



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

---

**Trabajo de Tesis Doctoral:**

***Mejora nutricional de harinas de amaranto y quinoa.  
Aplicaciones en panes de trigo saludables.***

---

**Tesista: Lic. Luciano Martín Guardianelli**

**Director/a: Dra. M. Cecilia Puppo**

**Codirector/a: Dra. M. Victoria Salinas**

**Año: 2022**

El presente trabajo de Tesis para optar al título de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA-UNLP-CONICET) bajo la dirección de la Dra. María Cecilia Puppo y la codirección de la Dra. María Victoria Salinas. El mismo se desarrolló con fondos otorgados por la UNLP, la ANPCyT y el CONICET.

*A partir de los resultados obtenidos de este trabajo de tesis doctoral se publicaron los siguientes artículos en revistas internacionales:*

Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., & Puppo, M. C. (2019). Chemical and thermal properties of flours from germinated amaranth seeds. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 1078-1088.

Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., & Puppo, M. C. (2019). Hydration and rheological properties of amaranth-wheat flour dough: Influence of germination of amaranth seeds. *Food hydrocolloids*, 97, 105242.

Guardianelli, L. M., Salinas, M. V., & Puppo, M. C. (2021). Quality of wheat breads enriched with flour from germinated amaranth seeds. *Food Science and Technology International*, 10820132211016577.

*Dedico esta tesis a mi familia,  
especialmente a mi madre y a  
mi hermana por su cariño y apoyo incondicional.  
A mi padre, que siempre me guía.  
Y a Florencia por su cariño, contención y compañía.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A M. Cecilia Puppo y M. Victoria Salinas por haber confiado en mí, por siempre  
A mis compañeros del grupo: Cristina, Jime, Pau, Marie, Facu, Gabi, Juan, Angi, Leo y todos los que han pasado por el grupo, por la ayuda en los ensayos cuando fue necesaria y siempre la buena onda laboral.

A la Universidad Nacional de La Plata, la Facultad de Ciencias Exactas y al Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) por haberme dado la posibilidad, brindándome sus instalaciones para realizar el doctorado.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por haberme financiado con la beca interna doctoral para la realización del doctorado.

Al Molino Campodónico y su personal, por la donación de la harina utilizada.

A Molinos Rio de La Plata S.A. por prestarme las instalaciones y los equipos para llevar a cabo los ensayos farinográficos y viscoamilográficos.

A mis colegas de box: Claudia, Karen, Estefanía, Belén, Natalia, Juliana, Andrea, Gabriel, Victoria y Felipe, por su ayuda durante la escritura de este trabajo y siempre el buen ambiente.

A mis compañeros del Área de Bromatología por los consejos y la buena onda durante mis estadias.

A todo el personal del CIDCA, en especial a Javier por su ayuda con el DSC, Claudio con el HPLC, Fernanda con el Texturómetro y Mariana con el CG.

A Luciana Naso por su ayuda en los ensayos en células.

A mi familia, por todo el cariño que me brindan y por estar siempre.  
Fundamentalmente a mi mamá y mi hermana. Y a mí papá que desde donde este, siempre me guía.

A Florencia, por el amor, la compañía día a día y su paciencia siempre.

**A todos ¡Muchísimas Gracias!**

## RESUMEN

**Importancia del tema.** El amaranto y la quinoa son granos pertenecientes a los pseudocereales. El amaranto (*Amaranthus* spp.) pertenece a la familia Amaranthaceae y la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) a la familia Chenopodiaceae. Estos granos ricos en almidón resultan aptos para la elaboración de panificados, con la ventaja de que poseen un contenido de proteína (12 a 18%) un poco más elevado que el de los cereales convencionales, entre otras propiedades. La germinación controlada de granos se está realizando en la actualidad con el objetivo de mejorar el perfil nutricional de las harinas derivadas de las semillas, ya que, durante dicho proceso, se producen importantes cambios en la composición de los granos: la  $\alpha$ -amilasa hidroliza los gránulos de almidón, las proteínas se convierten en oligopéptidos y aminoácidos libres, cambiando su composición. Por su parte, los triglicéridos comienzan a hidrolizarse y la proporción de ácidos grasos saturados/insaturados se modifica; el nivel de factores antinutricionales (fitatos, inhibidor de tripsina, taninos, entre otros) disminuye significativamente y los compuestos bioactivos como fenoles, fitoesteroles, folatos y GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico) aumentan. Por lo tanto, en los granos germinados casi todos los nutrientes están completamente disponibles y varios antioxidantes se encuentran en concentraciones más altas, proporcionando así la base para definir las harinas de semillas germinadas como “ingredientes funcionales”. Utilizar harinas de semillas germinadas en productos panificados resulta una buena alternativa, dado que el proceso mejora el perfil nutricional de las harinas germinadas trasladándose esa aptitud a los panificados. Además, los panes son alimentos de consumo masivo por una gran parte de la población. Por otra parte, a diferencia de las semillas germinadas que se degradan rápido, la conversión de éstas en harina mejora la preservación, permitiendo mantener un bajo contenido de agua y actividad acuosa y contribuyendo a la conservación de los componentes bioactivos, facilitando a su vez el manejo tecnológico durante la producción del pan.

**Objetivo.** En el presente trabajo se buscó mejorar la calidad nutricional de harinas provenientes de semillas de amaranto y quinoa mediante la germinación para su incorporación en productos panificados a base de harina de trigo y de esta forma contribuir no sólo a incrementar la producción y la utilización de estas semillas, sino también a agregar valor y mejorar el perfil nutricional de panificados a base de cereales. Se pretendió dejar evidencia de las variables de proceso óptimas para la elaboración de panes de alta calidad tecnológica, sensorial y nutricional.

**Metodología.** La germinación de los granos se llevó a cabo remojando las semillas previamente a 20-30°C por distintos tiempos, según el tipo de semilla. Luego se secaron y molieron para obtener las harinas utilizadas como materias primas para la obtención de masas y panes. Se determinó la composición de las semillas tanto germinadas como sin germinar. Con la harina germinada seleccionada, acorde a las mejores características nutricionales y estructurales (FTIR y SDS-PAGE) obtenidas, se procedió a analizar las diferentes propiedades de las masas en combinación con harina de trigo, como forma de predecir el comportamiento de la masa durante la panificación. Se formularon mezclas con harinas de trigo y de harinas de semillas germinadas y no germinadas al 5%, 15% y 25%. Se determinaron las propiedades farinográficas, el contenido de gluten húmedo y seco, las propiedades de hidratación (absorción de agua, humedad, actividad acuosa y movilidad molecular), reológicas (textura, relajación y viscoelasticidad) de las masas y las propiedades térmicas de las suspensiones acuosas de las harinas (temperatura y variación de entalpía de desnaturalización/gelatinización y viscosidad en caliente y en frío de pastas). La determinación de los parámetros óptimos de fermentación de la masa con levadura permitió poner a punto el proceso de panificación.

Utilizando las mejores variables tecnológicas de formación de masa, se elaboraron los panes por horneado a tiempo y temperatura adecuados. Se determinó la calidad tecnológica por medidas de volumen, color, alveolado, textura y relajación, humedad y actividad acuosa de la miga; en fresco y almacenados hasta 7 días. Se analizaron diferentes atributos sensoriales (color, aroma, sabor, textura, aceptabilidad general) por ensayo de escala hedónica. La calidad nutricional de los panes se evaluó por medidas de composición porcentual, caracterización de compuestos fenólicos y actividad antioxidante y por último a través de la actividad antitumoral de los productos

resultantes de la digestión gastrointestinal *in vitro*, en una línea celular humana de cáncer de colon.

## Resultados

**Amaranto.** La germinación produjo un ligero aumento en el contenido de cenizas y proteínas, en este último caso debido probablemente a un incremento en la síntesis de enzimas que son responsables de activar este proceso en la semilla. Se registró un aumento de los carbohidratos solubles en agua, por la hidrólisis del almidón y/o a la gluconeogénesis a partir de aminoácidos, y una reducción en el nivel de lípidos. Si bien el contenido de proteínas aumentó con la germinación, éstas cambiaron su estructura, evidenciándose disociación de las globulinas P y 11S (62 kDa) y aumento del contenido del polipéptido A-11S (34 kDa). Por otro lado, se determinó el perfil de aminoácidos y ácidos grasos, en donde la harina obtenida de semillas germinadas durante 18h mejoró la proporción de lisina y de ácidos grasos insaturados esenciales frente a las semillas sin germinar, lo que condujo a una baja relación de  $\omega_6/\omega_3$  (<13). La germinación por 18h fue la que mejores resultados arrojó y por consiguiente fue la seleccionada para elaborar masas y panes.

Las masas con un 25% de harina de amaranto sin germinar (A25) y germinada (AG25) mostraron una mayor humedad pero una menor movilidad molecular que la masa de trigo. La masa A25 fue un poco más dura en comparación con la masa de trigo, aunque presentó menor relajación de los polímeros de la matriz pero un comportamiento viscoso superior al elástico ( $> \tan \delta$ ). La masa AG25 evidenció por viscoelasticidad dinámica una mayor  $\tan \delta$  que A25. A grandes deformaciones esta masa presentó la misma dureza aunque una mayor elasticidad (TPA) y mayor módulo elástico de la fracción polimérica ( $>E_2$  y  $<T_2$ ) que la masa de trigo. Las proteínas globulares de amaranto, que contribuyen a la elasticidad de la masa a través de la estabilización de proteínas poliméricas del gluten, modifican su estructura con la germinación, reflejado en el comportamiento reológico descripto. En general, la harina de trigo adicionada con un 25% tanto con harina de amaranto germinado como sin germinar, permitió obtener masas de propiedades reológicas aceptables para la panificación.

La masa con un 25% de harina de amaranto germinado fue la que fermentó más rápido debido a la presencia de azúcares libres, sustratos importantes para la fermentación de



las levaduras que se generaron durante la germinación. Aunque el volumen de masa fermentada fue menor para AG25, los panes obtenidos presentaron mayor volumen específico y fueron más oscuros que los panes A25. Un mayor volumen y un color tostado son dos de las propiedades de calidad requeridas por los consumidores. Además, la miga AG25 presentó un alto número de alvéolos por unidad de área y un área alveolar total mayor que la miga de pan de trigo. En comparación con la miga de pan A25, la de AG25 presentó menos alvéolos para la misma superficie ocupada, lo que indica que estos alvéolos son más grandes, lo que da como resultado una miga más aireada. La firmeza de la miga de pan A25 fue la más elevada, mientras que la AG25 presentó similar firmeza y viscoelasticidad por relajación que la miga del pan de trigo. Además, el incremento de firmeza durante el almacenamiento fue menor para AG25, indicando una mayor vida útil de estos panes. Los panes con amaranto (A y AG) presentaron mayor cantidad de fibra dietaria y lípidos de mejor perfil nutricional con respecto al pan de trigo, aportando el mayor porcentaje de proteínas el pan AG25.

**Quinoa.** El proceso de germinación de ambas quinoas (blanca y roja) fue similar al de amaranto, con un remojo de 5 h y germinación a 20°C a diferentes tiempos. En quinoa blanca la germinación produjo un aumento en el contenido de lípidos y de fibra dietaria total; mientras que en quinoa roja el componente que mayor aumentó fue la fibra dietaria total. En quinoa blanca germinada 48 horas aumentó el nivel de ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico y de actividad antioxidante; mientras que para quinoa roja resultaron, luego de 24 h de germinación, aumentados los ácidos oleico y  $\alpha$ -linolénico, los aminoácidos esenciales Lys, Hys y Met y los compuestos fenólicos, junto con un menor nivel de sodio. Por esta razón se seleccionaron 48 h y 24 h de germinación para semillas de quinoa blanca y roja, respectivamente.

La harina de quinoa produjo cambios en el gluten y la masa, sin embargo la germinación no condujo a un cambio sustancial con respecto a la materia prima sin germinar. Las masas con un 25% de harina de quinoa blanca sin germinar (QB25) y germinada (QBG25) como aquellas con 25% de quinoa roja (QR25, QRG25) fueron las de mayor humedad y movilidad molecular. Para ambos tipos de quinoa la dureza de la masa disminuyó al aumentar el nivel de quinoa sin germinar, mientras que las masas con harina germinada de ambas variedades mostraron un incremento de la dureza, siendo máximo al 25%. Las

masas con harina de quinoa germinada (tanto blanca como roja) presentaron un mayor componente elástico (menor  $\tan \delta$ ), especialmente a 25%.

La harina de quinoa de ambas variedades en un 25% formó masas que fermentaron más rápido, pero con diferente cinética. No hubo diferencias entre QB25 y QBG25, pero en quinoa roja la masa QRG25 fue más estable que la QR25. Si bien el volumen de masa fermentada fue mayor para la masa con quinoa blanca germinada, esta diferencia en el volumen del pan no se evidenció, ya que el volumen específico de ambos panes (QB25 y QBG25) no presentó diferencias entre sí, y en ambos casos el volumen fue menor que el del pan de trigo. Para quinoa roja, el volumen máximo de masa alcanzado durante la fermentación fue mayor en QRG25, sin embargo el volumen específico de los panes no presentó diferencias significativas. Por otro lado, los panes de quinoa de ambas variedades exhibieron el mismo índice de pardeamiento: se obtuvo un incremento del color tostado de los panes, especialmente en productos con harina sin germinar.

En ambos tipos de panes (quinoa blanca y quinoa roja), el incremento en el nivel de quinoa tanto sin germinar como germinada generó panes con una mayor firmeza y masticabilidad, aunque menos pronunciado en los panes con harina de quinoa germinada. Se evidenció también un aumento en los parámetros elásticos y el tiempo de relajación-T1, aunque para QBG25, T1 no presentó diferencias con la miga del pan de trigo. Para quinoa roja, QR25 presentó un valor mucho mayor de los parámetros elásticos respecto a QRG25 y un menor T1. Los panes con harina de quinoa germinada, especialmente la roja, presentaron un menor incremento de la firmeza durante el almacenamiento.

El análisis de la composición de los panes con el mayor nivel de adición de quinoa de ambos tipos (QB25-QBG25 y QR25-QRG25) evidenció para la quinoa germinada y sin germinar un mayor contenido de lípidos y fibra dietaria total y actividad antioxidante que el pan de trigo. El pan QBG25 exhibió un mayor contenido de proteínas, mientras que el pan QRG25 tuvo un contenido de proteínas similar al pan de trigo. El nivel de fibra dietaria resultó mayor al 6% en QBG25 y en QR25 y QRG25, por lo que según el Código Alimentario Argentino se los puede clasificar como de "alto contenido de fibra".

No se observaron diferencias en los atributos de apariencia, textura, sabor, color y aceptabilidad general de los panes con 25% de harina de quinoa, ni con el tipo de quinoa ni con el tratamiento.

**Conclusiones.** Los panes con un 25% de harina germinada, tanto de amaranto como de las dos quinoas (blanca y roja), y teniendo en cuenta el perfil nutricional mejorado de estos productos, en general presentaron una calidad tecnológica aceptable, tanto las masas como los panes frescos y almacenados.

Los panes mejorados nutricionalmente con los 3 pseudocereales germinados que a su vez presentaron mayor actividad antioxidante fueron a su vez bien aceptados por parte de los consumidores. Por otro lado, no se observó en las condiciones estudiadas una inhibición de la actividad celular en ensayos *in vitro* con células tumorales de colon.

**Desafíos a futuro.** Encontrar las condiciones adecuadas de ensayo para la comprobación *in vitro* e *in vivo* de la actividad biológica de los panes con harinas de semillas germinadas.

# Índice

Capítulo I .....	1
Introducción .....	1
1. Trigo .....	2
1.1. Producción de trigo en la Argentina .....	2
1.2. Trigo: Aspectos generales.....	4
1.3. Estructura y composición del grano de trigo .....	5
1.4. Molienda del grano de trigo.....	7
1.5. Composición y tipificación de la harina de trigo .....	8
1.6. Componentes de la harina de trigo.....	10
1.7. Proceso de Panificación.....	17
1.8. Envejecimiento del pan .....	19
1.9. Mejora de la calidad nutricional del pan.....	20
2. Amaranto .....	20
2.1. Producción mundial y en Argentina .....	20
2.2. Formas de consumo y utilización .....	21
2.3. Amaranto: Aspectos generales.....	21
2.4. Estructura del grano .....	23
2.5. Composición química y valor nutritivo del grano de amaranto.....	24
3. Quinoa.....	27
3.1. Producción mundial y en Argentina .....	27
3.2. Formas de consumo y utilización .....	28
3.3. Quinoa: Aspectos generales.....	29
3.4. Estructura del grano .....	30
3.5. Composición química y valor nutritivo del grano de quinoa .....	32
4. Germinación.....	35
4.1. Historia de la germinación de semillas.....	35
4.2. El proceso de la germinación.....	36
4.3. Principales componentes producidos durante la germinación.....	37

OBJETIVOS .....	39
Capítulo II .....	40
Materiales y Métodos .....	40
II.1. Materiales .....	41
- Harina de trigo .....	41
- Semillas de amaranto .....	41
- Semillas de quinoa .....	41
- Cloruro de sodio.....	41
- Levadura.....	41
II.2. Métodos: Harinas.....	41
2.1. Germinación de semillas de Amaranto y de Quinoa.....	41
2.2. Obtención de las harinas a partir de las semillas germinadas .....	42
2.3. Porcentaje de germinación.....	43
2.4. Composición química de las harinas .....	43
2.5. Actividad acuosa de las harinas de amaranto y quinoa .....	48
2.6. Caracterización de proteínas y determinación de aminoácidos de amaranto y quinoa .....	49
2.7. Determinación de minerales de amaranto y quinoa .....	51
2.8. Determinación de ácidos grasos de amaranto y quinoa .....	52
2.9. Determinación de compuestos antioxidantes de amaranto y quinoa.....	53
2.10. Propiedades estructurales de las harinas de amaranto y quinoa.....	55
2.11 Propiedades térmicas de las harinas de amaranto y quinoa.....	56
2.12. Capacidad de retención de solventes (CRS) .....	58
II.3. Métodos: Masas Panarias.....	59
3.1. Diseño experimental.....	59
3.2. Calidad panadera de las mezclas.....	60
3.3. Elaboración de masa.....	61
3.4. Contenido de gluten .....	62
3.5. Propiedades de hidratación de las masas .....	63
3.6. Propiedades reológicas de las masas .....	63
3.7. Movilidad molecular .....	74
II.4. Métodos: Panes .....	75
4.1. Curvas de fermentación .....	75
4.2. Protocolo de panificación .....	77
4.3. Evaluación de la calidad panadera .....	77
4.4. Evaluación de la vida útil de los panes .....	82

4.5. Evaluación sensorial de los panes .....	82
4.6. Composición porcentual de los panes.....	83
4.7. Determinación de los compuestos antioxidantes de los panes .....	83
4.8. Evaluación de la actividad antitumoral de los panes .....	83
Análisis estadístico .....	85
Capítulo III.....	86
Germinados de semillas de Amaranto y Quinoa .....	86
- Harinas - .....	86
Parte A .....	87
Amaranto.....	87
III.A.1. Germinación de semillas de Amaranto .....	88
III.A.2. Composición química de las harinas de amaranto .....	89
III.A.3. Disponibilidad de agua de las harinas de amaranto .....	91
III.A.4. Caracterización de las fracciones de proteínas y contenido de aminoácidos de las harinas de amaranto. ....	92
III.A.5. Contenido de minerales de las harinas de amaranto .....	96
III.A.6. Perfil de ácidos grasos de las harinas de amaranto .....	98
III.A.7. Polifenoles y actividad antioxidante de las harinas de amaranto .....	99
III.A.8. Propiedades estructurales y térmicas de las harinas de amaranto .....	101
III.A.9. Retención de solventes .....	109
Parte B .....	113
Quinoa Blanca y Roja.....	113
III.B.1. Germinación de semillas de quinoa .....	114
III.B.2. Composición química de las harinas de quinoa blanca y roja.....	115
III.B.3. Disponibilidad de agua .....	119
III.B.4. Caracterización fracciones de proteínas y contenido de aminoácidos de las harinas de quinoa .....	120
III.B.5. Contenido de minerales de las harinas de quinoa .....	127
III.B.6. Perfil de ácidos grasos de las harinas de quinoa.....	130
III.B.7. Actividad antioxidante de las harinas de quinoa .....	132
III.B.8. Propiedades estructurales y térmicas de las harinas de quinoa.....	135
III.B.9. Retención de solventes .....	147
Capítulo IV .....	151
Masas y Panes de trigo con harinas de amaranto .....	151
IV.1. Masas.....	152
IV.1.1. Caracterización de la harina de trigo .....	152

IV.1.2. Calidad panadera de las mezclas .....	153
IV.1.3. Propiedades de hidratación de la masa .....	156
IV.1.4. Caracterización reológica de las masas.....	158
IV.2. Panes.....	168
IV.2.1. Proceso de fermentación de la masa .....	168
IV.2.2. Evaluación de la calidad panadera .....	171
IV.2.3. Evaluación de la vida útil de los panes.....	183
Capítulo V .....	189
Masas y Panes de trigo con harinas de quinoa blanca y roja .....	189
V.1. Masas.....	190
V.1.1 Caracterización de las harinas de trigo y de quinoa .....	190
V.1.2. Calidad panadera de las mezclas .....	190
V. 1.3. Propiedades de hidratación de la masa .....	194
V.1.4. Caracterización reológica de las masas.....	197
V.2. Panes.....	210
V.2.1. Proceso de fermentación de la masa .....	210
V.2.2. Evaluación de la calidad panadera .....	215
V.2.3. Evaluación de la vida útil de los panes.....	232
Capítulo VI .....	239
Calidad nutricional de los panes de amaranto y quinoa.....	239
VI.1. Análisis sensorial de los panes.....	240
VI.1.1. Amaranto.....	240
VI.1.2. Quinoa .....	241
VI.2. Composición, compuestos fenólicos y actividad antioxidante de panes frescos .....	247
VI.2.1. Amaranto.....	247
VI.1.2. Quinoa .....	249
V.3. Determinación de actividad antitumoral .....	255
<i>Conclusiones generales</i> .....	257
<i>Referencias</i> .....	261





# Capítulo I

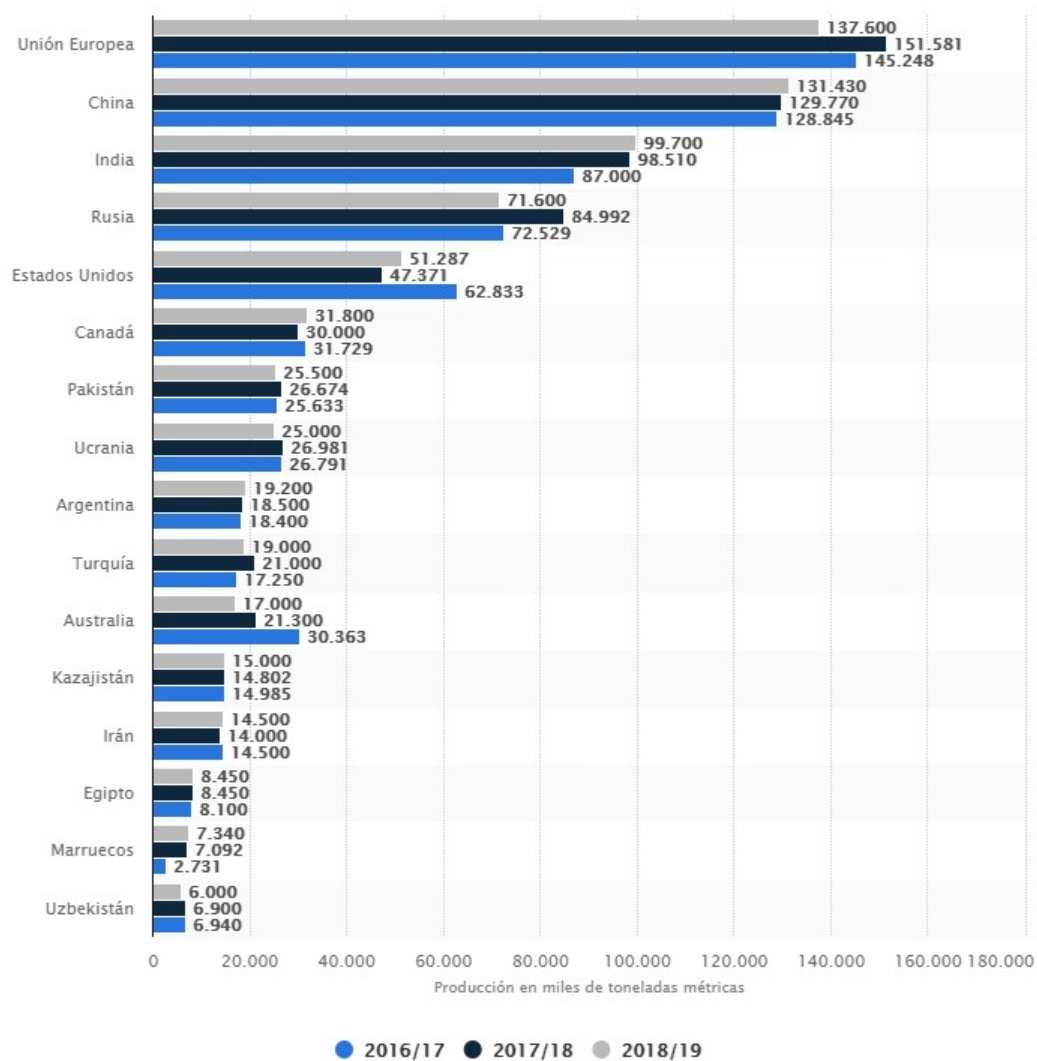
## Introducción

## 1. Trigo

### 1.1. Producción de trigo en la Argentina

Nuestro país se encuentra entre los 20 principales productores de trigo a nivel Mundial tal como se observa en la Figura 1.1, habiendo ocupado durante la cosecha 2018-2019 el noveno lugar con 19.200 toneladas métricas (Statista, 2021), situando al trigo como el 3° producto en el país durante esa cosecha (Agricultura Argentina, 2021).

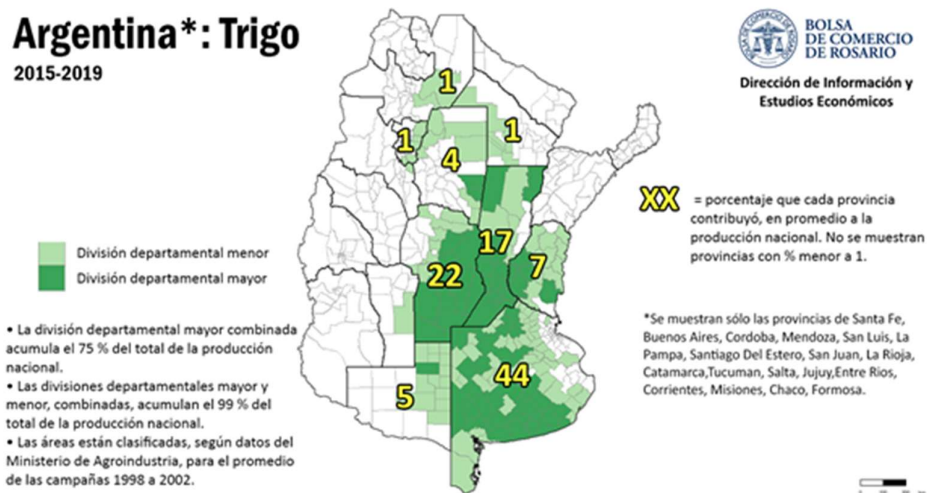
Su destino fundamental en el mercado interno es la molienda para obtener la harina y utilizarla en productos de panadería.



**Figura 1.1.** Principales productores de trigo a nivel mundial, durante las últimas cosechas.

Existen dos grandes zonas trigueras en la Argentina, una con foco en el sur de la provincia de Bs As y La Pampa y otra que va desde el norte de la provincia de Buenos Aires hasta el Noroeste argentino (NOA).

En los últimos años se está revirtiendo la marcada concentración de la producción de trigo en la provincia de Buenos Aires. Crece la siembra en el litoral argentino, con foco en Córdoba y en el NOA, esto se debe a la ampliación de las fronteras productivas sobre territorios no tradicionales para el trigo, lo cual generó un mayor volumen comercializable en las provincias del centro y noroeste de la Argentina. Promediando las últimas cuatro cosechas, se puede ver en la Figura 1.2 que la principal región productiva resulta ser la provincia de Buenos Aires representando el 44% del total nacional. En segunda posición se ubica la provincia de Córdoba con el 22% de la producción nacional, seguida por Santa Fe con un 17% de la cosecha triguera. Juntando estas tres provincias representa más del 80% del trigo argentino. Por otra parte, la provincia de Entre Ríos aporta el 7% de la cosecha nacional, y La Pampa el 5%. Las provincias de Santiago del Estero, Chaco, Tucumán y Salta, situadas al norte de la principal región productora cosechan el 7% de la producción total.



**Figura 1.2.** Producción de trigo en Argentina como un promedio en las cosechas del 2015-2019 (Fuente: <https://ruralnet.com.ar/2020/02/17/en-que-regiones-esta-localizada-la-produccion-y-comercializacion-de-trigo-en-argentina/>)

Después de la exportación, la producción de trigo es destinada a la molienda en Argentina. Siguiendo datos de la Federación Argentina de la Industria Molinera (FAIM) y Hinrichsen S.A., se puede aproximar la cantidad de trigo destinado a molienda en cada una de las dos grandes regiones definidas anteriormente. Se estima que el 80% de la actividad molinera se desarrolla en la “Región Norte” del país mientras que la industria de la Región Sur muele el 20% del trigo argentino. En la provincia de Buenos Aires se procesa el 54% del trigo, y los molinos provinciales se distribuyen de la siguiente manera: 65% en los departamentos del norte y 35% en los departamentos del sur. Córdoba es la segunda provincia molinera del país, con una participación del 21%, seguida por Santa Fe que procesa el 14% del total (Di Yenno y col., 2020).

Estas estadísticas permiten resaltar la importancia de la producción de trigo para el país y por ende de su utilización en la elaboración del pan, un alimento sumamente importante en la mesa de los argentinos (Cucinare, 2019). Es por ello que a continuación daremos información de las características generales del grano de trigo, de los principales componentes de la harina y de las aptitudes para la formación de un pan de buena calidad, debido a que la harina de trigo será el componente mayoritario de los panes funcionales con harinas de amaranto y quinoa estudiados en este trabajo.

## 1.2. Trigo: Aspectos generales

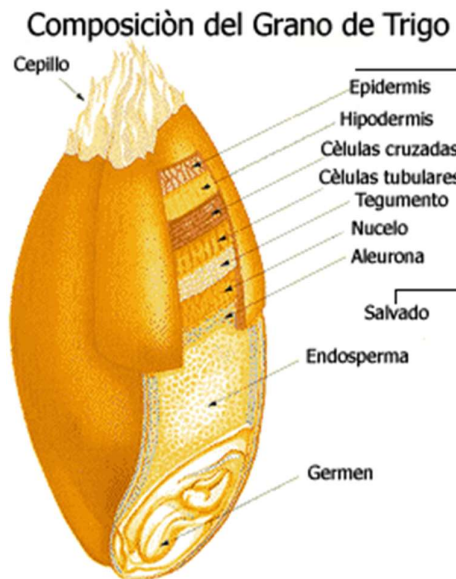
La planta y cereal conocido como trigo es una familia de gramínea que se encuentra estructurada por un conjunto de tallos cilíndricos, los cuales generalmente son huecos, suelen estar interceptados por nódulos y un conjunto de hojas que se intercalan entre sí, brotando estas de dichos nudos, los cuales envuelven al tallo. El nombre científico con el cual se identifica a este cereal es *Triticum*, ya sea en su versión silvestre o la planta cultivada, la cual tiene un régimen de producción anual y es uno de los granos más sembrados, cultivados y procesados en toda la Tierra.

Las especies cultivadas más importantes desde el punto de vista comercial se pueden clasificar en dos grandes grupos: las destinadas a panificación o trigo pan (*T. aestivum*) y aquellas utilizadas en pastas o trigo fideo (*T. durum*). Los procesos de panificación requieren harinas con un contenido proteico y una fuerza determinadas. La fuerza del trigo es una cualidad relacionada con sus aptitudes panaderas (Campbell y col., 2007), es decir, con la capacidad de la harina para producir piezas de pan de gran volumen con

una miga de buena textura. Los trigos con esta cualidad poseen un elevado contenido proteico y se los llama trigos fuertes. En cambio, aquellos con los cuales se consiguen piezas pequeñas de pan con migas poco estructuradas suelen tener un bajo contenido proteico, clasificándolos de trigos débiles, siendo ideales para la elaboración de productos en los que no llega a desarrollarse el gluten o que no requieren fermentaciones con levadura, como ser las galletitas, tortas y pastelería en general (León y Rosell, 2007).

### 1.3. Estructura y composición del grano de trigo

Por su estructura y composición es que el grano de trigo se ha visto favorecido en su uso en alimentos, dado que facilitan su almacenamiento el bajo contenido de humedad (composición) y la presencia de una capa de salvado protectora (estructura). Su estructura (Figura 1.3) ha sido también la base de los métodos de separación y refinamiento del endosperma almidonoso para uso en alimentos, dado que el salvado es más duro y liviano que el endosperma almidonoso y esto facilita su separación.



**Figura 1.3.** Estructura del grano de trigo y sus partes (Fuente: <http://laharinoteca.blogspot.com/>).

En el grano de trigo pueden reconocerse 3 estructuras diferentes, la capa exterior o salvado, el germen y el endosperma (Figura 1.3.).

- Salvado: La capa de salvado está compuesta por el pericarpio, la testa y la capa aleurona, las cuales difieren ampliamente en su composición. El pericarpio está compuesto en su mayoría por carbohidratos no almidonosos que se originan en las paredes celulares. La testa parece contener carbohidratos no almidonosos, material cutáneo y pigmentos fenólicos. La capa aleurona tiene relativamente un alto contenido de proteínas, lípidos, minerales, vitaminas y enzimas. La composición típica del salvado es: 15% de proteínas, 5% lípidos, 6% de cenizas, 14% de agua, 24% de otros componentes. De los carbohidratos presentes en el salvado, 35% es celulosa, 45% es hemicelulosa, 8% azúcares, y el resto es almidón. También en esta fracción se encuentran lignina, lípidos y minerales. Casi todo el fósforo (1%) está presente como ácido fítico en la capa aleurona.

- Germen: el germen representa aproximadamente el 3% del grano de trigo y contiene un 30% de proteínas, 4% de cenizas, 17% de azúcares (siendo las mayoritarias sacarosa y rafinosa), 10% lípidos y contiene gran variedad de enzimas (lipasas, lipooxigenasa, amilasas, proteinasas, entre otras) y vitaminas del grupo B (niacina, riboflavina, tiamina) y E (tocoferol). Está formado por el eje embrionario (raíz y tallo rudimentarios) y el cotiledón que funciona como un órgano de digestión, absorción y almacenamiento de nutrientes.

- Endosperma: el endosperma se encuentra formado por la capa de aleurona y el endosperma almidonoso. La capa de aleurona es la capa más externa del endosperma, se encuentra formada por una sola capa de células y rodea al endosperma y al germen por completo. Sus células tienen un núcleo grande, poseen gránulos que consisten principalmente en proteína y presentan paredes celulares gruesas y ricas en celulosa. La capa de aleurona contiene aproximadamente el 61% de los minerales del grano de trigo, el 80% del niacina y 60% de la piridoxina (vitamina B6). En la molienda la capa de aleurona se desprende junto con el pericarpio, las envolturas de la semilla y la epidermis nuclear constituyendo parte del salvado.

El endosperma almidonoso ocupa el centro del grano, representa el componente morfológico más grande de todos los cereales (Evers y Millar, 2002) y contiene los componentes más importantes para la panificación ya que la harina se compone principalmente de este tejido. En el grano maduro el endosperma almidonoso está compuesto básicamente por almidón y proteínas. El almidón se acumula durante el

desarrollo del grano, en forma de gránulos incluidos en una matriz proteica. El almidón del endosperma a su vez se compone de un cuarto de amilosa y el resto de amilopectina, donde un 0,8 % de lípidos forman complejos con la fracción amilosa. Pese a no ser el componente más abundante del endosperma harinoso, las proteínas de trigo son el componente más importante con respecto a la panificación. Son las propiedades fisicoquímicas de estas macromoléculas las que permiten que la harina de trigo tenga la habilidad casi única de transformarse en pan. Las proteínas de trigo se dividen en 5 fracciones, según la clasificación de Osborne (1924) en albúminas, globulinas, gliadinas, gluteninas y las proteínas insolubles. Las albúminas y las globulinas componen el 20-25 % de las proteínas, las gliadinas el 35-40% y las gluteninas el 35-40%. Estos dos últimos grupos son principalmente las formadoras del gluten.

