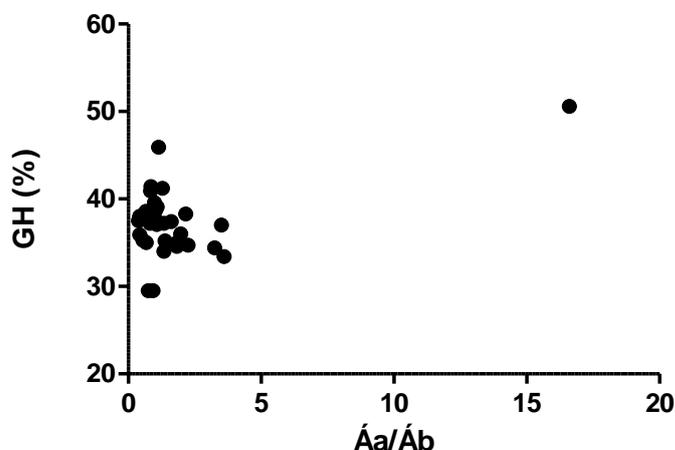


FIGURA 39: Gráfica de GH en función de Áa/Áb.

Con respecto al volumen de los panes se encontraron también correlaciones significativas negativas entre AX y el VPM y VPF ($r^2 = -0.37$ y -0.45 respectivamente) (Figura 40) y entre este último y el porcentaje de AXi ($r^2 = 0.37$).

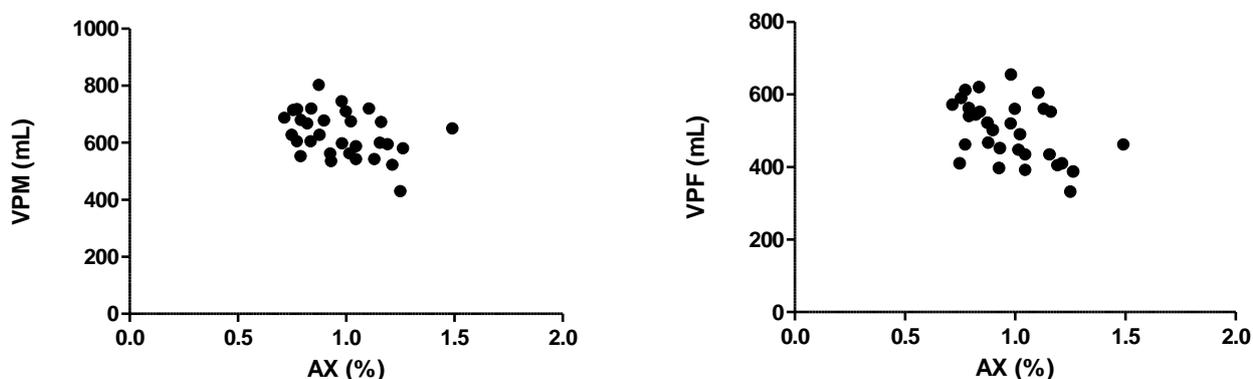


FIGURA 40: Gráficas de VPM (izquierda) y VPF (derecha) en función de AX.

Si bien en este análisis no se encontró una relación significativa entre el contenido de AXs y el volumen del pan, dada la fuerte correlación entre los AX y AXi descrita anteriormente, los resultados encontrados están de acuerdo con lo reportado por Courtin, Gelders, y Delcour (2001). En este trabajo los autores proponen que los AXi insolubles provocan efectos negativos sobre el volumen del pan. Otros autores asimismo confirman la influencia de estos compuestos

proponiendo que principalmente el volumen del pan está afectado tanto por la cantidad de Pt, el contenido de AX y su extractabilidad en agua como por las interacciones entre estos (Shogren et al. 1987; Amiour et al. 2002).

Con respecto a la relación entre el alto y el ancho del pan francés se encontró que está de alguna manera influenciado por el contenido de AX y por $\text{Áa}/\text{Áb}$ ($r^2 = -0.37$ y -0.43 respectivamente) (Figura 35)

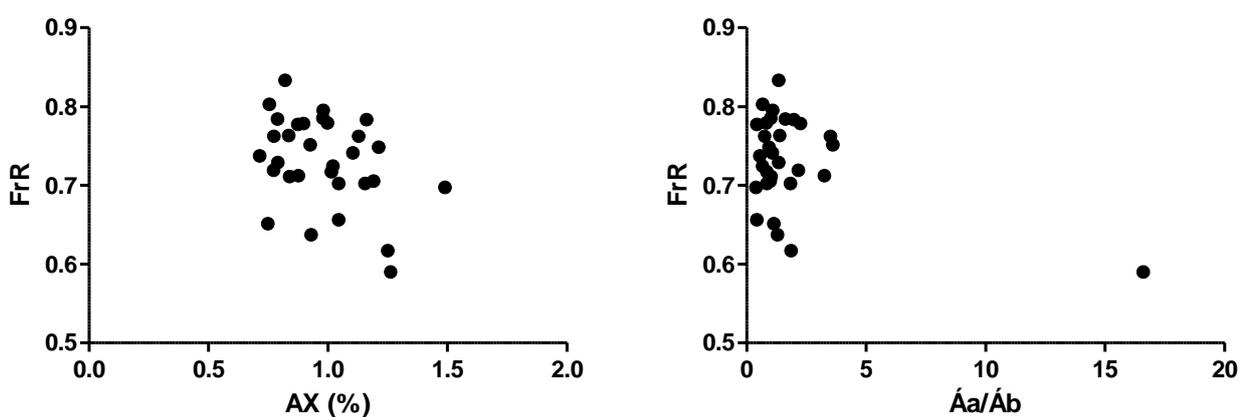


FIGURA 41: Gráficas de FrR en función de AX (izquierda) y de $\text{Áa}/\text{Áb}$ (derecha).

A partir de las correlaciones encontradas es posible entonces anticipar que las variaciones en el contenido y/o en las características de los AX presentes en la harina tienen relación con los parámetros que tradicionalmente permiten describir el comportamiento del gluten durante el proceso de panificación. Principalmente en relación a la cantidad total de AX y la proporción de los distintos grupos de AX dentro de la fracción insoluble.

En general se encontró que los AX tienen una influencia negativa sobre los parámetros tradicionales de predicción de calidad como son el SDS y el volumen de pan, éstos últimos vinculados directamente con el contenido de Pt y la funcionalidad de estas formadoras de gluten durante el amasado. Por otro lado se encuentra positiva la relación entre la proporción de los AXi purificados de mayor tamaño y el GH y FrR.

4.4 - Propiedades reológicas y estructurales de la masa

Las propiedades reológicas de las masas se utilizan tradicionalmente para predecir el comportamiento de las harinas durante las etapas iniciales del proceso de panificación. Los parámetros determinados son actualmente utilizados para estimar diversas características reológicas de las cuales se conoce que se encuentran directamente relacionadas o permiten predecir el volumen del pan, la capacidad de absorción de agua de la masa, la estabilidad de la masa y la calidad de la harina para la elaboración de diversos productos.

Los resultados determinados en relación a las propiedades reológicas y estructurales de la masa se detallan para todas las muestras en el Apéndice I (Tabla 19). En la Tabla 7 se presenta el resumen estadístico de los resultados obtenidos en relación a la fuerza panadera de la masa, su elasticidad y extensibilidad determinados a partir del Alveograma.

TABLA 7: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros obtenidos del Alveograma.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
W (J x 10⁻⁴)	314	160	510	86
P (mm)	85	55	124	17
L (mm)	96	34	146	26
P/L	1,0	0,4	3,0	0,5

En la Tabla 8 se presenta el resumen estadístico de los resultados tanto de EST como ABS de la masa determinados del Farinograma.

TABLA 8: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros obtenidos del Farinograma.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
EST (min)	35,8	7,5	79,0	20,1
ABS (%)	58,3	52,3	64,8	2,6

En la Tabla 9 se describen asimismo los resultados determinados a partir del Mixograma, siendo éstos HMAX y TMEZ de la masa.

TABLA 9: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros obtenidos del Mixograma.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
HMAX (cm)	5,1	3,6	6,3	0,6
TMEZ (min)	5,7	3,3	9,7	1,5

A continuación se analizan los resultados obtenidos en relación al comportamiento y propiedades reológicas de las masas y su posible vinculación con la caracterización química de los carbohidratos no amiláceos.

4.4.1 - Alveograma

El parámetro más relevante obtenido de este análisis es W, o la fuerza panadera de una harina. En el conjunto de muestras estudiadas solo algunas tienen valores de fuerza de acuerdo a los valores entendidos como ideales. La mayoría de las harinas analizadas tienen un W superior a 300×10^{-4} J por lo que se entiende que fueron obtenidas a partir de trigos fuertes. Se presenta en la Figura 42 la gráfica de dispersión de los resultados determinados para W en función del contenido de los componentes minoritarios, los AX. Se encontró de la comparación de estos dos parámetros mencionados una correlación estadísticamente significativa que describe su relación inversa ($r^2 = 0.36$), es decir se encuentra para muestras que tienen mayores valores de W entonces un menor contenido de AX y viceversa.

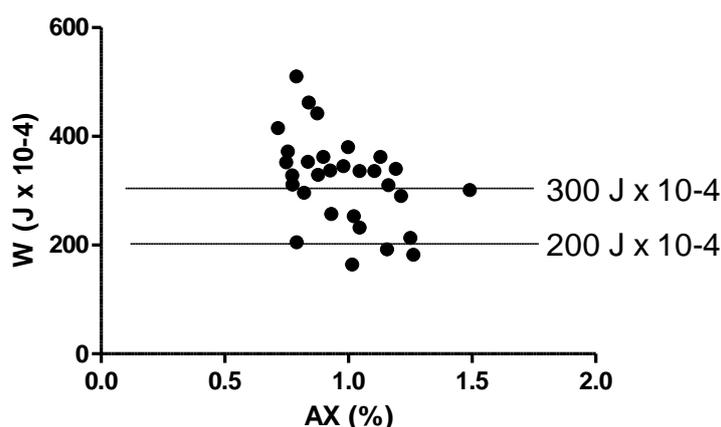


FIGURA 42: Gráfico de W en función del contenido de AX.

Al estudiar la relación de este parámetro determinado del alveograma, W, con otros estudiados en apartados anteriores resulta interesante de destacar la

relación que presenta con aquellos relacionados al contenido de proteínas y la funcionalidad de aquellas formadoras de gluten. En este sentido se encontró que W presenta una correlación positiva, estadísticamente significativa, con SDS, GI y el contenido de Pt ($r^2 = 0.76, 0.62$ y 0.41 respectivamente). Esto está de acuerdo con investigaciones anteriores (D'egidio et al. 1993). Como se evidencia de los coeficientes de correlación, este parámetro que permite clasificar a los trigos en fuertes o no, W estaría más fuertemente correlacionado con los parámetros que describen la funcionalidad de las proteínas formadoras de gluten (SDS y GI) que con el contenido de Pt en sí.