#### 1.4. Molienda del grano de trigo

En el proceso de molienda del grano de trigo se separa el endosperma del germen y del salvado obteniéndose la harina blanca para panificación.

Previo a la molienda, lo que se realiza es la limpieza de los granos, que tiene como fin la eliminación de impurezas como ser piedras, paja, arena, polvo, metales, otras semillas, entre otras. Posteriormente se realiza el acondicionamiento de los granos, en donde se adiciona agua al grano de trigo y se deja reposar durante 20 horas para uniformizar la humedad en el grano. Con el acondicionamiento se incrementa la humedad del grano de 14% a 16% para favorecer el proceso de la molienda, logrando una textura dura y elástica para el salvado y blanda para el endosperma, que facilitará la posterior separación de estas dos fracciones.

Luego del acondicionamiento se somete el grano de trigo al proceso de molienda, en el cual se liberan partículas del endosperma con una mínima desintegración del salvado (Webb y Owens, 2003). Se emplea un sistema de rodillos estriados que rompen y abren el grano extrayendo el endosperma. Las partículas grandes que se obtienen corresponden a la sémola. Los productos pasan luego a un cernedor oscilatorio que los separa en subfracciones que envía hacia los rodillos de reducción. En esta etapa se obtiene algo de harina que, sin pasar por el resto del proceso, se tamiza y separa. Las muestras así trituradas se someten a purificación por medio del pasaje a través de purificadores, rodillos de molienda y tamices. En este paso se logra la separación de las

partículas en base a sus diferentes tamaños y peso específico. Generalmente la purificación del material proveniente de la primera y segunda rotura da lugar a endosperma puro, mientras que la purificación de roturas posteriores da lugar a material con mayor contenido de salvado (Webb y Owens, 2003).

La etapa final de la molienda es la reducción, en ella se obtiene la harina con las características deseadas. Se emplean hasta 12 pares de cilindros lisos que giran con diferente velocidad para reducir el tamaño de las partículas de harina. De este proceso se obtiene harina de diferente calidad, lográndose la harina de mejor funcionalidad para la panificación a partir de los primeros cilindros. El material obtenido en cada par de cilindros de reducción pasa a través de un cernedor oscilatorio que lo clasifica, la harina se separa y las fracciones restantes, con mayor tamaño de partícula, pasan al cilindro siguiente. La compresión realizada por los cilindros en esta etapa produce la rotura de los gránulos de almidón, lo cual afecta a la absorción de agua de la harina resultante y por ende la calidad final del producto.

### 1.5. Composición y tipificación de la harina de trigo

La composición promedio de la harina de trigo se muestra en la Tabla 1.1. Alrededor del 70% de la harina obtenida se utiliza para la fabricación de pan, siendo las harinas de trigo y en menor grado la de centeno las únicas que resultan panificables. Esta particularidad se debe a la presencia de las gliadinas y gluteninas en el grano (Lindsay y Skerritt, 1999; Shewry y col., 2001).

**Tabla 1.1.** Composición química aproximada de la harina de trigo.

<b>Componente</b>	<b>Contenido porcentual (%)</b>
<b>Almidón</b>	60,0 - 68,0
<b>Proteínas</b>	7,0 - 18,0
<b>Humedad</b>	8,0 - 18,0
<b>Pentosanos</b>	2,0 - 2,5
<b>Fibra cruda</b>	2,0 - 2,5
<b>Lípidos</b>	1,5 - 2,0
<b>Cenizas</b>	1,5 - 2,0

\*Fuente: León y col. (2007).



Los componentes mayoritarios en la harina de trigo son el almidón y las proteínas. Juntos son los principales responsables de las propiedades físicas y químicas de la harina y de los productos obtenidos a partir de ella.

El Código Alimentario Argentino (CAA) en el Capítulo IX, artículo 661 (Res 167, 26.1.82) define como “Harina” al producto obtenido de la molienda del endosperma del grano de trigo y tipifica comercialmente a las harinas del siguiente modo: cuatro ceros (0000), tres ceros (000), dos ceros (00), cero (0), medio cero (medio 0), harinilla de primera y harinilla segunda, las cuales se obtienen de la molienda gradual y metódica del endosperma en cantidad de 70-80% del grano limpio.

En la Tabla 1.2 se muestran las características requeridas para los diferentes tipos de harinas.

**Tabla 1.2.** Tipificación comercial de las harinas de trigo según el CAA.

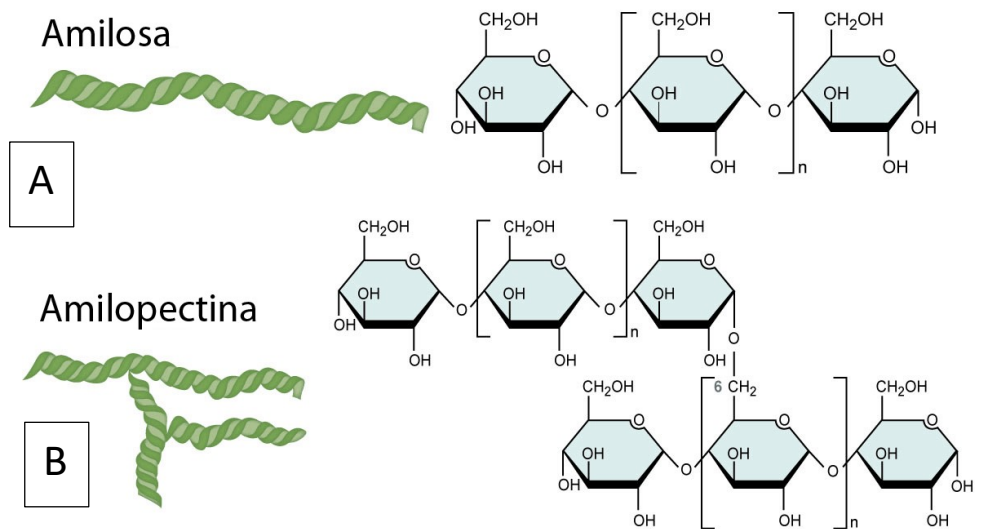
Harina tipo	Humedad g/100 g (máx.)	Cenizas g/100 g (máx.)	Absorción de agua g/100 g	Volumen pan cm <sup>3</sup> (mín.)
<b>0000</b>	15,0	0,492	56 - 62	550
<b>000</b>	15,0	0,65	57 - 63	520
<b>00</b>	14,7	0,678	58 - 65	500
<b>0</b>	14,7	0,873	60 - 67	475
<b>½ 0</b>	14,5	1,350	-	-

La tipificación de las harinas se basa en: 1) el contenido de cenizas determinado a 900-920°C (calculadas sobre residuo seco), 2) la humedad determinada a 130°C durante una hora, 3) la absorción farinográfica de agua (cantidad de agua que absorben 100 g de harina) y 4) el volumen de pan que puede obtenerse a partir de 100 g de harina (Tabla 1.2).

## 1.6. Componentes de la harina de trigo

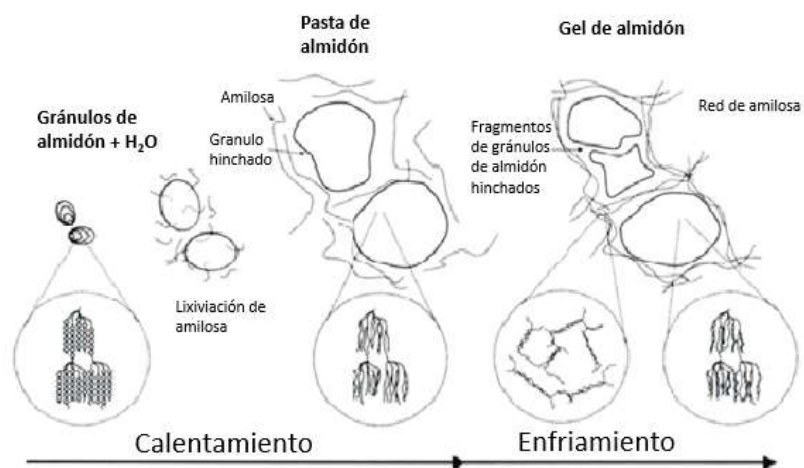
### 1.6.1. Almidón

Los granos de cereales almacenan energía en forma de almidón. El almidón es el hidrato de carbono mayoritario en el grano de trigo maduro, representa entre el 65-70% de la harina de trigo. El almidón se acumula en forma de gránulos, los cuales se forman dentro de los amiloplastos. Los gránulos de almidón tanto de la harina de trigo, como de otros cereales, muestran una distribución de tamaño bimodal, los gránulos más pequeños (tipo-B) son esféricos y con un diámetro inferior a 10  $\mu\text{m}$ , en tanto que los grandes (tipo-A) son lenticulares y poseen un diámetro cercano a 20  $\mu\text{m}$  (Rojas y col., 2000). El interior de los gránulos está formado por regiones cristalinas y amorfas alternadas, por lo que el almidón está considerado como un polímero semicristalino o parcialmente cristalino (Eliasson y Gudmundsson, 1996), en el cual las zonas amorfas son menos densas y están conformadas principalmente por amilosa mientras que las zonas cristalinas están formadas principalmente por doble hélices de amilopectina. Las propiedades funcionales del almidón responden esencialmente a estos dos tipos de moléculas: amilosa (25%) y amilopectina (75%), y representan aproximadamente el 15 y el 50% respectivamente del total de la harina. La amilosa se encuentra formada por residuos de glucosa unidos a través de enlaces  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) (Figura 1.4.A). El grado de polimerización de la amilosa se encuentra entre 500 y 6000 residuos de glucosa y sus cadenas presentan una estructura helicoidal en donde los grupos hidroxilo están orientados hacia el exterior, generándose en el interior un ambiente no polar en donde pueden incluirse moléculas tales como los ácidos grasos. Por su parte, la amilopectina es un polímero altamente ramificado formado por cadenas de residuos de glucosa unidos a través de enlaces  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) las cuales se encuentran unidas a través de enlaces  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6), originándose de este modo las ramificaciones (Figura 1.4.B). El grado de polimerización de la amilopectina se encuentra entre  $3 \times 10^5$  y  $3 \times 10^6$  residuos de glucosa, sus cadenas se clasifican en A, B, C, en base a la presencia de ramificaciones y extremos reductores, presentando una estructura en clusters. Cuando se los observa con un microscopio de luz polarizada, presentan birrefringencia con forma de cruz de Malta, la cual refleja el arreglo radial de las moléculas de almidón en el gránulo alrededor del centro biosintético, el hiliúm (Jane, 2004).



**Figura 1.4.** Estructuras de: **A)** amilosa y **B)** amilopectina.

Al preparar una suspensión de almidón en exceso de agua a temperatura ambiente los gránulos de almidón son capaces de absorber parte del agua incrementando su tamaño un 10-30% (Dengate, 1984). Cuando se calienta la suspensión, ocurre el fenómeno irreversible conocido como gelatinización (Figura 1.5), en donde se pierde el orden molecular y el gránulo de almidón pierde su birrefringencia.



**Figura 1.5.** Cambios que experimenta el gránulo de almidón en una mezcla almidón-agua durante un calentamiento, enfriamiento y almacenamiento. (Adaptada de Salcedo Mendoza y col., 2017)

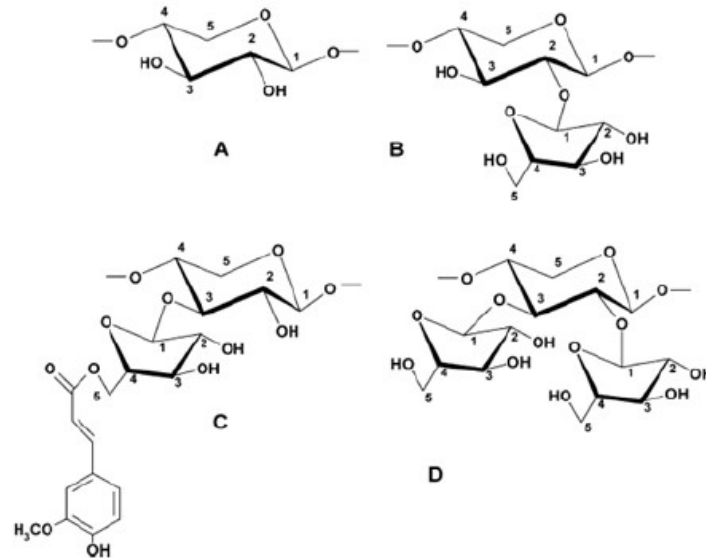
La gelatinización inicia por las zonas amorfas dado que los enlaces de hidrógenos son más lábiles en estas zonas y permiten la entrada de agua al gránulo por lo que comienza a hidratarse e hincharse. Además, ocurre la disociación de la doble hélice de moléculas de amilopectina, la fusión de las zonas cristalinas y la salida de moléculas de amilosa fuera del gránulo, originando un incremento de la viscosidad de la suspensión. Al continuar incrementando la temperatura o al realizar un esfuerzo de cizalla la estructura remanente del gránulo seguirá dañándose y continuará la salida de amilosa. Al enfriar la pasta así obtenida ocurre la gelación de la amilosa debido a la formación de una estructura de doble hélice entre las moléculas, obteniéndose una matriz de amilosa continua en la cual se encuentran embebidos gránulos de almidón gelatinizados enriquecidos en amilopectina o sus remanentes. La recristalización de la amilosa y la amilopectina se conoce como retrogradación y es un proceso que ocurre en el término de horas en el caso de la amilosa y es más lento, de días a semanas, para la amilopectina. La retrogradación de la amilopectina ocurre en los gránulos gelatinizados o en los remanentes. La retrogradación de la amilopectina es uno de los fenómenos que conduce al endurecimiento de la miga del pan durante el almacenamiento.

Otra manera de estudiar el proceso de gelatinización en el almidón de trigo es mediante la calorimetría diferencial de barrido (DSC). El almidón en exceso de agua, se presenta como una única endoterma y suele comenzar aproximadamente a los 50°C y finalizar cerca de los 80°C, observándose un pico alrededor de los 60°C. Mientras que en los sistemas en donde el agua es limitante se observa un aumento del rango de temperatura de gelatinización y un desdoblamiento de la endoterma (Ghiasi y col., 1982).

### 1.6.2. Pentosanos

A todos los polisacáridos no almidonosos que están presentes en la harina se los denomina en forma genérica como pentosanos dado que el 80% de los azúcares que los componen son pentosas: D-xilosa (Figura 1.6.A) y D-arabinosa. También se los denomina hemicelulosas porque son los polisacáridos predominantes de las paredes celulares. Son sustancias complejas, cuyo esqueleto está formado por residuos de D-xilosa unidos por enlaces  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) al que se denomina xilano. El xilano puede estar sustituido en el carbono 2 y/o en el carbono 3 por residuos de D-arabinosa principalmente (Figura 1.6.B y 1.6.D) y en menor medida de glucosa, fructosa y manosa. Los residuos de arabinosa

pueden estar a su vez, sustituidos en su C5 por ácido ferúlico (Figura 1.6.C). Un parámetro de caracterización es la relación arabinosa/xilosa cuyo valor típico es 0,5-0,6 en la harina de trigo (Cleemput y col., 1993).



**Figura 1.6.** Estructura de los arabinoxilanos. **A)** Residuo de D-Xilosa no sustituida. **B)** Residuo de D-Xilosa sustituida en el C(O)-2 con un residuo de D-arabinosa. **C)** Residuo de D-Xilosa sustituida en el C(O)-3 con un residuo de D-arabinosa que tiene unido al C(O)-5 una molécula de ácido ferúlico. **D)** Residuo de D-Xilosa sustituida en el C(O)-2 y C(O)-3 con residuos de D-arabinosa.

Los pentosanos, aunque representan sólo el 2-2,5 % de la harina, son componentes muy importantes desde el punto de vista funcional debido a que absorben de 10-15 veces su peso en agua y forman soluciones muy viscosas o geles por uniones covalentes afectando la distribución de la humedad entre los constituyentes de la masa y alterando así la formación del gluten y las propiedades reológicas de la masa y la calidad final del pan (Kim y D'Appolonia, 1977).

### 1.6.3. Proteínas

Una clasificación de las proteínas de origen vegetal, un tanto antigua pero aplicable hoy en día, es aquella en base a una secuencia de solubilidad en diferentes solventes. La secuencia de Osborne (1924) clasifica a las proteínas de trigo en: solubles en agua (albúminas), en solución salina diluida (globulinas), en alcohol (prolaminas) y en solución diluida de ácidos o álcalis (glutelinas). Las prolaminas de trigo se denominan gliadinas y

las glutelinas de este cereal se denominan gluteninas. Una fracción importante de proteínas se excluye de las fracciones de Osborne porque no son extraíbles con ninguno de los disolventes utilizados, son las proteínas insolubles del trigo.

Desde el punto de vista de la funcionalidad de las proteínas, se pueden distinguir dos grupos de proteínas de trigo:

- *Proteínas no pertenecientes al gluten*: constituyen entre un 20-25% del total de las proteínas del trigo (según clasificación de Osborne son las albúminas y globulinas). En su mayor parte son proteínas monoméricas, estructurales o fisiológicamente activas (enzimas).

-*Proteínas de gluten*: se las conoce también como proteínas de almacenamiento, constituyen entre el 75 y el 80% de las proteínas totales. Se designa como gluten a la red formada por gluteninas y gliadinas hidratadas durante el amasado.

### ***Proteínas y estructura del gluten***

El conocimiento de la estructura de las proteínas de trigo y el tipo de interacción que se establece entre ellas durante la formación del gluten resulta muy importante ya que permite saber cómo se verán afectadas por la incorporación a la harina de trigo de otros tipos de harinas, que pueden tener un efecto sinérgico o antagónico en el desarrollo de la matriz de masa panaria. Por esta razón, se realiza a continuación una descripción completa de la estructura de las proteínas de trigo y su interacción en la matriz del gluten.

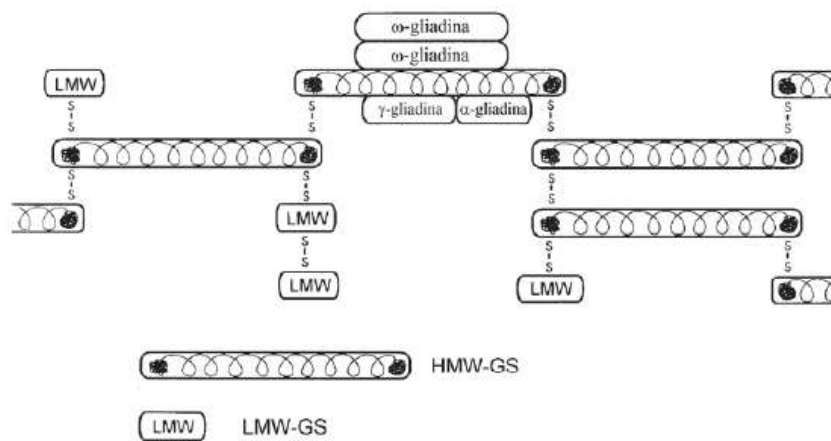
Las gliadinas son un grupo altamente polimórfico de proteínas monoméricas ricas en glutamina y prolina, con un bajo nivel de aminoácidos cargados. Han sido identificados cuatro tipos de acuerdo a su movilidad cuando son separadas mediante electroforesis ácida (A PAGE):  $\alpha$ - (~28 kDa),  $\beta$ - (~30 kDa),  $\gamma$ - (35) y  $\omega$ -gliadinas (45 kDa). Posteriormente, mediante HPLC en fase reversa se demostró que las subunidades  $\alpha$ - y  $\beta$ - se encuentran dentro de un mismo grupo ( $\alpha/\beta$ ) (Wieser, 1996). Las  $\omega$ -gliadinas son ricas en glutamina, prolina y fenilalanina y no poseen residuos de cisteína, lo que las limita para formar interacciones covalentes en la masa (Tatham, 1995). Las  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -gliadinas poseen un dominio N-terminal repetitivo rico en residuos de glutamina, prolina, fenilalanina y tirosina; y un dominio C-terminal no repetitivo que posee residuos de cisteínas. En general, las  $\alpha/\beta$ -gliadinas contienen seis y las  $\gamma$ -gliadinas presentan ocho residuos de

cisteínas que forman tres y cuatro enlaces disulfuro intramoleculares respectivamente, lo que las hace incapaces de establecer nuevos enlaces covalentes y formar parte en la formación de la red de gluten (Shewry, 2019). De cualquier manera, estos enlaces disulfuro son importantes para mantener el plegamiento de la estructura que determina la naturaleza de las interacciones no covalentes con la red de gluteninas (Wrigley y col., 1998).

La fracción de gluteninas comprende agregados proteicos los cuales se mantienen unidos por puentes disulfuro y fuerzas no covalentes intermoleculares (Wieser, 2007). Al tratar las gluteninas con una solución de dodecil sulfato de sodio (SDS) más un agente reductor, como el  $\beta$ -mercaptoetanol o el ditioneitol, se obtienen dos grupos de proteínas que se diferencian en su masa molecular: las subunidades de baja masa molecular (LMW-GS) y las subunidades de alta masa molecular (HMW-GS) (Wieser, 2000). Las subunidades LMW-GS poseen la habilidad de formar puentes disulfuro que permiten su incorporación dentro de los polímeros de gluteninas. La mayoría de las LMW-GS contienen entre siete y ocho residuos de cisteínas (Grosch y Wieser, 1999; Wieser, 2003), seis residuos están en una posición homóloga a las gliadinas, y por lo tanto pueden formar puentes disulfuro intramoleculares. Los residuos de cisteínas de las LMW-GS adicionales no son capaces de formar puentes disulfuro intramoleculares, probablemente por impedimento estérico, pero pueden formar puentes disulfuro intermoleculares y llevar a la formación de agregados proteicos entre ellas y con las HMW-GS (Pogna y col., 1994). En general, las LMW-GS se relacionan con la resistencia y la extensibilidad de la masa (Cornish y col., 2001; Shewry, 2019).

Shewry y col. (2001) presentaron un modelo estructural de HMW-GS basándose en datos espectroscópicos, donde muestran a las subunidades de gluteninas de alta masa molecular como moléculas alargadas que poseen una estructura  $\beta$ -espiral repetitiva en la región central, mientras que los dominios N- y C-terminal poseen una estructura similar a las proteínas globulares, presentando  $\alpha$ -hélices y estructura desordenada. En los dominios terminales se encuentran la mayoría de los residuos de cisteína que proveen los sitios necesarios para la formación de puentes disulfuro intermoleculares. A las gluteninas, sobre todo a las HMW-GS, se les asigna la capacidad de conferir a la elasticidad de las masas, debido a la repetición de las estructuras tipo giro- $\beta$ . En la Figura

1.7 se muestra un esquema de la estructura del gluten en el cual las gluteninas de alta masa molecular forman la columna vertebral del polímero y se encuentran unidas entre sí a través de puentes disulfuro intermoleculares ubicados en los extremos. La columna vertebral de HMW-GS sirve de base para que se unan a ella las subunidades de bajo peso molecular (LMW-GS) mediante puentes disulfuro en los puntos de ramificación. Las gliadinas, consideradas tradicionalmente por contribuir a la viscosidad del gluten, interactúan principalmente con los polímeros de gluteninas mediante interacciones no covalentes. En el dominio central de las HMW-GS ocurren interacciones puentes de hidrógeno probablemente entre las amidas de los residuos de glutamina. Estas interacciones son muy importantes porque contribuyen a la viscoelasticidad de la masa (Shewry ,2009; Belton, 1999; Barak y col., 2013).



**Figura 1.7.** Esquema de la estructura de la matriz de gluten. Imagen adaptada de Shewry y col. (2001).

Esta matriz única podría sufrir cambios de estructura por el agregado de harinas diferentes a las de trigo en premezclas para ser utilizada en la elaboración de panes funcionales, debido a que se incorporan proteínas de diferente naturaleza, que no son capaces de formar gluten, pero sí podrían afectar la interacción de las proteínas de trigo. Si bien sería posible formar una matriz panificable en premezclas, esa estructura sería diferente a la del gluten de trigo, y esa diferencia sería la que conduce a las diferentes características de calidad del pan funcional.



## 1.7. Proceso de Panificación

La capacidad de la harina de trigo para formar una masa viscoelástica se relaciona íntimamente con las características de las proteínas de almacenamiento del grano de trigo, gliadinas y gluteninas, que son, como lo expresamos anteriormente, aquellas capaces de formar la matriz de gluten y permitir la obtención del pan y demás productos leudados.

Existen diversos procesos de panificación, sin embargo, todos comparten ciertas etapas generales: la formación de una masa con adecuadas características viscoelásticas, la incorporación de aire ( $O_2$  y  $N_2$ ), el formado de las piezas, la fermentación (producción de  $CO_2$ ) y el horneado. Un adecuado desarrollo de todas estas etapas contribuye a la calidad del producto final; de cualquier manera, las propiedades más relevantes se obtienen durante la etapa de amasado. Los cambios deseables resultantes de un desarrollo óptimo de la masa están asociados a la capacidad de la masa de retener burbujas de gas ( $CO_2$ ) y permitir, durante la fermentación y el horneado, la expansión uniforme de la pieza. Para mejorar la retención de gas es deseable obtener masas extensibles, además la reducción de la resistencia y elasticidad son propiedades importantes de la estructura de la masa ya que contribuyen a la retención de las burbujas de gas luego de la expansión y durante el horneado (Cauvain, 2002).

### 1.7.1. Amasado

Durante la etapa del amasado los componentes de la harina se hidratan y como resultado de la entrega de energía mecánica se produce el desarrollo de la red cohesiva y viscoelástica de gluten. Además, durante esta etapa se incorpora aire al sistema. Al final de la etapa de amasado, la masa panaria debe tener las características viscoelásticas óptimas para su posterior procesado (Belton, 2003). Cuando el amasado es insuficiente o excesivo las propiedades viscoelásticas del gluten y en consecuencia las de la masa obtenida serán pobres y esto afectará el éxito de las etapas siguientes y la calidad de los productos panificados obtenidos.

El  $O_2$  que se incorpora a la masa es rápidamente consumido por las levaduras, mientras que el  $N_2$  queda retenido en forma de burbujas junto con el  $CO_2$  generado durante la fermentación. Las burbujas son las que se convertirán en los alveolos de la miga del pan

durante la fermentación y horneado por la migración del CO<sub>2</sub> generado. Por lo tanto, la obtención de un pan de buena calidad está relacionada con un proceso de amasado óptimo donde se produzca un desarrollo adecuado de la red de gluten (con un balance entre las propiedades viscosas y elásticas del mismo) y una adecuada incorporación de gas (Maloney y Foy, 2003; Campbell, 2003; Gan y col., 1995).

### 1.7.2. Laminado

El laminado tiene como fin extender la estructura alveolar y reorientar las proteínas del gluten para facilitar la expansión durante la fermentación de la masa.

### 1.7.3. Reposo

Durante el reposo lo que se busca es la relajación parcial de la estructura del gluten, debido a las tensiones generadas durante el amasado. Esto facilita la división y posterior moldeado de la masa. Además, durante el reposo hay producción de sustancias que aportan sabor y aroma característicos al producto.

### 1.7.4. División, boleado y armado

La división o cortado de la masa va a depender del tamaño de las piezas de pan que se pretendan obtener. Al cortar se generan rupturas en la estructura del gluten que se recuperan parcialmente con el boleado de las piezas. Luego se realiza un reposo de las mismas y finalmente se procede al armado con la forma que se desee para los panes. El armado suele realizarse en máquinas destinadas a dicho fin o puede realizarse manualmente.

### 1.7.5. Fermentación

El objetivo de la fermentación es permitir que la pieza ya moldeada se relaje y expanda para que se forme una pieza aireada que cuando se hornee tenga la forma y el volumen adecuados. En la fermentación también se producen cambios debido a la composición de la matriz como consecuencia de los productos formados durante la misma como, etanol y CO<sub>2</sub> y por la acción de las proteasas y amilasas de la harina, las cuales actúan sobre las fuentes de reserva.

### 1.7.6. Horneado

En esta etapa durante la cual se aplica calor, inicialmente las levaduras producen CO<sub>2</sub> hasta que mueren por la alta temperatura generando una rápida expansión del gas retenido en la masa. Además, hay inactivación de enzimas, pérdida parcial de agua, gelatinización del almidón y agregación de las proteínas. Todo ello contribuye a la fijación de la estructura final del pan. Asimismo, se produce la formación de la corteza en la superficie de la masa por deshidratación y se promueve la reacción de pardeamiento no enzimático o reacción de Maillard en la que se producen diferentes compuestos que contribuyen al color, aroma y sabor característicos del pan.

### 1.7.7. Enfriamiento

Esta etapa es particularmente importante cuando el pan es envasado en rebanadas, para que no se rompa al cortarse y evitar el crecimiento de mohos que ocurriría si se envasara cuando aún se encuentra la pieza caliente (Pateras, 1998). La pérdida de humedad excesiva debe evitarse porque constituye una pérdida económica y porque acelerará el envejecimiento del pan.

### 1.7.8. Envasado

El material más común para realizar el envasado es el polietileno de baja densidad en forma de bolsa. Constituye una buena barrera frente al vapor de agua por lo que se previene la deshidratación.

## 1.8. Envejecimiento del pan

Se denomina envejecimiento al conjunto de los cambios fisicoquímicos que llevan a la pérdida de la calidad del pan durante el almacenamiento. Durante esta etapa se producen diferentes cambios fisicoquímicos: se endurece la miga, hay pérdida de cohesividad y se pierde el aroma característico a pan recién horneado, entre otros cambios. Este proceso no incluye los efectos derivados de actividad microbiológica. El proceso comienza inmediatamente después del horneado. Ocurre una reorganización del almidón, adquiriendo así, cierta cristalinidad (Gray y Bemiller, 2003; Rodríguez-Sandoval y col., 2005).

Se produce el endurecimiento debido a la retrogradación de amilopectina con una pérdida de elasticidad de la miga y un ablandamiento de la corteza originado por la migración del agua desde la miga hacia la superficie (Baik y Chinachoti, 2000; Gray y Bemiller, 2003).

## 1.9. Mejora de la calidad nutricional del pan

Con el objetivo de mejorar la calidad nutricional de los panes es que se han incorporado diferentes ingredientes a los panificados tradicionales, como ser el salvado como fuente de fibra insoluble, se han agregado diversos minerales y complementado la harina de trigo por otras de mayor cantidad y calidad proteica. En este sentido, se han utilizado harinas de otros cereales y pseudocereales como también de varias leguminosas tanto germinadas como sin germinar (Rosales-Juárez y col., 2008; Ertaş, 2015; Sabanis y Tzia, 2009). Si bien se han utilizado harinas de amaranto y quinoa para complementar harina de trigo, poco se ha estudiado sobre la utilización de las mismas obtenidas a partir de semillas previamente germinadas.

Para una mejor comprensión de los resultados de esta tesis, vamos a hacer a continuación una descripción de los aspectos más sobresalientes del cultivo de amaranto y quinoa.

## 2. Amaranto

### 2.1. Producción mundial y en Argentina

En las últimas décadas, el cultivo de amaranto tuvo un crecimiento exponencial en varios países. Actualmente, China es el país en donde se cultiva la mayor superficie de amaranto, con más de 150 mil hectáreas, a la vez que posee uno de los bancos de germoplasma más importantes del mundo. India es otro de los principales productores del mundo y tanto el grano como las hojas son utilizados en la cocina tradicional hindú. Este país cuenta con el segundo banco de germoplasma de amaranto más relevante del planeta. En Estados Unidos el interés por el amaranto se incrementó en la década del '70 con la creación de la Fundación y el Centro de Investigación Rodale. La superficie sembrada es baja, alrededor de 500 hectáreas, el interés por el amaranto se ha

incrementado y actualmente junto con Japón lideran la investigación del amaranto. La producción de amaranto en Perú decayó largos siglos, sin embargo, en las últimas décadas tuvo un aumento sostenido (Dirección de Industria Alimentaria - S.A.G.P. y A., 2021).

El área de cultivo en nuestro país comprende las provincias de Jujuy, Santiago del Estero, Córdoba, el este de La Pampa y el oeste de Buenos Aires. A la vez se desarrollaron proyectos en los cuales se impulsó la producción en el norte patagónico. El cultivo comercial del amaranto es muy pequeño, ocupa menos de 50 hectáreas y la producción alcanzaría las 50 toneladas/año. La siembra se realiza en forma esporádica y con compromiso de compra previa, generalmente coordinado por la exportación. Su comercialización resulta muy difícil debido a la falta de consumo interno y la ausencia de un mercado de referencia. La exportación argentina de amaranto es insignificante, en 1996 se exportaron 23 toneladas con destino a Alemania y durante los años 2000 y 2001 se realizaron envíos puntuales a Brasil, con volúmenes de escasa relevancia. Por otro lado, en el año 2013 se exportó un volumen escaso (sin siquiera saber el número exacto porque se lo clasifica en un grupo como “Los demás cereales”) a Bélgica. ([http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/html/18/18\\_07\\_amaranto.htm](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/html/18/18_07_amaranto.htm)).

## 2.2. Formas de consumo y utilización

A nivel mundial los granos se consumen molidos, reventados, tostados, germinados, extrusados e incorporados en barras de cereal. La harina se utiliza para enriquecer pastas, panes, galletas y alimentos para bebés. También existe el consumo de aceite de amaranto, bebidas de amaranto y concentrados proteicos (Alimentos Argentinos, 2016, ficha N°58).

## 2.3. Amaranto: Aspectos generales

### *HISTORIA*

El amaranto es autóctono de América Central. Siendo un cultivo sumamente importante de las comunidades maya, inca y azteca, las cuales lo utilizaban tanto como alimento

como para rituales religiosos. En la época de la colonización de América, a mano de los españoles, el cultivo del amaranto fue prohibido, por el uso religioso que se le daba. Desde finales de 1970, el grano de amaranto fue redescubierto y utilizado como un "nuevo" cultivo económico (Cai y col., 2004). En la actualidad, varias investigaciones han hecho hincapié en buscar nuevos recursos para satisfacer la demanda de alimentos, como también la desnutrición (Venskutonis y Kraujalis, 2013; Aiking, 2011), con lo que el amaranto ha tomado una gran importancia en el último tiempo.

### *DESCRIPCIÓN*

El amaranto (*Amaranthus*) es una especie anual de la familia *Amaranthaceae*, herbácea o arbustiva de diversos colores que van del verde al colorado o violeta con distintas coloraciones intermedias (Figura 1.8.). Al amaranto se lo coloca dentro de la categoría de los pseudocereales porque sus semillas o granos son semejantes a los de los cereales, pero de tamaño mucho más pequeño (Argumedo, 1999). Posee una raíz pivotante con abundantes ramificaciones y múltiples raicillas delgadas, que se extienden rápidamente después que el tallo comienza a ramificarse, facilitando así la absorción de agua y nutrientes. La raíz principal sirve de sostén a la planta, permitiendo mantener el peso de la panoja, las raíces primarias pueden alcanzar los 2-2,5 m de longitud. Sus inflorescencias son decorativas, de color violeta intenso y a veces amarillo o rojo, que en algunos casos pueden alcanzar 90 cm de longitud. Las inflorescencias pueden ser erectas, semierectas o laxas. La mayoría de las especies de amaranto puede crecer bien en suelos alcalinos, ácidos, con alto contenido de sal y aluminio. También tienen gran capacidad para adaptarse a diferentes altitudes, desde el nivel del mar hasta 3500 m sobre dicho nivel. Algunos genotipos resisten relativamente bien temperaturas bajas. El género *Amaranthus* contiene más de 70 especies, de las cuales la mayoría son nativas de América y sólo 15 especies provienen de Europa, Asia, África y Australia. En la actualidad se utilizan sólo tres especies para la producción de grano:

*Amaranthus cruentus*: Crece en el sur de México, Guatemala y Estados Unidos. Es la especie más importante de Centro América.

*Amaranthus caudatus*: Crece en las regiones andinas de Bolivia, Perú y Argentina.