Con respecto a los parámetros predictores de L y elasticidad de las masas se puede notar, a partir de la Figura 43 que no todas las harinas se encuentran comprendidas en el rango esperado para el adecuado desarrollo de las masas.

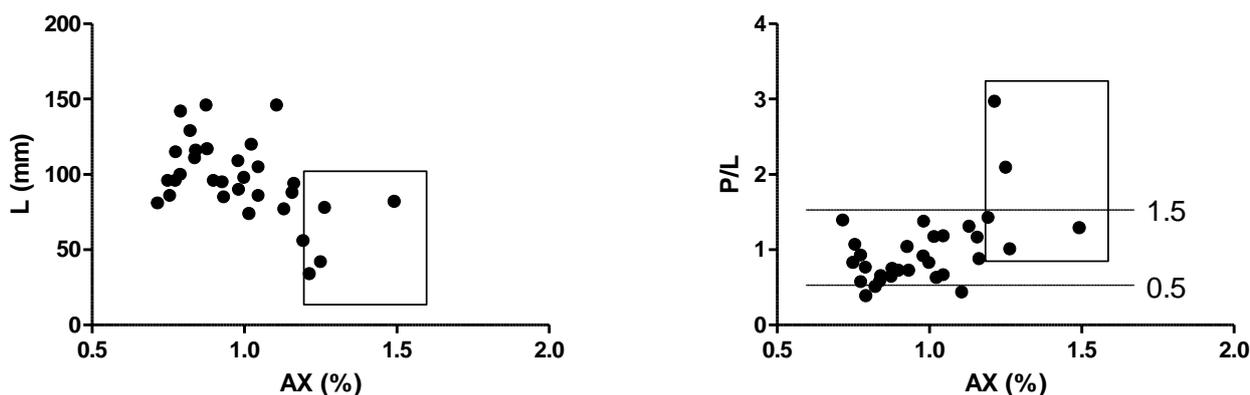


FIGURA 43: Gráficas de L (izquierda) y P/L (derecha) en función de AX.

Aquellas harinas en las que se obtienen valores de P/L superiores a las deseadas coinciden con aquellas que contienen mayor proporción de AX. Se observa para estas muestras la baja L. La muestra M28 que presenta el mayor valor de P/L se destaca entre las que presentan bajo W y particularmente alto porcentaje de AXi. Por otro lado, las muestras con menores valores de P/L, M6, M7 y M8, presentan las menores relaciones A/X en las fracciones soluble, total e insoluble respectivamente.

Se confirman los resultados preliminares descritos en Garófalo et al. (2011) con respecto a las correlaciones negativas que presentan los resultados obtenidos

de L con AX y AXi ($r^2 = -0.49$ y -0.38 respectivamente) y positivas entre P/L y AX y AXi ($r^2 = 0.49$ y 0.46 respectivamente).

Una mayor cantidad de AX y AXi se ha descrito que provoca agregados de mayor tamaño en la masa, y por esta razón, podría perder o verse reducida su capacidad para extenderse sin romperse (L). Este aspecto resulta particularmente relevante ya que la extensibilidad es la principal limitante de la calidad de los trigos en nuestro país (Vazquez et al. 2004).

4.4.2 - Farinograma

Los parámetros más relevantes que ofrece el farinograma son ABS y EST. En relación al primero, siendo la cantidad de agua que una harina absorbe hasta alcanzar una consistencia determinada, se encontró que las muestras presentan valores de ABS que se encuentran en el rango entre 52 y 65 %. Recordando en este sentido que un porcentaje superior a 60 se considera ideal y uno inferior a 55 se considera inadecuado para el correcto desarrollo de las masas. Si bien solo 7 muestras están por encima de los valores ideales, la mayoría está por encima del valor mínimo adecuado.

En relación a los resultados encontrados de EST, encontrados en el rango entre 7 y 79 min, se evidencian notorias diferencias y variaciones entre las características de las distintas muestras analizadas.

Ambos parámetros obtenidos de este estudio, se encontró que están inversamente relacionados ($r^2 = -0.64$). Es decir a mayor capacidad de absorción de agua se encontró que menor es la estabilidad de la masa formada.

Asimismo, se confirman los resultados descritos por Dowell et al. (2008) con respecto a la fuerte vinculación entre los parámetros obtenidos del farinograma, principalmente la EST y el volumen del pan. Se encontró una fuerte correlación positiva del VPF con EST ($r^2 = 0.71$) y negativa con ABS ($r^2 = -0.53$).

Al estudiar la relación entre los parámetros del farinograma y los relacionados a los AX se encontró que existe una tendencia negativa y positiva entre el porcentaje de AX con la EST y ABS respectivamente (Figura 44). La

muestra M3 tiene un porcentaje de ABS por debajo de 55%, siendo esto considerado demasiado bajo. Por otro lado con respecto a la estabilidad, las muestras que presentan los mayores valores de EST, M1 y M2, indicados con un recuadro en la figura, coinciden en presentar los menores porcentajes de AX, a pesar de esto no se encontraron correlaciones significativas estadísticamente al comparar estos parámetros.

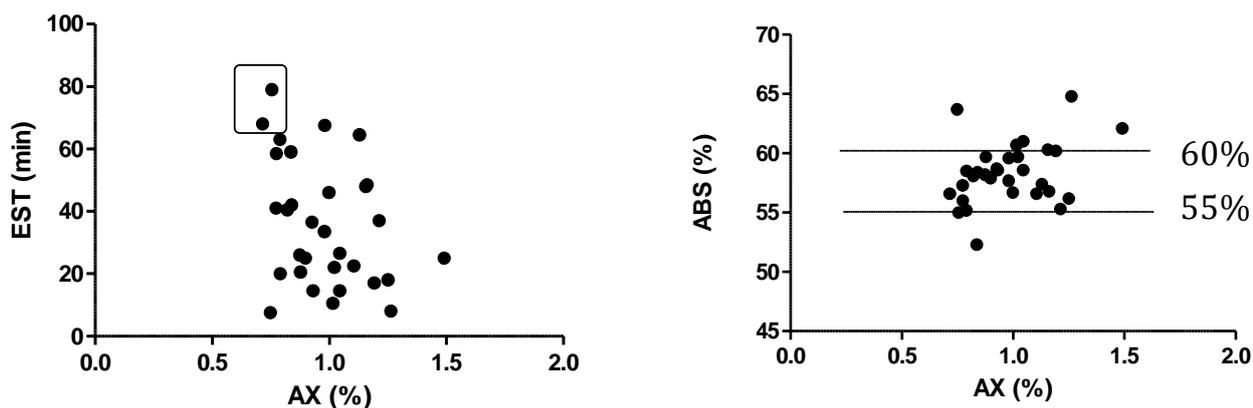


FIGURA 44: Gráficas de EST (izquierda) y ABS (derecha) en función de AX.

Con respecto a otros parámetros obtenidos del análisis de los carbohidratos no amiláceos, se encontró que ABS está positivamente correlacionado con la proporción de ramificaciones de Ara en los AX, A/X ($r^2 = 0.35$) y con la relación Áa/Áb ($r^2 = 0.41$). Se muestra en la Figura 45 la distribución de los resultados encontrados.

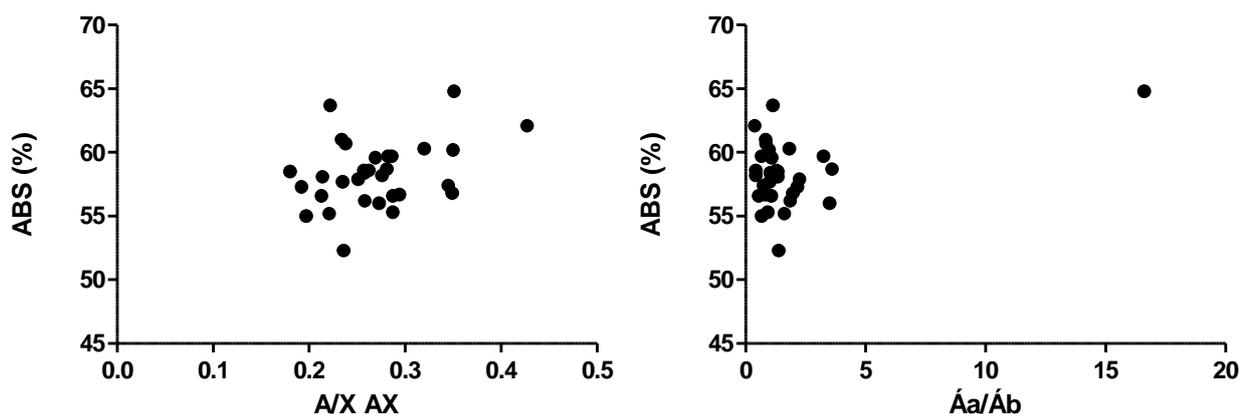


FIGURA 45: Gráfica de ABS en función de la relación A/X (izquierda) y la relación entre la cantidad de ambos grupos de AXi (derecha).

La ABS se entiende que es influenciada fuertemente por los AX, pero asimismo puede estar influenciada por los restantes componentes de la masa que absorben agua. A partir de los resultados descritos entonces es posible predecir que la capacidad de absorción de agua estaría influenciada por las propiedades estructurales de los AX más que por su cantidad en la harina.

4.4.3 - Mixograma

Estos parámetros son poco utilizados en la industria dado que se entiende que están estrechamente relacionados con los datos que pueden obtenerse a partir del Farinograma. Sin embargo a partir de los análisis y comparaciones realizadas se encuentran algunos resultados relevantes de mencionar.

Si bien los resultados no resultan comparables, se confirma la fuerte vinculación entre la información obtenida del Mixograma y el Farinograma, existiendo una fuerte correlación entre TMEZ con EST de manera positiva y con ABS negativamente ($r^2 = 0.87$ y -0.73 respectivamente).

Se encontró una correlación significativa negativa entre HMAX determinada del mixograma y el contenido de AX ($r^2 = -0.38$), indicando que a mayor cantidad de AX, menor es la altura máxima alcanzada en el ensayo (Figura 46). También se encontró que HMAX se encuentra relacionado con algunos parámetros obtenidos

del alveograma ya que existen correlaciones significativas positivas con L y W ($r^2 = 0.59$ y 0.57 respectivamente).