*Amaranthus hypochondriacus*: Procedente de la parte central de México, hoy en día se encuentra en Nepal, América Central y la India (Arendt y Zannini, 2013).

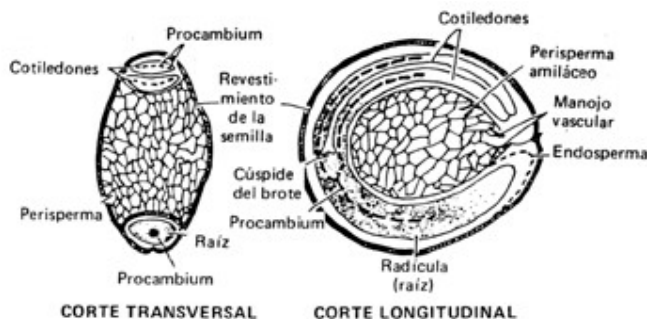


**Figura 1.8.** Ejemplar de *Amaranthus caudatus*. Foto obtenida de <https://www.flordeplanta.com.ar/plantas/amaranto-amaranthus-caudatus-caracteristicas-y-cultivo/>

#### 2.4. Estructura del grano

Los granos de amaranto son semillas pequeñas, de 1,0 mm a 1,35 mm de diámetro, de forma lenticular. El color varía desde el blanco hueso hasta beige, marrón, rojo, pardo o negro, dependiendo de la especie y su morfología (Becker y col., 1981).

En la Figura 1.9 puede observarse una ilustración de un corte transversal y longitudinal de la semilla de amaranto.



**Figura 1.9.** Ilustración de corte transversal y longitudinal del grano de amaranto. Fuente: <http://granoandino.blogspot.com/2013/09/amaranto-descripcion-botanica.html>

La estructura del grano de amaranto se divide en:

##### a) Epicarpio o Pericarpio

El epicarpio es una capa delgada y única, el cual contiene en el exterior el pigmento que proporciona el color a la semilla, es rico en calcio, sodio y magnesio, las cenizas están concentradas en un 60% en el revestimiento de la semilla y en la fracción del germen.

**b) Endocarpio (Germen o embrión)**

El endocarpio circula en el perispermo de uno de sus lados presentando, consecuentemente, una forma circular. El mismo representa aproximadamente un 25% del peso del grano. En las células del parénquima del embrión están ubicados los cuerpos proteicos que miden de 3 a 5 µm de diámetro.

**c) Perispermo**

El perispermo está localizado en el centro de la semilla y consiste en una pared delgada del parénquima celular o capa de aleurona. Esta capa aleurónica está firmemente unida con la envoltura de la semilla, aunque se puede separar por abrasión. Su principal componente es el almidón que es el más abundante de los carbohidratos en esta semilla y está constituido por amilopectina y sólo 5-7% de amilosa.

**d) Endosperma**

En el endosperma se ubican los cuerpos proteicos cuyo diámetro está entre 1,5 y 2,4 µm.

## 2.5. Composición química y valor nutritivo del grano de amaranto

El Código Alimentario Argentino (CAA) en el Capítulo IX, Artículo 660 (Res MSyAS 80 del 13/01/1994) define Amaranto a las semillas sanas, limpias y bien conservadas de las siguientes especies de este pseudocereal: *Amaranthus cruentus L.*, *Amaranthus hypochondriacus L.*, *Amaranthus caudatus L.* y *Amaranthus mantegazzianus Passer*. El contenido de proteínas no debe ser menor de 12,5%, la humedad no debe ser mayor de 12,0%, el contenido de cenizas debe ser menor de 3,5%, el contenido de almidón no debe ser menor de 60%; el peso hectolítrico mínimo será de 77 kg/hl. Los granos de amaranto, que respondan a las especies mencionadas, serán de color blanco, ámbar pálido, amarillo o castaño muy pálido, opaco o translúcido.

Entre las principales cualidades del grano de amaranto, además de sus propiedades organolépticas y funcionales, se puede mencionar el muy buen perfil nutricional que se encuentra por encima del que presentan algunos cereales, al presentar mayor contenido de proteínas, cenizas, fibra y lípidos, mientras que el contenido de



carbohidratos es menor (Betschart y col., 1979; Saunders y Becker, 1983; Singhal y Kulkarni, 1988).

Los valores reportados en la literatura respecto a la composición química del grano de amaranto son variables, estas diferencias se deben a prácticas agronómicas, genotipo, clima (Wegerle y Zeller, 1995). En la Tabla 1.3 se muestra la composición química del amaranto.

**Tabla 1.3.** Composición química aproximada del amaranto.

<b>Componente</b>	<b>Contenido porcentual (%)</b>
<b>Carbohidratos</b>	70 - 72
<b>Proteínas</b>	12 - 19
<b>Lípidos</b>	6,1 – 8,1
<b>Fibra</b>	3,5 – 5,0
<b>Cenizas</b>	3,0 – 3,3

Fuente:[http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP\\_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contenido/libro01/Cap7.htm](http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/segalim/prodalim/prodveg/cdrom/contenido/libro01/Cap7.htm)

#### **- Hidratos de carbono**

El almidón es el carbohidrato que se encuentra en mayor proporción, encontrándose en una concentración de un 60-65% del peso total del grano, el mismo se almacena principalmente en el perispermo (Tosi y col., 2001; Choi y col., 2004; Escudero y col., 2004). Los gránulos de almidón de amaranto son muy pequeños (1-3  $\mu\text{m}$  de diámetro) y presentan formas poligonales. Las propiedades fisicoquímicas de estos gránulos sugieren que existe una masa homogénea íntimamente unida, pero susceptible al ataque de las amilasas (Lorenz, 1981). Particularmente, el almidón de amaranto está constituido en su mayoría por amilopectina (más del 90%), con bajas o nulas proporciones de amilosa (0 a 10 %). Es por eso que se lo califica como almidón “waxy” (ceroso) o de baja amilosa; forma pastas de textura cohesiva y gomosa, las cuales no gelifican y que soportan esfuerzos de corte y ciclos de congelamiento y descongelamiento sin presentar sinéresis (Becker y col., 1981; Saunders y Becker, 1983; Yanez y col., 1986; Uriyapongson y Rayas Duarte, 1994; Radosavljevic y col., 1998; Baker y Rayas Duarte, 1998; Marcone, 2001; Choi y col., 2004).

Por otra parte, los principales azúcares simples encontrados en el amaranto han sido sacarosa, glucosa, rafinosa y fructosa. La sacarosa es el azúcar encontrado en mayor proporción en todas las especies de amaranto, sin embargo, su concentración es menor a la de otros granos (Saunders y Becker, 1983).

#### **- Proteína**

El grano de amaranto tiene un alto contenido de proteína, que varía en un rango de 12 a 19%, siendo superior a la mayoría de los cereales. Dichas proteínas poseen un elevado contenido de lisina, triptófano y aminoácidos sulfurados (Teutonico y Knorr, 1985; Escudero y col., 2004; Segura-Nieto y col., 1992; Scilingo y col., 2002). Esta óptima composición de aminoácidos, sumado a la alta digestibilidad de su proteína, la convierten en apta para los requerimientos humanos y en un excelente complemento para los cereales convencionales como el trigo y las legumbres (Marcone, 1999).

Se han hecho comparaciones entre la composición nutricional de la semilla de amaranto, con respecto al trigo, soja y leche de vaca encontrándose que el amaranto supera al resto en calidad de proteína (Betschart y col., 1979). El valor biológico (VB) de la proteína de amaranto es 75. Este valor es más próximo que el de otros cereales (maíz 44, trigo 60) e incluso que el valor biológico de leche de vaca (VB=72) al perfecto equilibrio de aminoácidos que tendría una puntuación de 100 en la escala nutricional de máxima calidad de proteína (FAO/WHO/UNU, 2007).

#### **- Lípidos**

El contenido lipídico del amaranto es aproximadamente dos o tres veces mayor que el de los cereales, pero varía según la especie. La fracción lipídica contribuye al 17% aproximadamente de las calorías totales del grano. Estos lípidos presentan una alta proporción de insaturación (aproximadamente 75%), siendo los más abundantes el ácido linoleico y el ácido oleico. También están presentes el ácido palmítico, el ácido esteárico y linolénico. Además, se pueden encontrar otros tipos de lípidos como ser esteroides, fosfolípidos, glucolípidos, tocoferoles e hidrocarburos (Becker y col., 1981; He y col., 2002; Gamel y col., 2007).

#### **- Minerales y fitatos**

El contenido de minerales del amaranto puede alcanzar el doble que el de los cereales. A su vez, varía entre variedades y también se ve afectado por el procesamiento. Los niveles de calcio, magnesio, hierro, potasio y zinc son particularmente altos (Yanez y col., 1994; Gamel y col., 2006a).

Los fitatos son compuestos naturales que se hallan en todas las semillas y su presencia interfiere con la absorción de los minerales. En su estado nativo forma complejos con proteínas y cationes mono y divalentes. Los cereales y las legumbres son particularmente ricos en ácido fítico, que representa una importante reserva de fosfato. El contenido de fitatos en el amaranto se encuentra en el rango de 0,2 a 0,6% (Breene, 1991; Escudero y col., 2004; Gamel y col., 2006a). Los ácidos fíticos tienen la capacidad de formar complejos con los residuos proteicos básicos, lo que produce la inhibición de reacciones digestivas enzimáticas e interfiere con la adsorción de minerales, particularmente el zinc. Es por esto que se buscan alternativas para poder reducir su contenido en las semillas. Se ha demostrado que la cocción reduce el contenido de fitatos del amaranto en aproximadamente un 20%, el extrudado un 15% y la germinación (48 h) en un 22% (Gamel y col., 2006a).

### 3. Quinoa

#### 3.1. Producción mundial y en Argentina

La quinoa se cultiva en Bolivia, Ecuador, Perú, Chile y Argentina (Lezcano, 2013). Perú y Bolivia lideran la producción y exportación de quinoa según informó la FAO. En 2012, Bolivia concentró casi el 60% del mercado, y Perú más del 20% (Lezcano, 2013). Colombia y Estados Unidos se encuentran también en el proceso de cultivo (Bergesse y Calandri, 2013).

#### *PRODUCCIÓN EN ARGENTINA*

Los registros de la FAO no incorporan aún a Argentina como país productor debido a que su cultivo es incipiente y en muchos casos informal o de subsistencia. El área de cultivo actual más importante corresponde a la región noroeste (NOA), sobre una variedad de ambientes muy diversos (Bazile y Baudron, 2014). La mayoría de los

productores de quinoa del NOA son pequeños o medianos agricultores que tradicionalmente usan pocos insumos en su producción, aunque en la última década agricultores de la raigambre sojera y vitivinicultora están incorporando el cultivo de quinoa a modelos de explotación agroindustrial (Bazile y Baudron, 2014).

Se estima para esta región una superficie cultivada total de 151 hectáreas (Ha), donde se destacan las provincias de Catamarca (74 Ha), Salta (47 Ha) y Jujuy (25 Ha) con rendimientos promedio de 1,25 tn/Ha (Bazile y col., 2014).

En las provincias de Buenos Aires y La Pampa, en la zona centro-sur de Argentina, se destinan al menos 26 Ha a la producción de quinoa con rindes promedio de 1,6 tn/Ha (Bazile y col., 2014). La producción de quinoa en Argentina para el período 2009-2011 se estimó entre 97 a 150 toneladas y representaría el 0,2 % de la producción mundial.

A su vez la Mesa Nacional de Agregado de Valor de los Cultivos Andinos comenzó, junto con el EEA INTA San Juan, un proyecto para que los pequeños y medianos productores de la Región de Cuyo reintroduzcan la quinoa en los valles andinos y centrales de la provincia, en donde se cultivan unas 70 hectáreas con un rendimiento promedio de 2000 kg/Ha. (<https://www.argentina.gob.ar/noticias/agricultura-y-el-gobierno-de-san-juan-promueven-la-produccion-de-quinua>)

### 3.2. Formas de consumo y utilización

Cualquiera sea la forma de consumo de la quinoa, como primer paso se debe realizar una desaponificación de las semillas, ya que la saponina no sólo puede resultar tóxica cuando la ingesta es elevada, sino que además otorga un sabor amargo. Por eso es que, sobre las semillas se eliminan las saponinas ya sea por escarización o mediante lavados hasta desaparición de espuma (Borges y col., 2010).

Comercialmente, se encuentran como semillas o harinas, copos o snacks expandidos. Se puede comer cocido, de igual forma que el arroz; o combinarlos con otros ingredientes en diferentes preparaciones alimenticias, como: sopas, salsas; cereales para el desayuno, entre otros. A su vez, la harina se puede utilizar en productos horneados (panes y galletitas) y pastas (Bhargava y col., 2006; Spehar, 2006). También se pueden obtener bebidas vegetales a partir de la quinoa (<https://www.conicet.gov.ar/lanzamiento-del-primer-alimento-bebible-a-base-de-quinoa-en-el-mercado-argentino/>).

A nivel mundial, los mayores consumidores son Perú, Bolivia y Ecuador. Siendo Bolivia el país con el mayor consumo *per cápita*, con 5 kilos anuales. En todos los casos, el consumo está destinado a la cocina tradicional de familia. Por su parte, el consumo de los estadounidenses y europeos, está representado por alimentos funcionales o cocina *gourmet* (Bergesse y Calandri, 2013).

### 3.3. Quinoa: Aspectos generales

#### HISTORIA

Según Jacobsen (2003) la quinoa es uno de los cultivos más antiguos de la región Andina, con aproximadamente 7000 años de cultivo, en donde culturas como la Tiahuanacota y la Incaica han participado para su domesticación y conservación. La introducción de cereales como la cebada y el trigo durante la conquista española fue lo que llevó a la marginación y el reemplazo de la quinoa (Mujica, 1992; Jacobsen y Stølen, 1993). Durante 1996 la quinoa fue catalogada por la FAO como uno de los cultivos promisorios de la humanidad, tanto por sus grandes propiedades benéficas y por sus múltiples usos, como así también por considerarla como una alternativa para solucionar los problemas de desnutrición humana. A su vez, fue utilizada también por la NASA dentro del sistema CELLS (Schlick y Bubenheim, 1996), con lo cual tuvo un nuevo resurgir. Tal es así, que la FAO consideró el año 2013 como el Año Internacional de la quinoa por desempeñar un papel importante en la erradicación del hambre, la desnutrición y la pobreza. ([https://www.fao.org/quinoa-2013/es/?no\\_mobile=1](https://www.fao.org/quinoa-2013/es/?no_mobile=1))

#### DESCRIPCIÓN

La quinoa (*Chenopodium quinoa*) es una planta anual de la familia *Amaranthaceae*, dicotiledónea, usualmente herbácea, que alcanza una altura de 0,2 a 3,0 m. Al igual que el amaranto, a la quinoa se la considera como un pseudocereal. Las plantas presentan un tallo principal el cual puede estar ramificado o no, dependiendo del ecotipo, la raza, la densidad de siembra y de las condiciones del medio en que se cultiven, a su vez es de sección circular en la zona cercana a la raíz, transformándose en angular a la altura de las ramas y hojas.

Las hojas son de carácter polimórfico en una sola planta; su color va desde el verde hasta el rojo, pasando por el amarillo y el violeta, debido a la presencia de  $\beta$ -cianinas (Figura

1.10). Contienen además gránulos en su superficie dándoles la capacidad de retener una película de agua, lo que aumenta la humedad relativa de la atmósfera que rodea a la hoja y, consecuentemente, disminuye la transpiración (Dizès y Bonifacio, 1992; Rojas, 2003), contribuyendo a la retención de agua.

La inflorescencia es racimosa y se denomina panoja por tener un eje principal más desarrollado, la misma tiene entre 15 y 70 cm de longitud, del cual se originan los ejes secundarios y en algunos casos terciarios. Cárdenas (1944) fue el primero que agrupó a la quinoa por su forma de panoja, en amarantiforme por el parecido que tiene con la inflorescencia del género *Amaranthus*. La quinoa es una planta resistente, tolerante y eficiente en el uso del agua, con una extraordinaria adaptabilidad, pudiendo soportar temperaturas desde  $-4^{\circ}$  hasta  $38^{\circ}\text{C}$  y crecer con humedades relativas desde el 40 % hasta el 88%.



**Figura 1.10.** Ejemplar de *Chenopodium quinoa*. Foto obtenida de <https://www.chilebio.cl/2019/11/04/desarrollan-metodo-para-mejorar-y-adaptar-el-cultivo-de-quinoa-al-calor/>

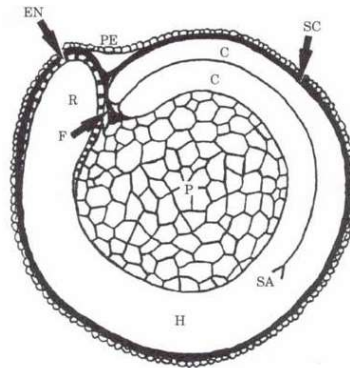
### 3.4. Estructura del grano

La semilla de quinoa varía en tamaño entre 1,5 y 2,5 mm de diámetro, dependiendo de la variedad. A su vez, hay variantes en cuanto al color, ya que existen quinoas de color crema, amarillo, rosa, rojo, violeta y negra (Figura 1.11)..



**Figura 1.11.** Semillas de *Chenopodium quinoa*. (Foto: <https://olgasofiaperez.com/>)

La semilla presenta tres partes bien definidas que son: epispermo, embrión y perispermo que se observan en la Figura 1.12.



**Figura 1.12.** Ilustración de la sección longitudinal media de la semilla de quinoa (Prego y col., 1998). PE: Pericarpio, SC: Cubierta de la semilla, EN: Endosperma; C: Cotiledones, H: Hipocotíleo; SA: Ápice del Meristemo; R: Radícula, P: Perisperma; F: Funículo.

El epispermo fue estudiado por Mujica y col., (2001), quienes describieron la presencia de cuatro capas: una capa externa, que determina el color de la semilla, de superficie rugosa, quebradiza y seca que se desprende fácilmente con vapor de agua; la segunda capa difiere en color de la primera y se observa sólo cuando la primera capa es traslúcida; la tercera capa es una membrana delgada, opaca, de color amarillo; la cuarta capa es traslúcida y está formada por una sola hilera de células que cubre el embrión. Las saponinas se ubican en la capa más externa y su contenido y adherencia en los granos es muy variable.

El embrión, está formado por dos cotiledones y la radícula, el mismo envuelve al perisperma como un anillo, es de color amarillento y ocupa el 34 % de toda la semilla

(Gallardo y col., 1997). En el embrión se encuentra la mayor cantidad de proteína que ronda en valores entre un 35-40%, mientras que en el perisperma la cantidad de proteínas presentes se encuentra entre 6,3 al 8,3% de la proteína total del grano. El embrión se puede desprender con facilidad al momento de frotar con demasiada fuerza o aplicar intensos mecanismos abrasivos. Tanto el endosperma como el embrión están constituidos por células vivas. Ambos tejidos reservan proteínas en cuerpos proteicos, lípidos en cuerpos lipídicos, y minerales específicamente fosfato, magnesio y potasio como fitina en globoides localizados dentro de los cuerpos proteicos.

El perisperma es el principal tejido de almacenamiento y está constituido mayormente por gránulos de almidón, tiene un color blanquecino y representa aproximadamente el 60 a 70% de la semilla (Galwey y col., 1990). Sus células son grandes y de mayor tamaño que las del endosperma, de forma poligonal con paredes delgadas, rectas y con grandes agregados de almidón. Estos agregados están compuestos por cientos de miles de gránulos de almidón individuales, en la mayoría de los casos de forma hexagonal (Mujica y col., 2001; Gallardo y col., 1997). Este almidón tiene un valor variable de amilosa de entre 7 a 27%, que depende de la variedad (Vega-Gálvez y col. 2010; Araujo-Farro y col., 2005).

### 3.5. Composición química y valor nutritivo del grano de quinoa

La quinoa o quinoa está definida en el Código Alimentario Argentino (CAA) en el Capítulo IX, Artículo 682 (Res. Conj. SPReI 282/2014 y SAGyP 298/2014). Se entiende como quinoa a las semillas sanas, limpias y bien conservadas del género *Chenopodium quinoa Willd.* Deberán cumplir con las siguientes especificaciones: Proteínas totales sobre base seca: mínimo 10%, Humedad a 100-105°C: máximo 13,5%, Cenizas a 500-550°C sobre base seca: máximo 3,5%. Las semillas de quinoa o quinoa que se industrialicen deberán ser sometidas a un proceso que asegure la eliminación de las saponinas y la biodisponibilidad de los aminoácidos. Las semillas que se comercialicen envasadas en ausencia del cliente, listas para ofrecerlas a los consumidores, deberán llevar en la cara principal del rótulo con caracteres de buen realce, visibilidad y con tamaño no inferior a 2 mm la leyenda "Lavar hasta eliminación de espuma. No apto para el consumo crudo, cocer previo a su consumo".



Los principales atributos de esta semilla se basan en su versatilidad para el consumo, ya que se puede consumir cocida, en sopas; como harina se la puede utilizar en la elaboración de pan, bebidas, entre otros alimentos. A su vez puede ser consumida por las personas con celiaquía por no contener prolaminas tóxicas causantes de esta enfermedad. Pero su principal virtud es su perfil nutricional. El contenido de proteínas en el grano varía entre un 12-23% en base seca. Su contenido lipídico puede alcanzar hasta un 8%, duplicando por ejemplo a los valores del maíz (Koziol, 1992) Además, contiene grandes cantidades de calcio, hierro, zinc y magnesio, en comparación con los cereales más comunes. La composición nutricional se muestra en la Tabla 1.4.

**Tabla 1.4.** Composición química aproximada de la quinoa.

<b>Componente</b>	<b>Contenido porcentual (%)</b>
<b>Carbohidratos</b>	61 - 74
<b>Proteínas</b>	14 – 16,5
<b>Lípidos</b>	5 – 10
<b>Fibra</b>	2 – 3
<b>Cenizas</b>	3

Fuente: Arendt y Zannini (2013).

#### **- Hidratos de carbono**

Los componentes principales de la quinoa son los carbohidratos, que constituyen del 60 al 70% de la materia seca (Wright y col., 2002). El almidón representa aproximadamente del 58 al 64 % de esa materia seca (Repo-Carrasco y col., 2003), del cual entre el 10 y el 21% (dependiendo de la variedad) es amilosa (Lorenz y Coulter, 1991; Araujo-Farro y col., 2010). Los gránulos de almidón de quinoa se ubican en el perispemo de la semilla, tienen forma poligonal con un diámetro de 0,4-2,0  $\mu\text{m}$ , siendo más pequeños que los reportados para maíz (1-23  $\mu\text{m}$ ) y trigo (2-40  $\mu\text{m}$ ). Este tamaño y la alta viscosidad del gránulo de almidón pueden aprovecharse de manera beneficiosa para aplicaciones industriales especializadas (Galwey y col., 1989), incluidas aquellas fuera de la industria alimentaria. Además, según Araujo-Farro y col. (2010), el almidón de quinoa es capaz de formar películas biodegradables comestibles transparentes sin ningún pretratamiento químico. Su excelente estabilidad de congelación-descongelación lo convierte en un

espesante ideal en alimentos congelados y otras aplicaciones, donde se desea resistencia a la retrogradación (Ahamed y col., 1996).

### **- Proteínas**

El contenido de proteína en los granos de quinua oscila entre el 8% y el 22%, con un promedio del 15% (Kozioł, 1992), siendo estos valores mayores a los que se pueden encontrar en algunos cereales. La principal proteína de almacenamiento de semillas de la quinua es una globulina de tipo 11S llamada quenopodina (Brinegar y Goundan, 1993). Las albúminas y globulinas son las principales fracciones proteicas (44–77% de la proteína total), mientras que el porcentaje de prolaminas es bajo (0,5–7,0%) (Kozioł, 1992; Abugoch y col., 2008).

A diferencia de la mayoría de las plantas, la quinoa tiene un excelente equilibrio de aminoácidos esenciales debido a que su espectro de aminoácidos es más amplio que el de los cereales y legumbres (Ruales y Nair, 1992). Las proteínas contienen mayor contenido de lisina (5,1-6,4%) y metionina (0,4-1,0%) que cualquier cereal (Prakash y Pal, 1998). Según valores indicados por FAO/OMS/UNU (FAO / OMS / UNU, 2007), la proteína de la quinoa puede aportar alrededor del 180% de la histidina, 274% de la isoleucina, 338% de la lisina, 212% de la metionina y cisteína, 320% de la fenilalanina y tirosina, 331% de la treonina, 228% del triptófano y 323% de la valina de la ingesta diaria recomendada para la nutrición de adultos. La metionina y la cistina (aminoácidos esenciales que contienen azufre) también son particularmente importantes para las dietas vegetarianas, así como para corregir las deficiencias en las dietas a base de leguminosas (Cusack, 1984). En estudios que involucran varios cultivares comerciales y variedades, se ha demostrado que la composición de aminoácidos de la proteína de la semilla de quinoa es virtualmente idéntica al patrón de referencia estándar de la FAO/OMS sin deficiencia en ningún aminoácido esencial (Gross y col., 1989). De acuerdo con el perfil de aminoácidos y los estudios en animales se puede concluir que la calidad de la proteína en la quinoa es similar a la de la caseína, que es una de las proteínas presentes en la leche (Ranhotra y col., 1993).

### - Lípidos

El contenido de aceite en la quinoa varía de 1,8% a 9,5%, con un contenido promedio de 5,0-7,2. Los ácidos grasos saturados constituyen aproximadamente el 11% del total de ácidos grasos en la semilla. El ácido graso saturado predominante en la semilla de quinoa es el ácido palmítico y en menor medida se encuentran el ácido mirístico, esteárico, entre otros. Por su parte, los ácidos grasos insaturados representan aproximadamente el 85% del total de los ácidos grasos, dentro de este grupo, los más abundantes en la quinoa son los ácidos grasos poliinsaturados linoleico ( $\omega$ - 6), seguido del oleico ( $\omega$ - 9) y luego por el  $\alpha$ -linolénico ( $\omega$ - 3). Los ácidos grasos poliinsaturados tienen varios efectos positivos sobre las enfermedades cardiovasculares, además de mejorar la sensibilidad a la insulina de los pacientes (James, 2009). Todos los ácidos grasos presentes en la quinoa están bien protegidos por la presencia de vitamina E, que actúa como un antioxidante natural (Ng y col., 2007).

### - Minerales

El contenido de cenizas de la quinoa (aproximadamente 3%) es superior al del arroz (1%), trigo (2%) y otros cereales tradicionales, esto se debe a que la quinoa contiene grandes cantidades de minerales como Ca, Fe, Zn, Cu y Mn (Repo-Carrasco y col., 2003; Dini y col., 2001). Se ha informado que el hierro procedente de la quinoa es más soluble y, por lo tanto, podría estar fácilmente disponible para una parte de la población que padece anemia ferropénica (Valencia y col., 1999).

## 4. Germinación

La germinación es un proceso natural para la obtención de una nueva planta. En el mundo cada vez más hay una tendencia a elaborarse alimentos a partir de germinados, se logra que los productos obtenidos adquieran unas muy buenas características nutricionales.

### 4.1. Historia de la germinación de semillas

Los germinados fueron consumidos desde épocas muy remotas tanto por sus cualidades nutritivas como terapéuticas. Se cree que los primeros usos de este alimento, se

remontan unos 3 mil años atrás, en China, en donde, se utilizaba no solo como alimento, sino que también para tratar enfermedades (Pagand y col., 2017). A su vez, formaron parte de la dieta de otras antiguas civilizaciones, donde se encontraron la descripción de las sencillas técnicas de germinación de trigo, para elaborar panes, en las Escrituras de los Esenios, que vivían en Israel y Egipto en tiempos de Cristo.

En occidente hubo un gran consumo en el siglo XVIII, cuando los marinos y expedicionarios generalizaron su consumo, tanto por su facilidad de conservación y producción, así como para prevenir enfermedades, como por ejemplo el escorbuto, dado que durante la germinación obtenían mayor fuente vitamina C (De León y col., 2013). Si bien los germinados siempre estuvieron presentes en la dieta de muchos países asiáticos, no fue hasta los años 70 cuando los brotes empezaron a despertar el interés de un amplio sector de la población occidental debido a sus excepcionales cualidades nutritivas. En América y Europa, la ingesta de este alimento es cada día mayor, debido al descubrimiento de los beneficios que otorgan el consumo de productos germinados (<https://germinados-medicina.blogspot.com/2011/07/historia-de-los-germinados.html>).

#### 4.2. El proceso de la germinación

La germinación es un conjunto de fenómenos mediante los cuales el embrión, que se halla en estado de vida latente dentro de la semilla, reanuda su crecimiento y se desarrolla para formar una plántula. El proceso de germinación está influenciado tanto por factores internos como externos. Dentro de los factores internos están la viabilidad del embrión, la cantidad y calidad del tejido de reserva y los diferentes tipos de dormancia. Algunos de los factores externos que regulan el proceso son el grosor de la testa, disponibilidad de agua, temperatura y tipos de luz (Melgarejo y col., 2010).

En la Tabla 1.5 se resumen los procesos que ocurren en cuatro etapas principales de la germinación.

**Tabla 1.5.** Procesos que ocurren durante las diferentes etapas de la germinación.

<b>Etapas de la germinación</b>	<b>Procesos que ocurren</b>
Imbibición de agua	<ul style="list-style-type: none"><li>- Entrada de agua a la semilla (40-60% de su peso).</li><li>- La cantidad de agua que ingresa depende de las sustancias solubles en la semilla (endospermas proteicos &gt; endospermas almidonosos).</li><li>- El ingreso del agua al comienzo es rápido, en donde las macromoléculas y estructuras se rehidratan y recuperan sus formas funcionales.</li><li>- Paralelamente a la imbibición y como consecuencia de ésta, se reactiva la actividad respiratoria en la semilla.</li></ul>
Síntesis y activación de los sistemas enzimáticos	<ul style="list-style-type: none"><li>- Se reactivan las enzimas que se encontraban inactivas por la desecación.</li><li>- Síntesis de nuevas enzimas.</li></ul>
Degradación de sustancias de reserva	<ul style="list-style-type: none"><li>- Se produce la hidrólisis de los hidratos de carbono, generándose monosacáridos solubles.</li><li>- Se degradan los triglicéridos, principales lípidos de reserva, a cuerpos lipídicos, mitocondrias y glioxisomas. Además se genera glicerol y ácidos grasos.</li><li>- Las proteínas de reserva son hidrolizadas a aminoácidos por proteinasas.</li></ul>
Elongación de las células del embrión y emergencia de la radícula	<ul style="list-style-type: none"><li>- Al finalizar el proceso de degradación, el embrión dispone de suficientes nutrientes para crecer normalmente. Los productos de la hidrólisis nutren al embrión, para el inicio de su crecimiento.</li></ul>

Fuente: Nelson y col., (2013).

### 4.3. Principales componentes producidos durante la germinación

Mediante la germinación se producen cambios sustanciales en la composición bioquímica de los granos: las reservas de almidón son removidas por la acción de la amilasa, que actúa la superficie del gránulo y forma poros; las fracciones que contienen

nitrógeno se desplazan hacia oligopéptidos y aminoácidos libres, y la composición de los aminoácidos también cambia. Los triglicéridos comienzan a hidrolizarse y la proporción de ácidos grasos saturados/insaturados se modifica; la cantidad de factores antinutricionales (por ejemplo, fitatos, inhibidor de tripsina, tanino) disminuye significativamente y los compuestos bioactivos como fenoles, fitoesteroles, folatos y GABA (Ácido  $\gamma$ -aminobutírico) aumentan. Por lo tanto, en los granos germinados casi todos los nutrientes están completamente disponibles y varios antioxidantes se encuentran en concentraciones más altas, proporcionando así la base para definir los brotes como “alimentos funcionales” (Benincasa y col., 2019).

Diferentes autores estudiaron panificados con harina de semillas/granos germinados como lupino (Ertaş, 2015), porotos caupí (Hallén y col., 2004), soja (Jideani y Onwubali, 2009); Rosales-Juárez y col., 2008) y arvejas (Sadowska y col., 2003). En donde encontraron mejoras en el volumen específico de los panes, una mejor textura, mayor contenido de proteínas, fibras, entre otros beneficios.

Los resultados previos obtenidos por otros autores en otras semillas, evidencia que utilizar germinados en productos panificados resulta una buena alternativa, dado que el proceso mejora el perfil nutricional de las harinas germinadas trasladándose esa aptitud a los panificados. Además, al ser estos de consumo masivo, hacen de la utilización de germinados, una muy buena alternativa para que pueda consumirse masivamente en la población. Por otra parte, las semillas germinadas se degradan rápido, mientras que elaborar una harina de semilla germinada aumenta su conservación ya que permiten mantener una bajo contenido de agua y actividad acuosa, a la vez que conserva los bioactivos generados, facilitando además su manejo desde un punto de vista tecnológico.

# OBJETIVOS

## Objetivos Generales

Mejorar la calidad nutricional de harinas provenientes de semillas de amaranto y quinoa para su incorporación en productos panificados a base de harina de trigo y de esta forma contribuir no sólo a incrementar la producción y utilización de estas semillas, sino también a agregar valor y mejorar el perfil nutricional de panificados de cereales.

## Objetivos Específicos

- Estudiar el efecto de la germinación sobre las semillas de amaranto y quinoa y como ésta afecta a los diferentes nutrientes. Correlacionar los cambios de las estructuras poliméricas presentes en las harinas con las variedades y el tratamiento aplicado a las semillas.
- Analizar las propiedades térmicas de dispersiones acuosas de las harinas para predecir el comportamiento de los sistemas durante el horneado.
- Analizar el efecto de la complementación de harina de trigo con las diferentes harinas de cultivos andinos sobre las propiedades de hidratación, reológicas y estructurales de las masas.
- Evaluar la calidad tecnológica de los panes y los cambios fisicoquímicos de los mismos durante el almacenamiento.
- Caracterizar el perfil sensorial, nutricional y funcional de los panes frescos.

# Capítulo II

## Materiales y Métodos



## II.1. Materiales

### - Harina de trigo

La harina de trigo (*Triticum spp*) empleada en esta tesis fue tipificada según el Código Alimentario Argentino como tipo 000 (CAA, 2021) donada por Molino Campodónico Ltda. (La Plata, Argentina). Esta harina de trigo comercial es enriquecida con hierro en forma de sulfato ferroso y vitaminas (niacina, ácido fólico y vitaminas B1 y B2) con la finalidad de prevenir anemias y malformaciones del tubo neural en la población (Ley 25.630, Decreto Reglamentario Nº 597/2003).

Los parámetros alveográficos de la harina empleada para la realización de las masas y los panes, proporcionados por el Molino, fueron: P = 86 mm de H<sub>2</sub>O, L = 62 mm, W = 241x10<sup>-4</sup> J.

Durante el período de duración del trabajo de tesis, la harina fue fraccionada en recipientes plásticos con cierre hermético (5 kg) y conservada en cámara a 0°C.

### - Semillas de amaranto

Se usaron semillas de *Amaranthus caudatus* que fueron proporcionados por TAVIRA S.A. (La Plata, Argentina).

### - Semillas de quinoa

Las semillas de quinoa utilizadas fueron la blanca Real y quinoa roja Real (Puna Andina, Argentina) compradas en la dietética "Green House" de la ciudad de La Plata.

### - Cloruro de sodio

Se empleó cloruro de sodio comercial marca Celusal, fina corrediza (Argentina).

### - Levadura

La levadura utilizada en la elaboración de las masas empleadas para la optimización de los tiempos de fermentación y para la realización de los panes fue levadura fresca prensada marca La Cordobesa (Argentina).

## II.2. Métodos: Harinas

### 2.1. Germinación de semillas de Amaranto y de Quinoa

## Amaranto

Las semillas de amaranto fueron germinadas siguiendo el protocolo publicado por Aphalo y col. (2009) con algunas modificaciones. Las semillas de amaranto (0,05 kg) se remojaron con 1 L de solución de hipoclorito de sodio comercial (20% v/v) durante 20 min como tratamiento antifúngico y luego se lavaron con abundante agua destilada varias veces. Posteriormente, se remojaron con 450 mL de agua destilada durante 6 h con agitación constante. Después del remojo, se separó una fracción de las semillas que fue utilizada como control de la germinación y al resto de las semillas se las dividió en tres partes y se las colocó (120 semillas/caja) en cajas de plástico (19 cm largo x 16 cm ancho x 5 cm alto) cubiertas previamente con papel absorbente y algodón humedecido con agua destilada. Se tapó las cajas y se las colocó en una estufa a 30°C durante diferentes tiempos de germinación: 0 (control), 18, 24 y 48 horas.