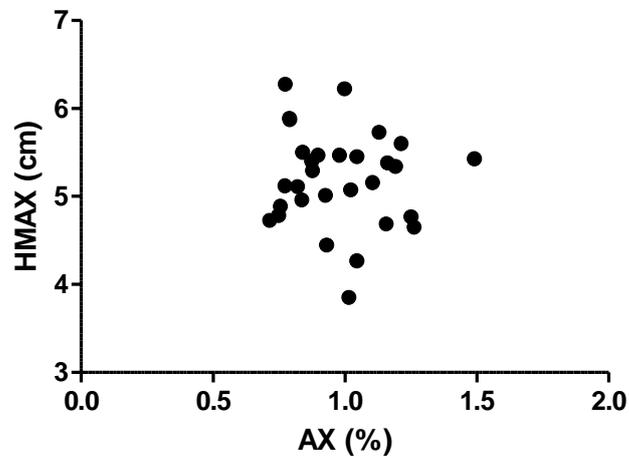


FIGURA 46: Gráfico de HMAX en función del porcentaje de AX.

Por otro lado cabe destacar que el TMEZ se encontró relacionado positivamente con W ($r^2 = 0.52$) (Figura 47), dentro del grupo de parámetros obtenidos del alveograma, pero también con los parámetros que describen el volumen del pan, así como con Pt y SDS.

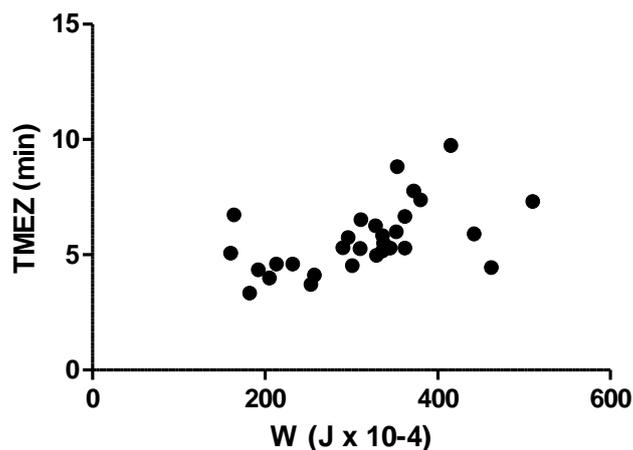


FIGURA 47: Gráfico de TMEZ en función de W.

El grupo de muestras que presentan mayores valores de TMEZ también presentan elevados valores de SDS. Por el contrario, aquellas muestras con

menores valores de TMEZ cuentan con GI por debajo o igual a 90 %, lo cual corresponde con muestras de harina obtenidas a partir de trigos clasificados como débiles.

4.5 - Efectos de la panificación y la acción de xilanasa sobre AX

Para el estudio del efecto del amasado, la panificación y la acción de una enzima xilanasa comercial sobre los componentes minoritarios se elaboraron las masas y panes a partir de 5 muestras seleccionadas: M2, M4, M12, M21 y M24 (Figura 48) que cuentan con particularidades con respecto a los parámetros predictores de calidad y parámetros relacionados a los carbohidratos no amiláceos.



FIGURA 48: Panes obtenidos a partir de las muestras seleccionadas.

La muestra M2 combina altos niveles de Pt, GI y SDS con bajos valores de AX, AXi y sus relaciones A/X mientras que presenta una alta proporción de AXs. La muestra M24 tiene un comportamiento similar con respecto a los AX pero cuenta con un porcentaje de Pt medio. La muestra M4 contiene también un contenido

medio de Pt y bajo porcentaje de AX, de AXs y de su proporción del total de los AX. La muestra M12 contiene porcentaje particularmente bajo de Pt y de AXs, mientras que la M21 tiene valores cercanos al promedio para los parámetros hasta el momento descritos.

En este apartado se describen los resultados encontrados con respecto a la determinación del porcentaje de AXs y la relación A/X, como predictor de la distribución de las ramificaciones, presentes tanto en la masa como en el pan, y los cambios que en estos parámetros produce el agregado de la enzima xilanasa. Las condiciones experimentales permiten predecir los procesos que ocurren durante la panificación industrial. Se presentan en la Tabla 10 el resumen de los resultados obtenidos de los parámetros asociados a AXs obtenidos luego del proceso de amasado y horneado. Los resultados determinados para la totalidad de las muestras se detallan en el Apéndice 1 (Tabla 20).

TABLA 10: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a AXs determinados en relación a los efectos de panificación.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
AXs en masa (%)	0,27	0,18	0,31	0,05
AXs en pan (%)	0,19	0,15	0,25	0,04
A/X AXs en masa	0,60	0,55	0,68	0,05
A/X AXs en pan	0,48	0,43	0,51	0,03

En la Tabla 11 se presenta el resumen estadístico de los resultados de AXs determinados, en los mismos procesos de amasado y horneado, con el agregado de una enzima xilanasa comercial. Los resultados determinados para la totalidad de las muestras se detallan en el Apéndice 1 (Tabla 21).

TABLA 11: Promedio, rango y desviación estándar de los parámetros asociados a AXs determinados en relación a la acción de xilanasa.

	MEDIA	MIN	MAX	DESVEST
AXs en masa con xilanasa (%)	0,40	0,30	0,51	0,08
AXs en pan con xilanasa (%)	0,20	0,17	0,24	0,03
A/X AXs en masa con xilanasa	0,54	0,42	0,66	0,10
A/X AXs en pan con xilanasa	0,46	0,44	0,49	0,02

Los resultados encontrados se analizaron estadísticamente, inicialmente se estudió la normalidad de los mismos y la homogeneidad de las varianzas. Se discuten en el texto a continuación los resultados con respecto al contenido de AXs

por el amasado y panificación, y luego por el agregado de xilanasa, seguidamente se interpretan aquellos que refieren a la relación A/X por los mismos tratamientos en este orden respectivamente.

En relación al contenido de AXs los resultados obtenidos para las muestras M2 y M21 presentaron una distribución normal y varianzas homogéneas por lo que las diferencias se estudiaron mediante el test paramétrico Tukey. Los restantes resultados se analizaron utilizando el test no paramétrico Kruskal-Wallis. Se presentan en la Tabla 12 los p-valores encontrados de la comparación de grupos de datos del contenido de AXs para los distintos tratamientos.

TABLA 12: p-valores obtenidos para las diferencias en AXs para las distintas fracciones estudiadas. Harina (H), masa (M), pan (P), masa con xilanasa (MX) y pan con xilanasa (PX). ^a p-valores de Tukey, ^b p-valores de Kruskal-Wallis. * p-valor significativo.

ID	AXs H vs M	AXs M vs P	AXs H vs MX	AXs MX vs PX	AXs M vs MX	AXs P vs PX	AXs H vs PX
2^a	0.42	0.0003*	0.01*	0.0002*	0.0009*	0.18	0.003*
4^b	1.0	1.0	0.17	0.45	0.55	1.0	1.0
12^b	1.0	0.18	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
21^b	1.0	0.081	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
24^a	0.62	0.17	0.005*	0.0002*	0.0009*	0.33	0.008*

El test no paramétrico incluido en el análisis es menos sensible para detectar diferencias significativas entre los distintos tratamientos.

Solo en una de las muestras estudiadas (M2) se encontraron diferencias significativas en la cantidad de AXs por el proceso de panificación. Sin embargo tanto para M2 como para M21 los valores disminuyen tanto por el amasado como por la panificación, esto puede verse en los valores representados en la gráfica de la Figura 49.

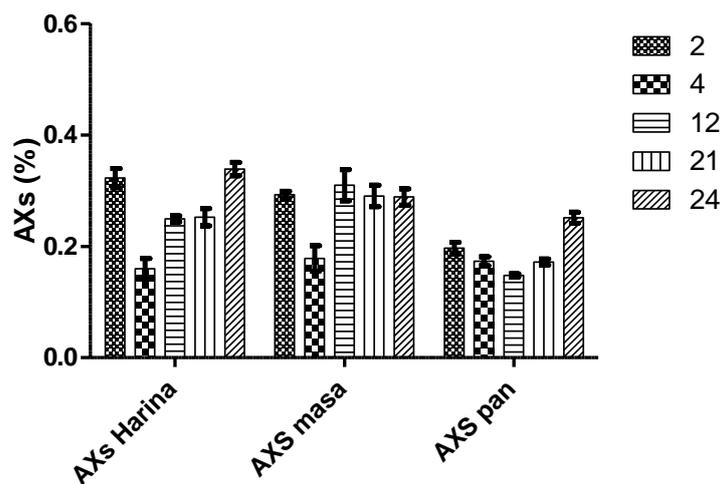


FIGURA 49: Gráfica del contenido de AXs en la harina, masa y pan.

Para las restantes muestras se encontró que el porcentaje de AXs aumenta por el amasado y para M12 y M21 éste disminuye por el efecto de la panificación. Si bien esto último se evidencia de la Figura 49, estadísticamente estas variaciones no son significativas.

Por el proceso de amasado y el de panificación por el agregado de xilanas se encuentran diferencias significativas en el contenido de AXs para las muestras M2 y M24. La cantidad de AXs aumenta considerablemente luego del amasado y posteriormente decrece hasta valores incluso menores que los iniciales en la harina. Estas variaciones pueden observarse en la Figura 50. Para las restantes muestras, si bien en la Tabla 12 se evidencia que las diferencias no son significativas estadísticamente, a partir de la representación de los datos en la misma Figura se puede observar un comportamiento similar.

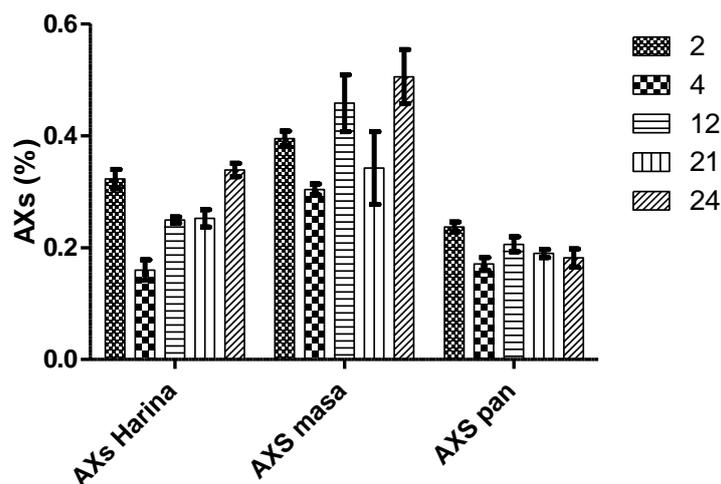


FIGURA 50: Gráfica del contenido de AXs en la harina, masa y pan con el agregado de xilanasa.

El aumento de AXs durante el proceso de elaboración de la masa indica que parte de la fracción insoluble se transforma por la acción de la enzima. Esto puede deberse a dos sucesos. Por un lado es posible que solamente la hidrólisis de las cadenas provoque la disminución en el tamaño y transforme a los AX en solubles o incluso pueda suceder que los AXi tuvieran esta característica por el hecho de estar unidos de manera covalente a otros componentes de la harina y la enzima permita liberar fracciones de AX convirtiéndolos en solubles.

Si bien no existen diferencias en los AXs en el pan con y sin el agregado de la enzima, en ambos casos la cantidad de AXs resulta menor que la encontrada en la masa y harina. Estos resultados confirman lo propuesto anteriormente sobre las posibles interacciones que ocurren durante el proceso de panificación entre AX y los componentes del gluten, quedando éstos unidos a la red y limitando así su solubilidad.

Se presenta en la Figura 51 los resultados obtenidos con respecto a la relación A/X para la harina en comparación con la masa y el pan, con y sin el agregado de la enzima xilanasa.

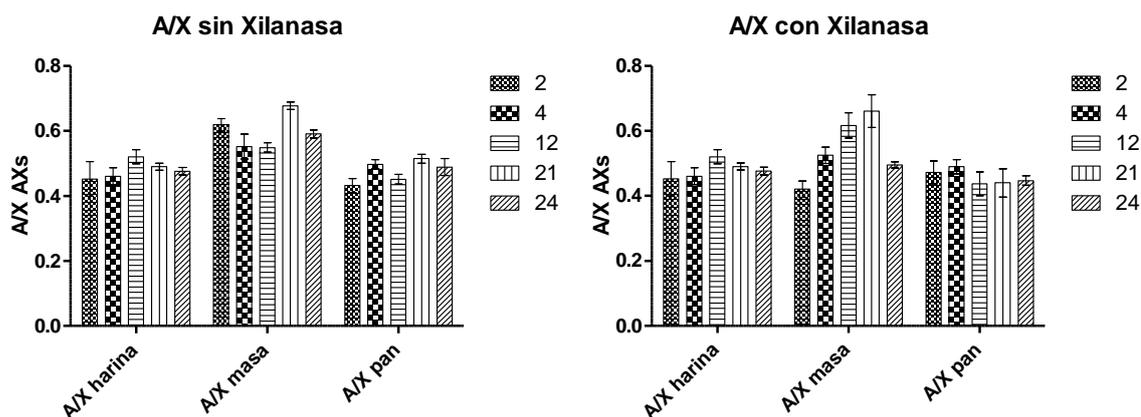


FIGURA 51: Gráficas de A/X en la harina, masa y pan sin (izquierda) y con (derecha) el agregado de xilanasa.

En la Tabla 13 se presentan los p-valores de la comparación entre los resultados de A/X encontrados. Del análisis de los datos presentados se encontró que todos los grupos tienen una distribución normal y varianzas homogéneas. En ninguno de los casos se encontraron diferencias significativas que ocurrieran en todas las muestras estudiadas. La muestra M4 no presentó variaciones en ningún tratamiento.

TABLA 13: p-valores obtenidos para las diferencias en la relación A/X para las distintas fracciones estudiadas.

Harina (H), masa (M), pan (P), masa con xilanasa (MX) y pan con xilanasa (PX). * p-valor significativo.

ID	H vs M	M vs P	H vs MX	MX vs PX	M vs MX	P vs PX	H vs PX
2	0.03*	0.017*	0.95	0.79	0.012*	0.91	0.99
4	0.18	0.61	0.46	0.87	0.94	0.99	0.93
12	0.94	0.16	0.17	0.006*	0.46	0.99	0.28
21	0.01*	0.03*	0.02*	0.004*	0.99	0.48	0.78
24	0.004*	0.008*	0.91	0.28	0.01*	0.39	0.69

En general se encontró que la relación A/X en la masa fue superior en la masa en comparación con la harina y el pan, tanto para las fracciones obtenidas con o sin el agregado de la enzima, pero estos resultados no son significativos estadísticamente (Figura 52).

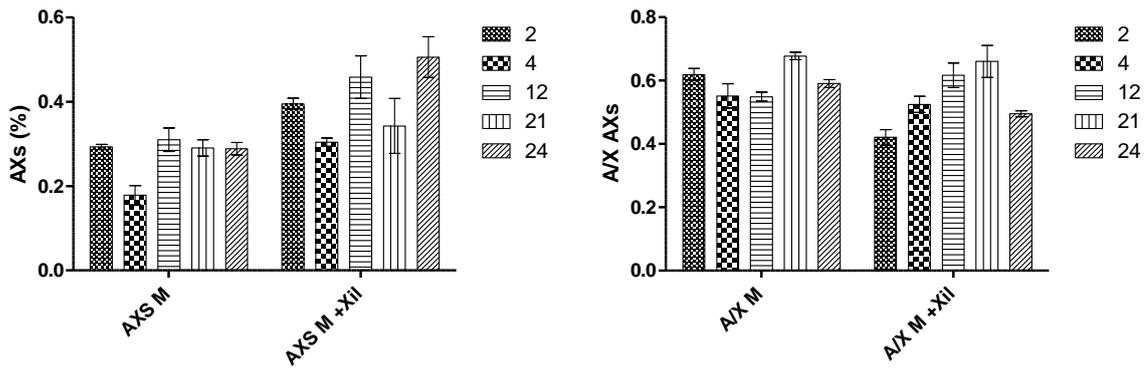


FIGURA 52: Gráficas de AXs (izquierda) y A/X (derecha) en AXs en las masas con y sin xilanasa.

Las variaciones con respecto a los datos determinados para estudiar el efecto del agregado de xilanasa no resultan tan claros. A pesar de esto se encuentra, para algunas de las muestras, una disminución de A/X en la fracción soluble de AX en la masa al agregar xilanasa. Esta disminución posiblemente se deba a que parte de los AXi, que anteriormente se describió que presentan menores valores de A/X, por la acción de la enzima se solubilizan modificando la relación A/X en esta nueva fracción soluble.

De acuerdo a la especificidad de esta enzima podrá tener un efecto positivo o negativo sobre las propiedades de la harina y masa en la panificación. Se entiende que un aumento de la proporción de AXs es positivo, pero si esto conlleva a una pérdida de tamaño entonces podría afectar su capacidad de formar soluciones viscosas y por ende actuar en detrimento de la calidad.

4.6 - Análisis estadístico de los resultados obtenidos

Como se describió y se presentó en los apartados precedentes en relación a los distintos resultados determinados, existen diversas correlaciones estadísticamente significativas al comparar entre sí a los parámetros. Dada la diversidad de parámetros descritos determinados para la totalidad de las muestras en sus tres grupos (sobre Pt y su funcionalidad, sobre carbohidratos no amiláceos y sobre propiedades reológicas) resulta pertinente complementar el análisis

estadístico mediante estrategias que permitan estudiar en conjunto los resultados encontrados de manera grupal. Con este propósito se describen a continuación los resultados obtenidos a partir del estudio de correlaciones múltiples y de análisis de componentes principales.

4.6.1 - Correlaciones múltiples

Se estudiaron mediante correlaciones múltiples algunos de los parámetros estudiados. Se tomaron como variables dependientes los parámetros obtenidos del alveograma (W, P, L y P/L) y del farinograma (ABS) y se evaluó el efecto de las variables Pt, GH, GI, SDS, AXs, AX, y AXi. Se incluyen en el modelo aquellas variables que alcancen un nivel de significancia de 0.05.

En la Tabla 14 se describen los parámetros determinados a partir de la correlación múltiple para las variables dependientes W, L, P, P/L y ABS en función de Pt, GH, GI, SDS, AXs, AX, y AXi. Se incluyen en la Tabla aquellos parámetros independientes que permiten explicar el comportamiento de los dependientes. De la información que arroja el análisis por un lado el coeficiente CP permite definir la precisión de los resultados encontrados, los valores de R² indican en qué proporción las variables independientes (mediante el parámetro R² parcial), o el conjunto de variables independientes (mediante el parámetro R² del modelo) permiten predecir el comportamiento de las variables dependientes.

TABLA 14: p-valores obtenidos de la correlación múltiple.

Parámetros	CP	R ² Parcial	R ² Modelo
W vs.			
SDS	-0,541	0.5543	0.5543
L			
SDS	49,173	0.3105	0.3105
AX	39,44	0.1076	0.4181
Pt	31,96	0.0870	0.5051
GH	8,847	0.2303	0.7354
P	-		
P/L			
AX	34,42	0.2611	0.2611
ABS			
GH	15,92	0.4487	0.4487
Pt	1,77	0.2124	0.6611

Es posible observar en la gráfica presentada en la Figura 53 los coeficientes presentados en la Tabla 14 y el aporte de cada uno de los parámetros y la proporción en la que permiten describir las variaciones encontradas en los parámetros reológicos definidos como dependientes. Se describen a continuación asimismo el análisis e interpretación de estos resultados obtenidos.

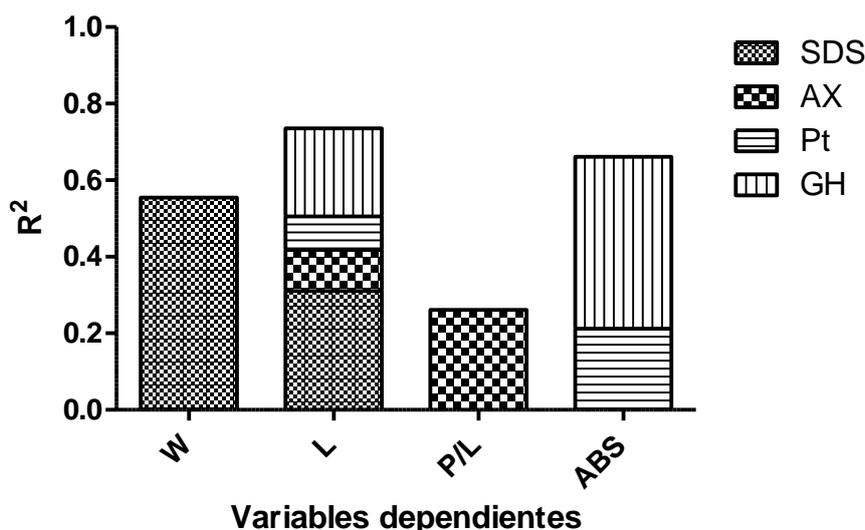


Figura 53: Gráfico de correlaciones parciales y del modelo.

Para el conjunto de las variables independientes estudiadas, únicamente el SDS permite explicar parcialmente las variaciones en W. En este sentido se puede entender que las diferencias en el volumen de sedimentación permiten predecir más de la mitad de la variación en la fuerza panadera de las harinas. Si bien se encontró que W tiene correlaciones significativas con otros parámetros estudiados, es con SDS que se encuentra el mayor coeficiente ($r^2 = 0.76$).

Esto es coherente con lo esperado dado que se entiende que la fuerza panadera está relacionada con la cantidad y calidad de las Pt formadoras de gluten. El análisis de SDS además de estar influenciado directamente por la cantidad de Pt formadoras de gluten considera la cantidad de agua que éstas pueden absorber, que parcialmente dependerá del tipo de Pt presentes.