## Quinoa

Las semillas tanto de quinoa roja como de quinoa blanca fueron germinadas de manera similar al amaranto, pero con algunas modificaciones. Las semillas de quinoa (0,25 kg) se remojaron con 2 L de solución de hipoclorito de sodio comercial (10% v/v) durante 20 min como tratamiento antifúngico y luego se lavaron con abundante agua destilada varias veces. Posteriormente se remojaron con 2 L de agua destilada durante 5 h con agitación ocasional. Después del remojo, se procedió a la germinación (120 semillas / caja) en estufa a 20°C en cajas de plástico con tapa (19 cm x 16 cm x 5 cm) cubiertas con papel absorbente y algodón humedecido con agua destilada durante 0 (control de la germinación), 18, 24 y 48 horas.

## 2.2. Obtención de las harinas a partir de las semillas germinadas

El secado de las semillas germinadas y sin germinar tanto para amaranto como para quinoa se realizó en estufa de convección forzada (Sanjor SL60SF, San Andrés, Buenos Aires, Argentina). Las semillas se secaron a 40°C para detener la actividad enzimática, hasta alcanzar una humedad del 10%. Una vez secas, las muestras se molieron con un molinillo de café (Moulinex, Aleçon, Francia). Al producto de la molienda de las semillas

se las pasó por un tamiz de 500  $\mu\text{m}$  (#35) normalizado de acuerdo a la norma ASTM (ASTM, 2013). Las harinas se guardaron a 0°C hasta el momento de su uso.

### 2.3. Porcentaje de germinación

El porcentaje de germinación se calculó utilizando la ecuación:

$$\text{Porcentaje de germinación} = \frac{\text{semillas germinadas} * 100}{\text{semillas totales}} \quad \text{Ec. 2.1}$$

donde las semillas germinadas son aquellas cuya radícula sobresalía a través de la cubierta de la semilla. El recuento de las semillas se realizó antes de someterlas al secado con la ayuda de una lupa.

### 2.4. Composición química de las harinas

Para la harina de trigo se determinó el contenido de humedad, cenizas, proteínas, lípidos y fibra dietaria total según se describe a continuación y el contenido de hidratos de carbono diferente de fibra se calculó por diferencia.

En cambio, para las harinas de amaranto y quinoa, germinadas y sin germinar, además de determinar la composición química porcentual se caracterizaron algunos minerales importantes desde el punto de vista nutricional y además se estudió el perfil de ácidos grasos presentes en la materia grasa y los aminoácidos que constituyen las proteínas.

#### 2.4.1. Humedad

La determinación de humedad se realizó a través del método indirecto. Este método se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Se realizó según método AACC (2000) en el cual la muestra ( $3 \pm 0,001$  g) se seca en estufa (San Jor, Argentina) a 105°C hasta peso constante. El ensayo se realizó por triplicado.

El porcentaje de agua se calculó utilizando la ecuación 2.2 (Ec. 2.2.).

$$H (\%) = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} * 100 \quad \text{Ec. 2.2}$$

donde:

m0 = masa de cápsula de Petri vacía (g)

m1 = masa de cápsula de Petri con la muestra húmeda (g)

m2 = masa de cápsula de Petri con sólidos luego del secado (g)

### 2.4.2. Cenizas totales

Se determinó el contenido de cenizas empleando método directo según AACC (2000) basado en la oxidación completa de la materia orgánica, quedando las cenizas en el residuo. Se pesaron  $5 \pm 0,0001$  g de harina en cápsula de porcelana previamente calcinada y pesada. Se carbonizaron con mechero en triangulo de pipa y luego se calcinaron a  $550^{\circ}\text{C}$  hasta obtención de residuo blanquecino y peso constante. La determinación se realizó por triplicado.

Se calculó el contenido de cenizas utilizando la siguiente ecuación (Ec. 2.3):

$$C (\%) = \frac{(m1-m0)}{m} * 100 \quad \text{Ec. 2.3.}$$

donde:

m0 = masa de cápsula de porcelana vacía (g)

m1 = masa de cápsula con residuo inorgánico obtenido luego de calcinar la harina (g)

m = masa de harina (g)

### 2.4.3. Proteínas

La determinación del contenido de proteínas se realizó por el método de Kjeldahl. En este método se determina el contenido de nitrógeno total. La digestión de la materia orgánica se realiza con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado p.a., en presencia de la mezcla catalizadora  $\text{K}_2\text{SO}_4$  anhidro p.a. y  $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en relación 10:1 en un digestor (BÜCHI K-435, Suiza). Una vez finalizada esta etapa se procede a la liberación del amonio formado como amoniaco, empleando NaOH 32% p/v en un equipo semiautomático (BÜCHI K-350, Suiza), que se destila y se recoge sobre 50 mL de solución de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  4% p/v en presencia de indicador de Mortimer (rojo de metilo/verde de bromocresol). Se valoró directamente los miliequivalentes de nitrógeno utilizando HCl 0,1 N valorado. Se realizó un blanco para evaluar la posible presencia de compuestos nitrogenados en los reactivos empleados.

El porcentaje de nitrógeno se calculó empleando la ecuación 2.4:

$$N (\%) = \frac{(V_m - V_b)}{m} * N_{HCl} * P_{meq} * 100 \quad \text{Ec. 2.4.}$$

donde:

$V_m$  = volumen de HCl gastados en la titulación de la muestra (mL)

$V_b$  = volumen de HCl gastados en la titulación del blanco (mL)

$N_{HCl}$  = normalidad del HCl

$P_{meq}$  = peso miliequivalente del nitrógeno (= 0,014 g/meq)

$m$  = masa de la muestra (g)

Para estimar el contenido de proteínas se multiplicó el porcentaje de nitrógeno por el factor de conversión  $f = 5,7$  g proteína/g nitrógeno, que es el adecuado para cereales como el trigo. Para la conversión de %N a %proteína se utilizó el factor 5,85 para las proteínas de amaranto (Becker y col., 1981; Paredes-López, 1989) y 5,7 para las proteínas de quinoa.

Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### 2.4.4. Lípidos

La determinación de lípidos se realizó por extracción semi-continua empleando una mezcla de solventes orgánicos para su extracción utilizando una modificación de la técnica AACC (2000) en la cual se emplea el equipo de Soxhlet. Las muestras se pesaron en cartuchos armados con papel de filtro. Los lípidos de la harina fueron extraídos con mezcla de éter de petróleo (fracción 30-60°) y éter etílico en relación 1:1 llevándose a cabo unas siete sifonadas para lograr una extracción completa. Una vez finalizada la extracción se obtuvo gravimétricamente el extracto etéreo luego de evaporar el solvente en manta calefactora. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

El porcentaje de lípidos se calculó empleando la ecuación 2.5:

$$L (\%) = \frac{(m_1 - m_0)}{m} * 100 \quad \text{Ec. 2.5.}$$

m1= masa del balón con extracto etéreo luego de evaporado el solvente (g)

m0 = masa del balón vacío (g)

m = masa de la muestra (g)

#### 2.4.5. Fibra Dietaría Total

Se determinó el contenido de fibra dietaria total (FDT) de las harinas según AACC (2000), empleándose el método enzimo-gravimétrico utilizando el kit marca Megazyme. A la muestra ( $1 \pm 0,001$  g de harina), por duplicado, se le adicionó buffer fosfato (pH = 6), luego fue tratada con  $\alpha$ -amilasa termoestable a  $100^{\circ}\text{C}$  y digerida por vía enzimática con proteasa y amiloglicosidasa para eliminar las proteínas y el resto de almidón. Posteriormente, se precipitó la fibra dietaria soluble por adición de etanol hasta lograr una concentración de 70% v/v y se dejó en reposo durante 1 h. El residuo obtenido previa filtración se lavó sucesivamente con alcohol 70% v/v, alcohol 95% v/v y acetona. Posteriormente fue secado ( $105^{\circ}\text{C}$ ) y pesado. A uno de los residuos de fibra dietaria (FD) se le determinó el contenido de cenizas calcinando la muestra a  $550^{\circ}\text{C}$ , y al otro se le determinó contenido de proteínas por el método de Kjeldahl con la finalidad de poder corregir el valor de fibra dietaria.

La FD sin corregir se determinó según la ecuación 2.6 y se corrigió el peso de la fibra dietaria descontándole el porcentaje de proteínas (Ec. 2.7.) y de cenizas (Ec. 2.8.)

$$\text{FD sin corregir (\%)} = \frac{(m1-m0)}{m} * 100 \quad \text{Ec. 2.6.}$$

$$P (\%) = \frac{Vm * NHCl * Pmeq * f}{(m1-m)} * 100 \quad \text{Ec. 2.7.}$$

$$C (\%) = \frac{(m2-m0)}{(m1-m)} * 100 \quad \text{Ec. 2.8.}$$

$$\text{FDT (\%)} = \text{FD (\%)} - [P (\%) + C (\%)] \quad \text{Ec. 2.9.}$$

donde:

m1= masa del filtro con celite y el residuo de fibra dietaria (g)

$m_0$  = masa del filtro con celite (g)

$m$  = masa de la harina (g)

$m_2$  = masa del filtro con celite y el residuo de las cenizas (g)

$V_m$  = volumen de HCl gastados en la titulación de la muestra (mL)

NHCl = normalidad del HCl

$P_{meq}$  = peso miliequivalente del nitrógeno (g/meq)

$f$  = factor de conversión de Kjeldahl

#### 2.4.6. Hidratos de carbonos presentes en harinas de amaranto y quinoa

##### - Obtención de extractos acuosos

*Azúcares solubles.* Los azúcares solubles se extrajeron de acuerdo al método de Eliasson (2006). En un primer paso se mezcló 1 g de harina desgrasada (de amaranto o quinoa) con 13 mL de agua Milli-Q durante 10 min. Posteriormente se agregó 1 mL de solución de Carrez I (3,6 g de Hexacianoferrato de potasio  $K_4 [Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$  en 100 mL de  $H_2O$  destilada) y 1 mL de solución de Carrez II (7,2 g de sulfato de cinc  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  en 100 mL de  $H_2O$ ) con la finalidad de clarificar las proteínas y precipitar polisacáridos de alto peso molecular. La mezcla se calentó a 70°C durante 30 min a 600 rpm en termomixer (DLAB, Riverside, EE UU) y se enfrió hasta 25°C. Luego se llevó a volumen final de 10 mL con acetonitrilo y se centrifugó durante 10 min a 2655 g empleando una centrifuga (Rolco, Argentina). Por último, el sobrenadante se filtró con membranas de 0,45  $\mu m$  (Extracto 1).

*Almidón.* Para la determinación de almidón se realizó previamente una hidrólisis total de la harina. Para ello, 1 g de harina se mezcló con 20 mL de una solución acuosa de HCl al 16,7% v/v a reflujo durante 2 h, se enfrió y se llevó a pH 8. Finalmente, se llevó a un volumen final adecuado con acetonitrilo y el sobrenadante se filtró con membranas de 0,45  $\mu m$  (Extracto 2).

##### - Determinación de azúcares mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Sobre los extractos acuosos obtenidos previamente (1 y 2) se realizaron diferentes diluciones con agua destilada y se los filtró (0,45  $\mu m$ ), para posteriormente determinar

azúcares simples por medio de un cromatógrafo líquido Waters 1525 (Waters Corporation, Massachusetts, EEUU) equipado con un detector de índice de refracción Waters 2414. Se inyectaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra y la separación de los azúcares fue realizada de forma isocrática con la fase móvil acetonitrilo y agua en proporción 75:25 con etilendiamina al 0,2% v/v a un flujo de 1,0 mL/min empleando una columna C18-amida de 150 mm de largo y un diámetro interno de 4,5 mm con un tamaño de partícula de 3,5  $\mu\text{m}$  (Thermo Fisher Scientific Inc. Massachusetts, EEUU). La columna fue mantenida a 30°C, el eluente de la columna ingresó al detector de índice de refracción con una sensibilidad de 16.

Los azúcares estándar utilizados fueron glucosa, fructosa y sacarosa (Sigma Aldrich, Missouri, EEUU) preparados en fase móvil, filtrados con filtros de membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  e inyectados por duplicado en concentraciones crecientes de 0,05 a 13 mg/mL a los que se les determinó las áreas y tiempos de retención utilizando el software PeakFit (versión 4.12 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU). Las áreas de los picos de los azúcares presentes en las muestras se calcularon y los mismos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de las soluciones estándares. Luego, para cada azúcar, se graficó el área en función de la concentración y se realizó una regresión lineal que permite por interpolación del área de las muestras calcular las concentraciones. Las muestras se prepararon por duplicado. Los valores de los azúcares se expresaron como gramos cada 100 gramos de harina en base seca. Por su parte, para la determinación del contenido de almidón, se calculó el contenido de glucosa del Extracto 2 y se le sustrajo el valor calculado en el Extracto 1, dicha diferencia dio el contenido de glucosa proveniente de la hidrólisis del almidón. Luego usando el factor de conversión de glucosa a almidón, se obtuvo el contenido de almidón en las muestras expresado como gramos cada 100 gramos de harina en base seca. Las muestras se prepararon por duplicado.

## 2.5. Actividad acuosa de las harinas de amaranto y quinoa

La actividad acuosa ( $a_w$ ), que es la relación entre la presión de vapor de agua en el alimento y la del agua pura a una determinada temperatura ( $a_w = P_{vm}/P_{v0}$ ), de las harinas se midió por el método del punto de rocío a 25°C utilizando un equipo Meter AquaLab serie 4 TEV (Decagon Devices Inc., Washington, EEUU). En este equipo, la



muestra es equilibrada con el aire presente en una cámara sellada, un espejo, un sensor óptico, un micro-ventilador y un termómetro infrarrojo. El ventilador interno genera una circulación de aire que reduce el tiempo de equilibrio entre la muestra y el aire de la cámara. El equilibrio se logra sin pérdida ni ganancia considerable de humedad para la muestra en virtud de que su masa es mucho mayor que la del aire y, sobre todo, que la del vapor contenido en la cámara. El rango de medición de  $a_w$  se encuentra entre 0,03 y 1, con una resolución de  $\pm 0,001$ . Los ensayos se realizaron por triplicado.

## 2.6. Caracterización de proteínas y determinación de aminoácidos de amaranto y quinoa

### 2.6.1. Análisis de proteínas mediante gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE)

Se realizó una electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS - PAGE) posteriormente a la extracción de las proteínas solubles en tres soluciones diferentes. La extracción de proteínas se realizó en las diferentes muestras de las harinas de amaranto y quinoa desgrasadas (40 mg). La harina desgrasada se suspendió en 1,5 mL de solución acuosa de acetona (50% v/v) y se agitó en Termomixer durante 40 min a 25°C y 650 rpm; este lavado con la solución de acetona 50% v/v es un proceso previo que se utiliza para eliminar cualquier rastro que pueda existir de polifenoles en la muestra, ya que los mismos interfieren con las electroforesis. Luego, la mezcla se centrifugó a 6100 g durante 10 min a 25°C y el precipitado se resuspendió en diferentes soluciones buffer: (A) 0,086 M TRIS base, 0,090 M glicina y 0,003 M EDTA como buffer de extracción (BE) a pH 8, (B) BE con detergente SDS (2% p/v) donde las proteínas son desnaturalizadas y cargadas negativamente y, (C) solución B con 0,5% p/v de ditioneitol (DTT) responsable de romper los puentes disulfuros.

Los tres extractos se incubaron en Termomixer durante 40 min a 60°C y 650 rpm y posteriormente fueron centrifugados a 16100g durante 10 min en una centrifuga de Eppendorf (Giumelli Z-127-D, CABA, Argentina). Se mezclaron 10  $\mu$ L de los diferentes extractos de proteína con 10  $\mu$ L buffer de muestra (Tris-Base 0,5 M, glicerol al 50% p/v,

SDS al 0,4% p/v, 5% p/v de 2-mercaptoetanol y azul de bromofenol al 0,05% p/v) y luego se calentó a 100°C durante 2 min.

Con el fin de separar las subunidades de proteínas extraídas se utilizó un equipo Mini-PROTEAN® III (Bio-Rad, California, EEUU) y el método utilizado fue el de electroforesis en geles con una matriz de poliacrilamida (PAGE) descrito ampliamente por Hames (1998). Las proteínas presentan una carga eléctrica neta y si se encuentran en un medio de pH diferente a su punto isoeléctrico (pI) se desplazan cuando se las someten a un campo eléctrico como es el caso de la electroforesis. En la PAGE las proteínas migran de acuerdo a la carga y al tamaño, es decir a su relación carga/masa. La SDS-PAGE es una electroforesis en la que se emplea dodecil sulfato sodio (SDS) como agente desnaturizante de las proteínas. El SDS al ser un detergente aniónico tiene la particularidad de cargar negativamente a las proteínas, por lo que las mismas migran por el campo eléctrico de acuerdo solamente a su tamaño. Las más pequeñas lo hacen más rápido que las más grandes, permitiendo la separación de diferentes fracciones proteicas por su tamaño. En el gel apilador (4% de poliacrilamida) que tiene mayor tamaño de poro es en donde se siembran las muestras y permite apilar las proteínas antes de entrar al gel separador (12% de poliacrilamida), siendo este último un gel de tamaño de poro más pequeño que permite la separación de las subunidades. Al estar las proteínas cargadas negativamente, este método permite mediante una comparación con proteínas patrones de masa molecular conocida graficar el logaritmo de la masa molecular en función de la distancia de la proteína al punto de siembra y mediante una curva de calibración se pueden calcular las masas moleculares de las diferentes proteínas separadas por electroforesis presentes en las diferentes fracciones solubles de la muestra.

En el gel se sembraron 10 µL de muestra por calle y 4 µL de patrón. La electroforesis se realizó a 30 mA en buffer de corrida 5X (glicina 0,96M, Tris-Base 0,125 M y 0,5% p/v SDS) hasta que el tinte de rastreo llegó al fondo del gel. Luego de la corrida los geles fueron coloreados durante 24 h en una solución 16:40:44 de ácido acético (16% v/v), metanol (40%v/v), H<sub>2</sub>O (44%v/v) y colorante Coomassie Blue R-250 (2% p/v). La decoloración se realizó con una solución similar a la de tinción (25:10:65) compuesta por metanol (25% v/v), ácido acético (10% v/v) y agua (65% v/v). Una vez decolorados los geles se almacenaron sumergidos en agua destilada para su posterior análisis.

Las masas moleculares de las subunidades proteicas se calcularon utilizando como proteínas estándar los patrones de baja masa molecular (GE Healthcare, Inglaterra): 97 kDa (fosforilasa b), 66 kDa (albumina), 45 kDa (ovoalbúmina), 30 kDa (anhidrasa carbónica), 20,1 kDa (inhibidor de tripsina) y 14,4 kDa ( $\alpha$ -lactoalbúmina). Las masas moleculares se calcularon utilizando el software informático denominado Gel Analyzer 2010.

### 2.6.2. Análisis de aminoácidos

Para la determinación del perfil aminoácidos, se hidrolizaron las harinas desgrasadas con HCl 6 M (2 mg de proteína / 1,5 mL de solución ácida). Las soluciones se colocaron en tubos bajo atmósfera de nitrógeno; se sellaron e incubaron a 110°C durante 24 h. Los aminoácidos se derivatizaron a 50°C durante 50 min con exceso de dietil etoximetilenmalonato usando ácido D, L- $\alpha$ -aminobutírico como patrón interno y se determinaron mediante RP-HPLC (cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa) de acuerdo con Cian y col. (2015). Se utilizó un HPLC Modelo Agilent Serie 1100 con detector de longitud de onda variable VW (Santa Clara, CA, EEUU) equipado con una columna de fase reversa de 300 mm x 3,9 mm de diámetro interno (Novapack C18, 4 m; Waters) mantenida a 18°C. Se utilizó para la elución un gradiente binario a una velocidad de flujo de 0,9 mL/min. Los solventes usados fueron acetato de sodio (25 mM) conteniendo azida sódica (0,02% p/v) pH 6,0 (A) y acetonitrilo (B). La elución se llevó a cabo de la siguiente forma: 0 a 3 min con gradiente lineal desde A/B (91/9) a A/B (86/14); de 3 a 13 min con A/B (86/14); de 13 a 30 min con A/B (86/14) a A/B (69/31) y hasta completar los 35 min con A/B (69/31). Los aminoácidos eluidos fueron detectados a 280 nm. El triptófano se determinó por RP-HPLC luego de una hidrólisis alcalina según el método de Yust y col. (2004). Las determinaciones se realizaron por duplicado y se expresaron como gramos de aminoácido cada 100 g de proteínas.

### 2.7. Determinación de minerales de amaranto y quinoa

Las harinas (0,5 g) se digirieron en 10,0 mL de HNO<sub>3</sub> de alta pureza al 85% p/v utilizando un digestor de microondas (A QLAB Pro Questron, EEUU). Finalizada la digestión las muestras fueron filtradas con filtros jeringa (0,45 $\mu$ m) y llevadas a 50 mL en matraz con

agua destilada Tipo II (Conductividad eléctrica < 1,00  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 25°C). Las muestras digeridas y diluidas fueron medidas empleando un Espectrómetro de Plasma de Emisión Óptica Inductivamente Acoplado (ICP-OES) modelo ICPE-9820 (Shimadzu, Japón) equipado con un automuestreador automático ASX-520 (CETAC Technologies) bajo la Norma EPA METHOD 6010D. Los elementos determinados fueron: calcio (Ca), potasio (K), magnesio (Mg), sodio (Na), fósforo (P), cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), Selenio (Se) y cinc (Zn).

Se construyeron 6 (seis) curvas de calibración cada una formada por al menos 5 puntos y un blanco de calibración considerando las compatibilidades entre los elementos dados por la Norma EPA. Se utilizaron las siguientes curvas de calibración: I) Se, Zn y Mn; II) Fe, Cu; III) Mo; IV) Na, Ca y K; V) Mg y por último VI) P. La secuencia de medidas contempló la medición de las curvas de calibración y posteriormente los siguientes controles: blanco de calibración inicial, verificación inicial de la calibración, así como la verificación del punto más bajo y un punto medio de la curva de calibración antes de proceder con las medidas de las muestras. Posteriormente y cada 10 (diez) muestras se hizo una verificación de validez de la curva de calibración mediante un control de curva de calibración y un blanco control de calibración. Los valores se expresaron en mg del elemento por kilogramo de harina seca.

## 2.8. Determinación de ácidos grasos de amaranto y quinoa

**Obtención de la fase grasa.** Para la extracción de la materia grasa de la muestra se utilizó el método de Folch. Se pesó en un tubo Falcon una cantidad adecuada de muestra como para obtener 1 g de lípidos. A la muestra se le agregaron 10 mL de mezcla cloroformo: metanol en relación 2:1 (grado HPLC). Luego se lo llevó a heladera (4°C) toda la noche, con el fin de lograr una buena extracción. Posteriormente se filtró, y al filtrado se le adicionó 2 mL de H<sub>2</sub>O mili Q y se centrifugó 5 min a 620 g (Rolco, Argentina). Se separó la fase orgánica y la misma se llevó a un rotavapor (Büchi Labortechnik AG, Postfach, CH-9230, Flawil, Suiza) con el fin de eliminar el solvente, quedando solamente los lípidos.

**Derivatización y metilación.** Se transvasaron los lípidos obtenidos a un tubo Hach y se les adicionó 2 mL de una solución de HCl en metanol (5% v/v, con una pizca de sulfato de sodio como deshidratante) a fin de homogeneizar la muestra en el solvente se tapó y agitó vigorosamente, posteriormente se los colocó en un baño con agua hirviendo por

10 min. Después se enfrió y se agregó 1 mL de agua destilada milli-Q y 0,5 mL de hexano. Los tubos se taparon, se agitaron y se centrifugaron por 15 min a 1333 g (Rolco, Argentina) hasta que ambas capas quedaron transparentes. Se tomó la capa superior con los ésteres metílicos disueltos en hexano y se filtró (0,45  $\mu$ m).

**Separación e identificación de los ácidos grasos.** Finalmente, los ésteres metílicos (1  $\mu$ L) se inyectaron en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A (Agilent Technologies; Santa Clara, CA, EEUU) con detectores de ionización de llama. Se utilizó una columna capilar DB 23 (30 m, 250  $\mu$ m d.i., 0,25 mm) marca Supelco. El modo dividido fue 50: 1 y el programa de temperatura del horno fue: isoterma 1 min a 50°C, de 50 a 175°C a 25°C/min, de 175 a 230°C a 4°C/min, isoterma a 230°C durante 15 min. Caudal (helio): 0,4763 mL/min. Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 250 y 280°C, respectivamente. Los ácidos grasos se identificaron al comparar con los tiempos de retención de los estándares de los ésteres metílicos de ácidos grasos Supelco 37-Component FAME Mix (Sigma-Aldrich, EE. UU.). Se analizó el área de los diferentes picos utilizando el software PeakFit (versión 4.12 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). Las determinaciones se analizaron por duplicado y se expresaron como g del ácido graso cada 100 g de lípidos.

## 2.9. Determinación de compuestos antioxidantes de amaranto y quinoa

### 2.9.1. Obtención de extractos de polifenoles y antioxidantes

Los compuestos antioxidantes se extrajeron modificando la técnica de Avallone y col. (1997). Se mezclaron 0,7 g de harina con 10 mL de acetona, se agitaron 15 min y se centrifugó 15 min a 1333 g (Rolco, Argentina), obteniendo el sobrenadante 1 (S1). A la fracción insoluble anterior, se le adicionó 10 mL de una mezcla acetona:agua (70:30), se agito 15 min y centrifugó 15 min a 1333 g, obteniéndose el sobrenadante 2 (S2). El paso anterior se repitió una vez más, obteniendo el sobrenadante 3 (S3). Los sobrenadantes se combinaron (S1+S2+S3) y a la mezcla se le agregó 15mL de cloroformo, posteriormente se centrifugó 10 min a 853 g empleando una centrifuga (Rolco, Argentina), para luego almacenarlos durante toda la noche a 4°C en reposo, a fin de facilitar la extracción. Se recogió la fase acuosa (superior), la acetona residual se evaporó

en rotavapor (Büchi Labortechnik AG, Postfach, CH-9230, Flawil, Suiza) y se diluyó con agua destilada en matraz aforado hasta 25 mL. Sobre esta solución se determinaron el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante.

### 2.9.2. Determinación del contenido de polifenoles solubles

El contenido total de compuestos fenólicos solubles se determinó colorimétricamente por el método de Folin-Ciocalteu modificado por Asami y col. (2003). A 50  $\mu$ L del extracto descrito anteriormente (2.9.1.) se le agregó 750  $\mu$ L H<sub>2</sub>O destilada y 50  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu, se esperó 3 min y se incorporó 150  $\mu$ L de una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% p/v preparada en una solución de NaOH 0,1N y se esperaron 120 min para que se complete la reacción. Se midió la absorbancia a 760 nm utilizando ácido gálico como patrón en un espectrofotómetro Shimadzu UV-Mini 1240 (Shimadzu Corporation, Kioto, Japón). La concentración de polifenoles se expresó en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) cada 100 g de harina en base seca (GAE/100g b.s.). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

### 2.9.3. Actividad antioxidante mediante los métodos de FRAP y DPPH

#### Método FRAP

El ensayo del poder antioxidante reductor de iones férricos (FRAP) se determinó de acuerdo con Benzie y Strain (1999). Se mezcló 900  $\mu$ L de reactivo FRAP fresco con 100  $\mu$ L el extracto antioxidante (2.9.1.) y se midió la absorbancia a 593 nm luego de 60 min de reacción. Se utilizó una curva de calibración que contenía diferentes concentraciones (0-99  $\mu$ g/mL;  $r^2 = 0,999$ ) de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). Los valores de FRAP se presentan como  $\mu$ g de Trolox por gramo de harina en base seca. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

#### Método DPPH

Este método es un método rápido, simple y ampliamente utilizado para medir la capacidad de los compuestos para actuar como captadores de radicales libres o donantes de hidrógeno, y para evaluar la actividad antioxidante de los alimentos

(Kedare y Singh, 2011). Esta determinación se realizó siguiendo la metodología de acuerdo con Hasperué y col. (2016). Se mezclaron volúmenes iguales del extracto obtenido anteriormente (2.9.1.) con el reactivo DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo), se dejó reaccionar por 90 min en oscuridad y se determinó la absorbancia a 515 nm. La concentración de la muestra que causó una disminución en la concentración inicial de DPPH a un nivel del 50% se define como la concentración efectiva media máxima ( $CE_{50}$ ), y el parámetro utilizado para calcular la capacidad antioxidante de la muestra fue  $CE_{50}^{-1}$ . Las determinaciones se realizaron por triplicado.

## 2.10. Propiedades estructurales de las harinas de amaranto y quinoa.

### Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

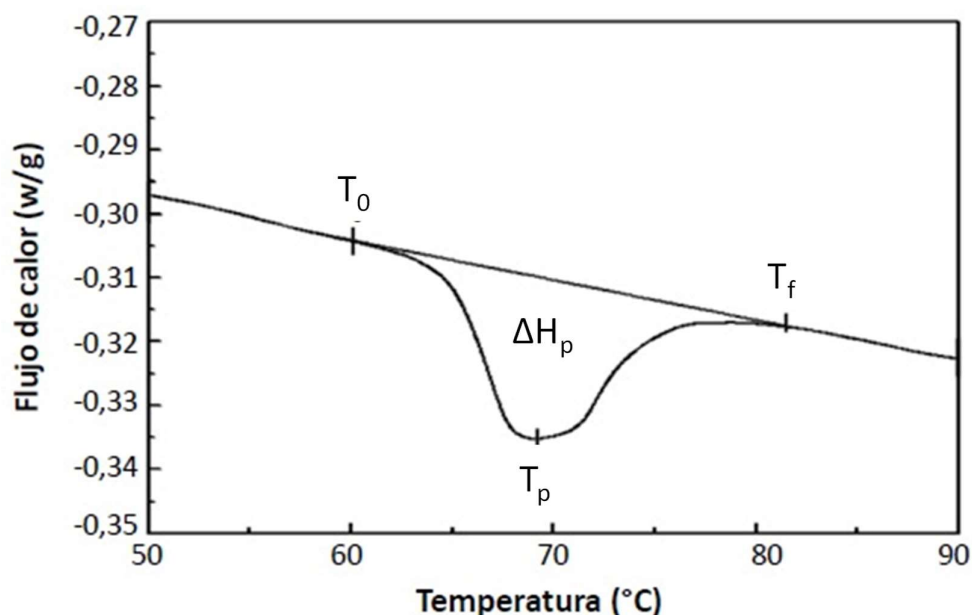
Se realizaron los espectros FTIR de las harinas de amaranto y quinoa tanto germinadas como sin germinar. Se colocó la muestra finamente molida en el portamuestras de un espectrómetro ATR-FTIR Thermo Nicolet iS10 (Thermo Scientific, MA, EE. UU.). Se tomaron 32 barridos con una resolución espectral de  $4\text{ cm}^{-1}$  en el rango  $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ , utilizando el software OMNIC (versión 8.3, Thermo Scientific, MA, EE. UU.). Se realizaron 5 espectros de cada muestra.

La asignación de las bandas en función al modo en que vibran los grupos funcionales específicos se realizó mediante comparación con datos espectrales de la literatura, así como con espectros de compuestos de referencia incluidos en la biblioteca espectral del software. Se utilizaron espectros de la segunda derivada invertida para estimar el número y la posición de los elementos individuales que componen la banda Amida I ( $1580\text{-}1710\text{ cm}^{-1}$ ) y las bandas entre  $995\text{ y }1150\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la estructura del almidón. Esta información se tuvo en cuenta para ajustar las bandas de la Amida I en los espectros de proteínas con los perfiles de banda Gaussiana \* Lorentziana y en el almidón se ajustó con los perfiles de banda Gaussiana, utilizando el software PeakFit (versión 4.12 para Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.). La asignación de las estructuras proteicas secundarias a las principales frecuencias de Amida I se realizó según Gerbino y col (2011).

## 2.11 Propiedades térmicas de las harinas de amaranto y quinoa.

### 2.11.1 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las propiedades térmicas de las harinas de amaranto y quinoa se determinaron sobre suspensiones acuosas de las mismas (40% p/v) mediante calorimetría diferencial de barrido, utilizando un equipo Q100 (TA Instruments, EEUU). Se utilizó el método de Menegassi y col. (2011) con algunas modificaciones. La suspensión (10 mg) se colocó en cápsulas de aluminio que se cerraron herméticamente y se sometieron a un ciclo de calentamiento desde 10°C hasta 140°C a 10°C/min. La gelatinización del almidón y la desnaturalización de las proteínas se caracterizó evaluando las siguientes temperaturas para cada pico: inicio ( $T_0$ ), pico ( $T_p$ ) y final ( $T_f$ ). La variación de entalpía asociada a cada proceso endotérmico ( $\Delta H$ ) se determinó entre  $T_0$  y  $T_f$ . Las determinaciones se analizaron por duplicado.



**Figura 2.1.** Termograma DSC típico de suspensión de harina de trigo.

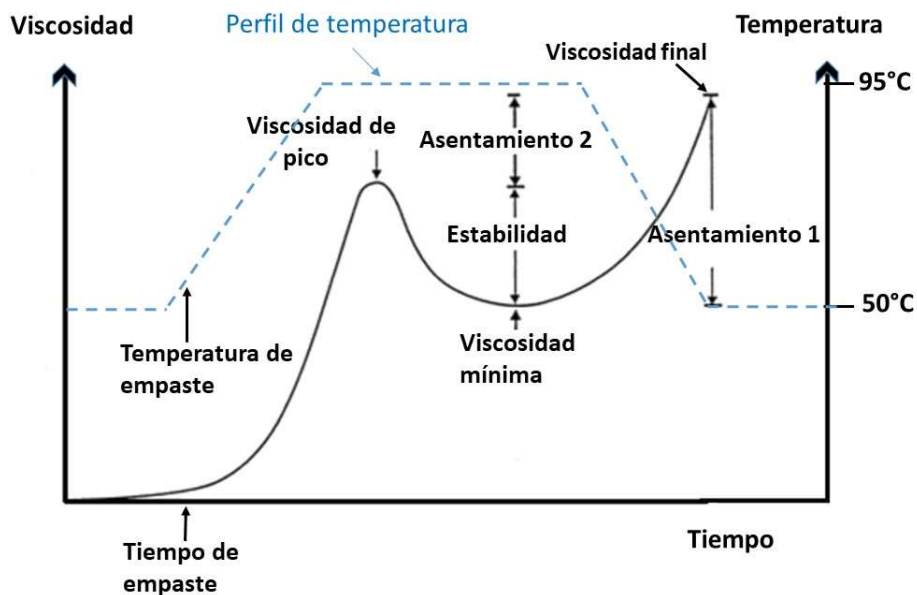
### 2.11.2. Viscoamilografía rápida (RVA)

Para determinar las propiedades de viscosidad durante la cocción y enfriamiento de suspensiones de las diferentes harinas se empleó un viscoamilógrafo rápido RVA 4500 (Perten Instruments, Australia) según el método AACC 76-21.01 (2000).



Las mezclas estudiadas fueron las siguientes: harina de trigo, harina de amaranto sin germinar (A), harina de amaranto germinada a 30°C durante 18 h (A<sub>18</sub>); harina de quinoa blanca sin germinar (QB), harina de quinoa blanca germinada a 20° C durante 48h (QB<sub>48</sub>), harina de quinoa roja sin germinar (QR) y harina de quinoa roja germinada 24h (QR<sub>24</sub>). Se pesaron 3,50 g de sólidos y se agregaron 25,0 ± 0,1 mL de agua destilada (el peso de la muestra). Cabe aclarar que la cantidad de agua que se agregó fue corregida en base a una humedad del 14%. La suspensión se colocó en el RVA, se agitó vigorosamente hacia arriba y abajo durante 10 s con el fin de homogeneizar (960 rpm). Luego se termostatózó la suspensión a 50°C durante 1 min agitando. El ensayo continuó con un calentamiento desde 50°C hasta 95°C a una velocidad de 12,16°C/min. Se mantiene a 95°C durante 2,5 min. Finalizado este tiempo, comienza a disminuir la temperatura a 50°C en 3,8 min manteniéndose a esta temperatura durante 1 min.