Si consideramos las variaciones en L, éstas pueden ser explicadas un 42 % en relación al valor de SDS y la cantidad de AX. Si en el tratamiento de datos,

sumado a los parámetros indicados en el análisis previo (SDS y AX), se incluye Pt y GH las variaciones en la extensibilidad se explican en un 74 %, a pesar de que individualmente Pt y L no presentaron una correlación significativa. Entonces en suma, la extensibilidad en gran medida queda explicada por los parámetros que definen la formación del gluten y las interacciones que ocurren durante el amasado.

Del análisis se encontró que no es posible predecir las variaciones en P en relación a los restantes parámetros.

La manera en que el comportamiento de los parámetros analizados pueden explicar las variaciones en la relación P/L puede ser descrita solamente en un 46 %. Se evidencia que tanto el porcentaje de Pt como de AX afectan la relación entre la extensibilidad y elasticidad y por consiguiente el comportamiento de la harina durante el amasado.

ABS, que anteriormente se describió como influenciada tanto por las Pt como por los AX, se explica en el modelo el 66 % de su comportamiento por las variables Pt y GH, sugiriendo que en este caso la ABS está determinada principalmente por la calidad pero también por la cantidad de Pt presentes en la harina.

Es de destacar que si bien la cantidad de AX permiten describir parcialmente las variaciones encontradas en los parámetros predictores de calidad, según este análisis la cantidad de AXs o AXi no estarían influenciando de manera significativa el comportamiento reológico de las masas.

4.6.2 - Análisis de componentes principales

El ACP tiene como objetivo representar la información estudiada con un número menor de variables, construidas como combinaciones lineales de las originales. Esto resulta particularmente útil cuando se estudian múltiples parámetros o variables simultáneamente. Las nuevas variables que se obtienen del análisis, o componentes, se representan en ejes ortogonales y su distribución en

los ejes permiten obtener información sobre las relaciones que existen entre ellas (Peña 2002). Por un lado la distancia entre los puntos y el origen (de 0 a 1 en valor absoluto) refleja la magnitud de la correlación entre el parámetro representado y los restantes. Por otro lado, el cuadrante o la orientación del vector permite asociar en grupos de variables altamente relacionadas: por ejemplo aquellas que tengan igual dirección y sentido estarán relacionados positivamente mientras que los que tengan igual dirección y sentido contrario estarán correlacionados negativamente.

Se incluyeron en el ACP todos los parámetros determinados para la totalidad de las muestras, mientras que se definieron como parámetros suplementarios las variables Localidad y Variedad. A diferencia de los parámetros activos definidos, los suplementarios no modifican el resultado del análisis realizado, sin embargo es posible visualizarlos en la distribución obtenida en el resultado. En la Figura 54 se presenta el diagrama de ACP que surge del análisis.

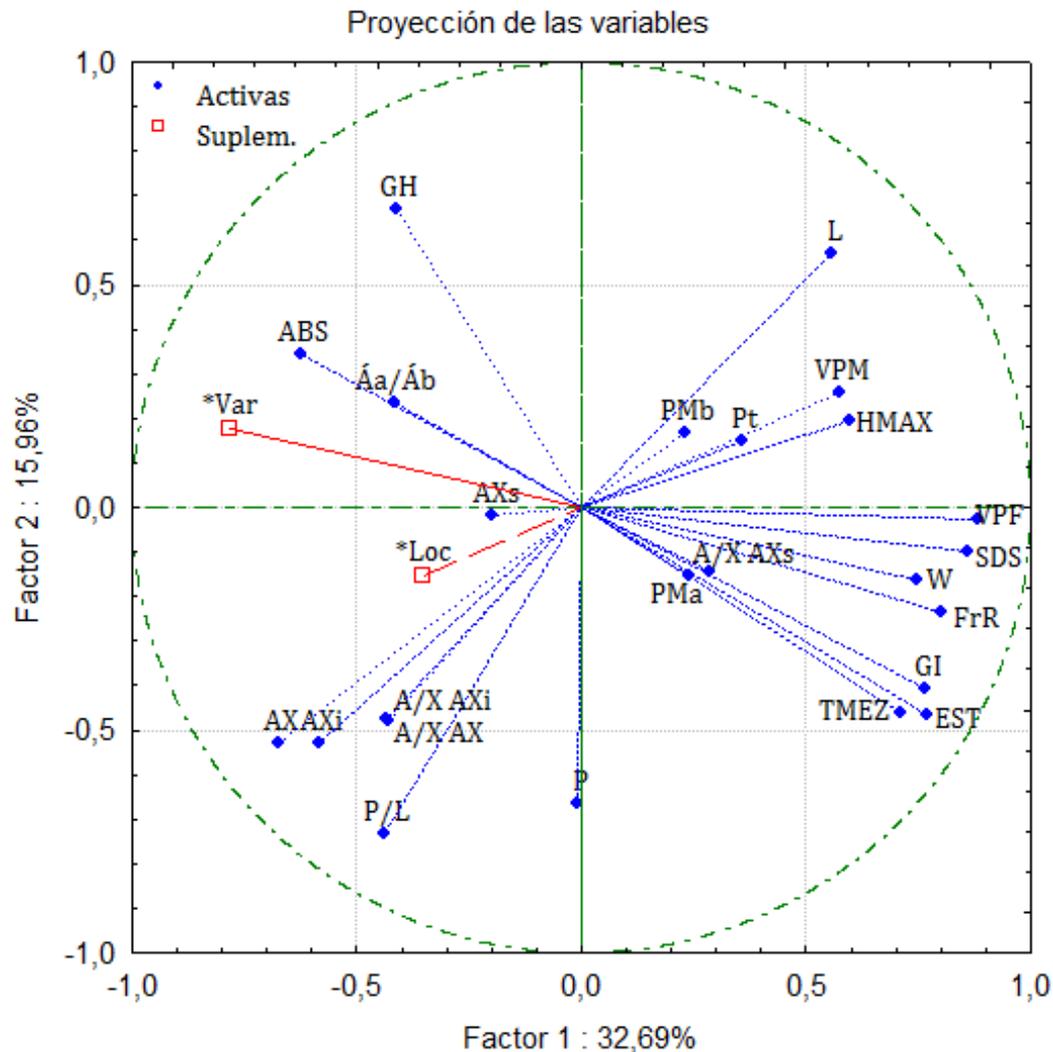


FIGURA 54: Resultado del análisis de componentes principales.

Teniendo presente que el principal parámetro que permite clasificar los trigos es su contenido de Pt resulta interesante destacar que éste contenido se describe de este análisis su vinculación inversa con la Localidad de donde fue obtenido el trigo. En este mismo sentido, y en relación a la funcionalidad de las Pt que formarán el gluten durante el amasado, estimado a partir del parámetro SDS, se encuentra que estará fuertemente vinculado a la variedad genética del trigo a partir del cual se obtiene la harina. De esta manera se encuentra que el contenido de Pt podría estar afectado por la localidad de siembra (ambiente) mientras que la funcionalidad de las Pt formadoras de gluten estaría influenciada por la Variedad.

El porcentaje de AX y AXi así como su relación A/X están estrechamente vinculados entre sí, dado que se encuentran ubicados cerca en el gráfico. Asimismo

al encontrarse próximos a la circunferencia, distantes del origen del gráfico, resultan de gran importancia en el conjunto de las variables y las muestras estudiadas. En igual dirección pero sentido opuesto se encuentra L, lo cual indica la relación inversa que presentan con respecto a este parámetro, y en menor medida con respecto a PMb y Pt.

Por otro lado, y evidenciándose en los cuadrantes opuestos, a partir de ese análisis se puede observar la relación entre la ABS y la proporción de componentes de alto y bajo PM ($\bar{A}a/\bar{A}b$) con los parámetros GI, TMEZ y EST. Se puede predecir que aquellas muestras que presenten elevados porcentajes de ABS y mayor relación $\bar{A}a/\bar{A}b$ serán las que tengan menores proporciones de GI, menores tiempos de mezclado y estabilidad de las masas, estando estos tres últimos fuertemente vinculados.

De los resultados encontrados en este análisis se confirma lo descrito anteriormente con respecto a la relación entre W y SDS.

Los parámetros asociados a la fracción soluble de AX, su porcentaje y proporción de sustituciones, así como el PM obtenido para ambos grupos de AXi aislados parecen no ser factores determinantes en el conjunto de los parámetros analizados.

5 - CONCLUSIONES

Las muestras de harina de trigo seleccionadas para este trabajo fueron de variedades genéticas con calidad diversa. A su vez, fueron obtenidas de distintas localidades. Se encontró diversidad con respecto a los principales parámetros predictores de calidad, con contenidos de Pt que van de 12,5 a 16,2 %, y con parámetros asociados al gluten que permiten predecir que a partir de la mayoría de las harinas se desarrollará éste de manera adecuada durante el amasado. Asimismo se observó que a mayor cantidad de Pt formadoras de gluten, menor proporción de componentes fuertes del gluten. En este entendido los resultados aquí presentados resultan representativos de la diversidad en relación a la calidad y propiedades de las harinas de trigo en el país.

Si bien se encuentra una proporción de AX por debajo de lo esperado, la proporción de la fracción soluble se encuentra de acuerdo a lo reportado cercana al 30 %. Se encuentra una fuerte relación entre los AX totales e insolubles lo cual posiblemente ocurra dado que la mayoría de los AX en las muestras resultan insolubles y por esto presentan características compartidas. Se determinaron mayores proporciones de ramificaciones en la fracción soluble de AX.

Se logró estudiar la fracción de AX insoluble en agua encontrándose vinculación directa entre los grupos de AXi de distinta distribución de PM con GH y FrR, que describen la funcionalidad de las proteínas, y con ABS.

Tanto los AXs como los AXi afectan negativamente la formación de gluten: se forma menos cantidad de gluten, que resulta ser más rígido y menos extensible. Este efecto posiblemente está relacionado por un lado con la capacidad de absorción de agua, y por otro afecta la presencia de AF y su potencial para mediar la formación de agregados. Se encontró que los AX tienen una influencia negativa sobre los parámetros tradicionales de predicción de calidad como son el volumen de sedimentación y el volumen de pan. La capacidad de absorción de agua de la harina estaría influenciada por las propiedades estructurales de los AX más que por su cantidad.

Los AX tienen entonces una fuerte relación con los parámetros que describen la funcionalidad del gluten, no tanto así con el contenido de proteínas en la harina.

Fue posible confirmar los resultados preliminares obtenidos de investigaciones anteriores con respecto a que las muestras demasiado elásticas que resisten a ser extendidas presentan mayores contenidos de AX insolubles, y que la fuerza panadera resulta mayor cuanto menor sea el contenido de AX totales. Los AX están inversamente relacionados con la extensibilidad y el equilibrio de las masas. A mayor contenido de AX se encuentran masas menos extensibles.

Se encuentran variaciones en la proporción de la fracción soluble de AX por el proceso de amasado y el de panificación con el agregado de xilanasa. La cantidad de AXs aumenta considerablemente luego del amasado y posteriormente decrece hasta valores incluso menores que los iniciales en la harina.

Si bien no existen diferencias en los AXs en el pan con y sin el agregado de la enzima, en ambos casos la cantidad de AXs encontrada en los panes resulta ser menor que la encontrada en la masa y harina. Estos resultados confirman lo propuesto anteriormente sobre las posibles interacciones que ocurren durante el proceso de panificación entre AX y los componentes del gluten, quedando éstos unidos a la red y limitando así su solubilidad.

Del análisis de componentes principales, estudiando el efecto de cada parámetro sobre el total de los análisis se encontró que el porcentaje de AX y AXi así como su relación A/X están estrechamente vinculados entre sí y resultan de gran importancia en el conjunto de las variables y las muestras estudiadas. Asimismo presentan una fuerte relación inversa con respecto a la L de las masas y en menor medida con respecto al tamaño de la fracción insoluble aislada y al contenido de Pt.

6 - BIBLIOGRAFÍA

AACC. 2000. Approved Methods of the AACC. Métodos 10-10B, 46-12, 54-21, 54-30, 54-40. 10th ed. St. Paul, MN, USA.

Ahmad, Z. 2009. Production and Characterization of Xylanase for Utilization in Baking Industry. National Institute of Food Science and Technology. University of Agriculture. Pakistán.

Amaya, R. 1991. Quality (Breadmaking) Characteristic of Normal (1B/1B) and 1B/1R Translocation (1B/1R) Wheats Varying in Dough Stickiness Character at Two Mixing Speeds. *Cereal Foods World*. 36:701.

Amiour, N.; Jahier, J.; Tanguy, A.M.; Chiron, H.; Branlard, G. 2002. Effect of 1R (1A), 1R (1B) and 1R (1D) Substitution on Technological Value of Bread Wheat. *J. Cereal Sci.* 35:149-160.

Autio, K. 2006. Effects of Cell Wall Components on the Functionality of Wheat Gluten. *Biotechnol. Adv.* 24:633-635.

Barak, S.; Mudgil, D.; Khatkar, B.S. 2013. Relationship of Gliadin and Glutenin Proteins with Dough Rheology, Flour Pasting and Bread Making Performance of Wheat Varieties. *LWT - Food Sci. Technol.* 51:211-217.

Barron, C.; Surget, A.; Rouau, X.Á. 2007. Relative Amounts of Tissues in Mature Wheat (*Triticum aestivum* L.) Grain and their Carbohydrate and Phenolic Acid Composition. *J. Cereal Sci.* 45:88-96.

Belderok, B. 2000. The Wheat Grain. *Foods Hum. Nutr.* 55:15-20.

Bettge, A.D.; Morris, C.F. 2007. Oxidative Gelation Measurement and Influence on Soft Wheat Batter Viscosity and End-Use Quality. *Cereal Chem.* 84:237-242.

Bonnin, E.; Daviet, S.; Gebruers, K.; Delcour, J. a; Goldson, A.; Juge, N.; Saulnier, L. 2005. Variation in the Levels of the Different Xylanase Inhibitors in Grain and Flour of 20 French Wheat Cultivars. *J. Cereal Sci.* 41:375-379.

Cleemput, G.; Roels, S.P.; Van Oort, M.; Grobet, P.J.; Delcour, J. a. 1995. Heterogeneity in the Structure of Water-Soluble-Arabinoxylans in European Wheat Flours of Variable Bread-making Quality. *Cereal Chem.* 70:324-329.

Collins, T.; Hoyoux, A.; Dutron, A.; Georis, J.; Genot, B.; Dauvrin, T.; Arnaut, F.; Gerday, C.; Feller, G. 2006. Use of Glycoside Hydrolase Family 8 Xylanases in Baking. *J. Cereal Sci.* 43:79-84.

Copa Patiño, J.L.; Soliveri, J.; Caballero, A. 2005. Uso de un Complejo Enzimático Rico en Feruíl Esterasa como Coadyuvante Tecnológico en el Proceso de Panificación de Masas de Harinas de Trigo. :1-16.

Courtin, C.M.; Delcour, J. a. 2002. Arabinoxylans and Endoxylanases in Wheat Flour Bread-Making. *J. Cereal Sci.* 35:225-243.

Courtin, C.M.; Gelders, G.G.; Delcour, J. a. 2001. Use of Two Endoxylanases with Different Substrate Selectivity for Understanding Arabinoxylan Functionality in Wheat Flour Breadmaking. *Cereal Chem.* 78:564-571.

D'egidio, M.G.; Nardi, S.; Vallega, V. 1993. Grain, Flour, and Dough Characteristics of Selected Strains of Diploid Wheat, *Triticum monococcum* L. *Cereal Chem.* 70:298-303.

Delcour, J.A.; Hoseney, R.C. 2010. Yeast-Leavened Products. En: *Principles of Cereal Science and Technology*. Third. Manhattan, Kansas, U.S.A. p. 177.

Delcour, J. a; Hoseney, R.C. 2010. Principles of cereal science and technology. Third Edit. Manhattan, Kansas, U.S.A.: R&R Research Services.

Döring, C.; Nuber, C.; Stukenborg, F.; Jekle, M.; Becker, T. 2015. Impact of Arabinoxylan Addition on Protein Microstructure Formation in Wheat and Rye Dough. *J. Food Eng.* 154:10-16.

Dowell, F.E.; Maghirang, E.B.; Pierce, R.; Lockhart, G.L.; Bean, S.R.; Xie, F.; Caley, M.S.; Wilson, J.D.; Seabourn, B.W.; Ram, M.S.; et al. 2008. Relationship of Bread Quality to Kernel, Flour, and Dough Properties. *Cereal Chem.* 85:82-91.

Du, C.; Campbell, G.M.; Misailidis, N.; Mateos-Salvador, F.; Sadhukhan, J.; Mustafa, M.; Weightman, R.M. 2009. Evaluating the Feasibility of Commercial Arabinoxylan Production in the Context of a Wheat Biorefinery Principally Producing Ethanol. Part 1. Experimental Studies of Arabinoxylan Extraction from Wheat Bran. *Chem. Eng. Res. Des.* 7:1232-1238.

Escarnot, E.; Aguedo, M.; Agneessens, R.; Wathelet, B.; Paquot, M. 2011. Extraction and Characterization of Water-Extractable and Water-Unextractable Arabinoxylans from Spelt Bran: Study of the Hydrolysis Conditions for Monosaccharides Analysis. *J. Cereal Sci.* 53:45-52.

Fernández, I.; García, E. 2012. Cuantificación de Compuestos por Cromatografía: Método del Patrón Interno. p, 8.

Garófalo, L.; Ferreira, F.; Soule, S.; Vazquez, D. 2008. Cuantificación y Caracterización de Pentosanos en Harinas Uruguayas. En: VII Congreso Nacional de Trigo. Santa Rosa, Argentina.

Garófalo, L.; Vazquez, D.; Ferreira, F.; Soule, S. 2011. Wheat Flour non-Starch Polysaccharides and their Effect on Dough Rheological Properties. *Ind. Crops Prod.* 34:1327-1331.

Gil, A.; Ruiz López, M.D. 2010. Cereales y Productos Derivados. En: *Tratado de Nutrición. Tomo II: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. 2.^a ed. Editorial Panamericana. p. 101.

Goesaert, H.; Brijs, K.; Veraverbeke, W.S.; Courtin, C.M.; Gebruers, K.; Delcour, J. a. 2005. Wheat Flour Constituents: How they Impact Bread Quality, and how to Impact their Functionality. *Trends Food Sci. Technol.* 16:12-30.

- Gunaratne, A.; Corke, H. 2007. Effect of Hydroxypropylation and Alkaline Treatment in Hydroxypropylation on some Structural and Physicochemical Properties of Heat-Moisture Treated Wheat, Potato and Waxy Maize Starches. *Carbohydr. Polym.* 68:305-313.
- Guzmán, C.; Posadas-Romano, G.; Hernandez-Espinosa, N.; Morales-Dorantes, A.; Peña, R.J. 2015. A new Standard Water Absorption Criteria Based on Solvent Retention Capacity (SRC) to Determine Dough Mixing Properties, Viscoelasticity, and Bread-Making Quality. *J. Cereal Sci.* 66:59-65.
- Hamer, R.J.; MacRitchie, F.; Weegels, P.L. 2009. Structure and Functional Properties of Gluten. En: Khan K, Shewry P, editores. *Wheat: Chemistry and Technology*. 4^o Edition. St.Paul: AACC International, Inc., p. 153-178.
- Hartmann, G.; Piber, M.; Koehler, P. 2005. Isolation and Chemical Characterisation of Water-Extractable Arabinoxylans from Wheat and Rye During Breadmaking. *Eur. Food Res. Technol.* 221:487-492.
- Hashimoto, S.; Shogren, M.; Pomeranz, Y. 1987. Cereal Pentosans: Their Estimation and Significance. I. Pentosans in Wheat and Milled Wheat Products. *Cereal Chem.* 64:30-34.
- Hemdane, S.; Jacobs, P.J.; Dornez, E.; Verspreet, J.; Delcour, J. a; Courtin, C.M. 2016. Wheat (*Triticum aestivum* L.) Bran in Bread Making: A Critical Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 15:28-42.
- Hollmann, J.; Lindhauer, M.G. 2005. Pilot-Scale Isolation of Glucuronoarabinoxylans from Wheat Bran. *Carbohydr. Polym.* 59:225-230.
- Houben, R.; de Ruijter, C.F.; Brunt, K. 1997. Determination of the Pentosan Content of Wheat Products by Hydrolysis, Glucose Oxidase Treatment and Analysis by HPAEC/PAD. *J. Cereal Sci.* 26:37-46.
- Huebner, F.R.; Nelsen, T.C.; Chung, O.K.; Bietz, J.A. 1997. Protein Distributions among Hard Red Winter Wheat Varieties as Related to Environment and Baking Quality. *Cereal Chem.* 74:123-128.
- Izydorczyk, M.; Biliaderis, C.G.; Bushuk, W. 1991. Physical Properties of Water-Soluble Pentosans from Different Wheat Varieties. *Cereal Chem.* 68:145-150.
- Izydorczyk, M.S.; Biliaderis, C.G. 1995. Cereal Arabinoxylans: Advances in Structure and Physicochemical Properties. *Carbohydr. Polym.* 28:33-48.
- Izydorczyk, M.S.; Biliaderis, C.G. 2007. Arabinoxylans: Technologically and Nutritionally Functional Plant Polysaccharides. En: Biliaderis CG, Izydorczyk MS, editores. *Functional food Carbohydrates*. CRC Press. p. 249-290.
- Kieffer, R.; Wieser, H.; Henderson, M.H.; Graveland, A. 1998. Correlations of the Breadmaking Performance of Wheat Flour with Rheological Measurements on a Micro-scale. *J. Cereal Sci.* 27:53-60.