En la Figura 2.2 se muestra un perfil de viscosidad típico y los diferentes parámetros obtenidos:



**Figura 2.2.** Perfil viscoamilográfico típico de almidón de trigo y parámetros calculados a partir del mismo. Adaptado de Dengate, 1984.

Se obtuvieron los siguientes parámetros:

- **Tiempo de empaste:** tiempo al cual comienza el aumento de la viscosidad.
- **Tiempo de aparición del pico ( $t_p$ ):** tiempo en que aparece el pico de viscosidad

máxima a 95°C expresado en minutos.

- **Viscosidad de pico (VP):** máxima viscosidad obtenida durante el calentamiento hasta 95°C, relacionada con la capacidad de la muestra para ligar agua. Expresado en centipoise (cP).
- **Viscosidad mínima (VM):** viscosidad de la pasta caliente, medida durante el mantenimiento de la temperatura en 95°C, y cuyo valor depende de la habilidad de la muestra para resistir el calentamiento y el esfuerzo de cizalla. Expresado en cP.
- **Viscosidad final (VF):** relacionada con la habilidad de la muestra para formar una pasta viscosa o gel después de la cocción y el enfriamiento. Expresado en cP.
- **Estabilidad (BD; breakdown):** diferencia entre VP y VM, relacionada con la habilidad de la suspensión para resistir el calentamiento y el esfuerzo de cizalla. Expresado en cP.
- **Asentamiento 1 (SB-1, setback 1):** diferencia entre VF y VM. Expresado en cP.
- **Asentamiento 2 (SB-2, setback 2):** diferencia entre VF y VP. Al enfriar la muestra ocurre una asociación de las moléculas de almidón formándose un gel por lo que esta zona de la curva se relaciona con la tendencia a retrogradar de la pasta. Expresado en cP.

## 2.12. Capacidad de retención de solventes (CRS)

La cantidad y calidad de los distintos componentes de las harinas determinan su desempeño o su adecuación para diferentes usos. Particularmente, esto es así en el caso de las proteínas, los pentosanos y el almidón dañado. En el ensayo de capacidad de retención de solventes (CRS) se ponen en evidencia cada uno de estos componentes al interaccionar de manera distinta cuando son enfrentados con soluciones de diferentes solutos.

Los solventes empleados fueron agua destilada, solución de sacarosa 50% p/p, solución de carbonato de sodio 5% p/p y solución de ácido láctico 5% p/p. A excepción del agua, la cual interactúa de manera global con todos los componentes de la harina, cada solvente interactúa de manera distinta con las diferentes fracciones mencionadas. Generalmente se asocia a la capacidad de retención de la sacarosa con las características de los pentosanos, a la del carbonato de sodio con el almidón dañado, y a la del ácido láctico con las características de las gluteninas (AACC International, 2000). El valor de la

SRC se obtuvo como el porcentaje de solvente retenido en base a la harina ensayada con una humedad del 14%. Las capacidades de retención de agua (CRA), sacarosa (50%, p/p) (CRS), carbonato de sodio (5%, p/p) (CRC) y ácido láctico (5%, p/p) (CRAcL) fueron evaluadas para cada muestra por duplicado. Brevemente, el método consistió en mezclar 5 g de harina con 25 ml de solvente en tubos de centrífuga de base cónica de 50 ml, empleando un tubo diferente por cada solvente. Estas mezclas se agitaron vigorosamente cada 5 min para favorecer la solvatación y el hinchamiento durante un tiempo total de contacto solvente-muestra de 20 min. Luego, los tubos fueron centrifugados (1000×g; 15 min) y el sobrenadante se descartó. La cantidad de solvente retenido por cada muestra fue determinada por pesada (peso del gel). Los valores de capacidad de retención de solvente se calcularon entonces según la Ecuación 2.10.

$$\%CRS = \left( \frac{\text{peso gel}}{\text{peso hari}} - 1 \right) \times \left( \frac{86}{100 - \text{humeda de la har}} \right) \times 100 \quad \text{Ec. 2.10.}$$

## II.3. Métodos: Masas Panarias

### 3.1. Diseño experimental

El objetivo de capítulo de análisis de masas fue evaluar la posible interacción entre los componentes de las harinas de pseudocereales germinadas durante el tiempo óptimo y sin germinar, tanto de amaranto como de quinoa, con la harina de trigo y su influencia sobre la calidad tecnológica de la masa. Para ello se utilizó un diseño bifactorial, en donde se realizaron mezclas con 0 (C, solamente trigo), 5, 15 y 25% de adición de las diferentes harinas de amaranto y quinoa a la harina de trigo.

*Amaranto.* En total se estudiaron 6 formulaciones: tres mezclas con adición de la harina de semillas de amaranto sin germinar al 5 (A5), 15 (A15) y 25% (A25) y tres muestras con las harinas obtenidas a partir de semillas germinadas de amaranto denominadas AG5 (5%), AG15 (15%) y AG25 (25%).

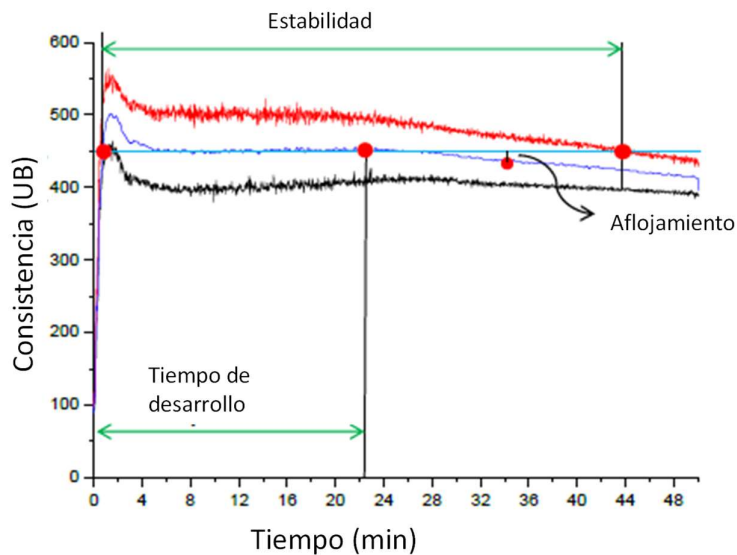
*Quinoa.* Se estudiaron también 6 formulaciones con quinoa blanca: tres con adición de la harina de quinoa blanca sin germinar al 5 (QB5), 15 (QB15) y 25% (QB25); y tres mezclas obtenidas a partir de harina de semillas de quinoa blanca germinadas denominadas QBG5 (5%), QBG15 (15%) y QBG25 (25%).

Se prepararon también 6 formulaciones con quinoa roja: tres con adición de la harina de quinoa roja sin germinar al 5 (QR5), 15 (QR15) y 25% (QR25); y tres con las harinas germinadas denominadas QRG5 (5%), QRG15 (15%) y QRG25 (25%).

## 3.2. Calidad panadera de las mezclas

### 3.2.1. Ensayos farinográficos

Los ensayos fueron llevados a cabo en un farinógrafo de Brabender (Brabender, Duigsburg, Alemania) con amasadora de 300 g de acuerdo al método AACC (2000). La determinación se realizó para la formulación de harina de trigo y para las mezclas con adición de harinas de pseudocereales sin germinar: A5, A15, A25, QB5, QB15, QB25, QR5, QR15 y QR25 como se describió en la sección 3.1., con agregado de 1,5 g de cloruro de sodio cada 100 g de harina de trigo. El equipo registra la fuerza realizada a velocidad constante por las paletas durante el mezclado de la harina o mezcla de harinas con el agua adicionada; la cantidad de agua es la cantidad de agua necesaria para alcanzar las 500 unidades Brabender (UB) y corresponde a la absorción de agua farinográfica y se expresa como mililitros de agua cada 100 gramos de sólidos. La Figura 2.3 muestra un farinograma típico de harina de trigo.



**Figura 2.3.** Farinograma típico de una masa de harina de trigo.

A partir de esta curva se pudieron calcular los siguientes parámetros relacionados con la aptitud para la formación de masa:

- **Tiempo de desarrollo (td):** tiempo que transcurre desde el comienzo del agregado de agua hasta la consistencia máxima (segundo pico). Se expresa en minutos.
- **Estabilidad (Es):** tiempo que transcurre desde que la parte superior de la curva alcanza los 500 UB hasta que el punto cae por debajo de ese valor. Se expresa en minutos.
- **Aflojamiento (Af):** expresa la caída en la consistencia de la masa, se determina como la diferencia en UB entre la máxima consistencia (segundo pico) y la que se obtiene 12 minutos después.

Cabe aclarar que los ensayos farinográficos no se realizaron sobre las mezclas de pseudocereales germinados (amaranto, quinoa blanca y roja) con trigo debido a que otros autores no encontraron diferencias significativas en los parámetros alveográficos (Abs y tiempo de desarrollo) en mezclas sin germinar y germinada empleando un reemplazo del 20% de quinoa (Suárez-Estrella y col., 2020).

### 3.3. Elaboración de masa

Las formulaciones empleadas fueron las mencionadas según el diseño descrito en la sección 3.1, a las cuales se les agregó NaCl (1,5% en base harina de trigo) y agua destilada fría según la absorción farinográfica. Los ingredientes sólidos se mezclaron primero durante un minuto en una amasadora planetaria (KitchenAid Heavy Duty, EEUU), luego se agregó el agua y se amasó durante el tiempo de desarrollo (obtenidos de la sección 3.2.1.). El primer minuto se amasó a 50 rpm y el resto del tiempo a 90 rpm hasta completar el tiempo de desarrollo. La masa obtenida se la laminó manualmente 4 veces (girando la masa 90° antes de cada pasada) con el objeto de alinear los filamentos de gluten para así aumentar la fuerza de la masa. Una vez laminada, se la dejó reposar a temperatura ambiente durante 15 min tapada con film para evitar la deshidratación superficial. Una vez terminado el periodo de reposo, se estiró (1 cm de espesor) y se

cortaron piezas con un cortante cilíndrico de 3 cm de diámetro para emplearlas en estudios posteriores. Todas las masas se hicieron por duplicado.

### 3.4. Contenido de gluten

El contenido de gluten de las diferentes formulaciones se determinó según el método AACC 38-12 (2000) modificado. Se partió de la masa formada en la amasadora como se describió en la sección 3.3 y se empleó el Glutomatic (Glutomatic 2200, Perten Instruments, Suecia) para el lavado de la masa. Esta modificación surge como consecuencia de que los tiempos necesarios para la formación de la masa obtenidos a través del farinograma en general son mayores al tiempo máximo que permite amasar el equipo. Una porción de masa (equivalente a colocar 10 g de harina) se colocó en el Glutomatic, se amasó durante 1 min y se lavó durante 5 min empleando una malla metálica de 80 µm de poro. El gluten obtenido se centrifugó empleando una centrifuga 2015 (Perten Instruments, Suecia) a 6000 rpm durante 1 min. Se registró el peso del gluten húmedo total (m1). Se calculó la cantidad de gluten húmedo (GH) cada 100 g de harina, referido a una harina de 14% de humedad. Finalmente, el gluten se secó en condiciones estandarizadas a 150°C durante 5 min en el Glutork (Perten Instruments, Suecia) y se pesó luego de alcanzar temperatura ambiente. Se calculó el porcentaje de gluten seco (GS).

$$GH (\%) = \left( \frac{m1}{m} \right) * 100 * [(100 - 14)/(100 - H)] \quad \text{Ec. 2.11.}$$

$$GS (\%) = \left( \frac{m2}{m} \right) * 100 * [(100 - 14)/(100 - H)] \quad \text{Ec. 2.12.}$$

donde:

m1 = masa de gluten húmedo (g)

m2 = masa del gluten seco (g)

m = cantidad de masa pesada (g)

H = humedad de la harina (%)

Se calculó además la relación gluten húmedo/gluten seco (GH/GS).

### 3.5. Propiedades de hidratación de las masas

Se determinó la humedad de las masas, la cual está relacionada con la cantidad de agua en la muestra, y la actividad acuosa que lo está con la disponibilidad de agua y la vida útil. También se midió el pH de las masas vinculado con la concentración de protones del medio.

#### 3.5.1. Humedad

Una porción de masa se estiró sobre la superficie de la placa de Petri formando una fina lámina con el fin de lograr una mayor superficie de evaporación. Se determinó el contenido de agua según se describió en la sección 2.4.1.

#### 3.5.2. Actividad acuosa

La actividad acuosa ( $a_w$ ) se determinó como se describió en la sección 2.5., en este caso se colocó una cantidad de masa tal que no superara la mitad del contenedor que se coloca en el equipo. Este ensayo se realizó por triplicado empleando una solución de sulfato de potasio saturada como estándar de calibración.

#### 3.5.3. Evaluación del pH

Se determinó el pH de las masas en ausencia de levadura, empleando un pHmetro (SevenMulti, Mettler Toledo, EEUU) con un electrodo de punta especialmente diseñado para sólidos, el cual se introdujo (2 cm) dentro de la masa a 25°C en forma similar a lo descrito por Miller y col. (1994). Para una buena lectura es importante un buen contacto entre la masa y el electrodo.

Es importante conocer el pH de la masa debido a que valores entre 4 y 5,5 las levaduras tienen la máxima formación de gas. Esta determinación se realizó por cuatuplicado sobre la masa fresca.

### 3.6. Propiedades reológicas de las masas

Se realizaron diferentes ensayos para estudiar el comportamiento reológico de las masas: ensayos de textura en condiciones de alta deformación (perfil de textura y relajación de la masa) y ensayos de reología dinámica a bajas deformaciones.

*Equipamiento Textura.* Para los ensayos de textura de masas con harina de amaranto se empleó un texturómetro (TA. XT2i, Stable Micro System, Surrey, Reino Unido) utilizando el programa Texture Expert para Windows (v.1.2) mientras que para las masas con harina de quinoa se utilizó el texturómetro CT3 Texture Analyzer (Brookfield Engineering Laboratories, INC. EEUU).

*Equipamiento Viscoelasticidad.* Para los ensayos de reología dinámica se usaron un reómetro oscilatorio de esfuerzo controlado (RS600, Haake Alemania) utilizando el programa RheoWin data Manager 3.30 para el análisis de las masas de amaranto, mientras que para las de quinoa se utilizó un reómetro AR-G2 (TA Instruments; New Castle, DE, EEUU).

Para ambos tipos de equipos, sea cual fuera la técnica reológica usada, se usó como control la masa de harina de trigo, por lo que el cambio de equipamiento no afectó la credibilidad de los datos experimentales.

### 3.6.1. Análisis de perfil de textura

Se realizó un análisis de perfil de textura (Texture Profile Analysis, TPA) que consiste en un ensayo de doble compresión con un tiempo de espera entre ellos (Bourne, 2002). A cada disco de masa (3 cm x 1 cm) se lo sometió a un ciclo de doble compresión empleando una deformación del 40% de la altura original con una sonda adecuada y una celda de 25 kg. Se esperó 5 segundos entre ambos ciclos. La velocidad del ensayo fue de 0,5 mm/s. Se ensayaron 16 discos por cada formulación. Se registró la fuerza (expresada en Newtons) en función del tiempo (expresado en segundos) obteniéndose un gráfico como el de la Figura 2.4., del cual se obtuvieron los siguientes parámetros:

- **Dureza o firmeza:** fuerza máxima del primer ciclo de compresión. Se expresa en unidades de fuerza (N).
- **Consistencia:** suma de las áreas positivas del primer (Área 1) y segundo (Área 2) pico. Posee unidades de N\*s. (en las masas con amaranto)
- **Cohesividad:** cociente entre el área de la segunda compresión (Área 2) y el área de la primera compresión (Área 1). Representa la fuerza con la que están unidas las partículas en la masa. Es un parámetro adimensional.



- **Adhesividad:** área del pico negativo después del primer ciclo de compresión (Área 3), representa el trabajo necesario para despegar el émbolo de la superficie del alimento. Se mide en N\*s.
- **Elasticidad:** altura que recupera el alimento durante el tiempo transcurrido entre el primer ciclo y el segundo. Se calcula como la distancia desde el tope de deformación del ciclo 1 hasta el punto de ruptura del ciclo 2.
- **Resiliencia:** cociente del área entre el máximo y el final del primer pico respecto al área entre el inicio y el máximo del mismo pico. Es un parámetro adimensional. (en las masas con quinoa)

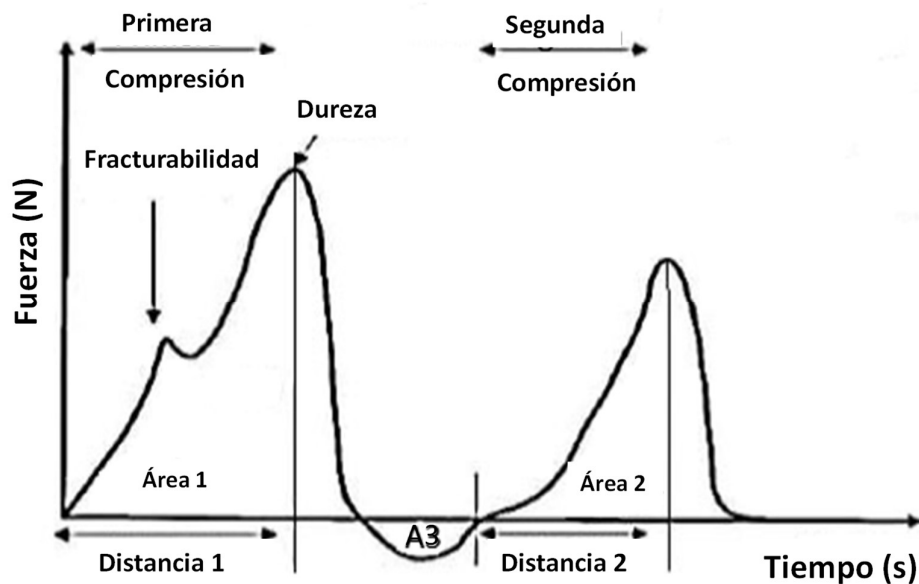


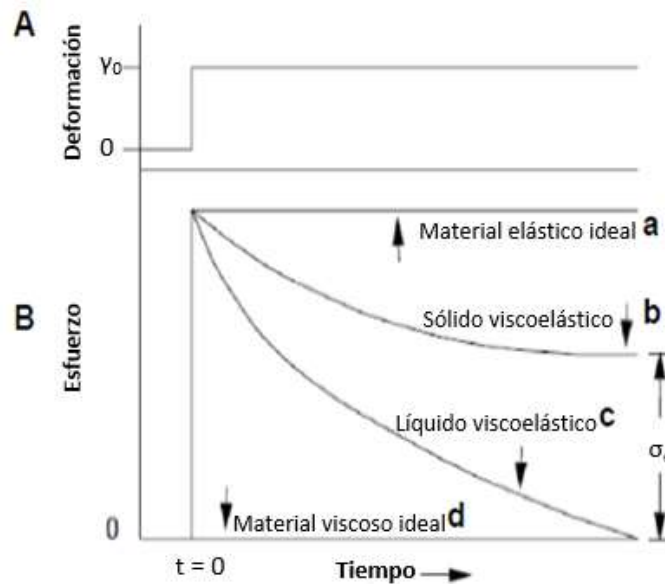
Figura 2.4. Curva característica de Análisis de Perfil de Textura (TPA)

### 3.6.2. Ensayo de relajación

El ensayo de relajación consiste en deformar el material aplicando una compresión a deformación constante (Figura 2.5.A) y registrar la fuerza que opone el material para mantener dicha deformación en función del tiempo.

*Conceptos teóricos.* Al aplicar sobre diversos materiales el ensayo de relajación, se observan diferentes comportamientos (Figura 2.5.B): si el material es un sólido elástico ideal no experimenta relajación (Figura 2.5.B.a), si el material posee comportamiento de un líquido viscoso ideal se relaja instantáneamente (Figura 2.5.B.b). Los materiales viscoelásticos poseen un comportamiento intermedio entre ambos, se relajan en forma

gradual y el valor de esfuerzo final ( $\sigma_e$ ) dependerá de qué tipo de comportamiento predomine. En el caso que predomina el comportamiento sólido sobre el líquido se alcanzará un valor de equilibrio positivo (Figura 2.5.B.c); mientras que si predomina el comportamiento fluido sobre el sólido el esfuerzo final será cero (Figura 2.5.B.d) (Steffe, 1996).



**Figura 2.5.A)** Deformación en función del tiempo. **B)** Curvas de relajación de diferentes materiales.  $\gamma_0$ : deformación aplicada.  $\sigma_e$ : valor de esfuerzo alcanzado en el equilibrio (Adaptado de Steffe, 1996).

El comportamiento de los materiales viscoelásticos se puede representar mediante diferentes modelos. El comportamiento de fluido ideal obedece la Ley de Newton (Ec. 2.13.), con un pistón trabajando en un cilindro, mientras que el del sólido ideal está representado por un resorte y obedece la Ley de Hooke (Ec. 2.14.). El pistón representa la disipación de energía en forma de calor mientras que el resorte representa la energía almacenada en el material.

$$\sigma = \eta * \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 2.13.}$$

donde:

$\sigma$ : esfuerzo de corte (kPa)

$\eta$ : coeficiente de viscosidad dinámica (Pa \*s)

$\dot{\gamma}$ : gradiente de velocidad ( $s^{-1}$ )

$$\sigma = E * \gamma$$

Ec. 2.14.

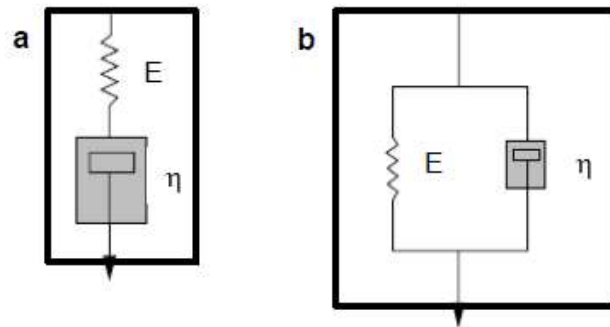
donde:

$\sigma$ : esfuerzo (kPa)

E: modulo elástico (kPa)

$\gamma$ : deformación relativa

Se considera que el material viscoelástico internamente trabaja con diferente combinación de resortes y pistones. Los modelos más sencillos son dos, el modelo de Maxwell con el resorte y el pistón en serie (Figura 2.6.a) y el modelo de Kelvin-Voigt con el resorte y el pistón conectados en paralelo (Figura 2.6.b).



**Figura 2.6. a)** Modelo de Maxwell. **b)** Modelo de Kelvin-Voigt.

El modelo de Maxwell es el que frecuentemente se ha utilizado para interpretar los datos de las curvas obtenidas en los ensayos de relajación de fluidos viscoelásticos. Como los elementos están en serie, puede suponerse que la deformación total del material es igual a la suma de las dos deformaciones:

$$\gamma = \gamma_{\text{resorte}} + \gamma_{\text{pistón}} \quad \text{Ec. 2.15.}$$

Diferenciando la Ec 2.15 respecto del tiempo y usando las definiciones provenientes de las ecuaciones 2.13 y 2.14 puede obtenerse la ecuación general del modelo de Maxwell

$$\dot{\gamma} = d\gamma/dt = 1/E (d\sigma/dt) + \sigma/\eta \quad \text{Ec. 2.16.}$$

Reordenando la ecuación 2.16 obtenemos la siguiente expresión:

$$\eta * \dot{\gamma} = \sigma + (\eta/E) (d\sigma/dt) = \sigma + T_{rel} (d\sigma/dt) \quad \text{Ec. 2.17.}$$

donde:

$T_{rel}$  es el tiempo de relajación definido como la relación entre el componente viscoso y el componente elástico ( $\eta / E$ ).

Como el ensayo de relajación consiste en aplicar una deformación constante en el tiempo,  $\dot{\gamma}_0$ , entonces  $\dot{\gamma} = d\gamma / dt = 0$ , por lo tanto, la Ec. 2.17 queda igualada a cero de la siguiente forma:

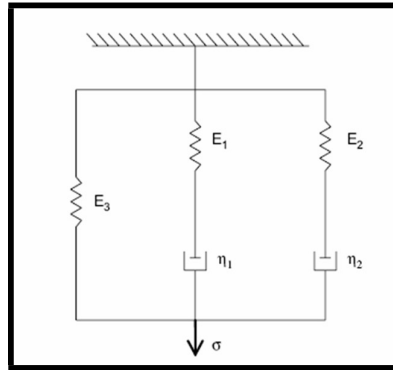
$$\sigma + T_{rel} (d\sigma/dt) = 0 \quad \text{Ec. 2.18.}$$

integrando la ecuación 2.17 respecto del tiempo, obtenemos:

$$\sigma(t) = \sigma_0 \exp (-t/T_{rel}) \quad \text{Ec. 2.19.}$$

donde  $\sigma_0$  es el esfuerzo al inicio de la deformación, la cual decae exponencialmente en función del tiempo.

El modelo de Maxwell no considera el esfuerzo en el equilibrio. Por esta razón, el comportamiento viscoelástico en los alimentos puede ser mejor descrito empleando el modelo de Maxwell generalizado (Hassan y col., 2005; Rodriguez-Sandoval y col., 2009), que consiste en varios elementos de Maxwell y un resorte, conectados en paralelo. El resorte contempla el término del esfuerzo del equilibrio. El modelo que mejor ajusta en las masas contiene dos elementos de Maxwell asociados a un resorte (Figura 2.7.).



**Figura 2.7.** Modelo de Maxwell generalizado aplicado a las masas.

La ecuación obtenida del modelo de Maxwell generalizado es la siguiente:

$$\sigma(t) = \sigma_1 * \exp (-t / T_1) + \sigma_2 * \exp (-t / T_2) + \sigma_3 \quad \text{Ec. 2.20.}$$

Donde  $\sigma(t)$  representa el esfuerzo medido durante el ensayo de relajación,  $t$  representa el tiempo. El tiempo de relajación ( $T_i$ ) está definido como la relación entre la viscosidad y el módulo elástico ( $T_i = \eta_i / E_i$ ).

El módulo elástico ( $E_i$ ) es definido como la relación entre el esfuerzo y la constante de deformación ( $E_i = \sigma_i / \epsilon_0$ ). Donde  $\epsilon_0$  es una tensión constante calculada como el cociente de la deformación a la altura inicial de la muestra.

*Ensayos experimentales y modelado de las curvas.* Los discos de masa ( $n=3$ ) se sometieron a una compresión de 40% a 0,5 mm/s durante 20 min empleando el texturómetro. El ensayo se realizó a 25°C. Se registró la fuerza en función del tiempo. Para evitar la desecación de las muestras los bordes fueron cubiertos con vaselina semisólida. El ensayo se realizó por duplicado para cada formulación. Se ajustó la curva de esfuerzo (Fuerza/área) en función del tiempo utilizando el modelo de Maxwell generalizado (Ec. 2.20.) usando OriginPro10 (OriginLab Corporation, MA, EEUU) obteniéndose la ecuación 2.21:

$$\sigma(t) = A1 * \exp (-t/T_1) + A2 * \exp (-t/T_2) + E_3 * \gamma_0 \quad \text{Ec. 2.21.}$$

donde:

$A_i$ : factores pre-exponenciales.

$T_i$ : son los tiempos de relajación, definidos como la relación entre el componente viscoso y elástico ( $\eta_i/E_i$ ).

Al aplicar este modelo, se obtuvieron los módulos de relajación elástica (E) y los tiempos de relajación (T) para el primer y el segundo término exponencial. El módulo E3 corresponde al módulo de equilibrio en tiempo infinito.

### 3.6.3. Ensayo reológico dinámico

Los ensayos reológicos dinámicos se utilizan ampliamente para estudiar el comportamiento viscoelástico en los alimentos en condiciones de no-deformación. Los resultados obtenidos a partir de estos test son muy sensibles a la composición química y estructura física del material estudiado (Steffe, 1996).

La masa se coloca entre un sistema de platos paralelos a temperatura controlada de 24°C, donde el plato inferior se encuentra fijo y el superior oscila horizontalmente a una frecuencia fija ( $\omega$ ). La deformación oscilatoria del material en función del tiempo está dada por la ecuación 2.22:

$$\gamma = \gamma_0 \text{sen}(\omega t) \quad \text{Ec. 2.22.}$$

donde:

$\gamma$  = deformación del material (-)

$\gamma_0$  = amplitud de deformación (-)

$\omega$  = velocidad angular (rad/s o Hertz (Hz))

t = tiempo (s)

El gradiente de deformación periódico se puede evaluar derivando respecto del tiempo la deformación planteada en la ecuación 2.23.:

$$\delta\gamma/\delta t = \gamma_0 * \omega * \cos(\omega t) \quad \text{Ec. 2.23.}$$

Si la amplitud de deformación que se aplica es pequeña, de forma que nos encontramos

en el rango de viscoelasticidad lineal, el esfuerzo producido está dado por la ecuación 2.24:

$$\sigma = \sigma_0 * \text{sen}(\omega t + \delta) \quad \text{Ec. 2.24.}$$

donde:

$\sigma$  = esfuerzo (kPa)

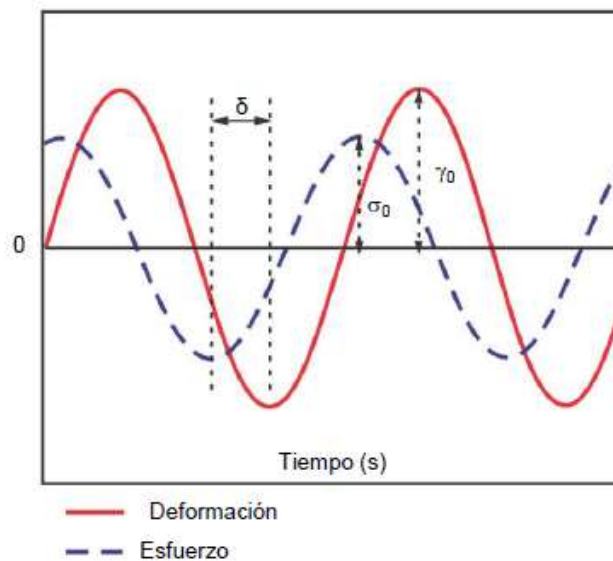
$\sigma_0$  = amplitud del esfuerzo (kPa)

$\delta$  = ángulo de desfasaje que separa al esfuerzo de la deformación (°)

t = tiempo (s)

Para un material perfectamente elástico, la onda de deformación se encontrará en fase con el esfuerzo ( $\sigma$ ) aplicado. Por lo tanto, para un sólido ideal el ángulo de desfasaje ( $\delta$ ) entre el esfuerzo aplicado y la deformación será de 0°. En cambio, para un material viscoso ideal, la onda que representa la deformación oscilatoria se encuentra exactamente 90° fuera de fase ( $\delta = 90^\circ$ ) con respecto a la correspondiente al esfuerzo (Steffe,1996).

Los materiales viscoelásticos presentan un comportamiento intermedio entre el correspondiente al viscoso ideal y al elástico ideal, por lo tanto, las funciones trigonométricas que representan la deformación y el esfuerzo presentan ángulos de desfasaje entre 0 y 90° (Figura 2.8.).



**Figura 2.8.** Comportamiento dinámico de un material viscoelástico.

La ecuación 2.24 también puede escribirse como:

$$\sigma = G' \gamma + (G'' / \omega) \quad \text{Ec. 2.25.}$$

Se definen los nuevos parámetros  $G'$  y  $G''$  de la siguiente forma:

$$G' = (\sigma_0 / \gamma_0) \cos \delta \quad \text{Ec. 2.26.}$$

$$G'' = (\sigma_0 / \gamma_0) \sin \delta \quad \text{Ec. 2.27.}$$

donde:

$G'$  = módulo de almacenamiento o módulo elástico (Ec. 2.26) relacionado con la respuesta del material como un sólido. Se expresa en kilopascales (kPa).

$G''$  = módulo de pérdida o módulo viscoso (Ec. 2.27) relacionado con la respuesta del material como un fluido. Se expresa en kPa.

Otras funciones que describen el comportamiento viscoelástico de la muestra y su dependencia con la frecuencia son el módulo complejo (Ec. 2.28) y la tangente del ángulo de desfasaje (Ec. 2.29).

$$G^* = \sigma_0 / \gamma_0 = [ (G')^2 + (G'')^2 ]^{1/2} \quad \text{Ec. 2.28.}$$

$$\tan \delta = G'' / G' \quad \text{Ec. 2.29.}$$

El  $G^*$  da idea de la resistencia general a la deformación oscilatoria.

La  $\tan \delta$  vincula la relación entre la energía perdida por la muestra por ciclo ( $G''$ ) respecto a la energía almacenada ( $G'$ ) por ciclo (Steffe, 1996).

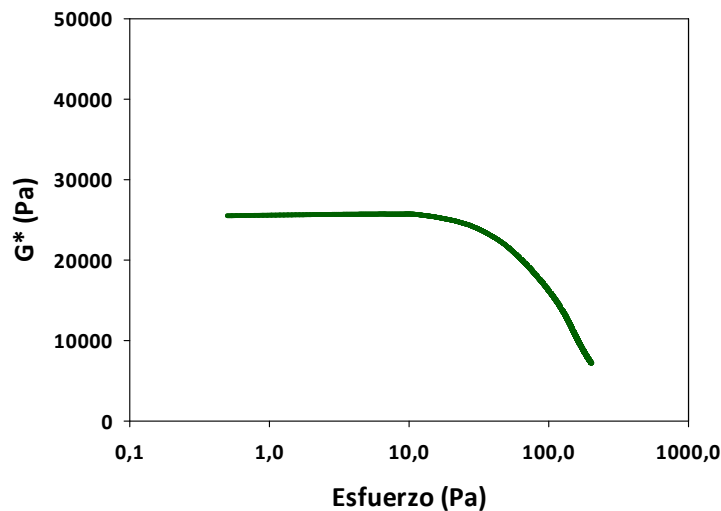
En el ensayo de las masas con harina de amaranto se utilizó un sensor de platos paralelos rugosos, el plato superior móvil (PP35/S) de 35 mm de diámetro y el plato inferior fijo (D35/S); mientras que en las masas con harina de quinoa se utilizó un sensor liso de 40 mm. Se trabajó a temperatura controlada (24°C) y con un espacio entre los platos (gap) de 1,5 mm. Se colocó el disco de masa sobre el plato inferior y se acercó el plato superior



hasta alcanzar el gap seleccionado, se cortó suavemente el excedente de masa y luego se la recubrió con vaselina semisólida para evitar la deshidratación superficial de la masa durante el ensayo. Se esperó el tiempo necesario para que se relaje la masa (15 min) antes de comenzar con los diferentes ensayos que se describen a continuación:

### Barrido de deformación

Se realizó un barrido de deformación a una frecuencia de 1 Hz entre 0,5 y 200 Pa para determinar el máximo de deformación ( $\gamma_0$ ) para la muestra en el rango de viscoelasticidad lineal. Se define como rango de viscoelasticidad lineal de un material a aquel en el cual las propiedades reológicas del mismo no dependen de la magnitud del esfuerzo aplicado, de la deformación realizada o de la velocidad de aplicación de la deformación. El ensayo se realizó por triplicado. Se registró el módulo complejo  $G^*$  en función del esfuerzo obteniéndose un gráfico como el de la Figura 2.9.

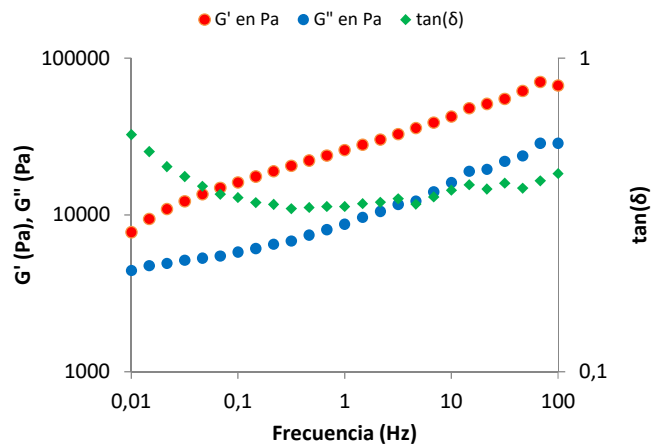


**Figura 2.9.** Módulo elástico complejo  $G^*$  en función de la deformación aplicada típico de una masa de trigo.

El rango de viscoelasticidad lineal en masas generalmente se mantiene hasta aproximadamente los 10 Pa.