- Koh, B.; Ng, P.K.W. 2009. Effects of Ferulic Acid and Transglutaminase on Hard Wheat Flour Dough and Bread. *Cereal Chem.* 86:18-22.
- Kováčová, M.; Malinová, E. 2007. Ferulic and Coumaric Acids, Total Phenolic Compounds and their Correlation in Selected Oat Genotypes. *Czech J. Food Sci.* 25:325-332.
- Lijuan, S.; Guiying, Z.; Guoan, Z.; Zaigui, L. 2007. Effects of Different Milling Methods on Flour Quality and Performance in Steamed Breadmaking. *J. Cereal Sci.* 45:18-23.
- Mendoza Moreno, A. 2016. Caracterización de Harinas Obtenidas de Trigo HRS (Hard Red Spring) y HRW (Hard Red Winter) con Defecto Fisiológico Panza Blanca y sin él. Universidad Autónoma Agraria, México.
- MGAP. 2014. Anuario Estadístico Agropecuario 2014. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, Uruguay.
- Michniewicz, J.; Biliaderis, C.G.; Bushuk, W. 1991. Effect of Added Pentosans on some Physical and Technological Characteristics of Dough and Gluten. *Cereal Chem.* 68:252-258.
- Miguel, Â.S.M.; Martins-Meyer, T.S.; Veríssimo, É.; Waruar, B.; Dellamora-ortiz, G.M. 2013. Enzymes in Bakery: Current and Future Trends. En: Dr. Muzzalupo I, editor. *Food Industry*. InTech. p. 287-321.
- Najafian, G. 2012. Study of Relationship among Several Bread Making Quality Assessment Indices in Hexaploid Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using Correlation Analysis. *Qual. Assur. Saf. Crop. Food.* 4:136-158.
- Noort, M.W.J.; Haaster, D. V; Hemery, Y.; Schols, H.A.; Hamer, R.J. 2010. The Effect of Particle Size of Wheat Bran Fractions on Bread Quality - Evidence for Fibre-Protein Interactions. *J. Cereal Sci.* 52:59-64.
- Obando Garz, C. 2013. Evaluación de Nuevas Xilanasas Fúngicas para el Desarrollo de Alimentos Funcionales Derivados de Cereales. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- OPYPA. 2014. Análisis Sectorial y Cadenas Productivas. Anuario 2014. Oficina de Programación y Política Agropecuaria, OPYPA, MGAP, Uruguay.
- Ordaz-Ortiz, J.J.; Saulnier, L. 2005. Structural Variability of Arabinoxylans From Wheat Flour. Comparison of Water-Extractable and Xylanase-Extractable Arabinoxylans. *J. Cereal Sci.* 42:119-125.
- Paulley, G.; Vázquez, D.; Lysenko, E.; Preston, K.R. 2004. Development of a Laboratory Baking Test for Uruguayan French Style Hearth Bread Using Canadian Wheat Flour. *Can. J. Plant Sci.* 84:949-954.
- Pavlovich, A.; Rouzaud-Sánchez, O.; Carvajal-Millán, E.; Navarro, R.E.; Robles-Sánchez, R.M.; Barrón-Hoyos, J.M. 2016. Molecular Characterization of Water Extractable Arabinoxylans Isolated from Wheat Fine Bran and their Effect on

Dough Viscosity. *Food Sci. Technol.* 74:484-492.

Peña, D. 2002. Análisis de Componentes Principales. En: *Análisis de Datos Multivariantes*. Madrid, España: McGraw-Hill. p. 515.

Revanappa, S.B.; Nandini, C.D.; Salimath, P. V. 2015. Structural Variations of Arabinoxylans Extracted from Different Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars in Relation to Chapati-Quality. *Food Hydrocoll.* 43:736-742.

Roels, S.P.; Cleemput, G.; Vandewalle, X.; Nys, M.; Delcour, J. a. 1993. Bread Volume Potential of Variable-Quality Flours with Constant Protein Level As Determined by Factors Governing Mixing Time and Baking Absorption Levels. *Cereal Chem.* 70:318-323.

Rosell, C.; Blasco, S.; Pérez-Munuera, I.; Medina, O.; Gómez, M.; Caballero, P. 2005. Mejora de la Calidad Panadera de las Proteínas de Trigo Mediante Tratamiento con Transglutaminasa. En: Girón-Calle J, Pedroche J, Rodríguez Patino J, Millán F, editores. *Proteínas Alimentarias y Coloides de Interés Industrial*. Sevilla: Universidad de Sevilla, España. p. 197-205.

Rouillé, J.; Della Valle, G.; Lefebvre, J.; Sliwinski, E.; VanVliet, T. 2005. Shear and Extensional Properties of Bread Doughs Affected by their Minor Components. *J. Cereal Sci.* 42:45-57.

Saulnier, L.; Sado, P.E.; Branlard, G.; Charmet, G.; Guillon, F. 2007. Wheat Arabinoxylans: Exploiting Variation in Amount and Composition to Develop Enhanced Varieties. *J. Cereal Sci.* 46:261-281.

Shewry, P.R.; Hawkesford, M.J.; Piironen, V.; Lampi, A.; Gebruers, K.; Boros, D.; Andersson, A.A.M.; Åman, P.; Rakszegi, M.; Bedo, Z.; et al. 2013. Natural Variation in Grain Composition of Wheat and Related Cereals. *J. Agric. Food Chem.* 61:8295-8303.

Shogren, M.; Hashimoto, S.; Pomeranz, Y. 1987. Cereal Pentosans: Their Estimation and Significance. II. Pentosans and Breadmaking Characteristics of Hard Red Winter Wheat Flours. *Cereal Chem.* 64:35-38.

Skendi, A.; Biliaderis, C.G.; Izydorczyk, M.S.; Zervou, M.; Zoumpoulakis, P. 2011. Structural Variation and Rheological Properties of Water-Extractable Arabinoxylans from six Greek Wheat Cultivars. *Food Chem.* 126:526-536.

Soule, S. 2001. Estructura Química y Actividad Biológica de Glicósidos Esteroidales del Género *Solanum*. Universidad de la República, Uruguay.

Souto, G. 1999. Harina de Trigo y Farináceos. En: *La Industria de Transformación de Productos Agropecuarios*. Oficina de Programación y Política Agropecuaria del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Montevideo, Uruguay. p. 207.

Steel, R.G.; Torrie, J.H. 1985. Bioestadística: Principios y Procedimientos. Segunda Ed. Bogotá, Colombia: McGraw-Hill Latinoamericana.

- Tomati, U.; Belardinelli, M.; Galli, E.; Iori, V.; Capitani, D.; Mannina, L. 2004. NMR Characterization of the Polysaccharidic Fraction from *Lentinula edodes* Grown on Olive Mill Waste Waters. *Carbohydr. Res.* 339:1129-1134.
- UNIT-ISO. Instituto Uruguayo de Normas Técnicas. Normas: 944-94, 5530-4-93.
- USDA. 2016. World and U.S. Wheat Production, Exports and Ending Stocks.
- Valencia Ojeda, C. 2013. Estudio de la Degradación Enzimática de Xilanos en Harinas de Trigo para Panificación. Universidad Autónoma de Querétaro, México.
- Vázquez, D. 2009. Aptitud Industrial del Trigo. Nº 177. (INIA, editor.). INIA.
- Vazquez, D.; Watts, B. 2004. Gluten Extensibility: a key Factor in Uruguayan Wheat Quality. En: Chemists TRS of, editor. *The gluten proteins*. Cambridge, UK. p. 279-282.
- Veraverbeke, W.S.; Delcour, J. a. 2002. Wheat Protein Composition and Properties of Wheat Glutenin in Relation to Breadmaking Functionality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42:179-208.
- Verges, R.P.; Vázquez, D. 2004. Calidad Industrial del Trigo: Un Tema que, como el Pan, se Puso sobre la Mesa. *El País Agropecu.*:25-28.
- Verjans, P.; Dornez, E.; Delcour, J. a; Courtin, C.M. 2010. Selectivity for Water-Unextractable Arabinoxylan and Inhibition Sensitivity Govern the Strong Bread Improving Potential of an Acidophilic GH11 *Aureobasidium pullulans* Xylanase. *Food Chem.* 123:331-337.
- Wang, J.; Yuan, X.; Sun, B.; Cao, Y.; Tian, Y.; Wang, C. 2009. On-line Separation and Structural Characterisation of Feruloylated Oligosaccharides from Wheat Bran Using HPLC-ESI-MS. *Food Chem.* 115:1529-1541.
- Wang, M.; Vliet, T. V; Hamer, R.J. 2005. Interaction of Water Unextractable Solids and Xylanase with Gluten Protein: Effect of Wheat Cultivar. *J. Cereal Sci.* 41:251-258.
- Wang, M.; Van Vliet, T.; Hamer, R.J. 2004. How gluten properties are affected by pentosans. *J. Cereal Sci.* 39:395-402.
- Wieser, H. 2007. Chemistry of Gluten Proteins. *Food Microbiol.* 24:115-119.
- Wrigley, C.W. 2009. Wheat: A Unique Grain for the World. En: Khan K, Shewry PR, editores. *Wheat: Chemistry and Technology*. 4°. St.Paul: AACC International, Inc. p. 1-15.
- Zhang, Z.; Smith, C.; Li, W. 2014. Extraction and Modification Technology of Arabinoxylans from Cereal by-Products: A Critical Review. *Food Res. Int.* 65:423-436.
- Zhu, J.; Khan, K. 2001. Separation and Quantification of HMW Glutenin Subunits by

Capillary Electrophoresis. *Cereal Chem.* 78:737-742.

APÉNDICE I - Tablas de resultados

TABLA 15: Resultados determinados para los parámetros asociados al contenido de proteínas y su funcionalidad.