### Barrido de frecuencia

Se realizó un barrido de frecuencia entre 0,005 Hz y 100 Hz (Figura 2.10.) a deformación constante dentro de un rango viscoelástico lineal, para el cual, según la Figura 2.9 se seleccionó un valor de esfuerzo  $\tau = 5$  Pa. Se midieron el módulo elástico o de almacenamiento ( $G'$ ), el módulo viscoso o de pérdida ( $G''$ ) y la tangente del ángulo de desfase  $\tan \delta = G''/G'$  en función de la frecuencia (Figura 2.10).



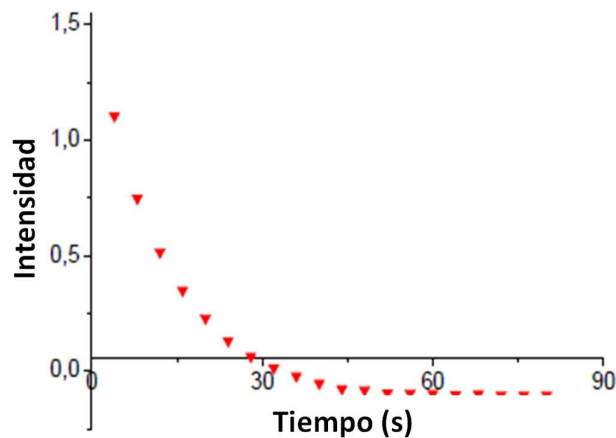
**Figura 2.10.** Barrido de frecuencia:  $G'$ ,  $G''$  y  $\tan \delta$  de una masa de trigo en función de la frecuencia de oscilación típico de una masa de trigo.

Las propiedades reológicas de las masas están estrechamente ligadas a la matriz formada resultante de la interacción entre los componentes de los ingredientes durante el amasado y posterior reposo. Dicha matriz está formada principalmente por proteínas y el almidón y está estabilizada por diferentes uniones entre los componentes que la forman, cuya interacción define la estructura final de la masa. Resulta interesante conocer cuán estable o laxa es la matriz formada y es por ello que a continuación se describe la técnica de relajación de los protones de la masa por Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

### 3.7. Movilidad molecular

La movilidad molecular ( $\lambda$ ) de la masa se analizó mediante ensayos de relajación usando RMN Brüker Minispec (Brüker, EEUU) según Salinas y col. (2015). Se colocó una porción de masa en tubos de vidrio (10 mm de diámetro) hasta 3 cm de altura, los tubos se cerraron para evitar la deshidratación. Los tiempos de relajación  $^1\text{H}$  spin-spin ( $\lambda$ ) se

midieron usando la secuencia de pulso Carr-Purcell-Meiboom-Gill con un tiempo entre pulsos de 200  $\mu$ s. Los núcleos son excitados por unos pocos milisegundos, y cuando el pulso se detiene, regresan al estado fundamental emitiendo una señal. El decaimiento de la Intensidad de señal del protón ( $^1\text{H}$ ) en función del tiempo (Figura 2.11.) se modeló con una ecuación exponencial de primer orden (Ec. 2.30.) utilizando el programa Origin2018 (EEUU), obteniéndose los tiempos de relajación spin-spin ( $\lambda$ ) de los núcleos de hidrógeno presentes en la masa.



**Figura 2.11.** Intensidad (I) de señal del  $^1\text{H}$  en función del tiempo.

$$I(t) = A \exp(-t / \lambda) \quad \text{Ec. 2.30.}$$

Donde  $I(t)$  representa la intensidad de la señal  $^1\text{H}$  (proporcional a la fracción de agua móvil en la masa),  $t$  es el tiempo expresado en ms,  $\lambda$  tiempo de relajación spin-spin ( $\lambda$ ) de los núcleos de hidrógeno. Se expresa en milésimas de segundo (ms) y  $A$  es la intensidad de la señal de los protones en  $t = 0$ . Los ensayos ( $n = 3$ ) se realizaron por duplicado a temperatura ambiente.

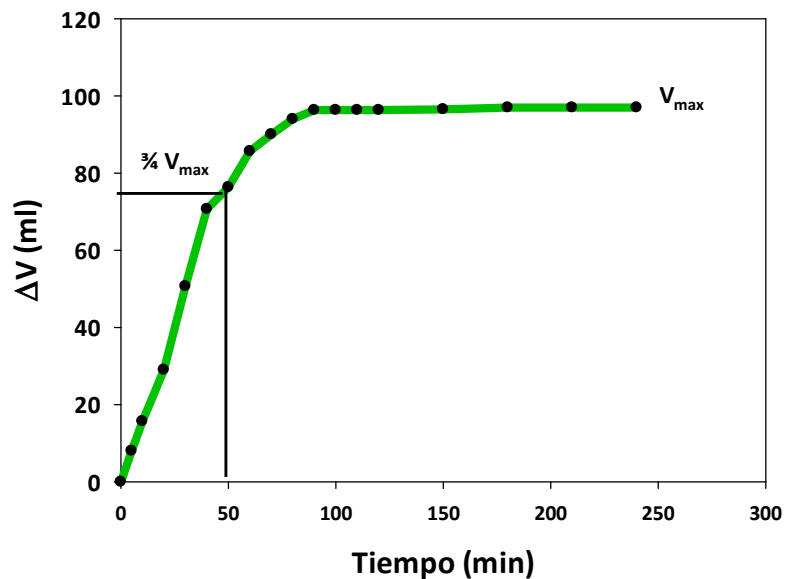
## II.4. Métodos: Panes

### 4.1. Curvas de fermentación

Se realizaron las curvas de fermentación para evaluar el comportamiento de las masas frente al leudado y determinar el tiempo óptimo de fermentación de las masas frescas

previo al ensayo de panificación; lo que permitirá obtener el mejor volumen y miga de pan. Las masas para este ensayo se prepararon de igual modo al descrito en inciso 3.3., con el agregado de levadura (3 g cada 100 g de sólidos). Una vez formada la masa, se dejó reposar por 15 min, se laminó (4 pasadas) y se dejó descansar otros 10 min tapada con film.

Transcurrido ese tiempo, se colocaron bollos de 50 g en una probeta de 500 mL (5 cm de diámetro) provista de un émbolo móvil, las cuales se colocaron a 30°C y humedad relativa del 70% en una fermentadora (Brito Hnos, Argentina). Se midió el incremento del volumen en función del tiempo, inicialmente cada 10 min y luego cada 30 min durante 4 h obteniéndose una gráfica como se muestra en la Figura 2.12. Las curvas se ajustaron con el programa Sigmaplot 10.0 empleando el modelo de Chapman de 3 parámetros (Ec.2.31.). El tiempo requerido para alcanzar  $\frac{3}{4}$  del incremento máximo de volumen de masa se definió como el tiempo de fermentación, debido a que durante el inicio del horneado continúa leudando la masa hasta que se fija la estructura y hasta producirse la muerte de las levaduras. Las curvas se realizaron por triplicado.



**Figura 2.12.** Curva de fermentación: cambio de volumen  $\Delta V$  de la masa en función del tiempo.

$$\Delta V = a * [1 - \exp(-b * t)]^c \quad \text{Ec. 2.31.}$$

donde:

$\Delta V$  = incremento de volumen de masa (mL)

t = tiempo del ensayo (min)

a =  $V_{\max}$  = volumen máximo ocupado por la masa (mL)

b = constante de velocidad de aumento de volumen de masa ( $\text{min}^{-1}$ )

$t_f$  = tiempo de fermentación, tiempo que tarda la masa en alcanzar  $\frac{3}{4} V_{\max}$  (min)

c = parámetro relacionado con el punto de inflexión y la forma de la curva.

## 4.2. Protocolo de panificación

Las masas con levadura se fraccionaron (90 g), se bollaron y se dejaron reposar por 10 min para posteriormente armar las piezas de pan tipo francés en una armadora de pan (MPZ, Argentina).

Las piezas se llevaron a fermentar en una cámara de fermentación a 30°C durante el tiempo obtenido del ajuste de la curva de fermentación descrita en la sección 4.1. La cocción se efectuó durante 13 min (los primeros 8 min fueron con el horno saturado en vapor de agua, los siguientes 3 minutos se eliminó el vapor y los últimos 2 minutos se encendió el ventilador del horno, de modo de obtener el dorado final) a 200°C en un horno eléctrico de convección LANIN II (Panier, Argentina). Una vez terminado el horneado, se enfriaron los panes a temperatura ambiente durante 90 min para posteriormente evaluar la calidad panadera del producto obtenido. Los ensayos fueron realizados por duplicado.

## 4.3. Evaluación de la calidad panadera

La calidad panadera de los panes obtenidos se evaluó a través diferentes ensayos: volumen específico de la pieza, color de corteza, textura y relajación, humedad, actividad acuosa y alveolado de la miga.

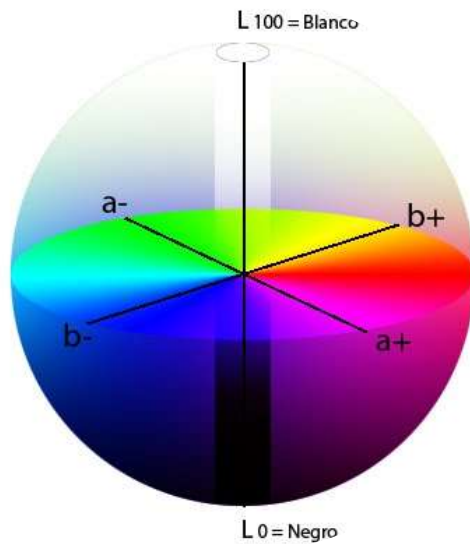
### 4.3.1. Volumen específico de los panes

Se determinó el volumen específico de 4 panes de cada formulación por desplazamiento de semillas de colza en un pan-volumenómetro. Se midió el volumen inicial ocupado por

las semillas, luego se agregó un pan y se leyó el nuevo volumen alcanzado por el desplazamiento de semillas. La diferencia de volumen entre las semillas + el pan y las semillas solas es directamente el volumen del pan. El volumen específico se calculó como el cociente entre el volumen y la masa de la pieza de pan, ésta última medida en balanza granataria.

#### 4.3.2. Color de la corteza

La determinación del color de la corteza de los panes se realizó empleando un colorímetro de superficie Minolta CR 400 Series (Japón) calibrado con patrones estándares ( $Y = 93,2$ ,  $x = 0,3133$ ,  $y = 0,3192$ ). Se trabajó en el sistema de medida de color CIELab (Figura 2.13) (CIE, Comisión Internationale de l'Éclairage), que define el color a partir de las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .



**Figura 2.13.** Espacio de color CIELab.

Las magnitudes  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  son adimensionales.  $L^*$  representa la luminosidad y varía entre 0 (negro) y 100 (blanco). El corte del eje  $L^*$  con el plano que forman  $a^*$  y  $b^*$  es el punto acromático. El valor de  $a^*$  es una medida de la intensidad de color rojo; en el desplazamiento sobre el eje  $a^*$  hacia valores positivos del punto acromático se observan los rojos y hacia los valores negativos los verdes. El valor  $b^*$  es una medida de la intensidad de color amarillo; en el desplazamiento sobre el eje  $b^*$  hacia valores positivos del punto acromático se observan los amarillos y hacia los valores negativos los azules.

Para cada formulación se midieron con tres estímulos lumínicos los parámetros de color sobre 16 panes midiendo sobre 3 zonas de cada pan, donde cada medida fue realizada por duplicado.

A partir de los parámetros obtenidos se calculó el índice de pardeamiento (IP) según las ecuaciones 2.32 y 2.33, que es una medida de la pureza del color marrón (Buera y col., 1985). Este parámetro ha demostrado presentar una correlación lineal con la concentración de pigmento marrón por lo que ha resultado de utilidad para la evaluación de los cambios de color en alimentos que experimentan reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático. En particular, en panificación ha permitido observar variaciones en el color del pan debido a modificaciones en las formulaciones empleadas (Shittu y col. 2007 y 2008; Komlenić y col., 2010).

$$IP = \frac{100 (x - 0,31)}{0,172} \quad \text{Ec 2.32}$$

donde:

$$X = \frac{a^* + 1,75 L^*}{5,645 L^* + a^* - 3,012 b^*} \quad \text{Ec 2.33.}$$

a\*: posición entre verde y rojo

b\*: posición entre azul y amarillo

L\*: luminosidad

#### 4.3.3. Textura de la miga

Para analizar los parámetros texturales de la miga se realizó un análisis de perfil de textura (TPA) sobre la misma. Se ensayaron 4 panes por panificación, en los cuales, de la parte media de cada pieza de pan se obtuvieron dos rodajas de 2 cm de espesor y 3 cm de diámetro. Las mismas fueron sometidas a dos ciclos de compresión hasta un 40% de su altura original.

La velocidad de ensayo fue de 0,5 mm/s. Se utilizó un texturómetro CT3 Texture Analyzer (Brookfield Engineering Laboratories, INC. EEUU) con una celda de carga de 25kg. Se determinaron: firmeza, cohesividad, resiliencia, elasticidad y adhesividad según

se describió en la sección 3.6.1. (TPA de masas). En las migas a su vez se determinó la masticabilidad como el producto de la dureza por la cohesividad por la elasticidad. Se expresa en N.

#### 4.3.4. Relajación de la miga

El ensayo de relajación de la miga se realizó sobre rodajas de pan de 1 cm de espesor y 3 cm de diámetro. La determinación se realizó en texturometro CT3 Texture Analyzer (Brookfield Engineering Laboratories, INC. EEUU). Las rodajas se comprimieron a una velocidad de 0,5 mm/s hasta el 40% de la altura original y la compresión se mantuvo durante 1 min. La velocidad previa y posterior a la prueba se estableció en 10 mm/s. La sonda utilizada en la prueba fue TA11 / 1000 (diámetro 2,5 cm). Se registró la fuerza en función del tiempo y las curvas de relajación se ajustaron mediante un modelo exponencial que involucra un elemento de Maxwell generalizado unido a un resorte en paralelo con la siguiente ecuación (Xiong y col., 2015):

$$\sigma(t) = \epsilon_0 E_0 + \epsilon_0 E_1 \exp(-t/T) \quad \text{Ec. 2.34.}$$

$$\eta = E_1 T \quad \text{Ec. 2.35.}$$

Donde  $\sigma(t)$  es el esfuerzo (Fuerza/área) en cualquier momento  $t$  en la prueba;  $\epsilon_0$  es la compresión de deformación (40%);  $E_0$  y  $E_1$  son el módulo elástico de equilibrio y decaimiento, respectivamente. El tiempo de relajación es  $T$  cuando  $\sigma$  disminuye a  $1/e$  de su valor inicial. Y  $\eta$  está asociado a la viscosidad de la miga de pan. Los ensayos se realizaron a 25°C por duplicado ( $n=4$ ).

#### 4.3.5. Humedad de la miga

Se determinó humedad de las migas desgranadas según se describió en la sección 2.4.1.

#### 4.3.6. Actividad acuosa de la miga

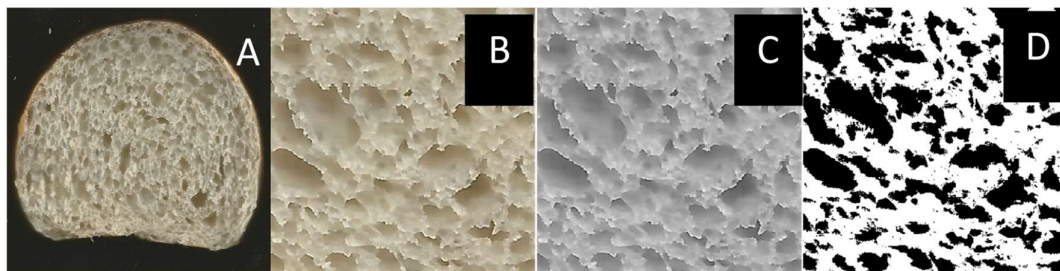
Se determinó la actividad acuosa de las migas desgranadas ( $n= 3$ ) como se describió en la sección 2.5.



#### 4.3.7. Alveolado de la miga

El alveolado de la miga se determinó mediante el análisis digital de imágenes escaneadas de las rodajas de pan. Se escanearon 8 rodajas de pan por cada formulación empleando un escáner HP 3515; el tamaño de las imágenes obtenidas fue de 10 cm por 10 cm y la resolución 600 punto por pulgada (Figura 2.14.A). Para el análisis de las imágenes se empleó el programa ImageJ 1.37v (EEUU). Las imágenes se recortaron de manera tal de tomar la parte central (Figura 2.14.B) de cada rodaja (15 x 15 mm). Para transformar los pixeles en cm se calibró escaneando una regla en las mismas condiciones que las rodajas y se obtuvo que 240 pixeles = 1 cm. Sobre cada imagen cuadrada en color se convirtió a imagen 8-bit en escalas de grises (Figura 2.14.C) y luego fue binarizada empleando el algoritmo Isodata y un valor umbral de 157, de modo que los niveles de grises menores al umbral se convirtieron en negro y los mayores en blanco (Figura 2.14.D). Los alveolos representan los puntos negros. Se consideró como umbral alveolar 0,005 cm<sup>2</sup>, los valores del umbral inferior no se contaron como alvéolos.

Los parámetros calculados fueron:



**Figura 2.14.** Secuencia de escaneado y transformación del análisis de imágenes de las migas para el alveolado. **A)** imagen original del escaneo de la rodaja; **B)** imagen del centro de la rodaja; **C)** imagen transformada a escala de grises; **D)** imagen binarizada.

- **Número total de alveolos por unidad de área.** Se expresa en (1/cm<sup>2</sup>) y da idea de la densidad alveolar.
- **Área ocupada por alveolos:** es la suma de las áreas ocupadas por cada alveolo dividido el área total del campo donde se efectuó la medición. Corresponde a la fracción de aire de la miga. Se expresa en porcentaje (%).
- **Circularidad:** es una medida de la “regularidad” de la forma de los alveolos, el valor máximo es 1 y corresponde a un círculo perfecto, al disminuir el valor de circularidad significa que el alveolo se asemeja más a una elipse.

#### 4.4. Evaluación de la vida útil de los panes

Los panes se envolvieron individualmente en film y se envasaron en bolsas de polietileno y almacenaron durante 1, 3, 5 y 7 días a 20 ( $\pm 0,1$ )°C. El envejecimiento del pan se analizó a través de medidas de humedad, actividad acuosa, perfil de textura de miga y relajación de la miga.

##### 4.4.1. Humedad de la miga

Se procedió según se explicó en la sección 2.4.1.

##### 4.4.2. Actividad acuosa de la miga

Se procedió según se explicó en la sección 2.5.

##### 4.4.3. Análisis de perfil de textura de la miga

Se procedió según se explicó en la sección 4.3.3.

##### 4.4.4. Relajación de la miga

Se procedió según se explicó en la sección 4.3.4.

#### 4.5. Evaluación sensorial de los panes

Debido a que el número de formulaciones es elevado se seleccionaron los mejores panes obtenidos desde el punto de vista nutricional y tecnológico. Para lo cual se realizaron tres análisis de aceptabilidad sensorial diferentes: i) panes de trigo con 25% de adición de amaranto sin germinar (A25) y germinado (AG25); ii) panes con trigo y quinoa blanca sin germinar (QB25) y germinada (QBG25); iii) panes con trigo y quinoa roja sin germinar (QR25) y germinada (QRG25).

Para ello se empleó un panel sensorial no entrenado de 35 personas. A los evaluadores se les presentó dos rodajas de pan junto con una planilla con las muestras codificadas con un número de tres cifras en la que tenían que evaluar mediante una escala hedónica de nueve puntos, diferentes atributos: 1- Apariencia; 2- Textura; 3- Sabor; 4- Color; 5- Aceptabilidad general. Además, se les solicitó que indicaran con qué frecuencia consumen pan, pudiendo responder: 1- Diariamente, 2- Semanalmente o 3-

Mensualmente. También se le pidió que indicaran qué tipo de pan consumen, las opciones eran: 1- Con sal, 2- Sin sal, 3- Integral, 4- Otros. La finalidad fue obtener información acerca del conocimiento/consumo de pan por parte del consumidor.

Debido al distanciamiento Social, Preventivo y Obligatorio (DISPO), las muestras fueron presentadas en una bandeja de manera aleatoria, cerradas al vacío en condiciones higiénico-sanitarias óptimas y entregadas mediante el sistema “delivery” con indicaciones precisas de la forma de evaluación del producto.

#### 4.6. Composición porcentual de los panes

Se determinó el contenido de cenizas, proteínas, humedad, lípidos fibra dietaria total e hidratos de carbono diferente de fibra por diferencia de los panes según lo descrito en la sección 2.4.

#### 4.7. Determinación de los compuestos antioxidantes de los panes

Se determinó el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante total de los panes según lo descrito en la sección 2.9.

#### 4.8. Evaluación de la actividad antitumoral de los panes

Por último, se evaluó empleando el método de digestión *in vitro* la actividad antitumoral en una línea celular humana de cáncer de colon (HCT-116) de los productos resultante de la digestión. Con el fin de poder evaluar el potencial efecto benéfico de los panes sobre la salud.

**Digestión *in vitro*.** Se procedió a la digestión de los panes según Minekus y col. (2014) con ligeras modificaciones. El modelo implica tres etapas que simulan el proceso de digestión: en boca, estómago e intestino delgado. Para simular las condiciones gastrointestinales se prepararon 3 soluciones de trabajo: solución de fluido salival (SSF, pH=7,00), solución de fluido gástrico (SGF, pH=3) y solución de fluido intestinal (SIF, pH=7,00). El detalle de las soluciones se muestra en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1.** Soluciones utilizadas durante la digestión *in vitro*.

	<b>SSF (pH=7,00) (mM)</b>	<b>SGF (pH=3,00) (mM)</b>	<b>SIF (pH=7,00) (mM)</b>
<b>KCl</b>	15,1	6,9	6,8
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	3,7	0,9	0,8
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	13,7	25	85
<b>NaCl</b>	-	47,2	38,4
<b>MgCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub></b>	0,15	0,1	0,33
<b>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	0,06	0,5	-
<b>CaCl<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> *</b>	1,5	0,15	0,6
<b>HCl</b>	1,1	15,6	8,4

\*El CaCl<sub>2</sub> se incorporó durante la digestión directamente en la mezcla de reacción para evitar precipitación de iones. Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico.

El pan, previamente congelado, se molió en un molinillo de café con el fin de simular el proceso de masticación. De cada formulación se pesó 1,0000 g de muestra en un tubo de vidrio y se agregó 1,0 mL de SSF con  $\alpha$ -amilasa (150 U/mL) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EEUU) y 5  $\mu$ L de la solución de CaCl<sub>2</sub> (0,3 M). Cada tubo se incubó durante 2 min a 37°C y 750 rpm en termomixer (DLAB, Riverside, EE UU). Luego, se agregaron 2 mL de la solución gástrica SGF con pepsina (4000 U/mL) (Sigma-Aldrich), quedando una concentración final de la enzima en el tubo de reacción fue de 2000 U/mL. Se ajustó el pH 3,00 con HCl (1 M), para luego adicionar 2  $\mu$ L de CaCl<sub>2</sub> (0,15 M). Los tubos se incubaron durante 2 h a 37°C y 750 rpm.

Transcurrido el tiempo de incubación, se agregaron 4 mL de SIF con bilis (20 mM) (Sigma-Aldrich) y pancreatina porcina (200 U/mL) (Sigma-Aldrich); la actividad final de pancreatina en la mezcla de reacción fue de 100 U/mL. Se agregaron 8  $\mu$ L de CaCl<sub>2</sub> (0,3 M). La muestra se dejó digerir durante 2 h a 37°C con agitación constante. Finalmente, se procedió a detener la digestión colocando las muestras en hielo y centrifugándolas a 10 min a 2655 g empleando una centrifuga (Rolco, Argentina) para separar la fracción soluble (bioaccesible) de la insoluble.

Sobre la fase soluble se realizó las siguientes determinaciones:

**Actividad antitumoral.** Se estudió la inhibición de la viabilidad celular de los productos resultante de la digestión *in vitro* en células derivadas de cáncer humano de colon HCT-116.

La línea celular HCT-116, derivada de cáncer humano de colon, se incubó en medio de cultivo Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) suplementado con 10 % de suero fetal bovino inactivado por calor, 100 UI/mL de penicilina y 100 µg/mL de estreptomycin. Las células se mantuvieron a 37°C en atmósfera húmeda conteniendo 5 % CO<sub>2</sub>.

**Determinación de la viabilidad celular. Método MTT.**

La citotoxicidad de los productos de digestión fue evaluado a través del método MTT que mide la reducción de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) por la enzima succinato deshidrogenasa de las mitocondrias obteniéndose una sal de formazán color violeta oscuro en células metabólicamente activas. Esta técnica permite evaluar de manera directa la viabilidad celular y de manera indirecta la proliferación celular.

Tras la incubación durante la noche, las células HCT-116 se trataron con diferentes concentraciones del extracto acuoso liofilizado (0 a 1 mg/mL) obtenido de la digestión durante 24 h. El extracto liofilizado se disolvió directamente en el medio de cultivo celular. Después de la incubación, se añadió MTT a cada pocillo, y las células se incubaron durante 2 hs a 37°C. Luego se descartó la solución de MTT y se añadió dimetilsulfóxido (DMSO) a cada pocillo para disolver la sal de formazán. El nivel del derivado de formazán coloreado se analizó en un lector de microplacas a una longitud de onda de 590 nm (Mosmann, 1983).

### Análisis estadístico

Los análisis de varianza monofactorial (ANOVA) o bifactoriales y comparaciones de medias (test de LSD y test de Duncan) se realizaron con el software InfoStat software (Di Rienzo y col, 2012) con niveles de significancia de 5%.

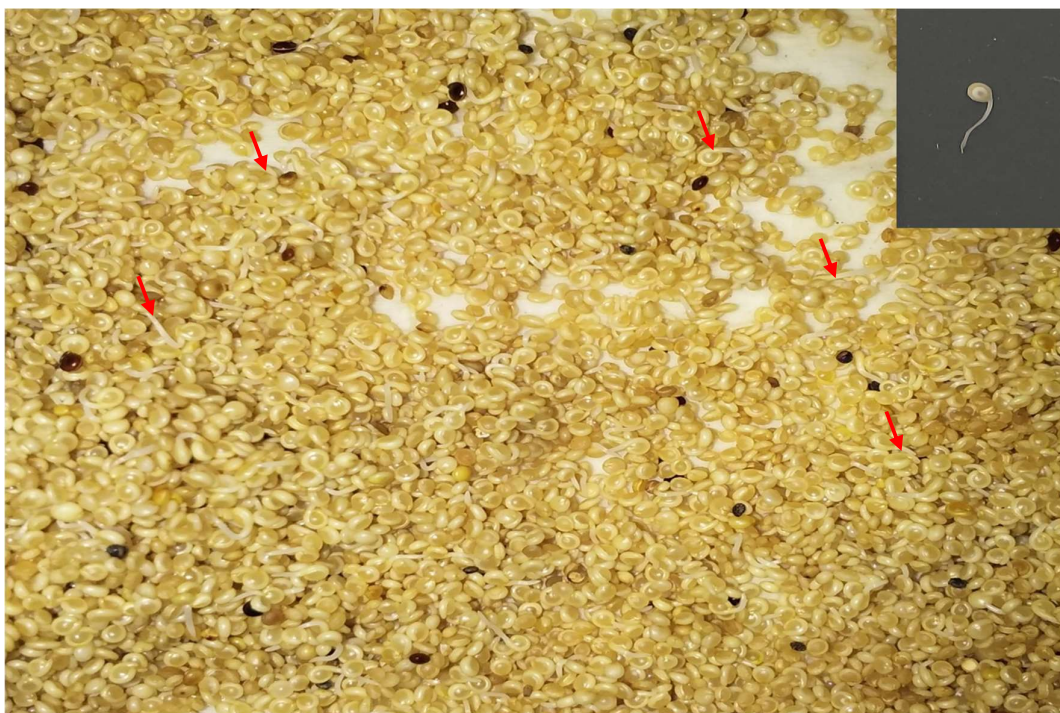
Capítulo III  
Germinados de  
semillas de  
Amaranto y Quinoa  
- Harinas -

Parte A

Amaranto

### III.A.1. Germinación de semillas de Amaranto

La Figura 3.1 muestra una imagen de las semillas germinadas de *Amaranthus caudatus*. Además, arriba a la derecha se puede observar la imagen de una semilla germinada ampliada.



**Figura 3.1.** Semillas de amaranto germinadas. Las flechas señalan distintos brotes. En la parte superior derecha se puede observar la imagen ampliada de una semilla germinada.

En la imagen puede observarse que en algunas de las semillas sale un brote de longitud variable (flechas rojas). El porcentaje de germinación y la longitud media del brote en las semillas germinadas se muestran en la Tabla 3.1. Se pudo observar que, a mayor tiempo de germinación el porcentaje de semillas germinadas fue mayor y también presentaron brotes de mayor longitud media. Se probó germinar hasta 48 horas, pero se observó desarrollo fúngico a este tiempo, por lo tanto, no se continuó trabajando con esta muestra.



**Tabla 3.1.** Porcentaje de germinación y longitud media del brote de semillas de amaranto.

<b>Muestra</b>	<b>Porcentaje de germinación (%)</b>	<b>Longitud media del brote (cm)</b>
<b>AG<sub>18</sub></b>	52 ± 2 <b>a</b>	0,40 ± 0,04 <b>a</b>
<b>AG<sub>24</sub></b>	73 ± 3 <b>b</b>	0,55 ± 0,02 <b>b</b>
<b>AG<sub>48</sub></b>	nd	nd

AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub>: 18 y 24 h de germinación, respectivamente. Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Este comportamiento es esperable debido a que se estimuló la germinación colocando las semillas en condiciones favorables de humedad y temperatura para que la planta comience su desarrollo, por lo tanto, cuanto mayor sea el tiempo de germinación, mayor será el porcentaje de germinación y la longitud del brote (Courtis, 2013).

Los brotes adquirieron una tonalidad rosada a la vista, principalmente las semillas germinadas por 24 h. Esta coloración ha sido previamente observada en brotes de semillas de amaranto germinadas a 30°C por Adeniyi y Obatolu (2014), estos autores han atribuido esa coloración al pigmento polar denominado amarantina presente en las semillas de amaranto.

### III.A.2. Composición química de las harinas de amaranto

Durante la germinación los componentes de la semilla van variando dado que la semilla está sufriendo modificaciones para convertirse en una planta. La composición de las harinas de amaranto germinado y sin germinar se resume en la Tabla 3.2. La harina obtenida a partir de semillas de amaranto sin germinar (A) presentó un 11,1% de humedad, un 14% de proteínas y un 10% de fibra dietaria total (expresados en base seca). El hidrato de carbono mayoritario fue el almidón, representando el 64,4% de los sólidos.

**Tabla 3.2.** Composición de harina de semillas de amaranto sin germinar (A) y germinadas (AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub>).

Harina de Amaranto	Humedad (%)	Proteínas (%) (b.s.)	Cenizas (%) (b.s.)	Lípidos (%) (b.s.)	Fibra dietaria total (%) (b.s.)
A	11,1±0,1b	14,4 ±0,1 a	2,71 ±0,02 a	7,14 ±0,14 b	10,5 ±0,6 a
AG <sub>18</sub>	8,8 ±0,0 a	16,0 ±0,4 b	3,02 ±0,05 b	5,86 ±0,07 a	11,4 ±0,2 a
AG <sub>24</sub>	8,5 ±0,1 a	15,5 ±0,1 b	3,11 ±0,02 b	5,91 ±0,11 a	12,4 ±0,5 a
Carbohidratos disponibles					
	Fructosa (%) (b.s.)	Glucosa (%) (b.s.)	Sacarosa (%) (b.s.)	Almidón (%) (b.s.)	
A	0,1 ± 0,0 a	1,1 ± 0,5 a	2,0 ± 1,0 a	64,4 ± 0,9 c	
AG <sub>18</sub>	1,3 ± 0,3 b	5,2 ± 1,5 b	2,2 ± 0,9 a	55,3 ± 3,1 b	
AG <sub>24</sub>	3,5 ± 0,3 c	11,1 ± 1,0 c	5,6 ± 0,7 b	44,1 ± 0,2 a	

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Después de la germinación, se observó un aumento significativo en el contenido de proteína y cenizas totales y una disminución en la cantidad de lípidos (Tabla 3.2). Varios autores encontraron cambios similares a los obtenidos en nuestro laboratorio al germinar distintas variedades de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*, *A. cruentus*, *A. caudatus*, *A. mantegazzianus*, *A. rosado* y *A. quitensis*) en condiciones similares a las empleadas en este trabajo, es decir un incremento en el porcentaje de proteínas y cenizas totales producto de la germinación expresados en peso seco. Además, el contenido de lípidos presentó una tendencia similar con el tiempo de germinación que en este trabajo (Paredes-Lopez y Mora-Escobedo, 1989; Jimenez y col., 2019; Cornejo y col., 2019). La disminución en el contenido de lípidos podría explicarse debido a que producto de la germinación, se produce la gluconeogénesis activa cuyo fin es obtener glucosa a partir de la cual se va a sintetizar sacarosa (fundamental para proporcionar energía en el crecimiento de las semillas), polisacáridos y otros metabolitos. Estas moléculas de glucosa podrían entonces obtenerse a partir de ácidos grasos mediante el ciclo del glioxilato (Nelson y Cox, 2005).

La fibra dietaria total de las harinas de amaranto no cambió significativamente con el tiempo de germinación (Tabla 3.2.). Los principales carbohidratos disponibles encontrados en las harinas de amaranto fueron glucosa, fructosa, sacarosa y mayoritariamente almidón. Durante el periodo de germinación aumentó el contenido de fructosa desde 0,11% (A) a 3,5% (b.s.) (AG<sub>24</sub>) (Tabla 3.2.). Además, el contenido de glucosa aumentó un 10% después de 24 h de germinación. El contenido de sacarosa también aumentó (de 2,0 a 5,6% b.s.) mientras que el contenido de almidón disminuyó significativamente con la germinación (Tabla 3.2.). Gamel y col. (2005) y Cornejo y col., (2019) informaron una reducción del contenido de almidón en semillas de amaranto germinadas a 32°C durante 48 y 24 h, respectivamente. Estos resultados obtenidos se esperaban debido a que las enzimas que degradan los carbohidratos complejos en azúcares simples se activan durante la germinación de las semillas, lo que proporciona los sustratos necesarios a las enzimas para formar la nueva planta (Nelson y col., 2013).

### III.A.3. Disponibilidad de agua de las harinas de amaranto

La actividad del agua (*aw*) es una variable importante para evaluar la estabilidad de los alimentos y la vida útil. Los valores inferiores a 0,7 facilitan (desde el punto de vista de la estabilidad micológica) una mayor vida útil de los alimentos a temperatura ambiente y es por esta razón que un valor de *aw* inferior a 0,7 generalmente se asocia "seguro". Estos valores se utilizan para establecer el punto final de secado que determina el tiempo asociado con este proceso. La actividad acuosa de las harinas de amaranto se presenta en la Tabla 3.3.

**Tabla 3.3.** Actividad acuosa de harina de semillas de amaranto sin germinar (A) y germinadas durante 18 h (AG<sub>18</sub>) y 24 h (AG<sub>24</sub>).

Harina de Amaranto	Actividad acuosa
<b>A</b>	0,6064 ± 0,0003 <b>a</b>
<b>AG<sub>18</sub></b>	0,7269 ± 0,0020 <b>b</b>
<b>AG<sub>24</sub></b>	0,7793 ± 0,0020 <b>c</b>

Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

La germinación de las semillas produjo un aumento en la actividad acuosa de las harinas, siendo mayor a medida que aumentó el tiempo de germinación. Sin embargo, estos

valores fueron menores a 0,80. Estos resultados sugieren que la probabilidad de desarrollo de hongos o microorganismos es muy baja, lo que aumenta la vida útil de las harinas.

Aunque la disponibilidad de agua aumentó, el contenido de agua disminuyó (Tabla 3.2.). Este efecto se podría atribuir a que durante la germinación no sólo se produjo un aumento en el contenido de proteína, sino que podría haber cambiado la calidad de estas debido a cambios en el perfil aminoacídico y la producción de péptidos más pequeños a partir de las proteínas de reserva de la semilla junto con la hidrólisis de almidón produciendo moléculas más hidrosolubles aumentando los sitios de interacción y de retención con el agua (Gamel y col., 2006b, Chauhan y Singh, 2013).

Además de la composición química y disponibilidad acuosa, la germinación podría haber afectado la estructura, la calidad y las propiedades tecno-funcionales de las harinas. Es así que se ahondó en diferentes estudios que intenten explicar a que se deben los cambios en la composición.

#### III.A.4. Caracterización de las fracciones de proteínas y contenido de aminoácidos de las harinas de amaranto.

Los cambios en las fracciones de proteínas (subunidades y polipéptidos) como consecuencia de la germinación, se caracterizaron mediante electroforesis SDS-PAGE y los posibles cambios en la calidad nutricional a través de la determinación del contenido de aminoácidos en la proteína.

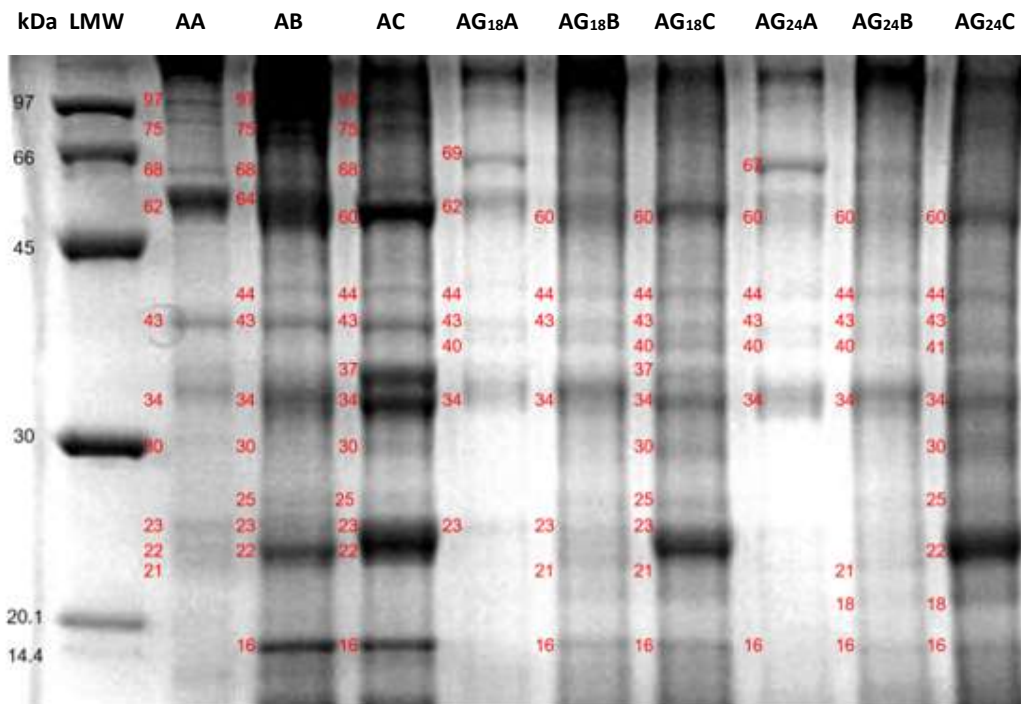
La Figura 3.2 muestra los perfiles de SDS-PAGE de las proteínas de amaranto extraídas con diferentes buffers. Una gran cantidad de proteínas de 60–62 kDa y agregados de alta masa molecular se extrajeron de la harina control con un buffer de pH 8 (AA); además, se observó una banda débil de 43 kDa. La proteína extraída con un agente desnaturizante que rompe enlaces no covalentes como SDS, presentó un perfil con una gran cantidad de bandas de masa molecular mayor a 70 kDa (75 y 97 kDa), y también tres bandas de 34, 22 y 16 kDa (AB). Se obtuvo una alta cantidad de proteínas de 60, 37, 34, 23 y 22 kDa con un agente reductor como DTT que rompe enlaces disulfuro S-S (AC). Este comportamiento sugiere que estas proteínas estaban estabilizando los agregados de alta masa molecular a través de enlaces S-S. Las proteínas de almacenamiento son

las proteínas más abundantes de las semillas de amaranto compuestas por globulinas (globulina-11S, globulina-p) y glutelinas (Quiroga y col., 2009). La globulina-11S puede extraerse primero con un buffer neutro de solución salina (0,5 M), mientras que la globulina-p puede extraerse posteriormente con agua. Las gluteninas, que generalmente se agregan, son solubles sólo en soluciones alcalinas o ácidas (Quiroga y col., 2007). Se han definido tres grupos de polipéptidos según su peso molecular: un grupo en el rango de 50 a 60 kDa, y los polipéptidos A y B en los rangos de 31 a 45 kDa y 16 a 27 kDa, respectivamente (Abugoch y col., 2003). Estos polipéptidos A y B generalmente están vinculados a través de S-S que forman las globulinas de almacenamiento del tipo 11S (Abugoch y col., 2003). Los polipéptidos en el primer grupo (50-60 kDa) son más abundantes en globulina-p y glutelinas que en la globulina-11S. Como informaron anteriormente Abugoch y col. (2003), la banda de 60 kDa pertenece a globulina-p, mientras que las de 34–37 kDa juntamente con las bandas de 22–23 kDa estaban unidas por enlaces S-S formando agregados de globulina-11S. La Figura 3.2 muestra en las proteínas extraídas a partir de amaranto sin germinar (AA, AB, AC) que la globulina-p es un monómero (60 kDa) que forma agregados de masa molecular alta a través de enlaces S-S, mientras que la globulina-11S es un dímero formado por los polipéptidos A (34–37 kDa) y B (23 kDa) (AC), también unidos por puentes S-S. La germinación aumentó la proporción de proteínas solubilizadas con el buffer de baja fuerza iónica (buffer A), las de 68 y 34 kDa y disminuyó la fracción de 60 kDa (AG<sub>18</sub>A y AG<sub>24</sub>A), lo que sugiere que algunas proteínas se están convirtiendo en otras. Aphalo y col. (2009) reportaron que la hidrólisis de las proteínas comenzó después de 15 horas de germinación a 37°C. Estos autores, al igual que nosotros, encontraron para la fracción de globulina una disminución en la intensidad de las proteínas de 64 y 45 kDa con el tiempo de germinación y un aumento en la cantidad de los polipéptidos de 34 y 20 kDa; la mayoría de los cambios se observaron para la proteína globulina-p.

Al comparar los perfiles con SDS (AB, AG<sub>18</sub>B y AG<sub>24</sub>B), los polipéptidos de 22 y 16 kDa estuvieron ausentes en las muestras germinadas, y la fracción de 60 kDa también disminuyó, lo que sugiere que estas fracciones desaparecen durante la germinación. Sin embargo, la proteína de 34 kDa no resultó afectada por el proceso de germinación. En los extractos proteicos obtenidos con buffer SDS + DTT (AC, AG<sub>18</sub>C y AG<sub>24</sub>C), no se observan cambios en la cantidad de agregados de alta masa molecular durante la

germinación. La intensidad de las bandas correspondientes a polipéptidos de 60 y 34 kDa disminuyó ligeramente y las bandas de 43, 37 y 16 kDa desaparecieron después de 24 h de germinación (AG<sub>24</sub>C), mientras que la banda de 22 kDa no se modificó. Este comportamiento sugiere que la hidrólisis enzimática se realizó principalmente sobre los polipéptidos A (37 kDa) de la fracción 11S completa, debido a que estas proteínas fueron extraídas luego del accionar del agente disociante DTT; mientras que los polipéptidos B (22 kDa) no se hidrolizaron durante la germinación y, por lo tanto, se pudieron extraer con el agente DTT.

En resumen, durante la germinación se modificó principalmente la proteína polimérica de 60 kDa (AA, AG<sub>18</sub>A, AG<sub>24</sub>A), pero cuando esta proteína se disoció con DTT, quedó una cierta cantidad intacta a pesar de las 24 h de germinación. La disociación de proteínas de agregados de alta masa molecular liberó polipéptidos de 37 y 16 kDa, que convirtió a estas proteínas en sustratos para enzimas en el proceso de germinación. Sin embargo, la proteína de 22 kDa, después de disociarse de los agregados, no se hidrolizó durante la germinación.



**Figura 3.2.** SDS-PAGE de proteínas solubles de harinas de Amaranth sin germinar (A) y germinadas (AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub>). Buffers de extracción: A (buffer de pH 8), B (buffer de pH 8 + SDS) y C (buffer de pH 8 + SDS + DTT).

La proteína presente en las semillas de amaranto es especialmente notable debido a su excelente equilibrio de aminoácidos esenciales, es decir en aquellos que el cuerpo humano no puede sintetizar. La Tabla 3.4 muestra el perfil de aminoácidos de la harina de amaranto A y de las germinadas (AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub>). Los aminoácidos no-esenciales como ácido glutámico (Glu) y ácido aspártico (Asp), arginina (Arg) y glicina (Gly) y los esenciales como lisina (Lys), leucina (Leu) y fenilalanina (Phe) fueron los más abundantes en la harina sin germinar A. Diferentes autores encontraron una tendencia similar. Gorinstein y col. (2002) determinaron que la proteína de *A. hypochondriacus* L. presentó un mayor contenido de Glu y Gly (no esenciales) y de metionina (Met), isoleucina (Ile), Leu y Phe (aminoácidos esenciales). Mota y col. (2016a) encontraron un alto contenido de Arg, Asp+Glu, Gly, Leu, Lys y Phe en *A. caudatus* L.

Al comparar el perfil aminoacídico de las proteínas de amaranto con la proteína de referencia propuesta por la FAO podemos observar que la cantidad de los aminoácidos esenciales está por encima de lo recomendado confirmando la buena calidad nutricional de la proteína de amaranto.

Después de 18 h de germinación, la mayoría de los aminoácidos esenciales aumentaron con la excepción de histidina (Hys) y tirosina (Tyr) que no cambiaron y los aminoácidos azufrados (Met y Cys) que disminuyeron significativamente (Tabla 3.4.). Sin embargo, después de 24 h, se observó una disminución significativa en la cantidad de todos los aminoácidos, con la excepción de triptófano. Gamel y col. (2005) encontraron similar tendencia en *A. caudatus* y *A. cruentus* para Thr, Arg y Tyr. Sin embargo, un incremento de Asp, Ser y Ala a diferencia nuestra fue encontrado por estos autores. Por otro lado, el contenido de prolina (Pro) aumentó significativamente después de 24 h de germinación. Se cree que la acumulación de Pro en las plantas desempeña funciones de adaptación en la tolerancia al estrés de las plantas (Verbruggen y Hermans, 2008).

La suma de aminoácidos esenciales fue de 48,51; 52,48 y 39,32 g / 100 g de proteína en las harinas A, AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub>, respectivamente. A pesar de que los porcentajes de aminoácidos esenciales disminuyeron después de 24 h de germinación, la composición de la proteína de amaranto se aproxima a la de la proteína ideal según los requisitos de la FAO para adultos, siendo la Met el aminoácido limitante en AG<sub>24</sub>.

**Tabla 3.4.** Composición de aminoácidos (g / 100 g de proteínas) presentes en las harinas de amaranto sin germinar (A) y germinadas (AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub>).

<b>Aminoácidos</b>	<b>A</b>	<b>AG<sub>18</sub></b>	<b>AG<sub>24</sub></b>	<b>Proteína de referencia*</b>
<b>Lisina (Lys)</b>	9,37 ± 0,21 <b>b</b>	10,25 ± 0,07 <b>c</b>	7,66 ± 0,15 <b>a</b>	4,5
<b>Histidina (His)</b>	3,48 ± 0,19 <b>b</b>	3,76 ± 0,03 <b>b</b>	2,84 ± 0,01 <b>a</b>	1,5
<b>Valina (Val)</b>	4,68 ± 0,01 <b>b</b>	5,43 ± 0,00 <b>c</b>	4,06 ± 0,00 <b>a</b>	3,9
<b>Isoleucina (Ile)</b>	4,74 ± 0,02 <b>b</b>	5,39 ± 0,05 <b>c</b>	3,99 ± 0,07 <b>a</b>	3,0
<b>Leucina (Leu)</b>	8,76 ± 0,07 <b>b</b>	10,08 ± 0,06 <b>c</b>	7,52 ± 0,02 <b>a</b>	5,9
<b>Treonina (Thr)</b>	5,38 ± 0,01 <b>b</b>	5,58 ± 0,04 <b>c</b>	4,16 ± 0,02 <b>a</b>	2,3
<b>Metionina (Met)</b>	2,05 ± 0,09 <b>c</b>	1,66 ± 0,00 <b>b</b>	1,33 ± 0,01 <b>a</b>	1,6
<b>Cisteína (Cys)</b>	2,78 ± 0,02 <b>c</b>	2,54 ± 0,01 <b>b</b>	1,77 ± 0,03 <b>a</b>	0,6
<b>Met + Cys</b>	4,83 ± 0,05	4,20 ± 0,00	3,10 ± 0,02	2,2
<b>Tirosina (Tyr)</b>	5,25 ± 0,00 <b>b</b>	5,31 ± 0,01 <b>b</b>	3,92 ± 0,08 <b>a</b>	-
<b>Fenilalanina (Phe)</b>	6,52 ± 0,01 <b>b</b>	6,97 ± 0,11 <b>c</b>	5,08 ± 0,09 <b>a</b>	-
<b>Tyr + Phe</b>	11,77 ± 0,00	12,28 ± 0,05	9,00 ± 0,09	3,8
<b>Triptófano (Trp)</b>	0,75 ± 0,1 <b>a</b>	0,82 ± 0,03 <b>ab</b>	0,91 ± 0,02 <b>b</b>	0,6
<b>Serina (Ser)</b>	8,72 ± 0,04 <b>c</b>	7,28 ± 0,00 <b>b</b>	5,17 ± 0,02 <b>a</b>	-
<b>Ácido aspártico (Asp) y Glutámico (Glu)</b>	19,6 ± 1,7 <b>b</b>	17,7 ± 0,1 <b>b</b>	14,5 ± 0,2 <b>a</b>	-
<b>Prolina (Pro)</b>	7,3 ± 0,2 <b>a</b>	9,3 ± 0,4 <b>a</b>	36,5 ± 0,9 <b>b</b>	-
<b>Glicina (Gly)</b>	10,67 ± 0,04 <b>c</b>	7,32 ± 0,00 <b>b</b>	5,10 ± 0,02 <b>a</b>	-
<b>Alanina (Ala)</b>	5,62 ± 0,02 <b>b</b>	6,44 ± 0,03 <b>c</b>	4,91 ± 0,03 <b>a</b>	-
<b>Arginina (Arg)</b>	12,87 ± 0,10 <b>c</b>	11,42 ± 0,06 <b>b</b>	8,30 ± 0,05 <b>a</b>	-

\*Requerimientos aminoacídicos en la nutrición humana - FAO/OMS/UNU (2007). Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### III.A.5. Contenido de minerales de las harinas de amaranto

La cantidad de minerales presente en las harinas obtenidas a partir de las semillas de amaranto sin germinar y germinadas pueden observarse en la Tabla 3.5. Los principales minerales encontrados en las harinas de amaranto sin germinar (A) fueron fósforo (P) y



potasio (K) alrededor de 6000 mg/Kg. También se encontró alrededor de 3000 mg/Kg de magnesio (Mg), 2200 mg/kg de calcio (Ca) y 680 mg/Kg de sodio (Na). Además, se detectaron otros minerales como hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn) y cobre (Cu) en menor cantidad. Mota y col. (2016b) encontraron en harina de amaranto sin ningún tratamiento valores del mismo orden de magnitud a los de este trabajo. Sin embargo, estos autores encontraron contenidos mayores de Cu, Fe, Ca y K; y menores cantidades de Mn, Zn, Mg y P para la harina de semillas no germinadas.

**Tabla 3.5.** Contenido de minerales en las harinas de amaranto sin germinar y germinadas durante 18 y 24 h.

<b>Minerales (mg/Kg) (b.s.)</b>	<b>A</b>	<b>AG<sub>18</sub></b>	<b>AG<sub>24</sub></b>
<b>Calcio (Ca)</b>	2224 ± 80 a	2305 ± 75 a	2221 ± 66 a
<b>Potasio (K)</b>	5895 ± 727 a	5927 ± 87 a	6123 ± 199 a
<b>Magnesio (Mg)</b>	3152 ± 520 a	3524 ± 25 ab	3958 ± 68 b
<b>Sodio (Na)</b>	684 ± 19 a	682 ± 61 a	867 ± 20 b
<b>Fósforo (P)</b>	6094 ± 104 a	6301 ± 182 a	6883 ± 2 b
<b>Cobre (Cu)</b>	9,4 ± 0,2 a	10,6 ± 1,3 a	10,1 ± 2,1 a
<b>Hierro (Fe)</b>	178 ± 31 a	155 ± 43 a	150 ± 62 a
<b>Manganeso (Mn)</b>	38 ± 4 a	37 ± 4 a	40 ± 5 a
<b>Molibdeno (Mo)</b>	< Id	< Id	< Id
<b>Selenio (Se)</b>	< Id	< Id	< Id
<b>Zinc (Zn)</b>	34 ± 2 a	38 ± 7 a	40 ± 9 a

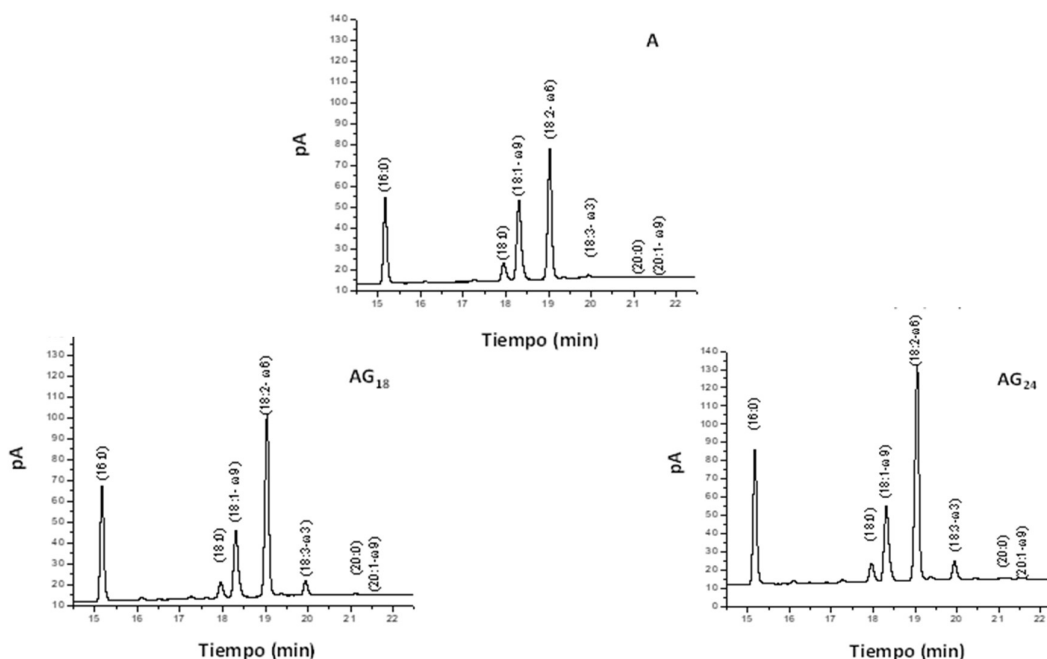
Id: límite de detección. El valor del límite de detección de Mo (202,030 nm) fue 0,021 mg/L y de Se (196,090 nm) fue 0,008 mg/L. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Luego de 18 h de germinación, A y AG<sub>18</sub> presentaron valores estadísticamente similares en todos los minerales estudiados (Tabla 3.5.). Sin embargo, el contenido de algunos minerales como P, Mg y Na aumentaron significativamente después de 24 h de germinación. A pesar del aumento de Na, el contenido de este mineral en 100 gramos de harina es muy inferior a la ingesta diaria recomendada (2400 mg/día) según código alimentario argentino (2021).

Por su parte, Gamel y col. (2006a) observaron en dos variedades de amaranto germinado (*A. caudatus* y *A. cruentus*), que la germinación no cambio el contenido de P, Mg, Mn y Cu. Mientras que el Ca, K, Zn y Fe varió dependiendo la variedad de amaranto.

### III.A.6. Perfil de ácidos grasos de las harinas de amaranto

La Figura 3.3 muestra los cromatogramas de los ácidos grasos de las diferentes harinas de amaranto. Los principales ácidos grasos encontrados en la harina A fueron: palmítico (16: 0), esteárico (18: 0), oleico (18: 1- $\omega$ 9), linoleico (18: 2-  $\omega$ 6),  $\alpha$ -linolénico (18: 3-  $\omega$ 3), ácidos eicosanoico (20:0) y eicosenoico (20:1- $\omega$ 9).



**Figura 3.3.** Perfil de ácidos grasos de diferentes harinas de amaranto sin germinar (A), germinado durante 18 h (AG<sub>18</sub>) y 24 h (AG<sub>24</sub>).

Se puede observar que la germinación no cambió la intensidad de los picos que pertenecen a los ácidos grasos de 20 átomos de carbono, sin embargo, los picos de ácido palmítico y ácido linoleico aumentaron significativamente (Figura 3.3).

El contenido de ácido palmítico aumentó significativamente con el tiempo de germinación. Los ácidos esteárico y oleico disminuyeron, mientras que los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico aumentaron (Tabla 3.6.), probablemente debido a la activación de las enzimas desaturasas durante la germinación que convierten el ácido oleico en

ácido linoleico ( $\omega$ -6) y  $\alpha$ -linolénico ( $\omega$ -3) (Nelson y Cox, 2005). El aumento de estos dos últimos ácidos grasos es importante desde el punto de vista nutricional debido a que ambos son esenciales para el organismo, es decir el hombre no tienen las enzimas necesarias para sintetizarlos.

A pesar de que la cantidad de ácidos grasos insaturados totales no cambió durante la germinación, la calidad desde el punto de vista nutricional mejoró debido a que los ácidos grasos  $\omega$ 3 y  $\omega$ 6 aumentaron significativamente a expensas del ácido esteárico, pero principalmente del ácido graso oleico, cuyo valor disminuyó significativamente con la germinación. Se observó un aumento significativo en  $\omega$ 3 para las harinas de semillas germinadas, lo que lleva a un valor significativamente menor de la relación  $\omega$ 6 /  $\omega$ 3. Una relación ideal de  $\omega$ 6: $\omega$ 3 es 5:1, con una relación máxima de 10:1 (Simopoulos, 2002). Con la germinación, los valores de este cociente pasaron de 50:1 a prácticamente 12:1 (Tabla 3.6), muy cercana a la máxima.

**Tabla 3.6.** Contenido de ácidos grasos en las harinas de amaranto sin germinar y germinado. Contenido total de ácidos grasos saturados e insaturados, relación  $\omega$ 6/ $\omega$ 3.

Ácido graso (g/100 g lípidos)	A	AG <sub>18</sub>	AG <sub>24</sub>
Ácido palmítico (C16:0)	23,1 ± 0,8 a	25,8 ± 1,3 b	25,4 ± 0,9 b
Ácido esteárico (C18:0)	5,8 ± 0,5 b	5,1 ± 1,0 ab	4,6 ± 0,1 a
Ácido oleico (C18:1- $\omega$ 9)	25,5 ± 0,2 b	18,8 ± 0,8 a	19,3 ± 0,2 a
Ácido linoleico (C18:2- $\omega$ 6)	41,1 ± 1,1 a	45,9 ± 1,1 b	46,7 ± 0,2 b
Ácido $\alpha$ -linolénico (C18:3- $\omega$ 3)	0,83 ± 0,08 a	3,71 ± 0,26 b	3,65 ± 0,09 b
Ácido eicosanoico (C20:0)	0,45 ± 0,03 b	0,36 ± 0,03 a	0,42 ± 0,03 b
Ácido eicosenoico (C20:1- $\omega$ 9)	0,21 ± 0,05 a	0,22 ± 0,03 a	0,25 ± 0,03 a
Ácido graso saturado total	29,5 ± 1,1 a	31,4 ± 1,6 b	30,5 ± 0,7 ab
Ácido graso insaturado total	70,6 ± 1,2 b	68,6 ± 1,6 a	69,5 ± 0,8 ab
Relación $\omega$ 6/ $\omega$ 3	50 ± 4 b	12,4 ± 0,9 a	12,9 ± 0,2 a

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### III.A.7. Polifenoles y actividad antioxidante de las harinas de amaranto

La Tabla 3.7 muestra el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) de las harinas de amaranto y la actividad antioxidante (AA). El contenido de CFT aumentó

significativamente con el tiempo de germinación, presentando el mayor valor la harina AG<sub>24</sub>.

Se utilizaron dos métodos complementarios para comprobar la actividad antioxidante en las diferentes harinas. Por un lado, el método FRAP evalúa de forma indirecta la actividad antioxidante de la muestra (antioxidante donador de electrones-TE) a través de la capacidad reductora del complejo férrico-tripiridiltriazina. Por otro lado, la capacidad reductora de los antioxidantes hacia un radical nitrógeno estable que posee un electrón impar como el DPPH, también es adecuada para pequeñas moléculas reactivas con buen acceso al sitio radical como el glutatión, péptidos, aminoácidos y carotenoides (Chlopicka y col., 2012; Londoño Londoño, 2012). La actividad antioxidante medida mediante FRAP aumentó significativamente con el tiempo de germinación. El EC<sub>50</sub> calculado por DPPH disminuyó significativamente entre la harina sin germinar y las germinadas sugiriendo una mayor actividad antioxidante con la germinación (Tabla 3.7).

**Tabla 3.7.** Contenido de fenoles totales (CFT) y actividad antioxidante de las harinas de amaranto sin germinar (A) y germinado durante 18 y 24 h (AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub>).

Muestra	CFT (mg AGE/g harina b.s.)	Actividad antioxidante	
		FRAP (µg Trolox/g harina b.s.)	DPPH (EC <sub>50</sub> )
A	0,04 ± 0,02 a	29,9 ± 0,8 a	0,044 ± 0,000 c
AG <sub>18</sub>	0,94 ± 0,03 b	41,3 ± 0,9 b	0,025 ± 0,000 b
AG <sub>24</sub>	1,04 ± 0,04 c	55,6 ± 1,1 c	0,023 ± 0,000 a

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (p < 0,05).

Mientras que por FRAP se determina la actividad antioxidante de moléculas que tienen un mecanismo de TE, mientras que DPPH considera ambos mecanismos TE y transferencia de átomos de hidrógeno.

Alvarez-Jubete y col. (2010) estudiaron la composición de polifenoles y la capacidad antioxidante de *A. caudatus* L. y sus cambios durante el proceso de germinación en la harina y al incorporarla en panes de trigo. Estos autores encontraron que el CFT medido por Folin y la AA medida por DPPH y FRAP, aumentaron con el proceso de la germinación. Se obtuvieron resultados similares para AA y CFT de *A. hypochondriacus* a

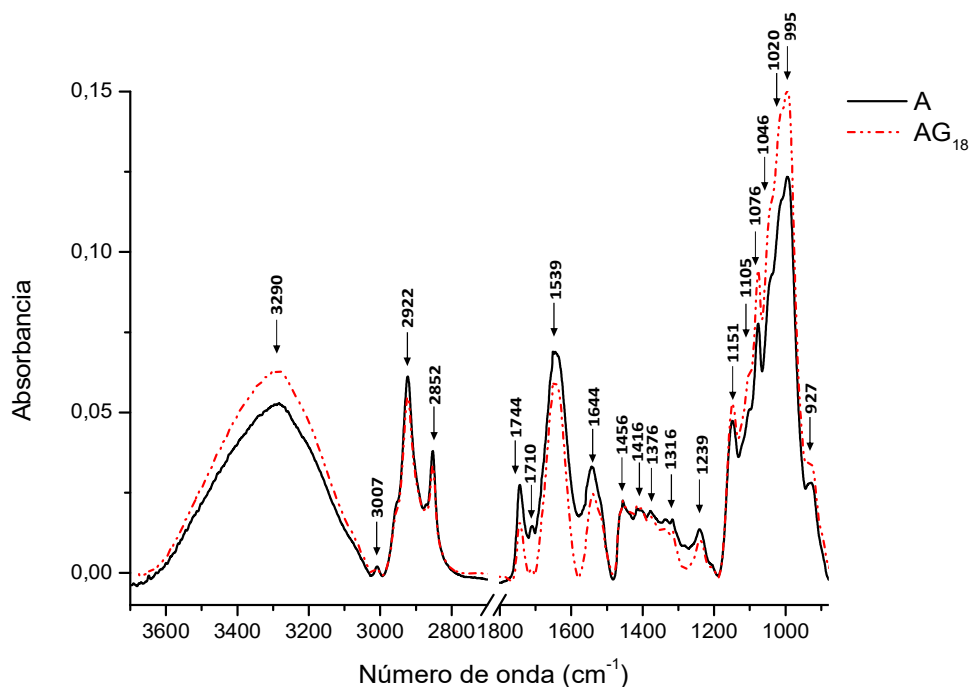
partir de semillas germinadas a temperaturas  $< 32,5^{\circ}\text{C}$  por parte de otros autores (Perales-Sánchez y col., 2014; Sandoval-Sicairos y col., 2020).

En este trabajo de tesis las proteínas no fueron precipitadas, por lo cual podrían cuantificarse los aminoácidos aromáticos (Tyr y Phe) que reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu empleado en la determinación de CFT. Sin embargo, como se observó en la Tabla 3.4 los valores de estos aminoácidos en las proteínas durante la germinación disminuyen levemente por lo que el incremento de CFT se debe a los compuestos fenólicos. Hay diferentes estudios que indican que también las proteínas y péptidos contribuyen a las propiedades antioxidantes. En este sentido, Aphalo y col. (2015) también encontraron luego de una digestión gastrointestinal *in vitro* que las proteínas de los germinados de *A. hypochondriacus*, generaron aumento en la actividad de eliminación de radicales  $\text{ABTS}^+$  lo cual indica un mayor poder antioxidante. Otros autores también estudiaron previamente el efecto de la germinación a  $30^{\circ}\text{C}$  de semillas de amaranto *A. hypochondriacus* sobre la generación de péptidos bioactivos con actividad antioxidante obtenidos por digestión *in vitro* de las proteínas extraídas (Sandoval-Sicairos y col., 2021). Estos autores estudiaron tres fracciones con péptidos de diferente tamaño (F1  $> 10$  kDa, F2 = 3-10 kDa y F3  $< 3$  kDa) encontrando que los péptidos de la fracción F2 estaban en mayor concentración que las otras fracciones (mayor proteína soluble) y presentaron mayor actividad antioxidante medida por el método de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC).

### III.A.8. Propiedades estructurales y térmicas de las harinas de amaranto

#### ATR-FTIR de las harinas de amaranto

En la Figura 3.4 se puede observar los espectros ATR-FTIR en la región  $4000$  a  $800\text{ cm}^{-1}$  que muestran bandas correspondientes al estiramiento y deformación de los principales grupos funcionales de los diferentes componentes presentes en las harinas de amaranto sin germinar (A) y germinada durante 18 h ( $\text{AG}_{18}$ ). Las principales bandas de interés biológico se ubican en las regiones de  $3600-2800$  y  $1800-800\text{ cm}^{-1}$  (Barraza-Garza y col., 2013).



**Figura 3.4.** Espectro FTIR-ATR de harina de amaranto sin germinar (A) y de harina de amaranto germinado durante 18 h (AG<sub>18</sub>).

Las siguientes regiones fueron analizadas:

- $3700$  a  $3100\text{ cm}^{-1}$ : se observó una banda ancha a  $3290\text{ cm}^{-1}$  en el espectro de ambas harinas atribuida a vibraciones de estiramiento OH de grupos hidroxilo de agua y almidón (Monroy y col., 2018).
- $3100$  a  $2800\text{ cm}^{-1}$ : se observaron tres bandas en ambas muestras a  $3007$ ,  $2922$  y  $2852\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a las vibraciones de estiramiento del CH en los dobles enlaces, asimétricas y simétricas de los grupos funcionales CH<sub>2</sub> alifáticos, respectivamente. Además, la banda de  $2922\text{ cm}^{-1}$  está asociada principalmente con la fracción de ácidos grasos saturados presente en los lípidos de la muestra (Guillén y Cabo, 2000) y en menor medida a proteínas (Suresh y col., 2016), mientras que la de menor intensidad a  $3007\text{ cm}^{-1}$  está asignada a los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos poliinsaturados (Dogan y col., 2007). Esta última, no cambia significativamente con la germinación mientras que las otras bandas son un tanto más intensas en la muestra sin germinar (A).
- $1800$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$ : dos bandas fueron observadas en esta zona, una banda más intensa a  $1744\text{ cm}^{-1}$ , que es mayor en A, asociadas a la vibración de estiramiento

C = O del éster carbonilo del triglicérido. Además, se observó una banda de pequeña intensidad a  $1710\text{ cm}^{-1}$  más intensa en A.

- $1700\text{ a }1500\text{ cm}^{-1}$ : para ambas harinas de amaranto (A y AG18) se observaron dos bandas a  $1644$  y  $1539\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.4). Ambas bandas fueron encontradas previamente por Roa Acosta y col. (2014) y asignadas a la vibración de flexión del grupo funcional N-H en Amida I ( $1644\text{ cm}^{-1}$ ) y Amida II ( $1539\text{ cm}^{-1}$ ) de las proteínas. El área de las bandas en la harina de amaranto germinada fue mayor que en la sin germinar, esto se relaciona con un mayor contenido de proteína como consecuencia de la germinación. A partir de la deconvolución en la región de la Amida I se puede inferir acerca de posibles cambios en la estructura secundaria de las proteínas como consecuencia de la germinación (Tabla 3.8). En general un aumento de  $\alpha$ -hélice, de giros- $\beta$  junto con una disminución de hoja  $\beta$ -paralela y antiparalela indican un mayor plegamiento de la proteína y la formación de una estructura más compacta (Nelson y Cox, 2005).

En este caso no hubo cambios en la estructura  $\alpha$ -hélice ni en las estructuras al azar. Los cambios se produjeron entre las estructuras  $\beta$ . Se puede observar (Tabla 3.8) que después de la germinación aumentó el área porcentual de las estructuras hoja  $\beta$ -paralela intramoleculares mientras que las  $\beta$ -paralelas intermoleculares disminuyeron significativamente junto con los giros- $\beta$ . Los resultados sugieren una estructura menos compacta, por ende un mayor desplegamiento de la proteína como consecuencia de la germinación. La germinación está desestructurando los polímeros de proteínas y formando moléculas menos compactas.

**Tabla 3.8.** Número de onda y porcentaje de estructura secundaria de proteínas (Amida I) en las harinas de amaranto sin germinar (A) y germinado durante 18 h (AG<sub>18</sub>).

Estructura secundaria	N° de onda (cm <sup>-1</sup> )	A	AG <sub>18</sub>
Hoja β paralela intermolecular	1620	38 ± 0,9 b	32,5 ± 1,7 a
Hoja β paralela intramolecular	1636	16,8 ± 0,2 a	23,4 ± 2,5 b
desordenada	1650	20,9 ± 1,1 a	21,3 ± 0,3 a
α-hélice	1661	13,4 ± 0,8 a	13,8 ± 0,3 a
Giros β	1674	8,7 ± 0,3 b	5,0 ± 0,1 a
Hoja β antiparalela intermolecular	1684	2,2 ± 0,1 a	4,4 ± 0,1 b

Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas (p < 0,05).

- 1500 a 1070 cm<sup>-1</sup>: En esta región se distinguieron diferentes bandas, las mismas se encontraron a 1456, 1416, 1376, 1239, 1151, 1105 y 1076 cm<sup>-1</sup>. Valdés García y col., (2013) encontraron en harinas de distintos cultivares de almendras varias bandas en la región comprendida entre 1460-1230 cm<sup>-1</sup> asociadas a las vibraciones de flexión de CH en los grupos CH<sub>2</sub> y CH<sub>3</sub> asimétrica y simétrica, respectivamente.
- 1070 a 800 cm<sup>-1</sup>: en esta zona se encontraron diferentes bandas a 1046, 1020, 995 y 927 cm<sup>-1</sup>. El almidón presenta bandas en varias zonas del espectro, pero principalmente en esta zona.