ID	Pt (%)	GH (%)	GI (%)	SDS (mL/g)	VPM (cm ³ /100g)	VPF (cm ³ /100g)	FrR
1	15,3	35,0	99,1	22,5	715,0	590,0	0,803
2	15,9	35,3	99,7	22,5	687,5	572,5	0,737
3	15,0	35,2	100,0	22,5	605,0	620,0	0,763
4	14,8	37,0	95,4	20,5	717,5	612,5	0,762
5	14,2	36,0	96,7	19,5	672,5	552,5	0,783
6	14,0	37,1	96,2	21,5	720,0	605,0	0,741
7	12,9	37,2	90,1	16,0	680,0	540,0	0,729
8	13,6	34,0	100,0	21,5	667,5	545,0	0,833
9	13,8	40,9	83,6	12,5	542,5	392,5	0,702
10	13,0	33,4	98,2	14,0	562,5	397,5	0,751
11	15,0	50,6	68,4	11,0	580,0	387,5	0,590
12	12,6	34,4	95,3	14,5	627,5	467,5	0,712
13	13,8	37,5	86,4	16,0	650,0	462,5	0,697
14	14,0	29,5	99,7	21,0	542,5	560,0	0,762
15	16,2	39,1	97,7	23,0	597,5	655,0	0,795
16	15,6	37,4	99,5	22,5	552,5	562,5	0,784
17	14,1	37,2	98,4	19,0	710,0	560,0	0,779
18	14,1	38,3	95,8	15,0	605,0	462,5	0,719
19	14,9	37,7	92,6	18,0	745,0	520,0	0,785
20	13,6	38,0	96,8	21,0	802,5	522,5	0,777
21	14,7	38,7	98,7	19,5	720,0	552,5	0,711
22	14,0	39,6	78,5	15,5	595,0	405,0	0,705
23	12,9	34,6	98,0	20,5	600,0	435,0	0,702
24	15,0	45,9	59,7	13,5	627,5	410,0	0,651
25	13,9	38,6	92,7	19,0	675,0	490,0	0,724
26	13,8	35,9	94,7	14,0	587,5	435,0	0,656
27	13,2	34,7	99,4	13,0	677,5	502,5	0,778
28	12,5	29,5	96,6	8,5	522,5	410,0	0,748
29	14,3	41,4	64,5	9,0	562,5	447,5	0,717
30	14,5	41,2	71,6	10,5	535,0	452,5	0,637
31	13,7	35,1	68,9	6,5	430,0	332,5	0,617

TABLA 16: Resultados determinados relacionados al contenido y densidad de ramificaciones en AX.

ID	AX (%)	A/X AX	AXs (%)	A/X AXs	AXi (%)	A/X AXi	% AXS
1	0,75	0,2	0,29	0,54	0,46	0,05	38,9
2	0,72	0,21	0,32	0,45	0,39	0,07	45,2
3	0,84	0,24	0,37	0,59	0,47	0,05	43,7
4	0,77	0,27	0,16	0,46	0,61	0,23	20,7
5	1,16	0,35	0,33	0,6	0,83	0,27	28,7
6	1,11	0,29	0,25	0,43	0,86	0,25	22,6
7	0,79	0,18	0,21	0,45	0,58	0,1	26,6
8	0,82	0,21	0,52	0,59	0,35	0	63,7
9	1,04	0,23	0,26	0,4	0,78	0,19	25,2
10	0,93	0,28	0,35	0,6	0,58	0,14	37,8
11	1,26	0,35	0,29	0,41	0,98	0,34	22,7
12	0,88	0,29	0,25	0,52	0,63	0,21	28,4
13	1,49	0,43	0,62	0,58	0,87	0,33	41,8
14	1,13	0,35	0,3	0,49	0,83	0,3	26,3
15	0,98	0,27	0,31	0,5	0,67	0,18	32
16	0,79	0,22	0,23	0,46	0,55	0,14	29,7
17	1	0,29	0,25	0,59	0,75	0,22	25,2
18	0,77	0,19	0,26	0,53	0,52	0,08	33
19	0,98	0,23	0,28	0,42	0,7	0,17	28,3
20	0,87	0,28	0,18	0,52	0,69	0,22	21,1
21	0,84	0,26	0,25	0,49	0,59	0,18	30
22	1,19	0,35	0,26	0,39	0,93	0,34	21,8
23	1,16	0,32	0,3	0,66	0,86	0,23	25,9
24	0,75	0,22	0,34	0,48	0,41	0,07	45,3
25	1,02	0,28	0,31	0,55	0,71	0,19	30,5
26	1,05	0,26	0,29	0,47	0,76	0,19	27,3
27	0,9	0,25	0,28	0,47	0,62	0,17	31,2
28	1,21	0,29	0,26	0,45	0,95	0,25	21,8
29	1,01	0,24	0,4	0,48	0,62	0,12	39
30	0,93	0,26	0,56	0,58	0,39	0	59,8
31	1,25	0,26	0,33	0,46	0,92	0,2	26,5

TABLA 17: Resultados determinados en relación a la fracción aislada de AXi.

ID	E AXi (%)	PMa (g/mol)	PMb (g/mol)	Áa/Áb	Áa	Áb
1	58,5	8780	5150	0,67	32,7	48,6
2	35,7	16995	4594	0,55	36,7	66,3
3	34,0	15549	5558	1,38	70,6	51,1
4	34,2	11319	4203	3,51	126,6	36,1
5	37,4	14968	3178	1,97	47,1	24
6	33,1	16153	5021	1,07	66,5	62,3
7	46,6	14779	4833	1,34	73,5	55
8	73,0	14592	4833	1,34	52,9	39,6
9	24,3	16153	4833	0,84	59,1	70
10	45,1	12689	5150	3,61	94,8	26,3
11	22,5	8033	4833	16,61	198,5	11,9
12	28,6	9355	4098	3,25	137,2	42,2
13	23,1	13694	4311	0,38	51,1	133
14	16,8	14408	4536	0,75	71,2	94,4
15	34,2	13182	4257	1,08	64,9	60,2
16	25,2	11610	3995	1,62	81,8	50,6
17	14,7	13694	4257	0,82	53	64,7
18	25,1	8559	3563	2,16	124,6	57,7
19	41,7	10622	3563	1,01	78,4	77,8
20	44,5	8135	3302	0,42	60,7	143,5
21	31,8	11909	4536	1,03	44,6	43,1
22	19,0	13351	3749	0,99	43,6	44,1
23	25,7	10488	3995	1,83	76,3	41,7
24	53,0	11610	4257	1,14	47,9	42,1
25	20,2	12852	3995	0,66	50,3	76,6
26	19,4	8669	3387	0,42	111,6	263,9
27	47,5	10225	3895	2,25	91,9	40,9
28	29,2	11758	3749	0,93	48,8	52,4
29	45,2	10896	3702	0,85	33,6	39,4
30	42,3	11319	3845	1,29	48,5	37,7
31	23,6	12212	4239	1,86	72,6	63,2

TABLA 18: Resultados determinados en relación a los derivados fenólicos y AF.

ID	Af (ug/g de harina)	AF (ug/g de harina)
2	12,52	17,29
4	2,67	3,50
5	9,01	10,73
12	3,39	3,59
21	2,97	3,14

TABLA 19: Resultados obtenidos de la determinación de parámetros reológicos.

ID	W (J x10⁻⁴)	P (mm)	L (mm)	P/L	HMAX (cm)	TMEZ (min)	EST (min)	ABS (%)
1	372	92	86	1,07	4,89	7,77	79,0	55,0
2	415	113	81	1,40	4,73	9,74	68,0	56,6
3	353	65	111	0,59	4,96	8,82	59,0	52,3
4	311	66	115	0,57	6,28	6,52	58,5	56,0
5	310	83	94	0,88	5,38	5,27	48,5	56,8
6	336	64	146	0,44	5,16	5,83	22,5	56,6
7	205	55	142	0,39	5,87	3,99	20,0	58,5
8	296	66	129	0,51	5,11	5,74	40,5	58,1
9	232	70	105	0,67	4,27	4,60	14,5	61,0
10	337	99	95	1,04	5,01	5,49	36,5	58,7
11	182	79	78	1,01	4,65	3,33	8,0	64,8
12	329	88	117	0,75	5,29	4,97	20,5	59,7
13	301	106	82	1,29	5,43	4,53	25,0	62,1
14	362	101	77	1,31	5,73	6,65	64,5	57,4
15	510	124	90	1,38	5,89	7,30	67,5	59,6
16	380	77	100	0,77	6,22	7,38	63,0	55,2
17	328	81	98	0,83	5,12	6,26	46,0	56,7
18	345	89	96	0,93	5,47	5,29	41,0	57,3
19	442	100	109	0,92	5,40	5,91	33,5	57,7
20	462	94	146	0,64	5,50	4,45	26,0	58,2
21	340	76	116	0,66	5,34	5,37	42,0	58,4
22	192	80	56	1,43	4,69	4,34	17,0	60,2
23	352	103	88	1,17	4,79	5,99	48,0	60,3
24	253	80	96	0,83	5,07	3,70	7,5	63,7
25	336	76	120	0,63	5,45	5,17	22,0	59,7
26	362	102	86	1,19	5,47	5,29	26,5	58,6
27	290	70	96	0,73	5,60	5,30	25,0	57,9
28	164	101	34	2,97	3,85	6,73	37,0	55,3
29	257	87	74	1,18	4,45	4,12	10,5	60,7
30	213	62	85	0,73	4,77	4,59	14,5	58,6
31	160	88	42	2,10	3,56	5,07	18,0	56,2

TABLA 20: Resultados obtenidos de la determinación de AXs y su relación A/X durante el amasado y panificación.

ID	AXs (%) en masa	A/X en AXs en masa	AXs (%) en pan	A/X en AXs en pan
2	0,29	0,62	0,2	0,43
4	0,18	0,55	0,17	0,50
12	0,31	0,55	0,15	0,45
21	0,29	0,68	0,17	0,51
24	0,29	0,59	0,25	0,49

TABLA 21: Resultados obtenidos de la determinación de AXs y su relación A/X durante el amasado y panificación con el agregado de xilanasa comercial.

ID	AXs (%) en masa	A/X en AXs en masa	AXs (%) en pan	A/X en AXs en pan
2	0,40	0,42	0,24	0,47
4	0,30	0,52	0,17	0,49
12	0,46	0,62	0,21	0,44
21	0,34	0,66	0,19	0,44
24	0,51	0,5	0,18	0,45

ANEXO I - Publicaciones

- Garófalo, L., Vázquez, D., Soule, S. (2014) *Incidencia de arabinoxilanos en la calidad panadera de harinas de trigo uruguayas*. Póster presentado al Seminario Internacional 1914-2014, un siglo de mejoramiento de trigo en La Estanzuela, INIA, Colonia, Uruguay.
- Garófalo, L., Vázquez, D., Soule, S. (2013) *Evaluación de calidad en cultivares de trigo a partir de arabinoxilanos*. Póster presentado al Tercer Encuentro Nacional de Ciencias Químicas, Montevideo, Uruguay. Resumen publicado en PEDECIBA-Facultad de Química (Ed.), Tercer Encuentro Nacional de Ciencias Químicas, (p. 57). Montevideo, Uruguay.
- Garófalo, L., González, H., Vázquez, D., Ferreira, F., Soule, S. (2012) *Incidencia de arabinoxilanos en la calidad panadera de harinas de trigo uruguayas*. Póster presentado a XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias, Maldonado, Uruguay. Resumen publicado en S. Chifflet (Ed.), XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias, (p. 86). Maldonado, Uruguay.