Monroy y col., (2018) hicieron un análisis detallado de las bandas usualmente observadas para el almidón. La banda de 3400 cm<sup>-1</sup> está asignada al estiramiento del -OH de la amilosa y amilopectina, las bandas en el rango 2956-2930 cm<sup>-1</sup> con la vibración de los enlaces C-H y la banda 1153 cm<sup>-1</sup> con la flexión de enlaces C-O para un grupo -OH. Las bandas en la región 900-1300 cm<sup>-1</sup> corresponden al estiramiento C-O y C-C relacionados con cambios de conformación del polímero; siendo éstas las más importantes, fueron las que se analizaron. La banda 1045 cm<sup>-1</sup> está relacionada con las regiones ordenadas del almidón, generalmente las cristalinas, mientras que



la banda 1022  $\text{cm}^{-1}$  está asociada a las regiones amorfas del almidón. Por otro lado, la banda 995  $\text{cm}^{-1}$  se asocia a la unión de hélices de carbohidrato hidratadas.

El cociente de áreas entre bandas también tiene significancia: mayores valores de 1045/1022 está asociado a un mayor orden de las regiones cristalinas, mientras que el cociente de las bandas 1022/995 representa el estado de organización de las dobles hélices localizadas dentro de los cristales (Monroy y col., 2018). Como se observó anteriormente en la Figura 3.4, el área e intensidad de los picos de esta región resultaron mayores en la muestra germinada (AG<sub>18</sub>) que en la sin germinar (A). Los resultados obtenidos a partir de la deconvolución en la zona entre 900-1100  $\text{cm}^{-1}$  se muestran en la Tabla 3.9. Con la germinación disminuyó la banda 995  $\text{cm}^{-1}$  indicando que hay menores uniones hélices de carbohidratos hidratados mientras que las bandas 1021 y 1045  $\text{cm}^{-1}$  aumentaron significativamente, siendo mayor el aumento de la 1045 (58%) comparado con la 1022 que aumentó un 28%, evidenciando un predominio de la región cristalina. Este resultado fue confirmado por los valores de cociente de áreas; la relación de áreas 1045/1022 no se modificó significativamente mientras que la relación 1022/995 aumentó indicando un incremento de la región amorfa.

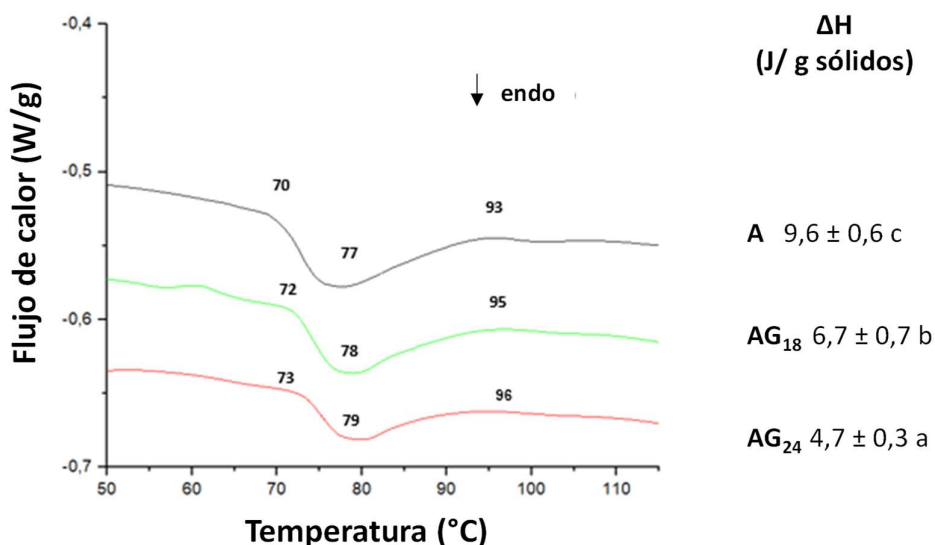
**Tabla 3.9.** Número de onda y contribución de los picos en la región del espectro entre los 900-1070  $\text{cm}^{-1}$  y cocientes entre los mismos de las harinas de amaranto sin germinar (A) y germinado durante 18 h (AG<sub>18</sub>).

	<b>N° de onda (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</b>	<b>A</b>	<b>AG<sub>18</sub></b>
<b>Bandas</b>	<b>995</b>	63,5 ± 1,6 <b>b</b>	52,1 ± 1,7 <b>a</b>
	<b>1022</b>	29,0 ± 1,3 <b>a</b>	37,1 ± 1,0 <b>b</b>
	<b>1045</b>	7,5 ± 1,5 <b>a</b>	11,9 ± 1,1 <b>b</b>
<b>Cociente de areas</b>	<b>1045/1022 (región cristalina)</b>	0,26 ± 0,06 <b>a</b>	0,31 ± 0,01 <b>a</b>
	<b>1022/995 (región amorfa)</b>	0,46 ± 0,06 <b>a</b>	0,72 ± 0,04 <b>b</b>

Banda 1045  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a la región cristalina. Banda 1022  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a la zona amorfa. Banda 995  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a las hélices de carbohidratos hidratadas. Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### Propiedades térmicas de las harinas de amaranto

La Figura 3.5 muestra los termogramas de las dispersiones de las diferentes harinas de amaranto obtenidos a partir de los ensayos de DSC. Diversos autores atribuyeron un pico endotérmico en la zona entre 60-100°C a diferentes procesos, a la gelatinización de almidón de amaranto (Gamel y col., 2005) y a la desnaturalización proteica (Martínez y Añón, 1996). En el termograma de la suspensión de harina de amaranto (A) se observó un pico a una temperatura de 77°C y una variación de entalpía ( $\Delta H$ ) de 9,6 J/g. El proceso de germinación no modificó la temperatura del pico, sin embargo, luego de 24 h (AG<sub>24</sub>) disminuyó en un 50% la variación de entalpía. En base a estos resultados podemos inferir que el pico endotérmico tiene una contribución tanto de la desnaturalización de las proteínas como de la gelatinización del almidón.



**Figura 3.5.** Termogramas obtenidos mediante DSC de las diferentes suspensiones de harina de amaranto: A: amaranto sin germinar, AG<sub>18</sub>: germinado durante 18 h, AG<sub>24</sub>: germinado durante 24 h. Se muestran los valores de temperaturas inicio, pico y final y variación de entalpía ( $\Delta H$ ).

Durante la germinación se produce una hidrólisis de proteínas y del almidón a compuestos más simples e hidrofílicos, que necesitan menos energía para desnaturalizarse (proteínas) y que dejan menos disponible el agua para poder llevar a cabo el proceso de gelatinización (almidón).

Esto puede relacionarse con los resultados observados previamente a partir de las electroforesis y del FTIR. Durante la germinación se produjeron algunos cambios en las fracciones proteicas, con lo que el comportamiento térmico de las harinas germinadas podría atribuirse a los cambios en la estructura de la proteína debido a la hidrólisis enzimática durante la germinación. Este proceso de germinación supone que las globulinas se disociaron en proteínas más pequeñas como los polipéptidos A que no contribuyen al proceso endotérmico, lo que condujo a valores más bajos de  $\Delta H$ . Con respecto a la estructura secundaria proteica analizada por FTIR, se evidenció una estructura menos compacta y más desplegada (mayor proporción de hoja beta y menor de giros beta), como consecuencia de la germinación, por lo que necesitó menor energía para desnaturalizarse.

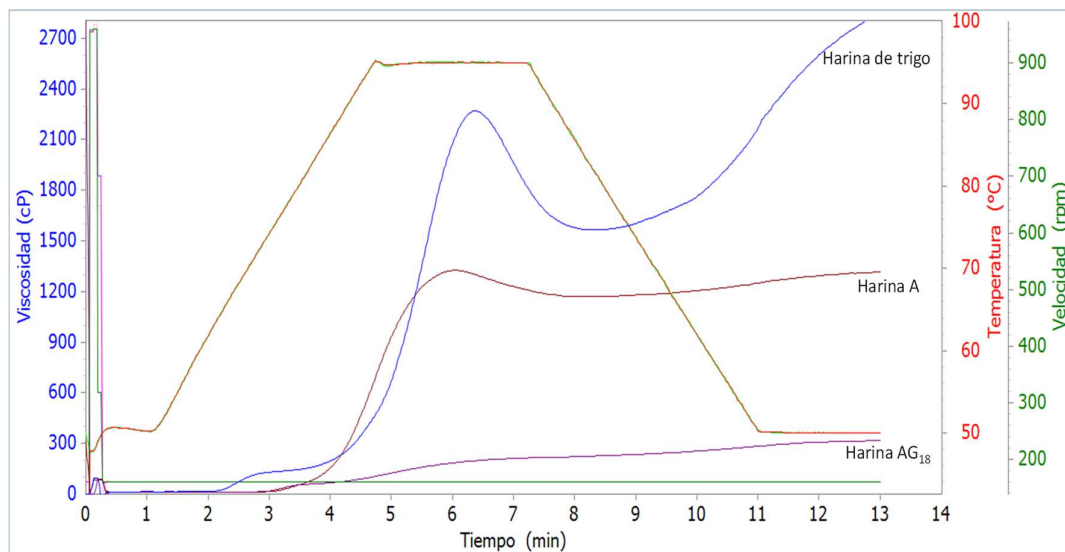
Gamel y col. (2005) estudiaron cómo afecta diferentes tratamientos (cocinado, popeado y germinado) sobre semillas de dos especies de amaranto (*A. caudatus* y *A. cruentus*) en las propiedades fisicoquímicas de las proteínas y del almidón, encontrando una temperatura de gelatinización de 66,5°C para una suspensión acuosa (50%) de harina de *A. caudatus* L. cruda con un  $\Delta H = 0,43$  J/g. Luego de germinarlas durante 48 h a 30°C y secarlas, la variación de entalpía que encontraron estos autores fue mayor (0,91 J/g).

A su vez, Martínez y Añón (1996) encontraron en aislados proteicos de *A. hypochondriacus* una temperatura de desnaturalización de 70–73°C para albúminas y glutelinas, mientras que para globulinas (globulina-p y globulina 11S) entre 94 y 100°C. Avanza y Añón (2007) encontraron para la fracción de proteína 7S (gluteninas y componentes menores de las globulinas) un pico a 69°C cuando estudiaron aislados proteicos de *Amaranthus hypochondriacus*. Por su parte, Janssen y col. (2017) documentaron las temperaturas de desnaturalización de las fracciones proteicas encontradas en amaranto, las mismas fueron: entre 70 y 73°C para la albúmina-1, componentes menores de globulinas y glutelinas; entre 94 y 100°C para la albúmina-2 (globulina-p) y globulina 11S y 80,2°C para la globulina 7S. La ausencia de endoterma en la zona 90-100°C sugiere que las globulinas están desnaturalizadas por efecto de la germinación. El pico a 77-79°C estaría asociado a dos procesos: la desnaturalización de la globulina 7S y la gelatinización de la fracción de almidón nativo (no hidrolizado por germinación).

Otra manera de evaluar cómo afecta la germinación en las propiedades térmicas es evaluar mediante RVA el comportamiento de las suspensiones.

Cuando los gránulos de almidón se calientan en exceso de agua, éstos se hinchan debido a que los puentes de hidrógenos de las zonas más débiles en la región amorfa se rompen y va entrando progresivamente el agua, lixivia la amilosa y los gránulos pierden su birrefringencia. Luego se mantiene la temperatura constante, en esta zona se alcanza la viscosidad máxima del pico y como la suspensión continúa agitándose, los gránulos se rompen por lo que disminuye su viscosidad. Finalmente, se produce durante el enfriamiento una re-asociación de las moléculas de almidón gelatinizado para formar una estructura ordenada que se define como retrogradación del almidón o asentamiento (Arjona-Roman y col., 2011).

En la Figura 3.6 se muestran los viscoamilogramas de las muestras de harinas de amaranto sin germinar (A), la germinada durante 18h (AG<sub>18</sub>) y la harina de trigo y además se muestra el tratamiento térmico aplicado (línea roja, rampa de temperatura).



**Figura 3.6.** Viscoamilograma de suspensiones de harina de trigo, de amaranto (A) y de amaranto germinado durante 18 h (AG<sub>18</sub>).

En la Figura 3.6 puede observarse un pico más pronunciado entre los 6 y los 7 minutos (tp), relacionado con la viscosidad máxima o viscosidad de pico (VP) que se obtuvo durante el calentamiento hasta 95°C. En la Tabla 3.10 puede observarse los parámetros obtenidos a partir del RVA. La harina de trigo presenta mayor VP, BD y SB-1, seguido por

el amaranto sin tratar y finalmente el amaranto germinado. Por lo que en AG<sub>18</sub> el almidón tiene menor tendencia a re-asociarse. Esto sugiere que en muestras con amaranto germinado es probable que los panes presenten menor grado de retrogradación de almidón y menor endurecimiento de la miga.

**Tabla 3.10.** Parámetros obtenidos a partir del viscoamilograma rápido.

Muestra	VP (cP)	VM (cP)	BD (cP)	VF (cP)	SB 1 (cP)	SB 2 (cP)	tp (min)
Trigo	2278±13c	1569±4c	709 ±9 c	2849±19 c	1280±15c	571 ±6 c	6,37±0,05b
A	1326±11b	1196±37b	183±37b	1315 ±10b	161 ± 21 c	- 11 ± 6 a	5,97 ± 0,1a
AG <sub>18</sub>	210 ± 1 a	186 ± 1a	24 ± 0 a	314 ± 3 a	128 ± 1 a	104 ± 1 b	6,97±0,05c

Diferentes letras en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). VP: viscosidad de pico, VM: viscosidad mínima, BD: breakdown (VP – VM), SB: setback (SB1: VF – VM; SB 2: VF – VP), tp: tiempo del pico.

Estos resultados son esperables, ya que tanto el contenido de almidón como de amilosa en la harina de trigo son mayores que en la harina de amaranto, siendo el contenido de amilosa de alrededor de un 25% en el trigo versus un 4-12% en el amaranto (Delinski y col., 2016), esto trae como consecuencia un hinchamiento del granulo de almidón menor, dando como resultado una curva más plana durante todo el ensayo (Martinez y col., 2012; Chandla y col., 2016). En cuanto a la diferencia entre las muestras A y AG<sub>18</sub>, dicho comportamiento se podría deber a la disminución en el contenido de almidón, producto de la germinación, que trae como resultado una curva mucho menos pronunciada para AG<sub>18</sub>.

### III.A.9. Retención de solventes

La retención de solventes permite obtener parámetros que se relacionan con la habilidad de los diferentes componentes de la harina de trigo para retener un grupo de cuatro solventes después de la centrifugación.

En la Tabla 3.11 se muestra la capacidad de retención de solventes de las diferentes a harina. Se pudo observar que la harina germinada (AG<sub>18</sub>) presentó una mayor retención de agua (CRA) y de carbonato de sodio (CRC), indicando que durante la germinación se generaron una mayor proporción de componentes hidrofílicos y una mayor proporción de almidón dañado. No se observaron diferencias significativas en capacidad de

retención de sacarosa (CRS) ni en la de ácido láctico (CRAcL), lo cual estaría indicando que no hubo cambios en los pentosanos ni en las proteínas insolubles, respectivamente. Si bien estos parámetros se utilizan para caracterizar harina de trigo, en nuestro caso se utilizó para poder inferir cualitativamente el comportamiento de las harinas producto de la germinación.

**Tabla 3.11.** Capacidad de retención de diferentes solventes de muestras de harina de amaranto sin germinar y germinado.

	Muestras	
	A	AG <sub>18</sub>
<b>CRA</b>	110,9 ± 1,0 a	124,3 ± 1,4 b
<b>CRS</b>	121,4 ± 8,6 a	118,9 ± 1,9 a
<b>CRC</b>	116,9 ± 0,9 a	139,6 ± 1,6 b
<b>CRAcL</b>	132,2 ± 7,2 a	136,5 ± 3,7 a

CRA: capacidad de retención de agua, CRS capacidad de retención de sacarosa, CRC: capacidad de retención de carbonato de sodio, CRAcL: capacidad de retención de ácido láctico. Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Estos resultados podrían relacionarse con lo observado previamente. Una mayor CRA retención de agua producto de la germinación, estaría asociado a una mayor proporción de componentes hidrofílicos como consecuencia de un mayor desplegamiento de las proteínas (observada mediante FTIR) y cambio en su tamaño (electroforesis). Con respecto al almidón, se observó un incremento en la proporción de almidón dañado que se correlaciona con un incremento de la región amorfa (mayor relación 1022/995) y una mayor área en la banda 995  $\text{cm}^{-1}$  observada mediante FTIR.

### **Conclusiones parciales- Parte A**

Los resultados mostraron que la composición química, las propiedades estructurales y térmicas de la harina obtenida luego de germinar las semillas de amaranto fueron diferentes:

- ✓ El contenido de proteínas aumentó en los germinados probablemente debido a un incremento en la síntesis de enzimas responsables de activar el proceso de germinación en las semillas.
- ✓ El contenido de lípidos disminuyó con la germinación debido quizás a la gluconeogénesis que conduce a la obtención de glucosa a partir de los ácidos grasos con el fin de formar sacarosa, almidón y otros polisacáridos.
- ✓ El contenido de los minerales no cambió durante la germinación, a excepción del magnesio y el fósforo que aumentaron junto con la cantidad total de cenizas.
- ✓ El aumento en la glucosa en los germinados podría atribuirse a la hidrólisis del almidón y a la gluconeogénesis a partir de aminoácidos.
- ✓ La harina AG<sub>18</sub> presentó mayor contenido de lisina y de ácidos grasos insaturados esenciales (ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico), lo que llevó a mejorar la relación  $\omega_6 / \omega_3$  ( $< 13$ ).
- ✓ Tanto el contenido de compuestos fenólicos totales como la actividad antioxidante aumentaron con la germinación. Durante este tratamiento se estarían produciendo mayor cantidad de moléculas que tiene una actividad antioxidante con un mecanismo de transferencia de electrones (FRAP) por sobre aquellas que tienen un mecanismo de transferencia de átomos de hidrógeno (DPPH).
- ✓ La germinación modificó la proteína polimérica de 60 kDa. A partir de la cual se liberaron distintas fracciones: 37 y 16 kDa unidad por S-S, que son utilizadas como sustrato durante la germinación y otra fracción de 22 kDa la cual no se hidroliza.
- ✓ Mediante FTIR se pudo confirmar una estructura proteica menos compacta como consecuencia de la germinación. El contenido de almidón resultó menor, pero con un incremento en la proporción de la estructura amorfa de este polímero.

- ✓ Los cambios estructurales de las proteínas y el almidón producto de la germinación se reflejaron en los menores valores de energía necesarios para desnaturalizar y gelatinizar, respectivamente. Además, la germinación hidroliza ambas macromoléculas generando compuestos hidrofílicos con una mayor capacidad de retención de agua.

Del análisis de la composición se desprende que los germinados AG<sub>18</sub> y AG<sub>24</sub> no presentaron diferencias entre si y sumado a que AG<sub>18</sub> tuvo mayores componentes esenciales es que se seleccionó la harina de amaranto germinado por 18hs (AG<sub>18</sub>) para la elaboración de las masas y panes de trigo.



# Parte B

## Quinoa blanca y roja

### III.B.1. Germinación de semillas de quinoa

La Figura 3.7 muestra las semillas germinadas de *Chenopodium quinoa* Blanca Real y *Chenopodium quinoa* Roja Real.



**Figura 3.7.** A) Semillas de quinoa blanca germinadas; B) semillas de quinoa roja germinadas.

En la Tabla 3.12 se observó, al igual que en el amaranto, que al aumentar el tiempo de germinación, el porcentaje de semillas germinadas y la longitud media del brote fue mayor, para ambas quinoas.

**Tabla 3.12.** Porcentaje de germinación y longitud media del brote de semillas de quinoa blanca (QB) y roja (QR) germinadas a diferentes tiempos (18, 24 y 48 h).

Muestra	Porcentaje de germinación (%)	Longitud media del brote (cm)
<b>Quinoa blanca</b>		
QBG <sub>18</sub>	53 ± 2 a	0,6 ± 0,1 a
QBG <sub>24</sub>	72 ± 1 b	0,9 ± 0,1 b
QBG <sub>48</sub>	85 ± 3 c	1,3 ± 0,2 c
<b>Quinoa roja</b>		
QRG <sub>18</sub>	50 ± 2 a	0,5 ± 0,0 a
QRG <sub>24</sub>	69 ± 2 b	0,8 ± 0,1 b
QRG <sub>48</sub>	80 ± 1 c	1,1 ± 0,1 c

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

A diferencia del amaranto, ambas quinoas (roja y blanca) se pudieron germinar por más tiempo, observándose desarrollo fúngico a las 72 horas. Por otra parte, los brotes de quinoa, ya sea blanca o roja, no presentaron ninguna pigmentación particular.

No hubo diferencias significativas entre las variedades de quinoa al mismo tiempo de germinación.

### III.B.2. Composición química de las harinas de quinoa blanca y roja

La composición de las harinas de ambas quinoas sin germinar se muestra en la Tabla 3.13. En la misma podemos observar que la harina de quinoa blanca (QB) presentó mayor humedad que la de quinoa roja (QR). Para comparar la proporción del resto de los macrocomponentes se muestran los resultados en base seca, encontrándose que la QB presentó mayor contenido de proteínas (16,5% versus 15,9%) y de cenizas (2,74% versus 2,36%) frente a QR. Por otro lado, el contenido de lípidos mostró una diferencia importante, en la quinoa blanca fue de 5,1% mientras que la quinoa roja presentó un 7,5% (Tabla 3.13). A su vez, el contenido de carbohidratos fue mayor en la quinoa blanca. Por su parte, el contenido de fibra dietaria total fue de casi el doble para la quinoa roja en comparación con la quinoa blanca.

**Tabla 3.13.** Composición de harinas de semilla de quinoa blanca (QB) y roja (QR)

<b>Macrocomponentes (%)</b>	<b>QB</b>	<b>QR</b>
<b>Humedad</b>	12,5 ± 0,3 <b>b</b>	9,5 ± 0,2 <b>a</b>
<b>Proteínas (%) b.s.</b>	16,5 ± 0,2 <b>b</b>	15,9 ± 0,1 <b>a</b>
<b>Cenizas (%) b.s.</b>	2,74 ± 0,03 <b>b</b>	2,36 ± 0,01 <b>a</b>
<b>Lípidos (%) b.s.</b>	5,1 ± 0,3 <b>a</b>	7,5 ± 0,2 <b>b</b>
<b>Carbohidratos (%)* b.s.</b>	68,36 ± 0,9 <b>b</b>	60,54 ± 1,8 <b>a</b>
<b>Fibra dietaria total (%)</b>	7,3 ± 0,8 <b>a</b>	13,7 ± 1,8 <b>b</b>

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). \*hidratos de carbono diferente de fibra calculados por diferencia.

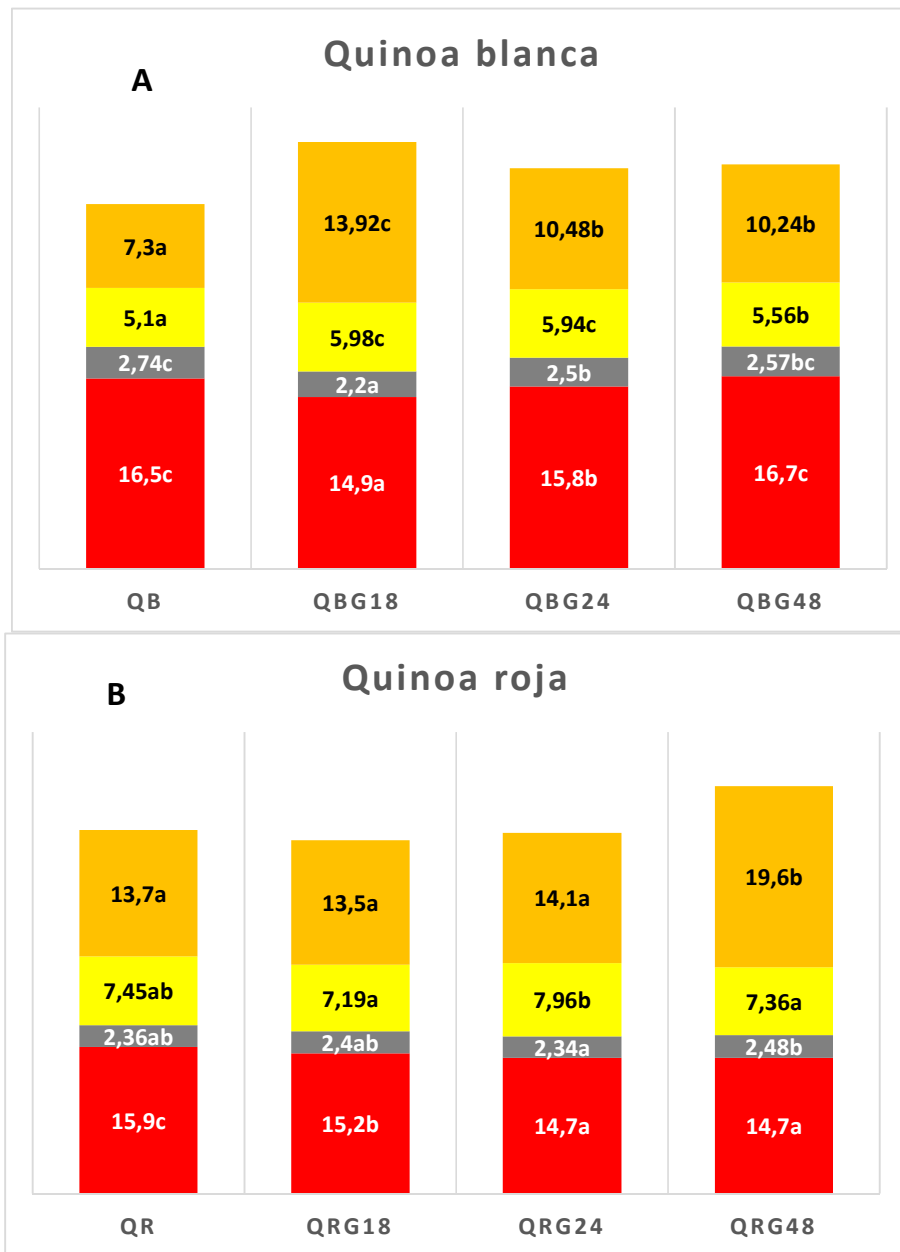
Previamente se encontró en el amaranto que durante la germinación de las semillas la composición química y el perfil nutricional cambió. Al estudiar la composición química

de las harinas de quinoa blanca y roja obtenidas a partir de semillas germinadas también se obtuvieron diferencias que se detallan a continuación.

La humedad de las harinas de quinoa blanca germinadas fueron 4,13%, 4,1% y 7,35% para QBG<sub>18</sub>, QBG<sub>24</sub> y QBG<sub>48</sub>, respectivamente. Mientras que para la quinoa roja fue 4,7% para QRG<sub>18</sub> y QRG<sub>24</sub> y 6,7% para QRG<sub>48</sub>.

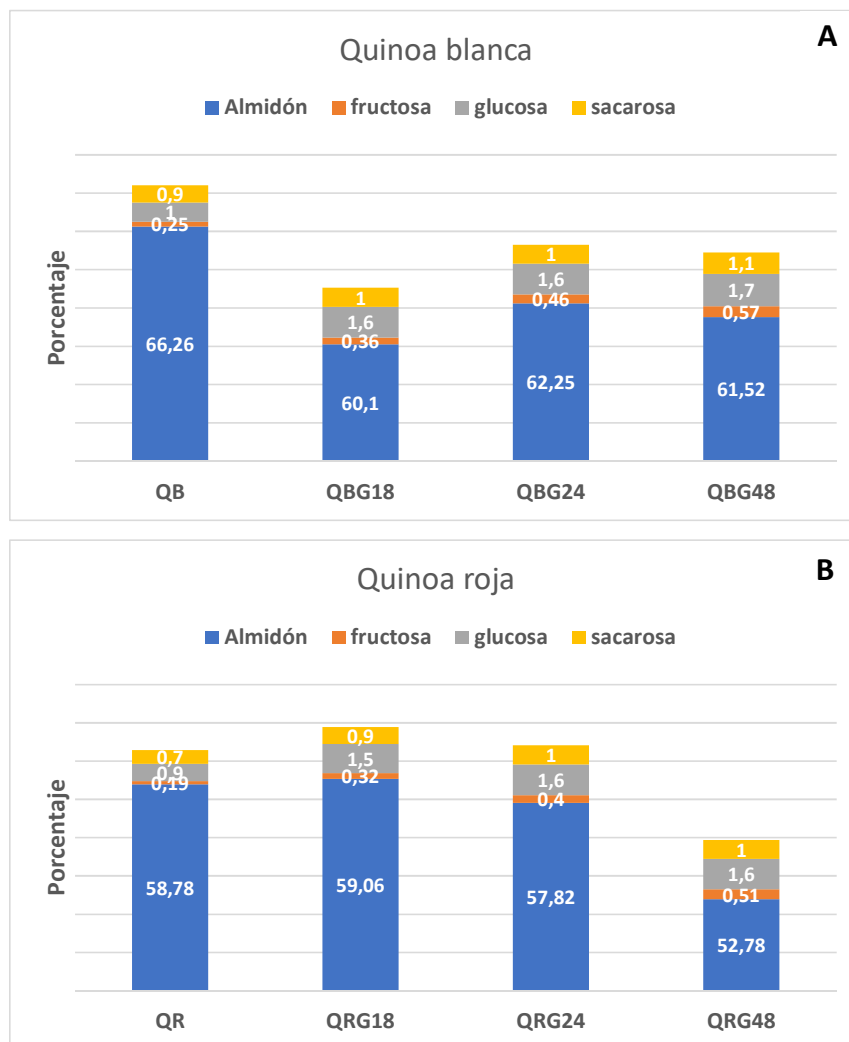
En la quinoa blanca (QB) se obtuvieron tanto para el contenido de proteínas y cenizas una disminución en los primeros estadios de la germinación (Figura 3.8.A). Sin embargo, a las 48h estos componentes aumentaron su valor y fue estadísticamente igual a las semillas de quinoa blanca sin tratar. Mientras que las harinas germinadas presentaron un aumento significativo en el contenido de lípidos en todos los tiempos de germinación estudiados. Por otro lado, el contenido de fibra dietaria total aumentó durante la germinación, observándose el valor más alto en la harina en QBG<sub>18</sub>.

En la Figura 3.8.B se observan los cambios de composición de las harinas de quinoa roja con la germinación. Puede observarse que el contenido de proteínas disminuye a lo largo de la germinación a diferencia que lo que observamos en QB. Sin embargo, el contenido de cenizas y de lípidos no varió significativamente hasta las 24 h de germinación (QRG<sub>24</sub>). Por otra parte, el porcentaje de fibra dietaria total aumentó significativamente a las 48 h de germinación (QRG<sub>48</sub>).



**Figura 3.8.** Porcentaje de proteínas (rojo), cenizas (gris), lípidos (amarillo) y fibra dietaria total (anaranjado), expresados como base seca, de las harinas de quinoa blanca (A) y roja (B) germinadas a diferentes tiempos

En la Figura 3.9 se muestra el contenido de carbohidratos disponibles de todas las harinas de quinoa. En las harinas de quinoa blanca (Figura 3.9.A), se observó que la germinación aumentó el contenido de fructosa y de glucosa, sin embargo el contenido de sacarosa no se vio modificado. A su vez, el contenido de almidón resultó disminuido como consecuencia de la germinación. Similar tendencia se observó en las harinas de quinoa roja (Figura 3.9.B).



**Figura 3.9.** Contenido de carbohidratos disponibles en las harinas de quinoa blanca sin germinar (QB) y germinada 18 h (QBG<sub>18</sub>), 24 h (QBG<sub>24</sub>) y 48 h (QBG<sub>48</sub>) (A). Y en las harinas de quinoa roja sin germinar (QR) y germinada 18 h (QRG<sub>18</sub>), 24 h (QRG<sub>24</sub>) y 48 h (QRG<sub>48</sub>) (B). Expresados como base seca.

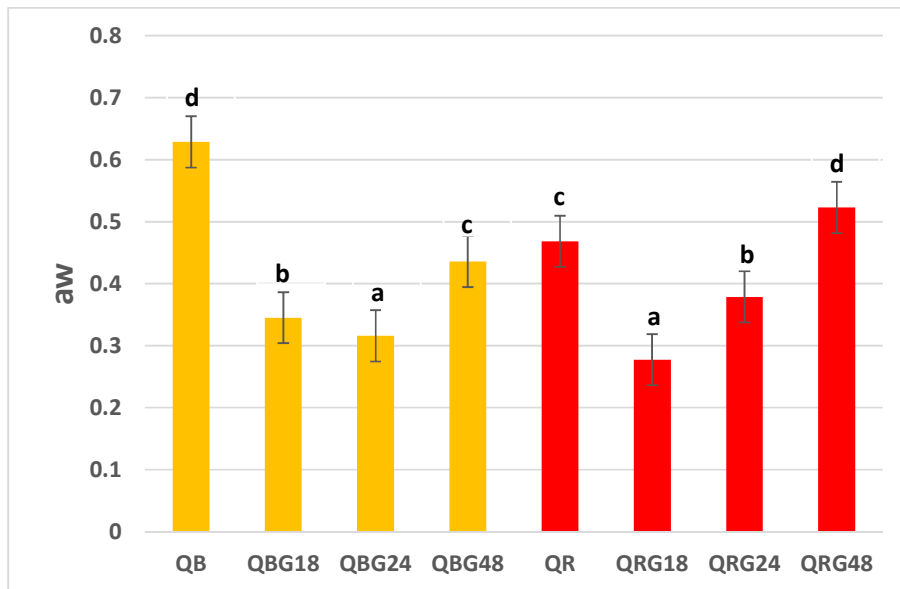
Los cambios observados en los diferentes componentes, principalmente en proteínas, lípidos e hidratos de carbono, en ambos tipos de quinoa durante la germinación, demuestran que se están llevando a cabo procesos con diferentes cinéticas de degradación de los componentes como producto de la germinación.

Padmashree y col. (2018) estudiaron la composición de quinoa variedad roja y variedad blanca sin germinar y germinada a temperatura ambiente durante 48 h. Estos autores encontraron que la germinación de la quinoa blanca aumentó el contenido de proteínas y fibras, mientras que el contenido de hidratos de carbono totales y almidón disminuyó al igual que en nuestro caso. A su vez, para quinoa roja, estos autores encontraron que,

a diferencia de lo observado en nuestro caso, el contenido de proteínas aumentó. La fibra dietaria aumentó, a la vez que el contenido de lípidos, cenizas, hidratos de carbono y almidón disminuyó levemente. Por otro lado, Antezana y col. (2015) observaron que la germinación (a 20°C por 48h) de la quinoa blanca, produjo un aumento en el contenido de cenizas (+2,8%), fibra (+6,44%) e hidratos de carbono (+20,83%), a la vez que las proteínas (-5,27%) y lípidos (-3,44%) disminuyeron. Al analizar la quinoa roja, observaron solamente un aumento en el contenido de hidratos de carbono (+1,72%), pero hubo una disminución del contenido de proteínas (-5,66), cenizas (-5,08), lípidos (-2,49%) y fibra (-2,56).

### III.B.3. Disponibilidad de agua

La disponibilidad de agua medida como la actividad acuosa (aw) en las harinas de quinoa blanca (QB) y roja (QR) obtenidas a partir de las semillas sin germinar fue 0,6287 y 0,4683, respectivamente (Figura 3.10).



**Figura 3.10.** Actividad acuosa de harina de semillas de quinoa blanca y roja sin germinar (QB- QR) y germinadas durante 18 h (QBG<sub>18</sub>-QRG<sub>18</sub>), 24 h (QBG<sub>24</sub>-QRG<sub>24</sub>) y 48 h (QBG<sub>48</sub>-QRG<sub>48</sub>). Diferentes letras indican diferencias significativas en una misma variedad de quinoa ( $p < 0,05$ ).

En la Figura 3.10 puede observarse un comportamiento diferencial en la aw como consecuencia de la germinación entre las dos variedades de quinoa. La harina QB

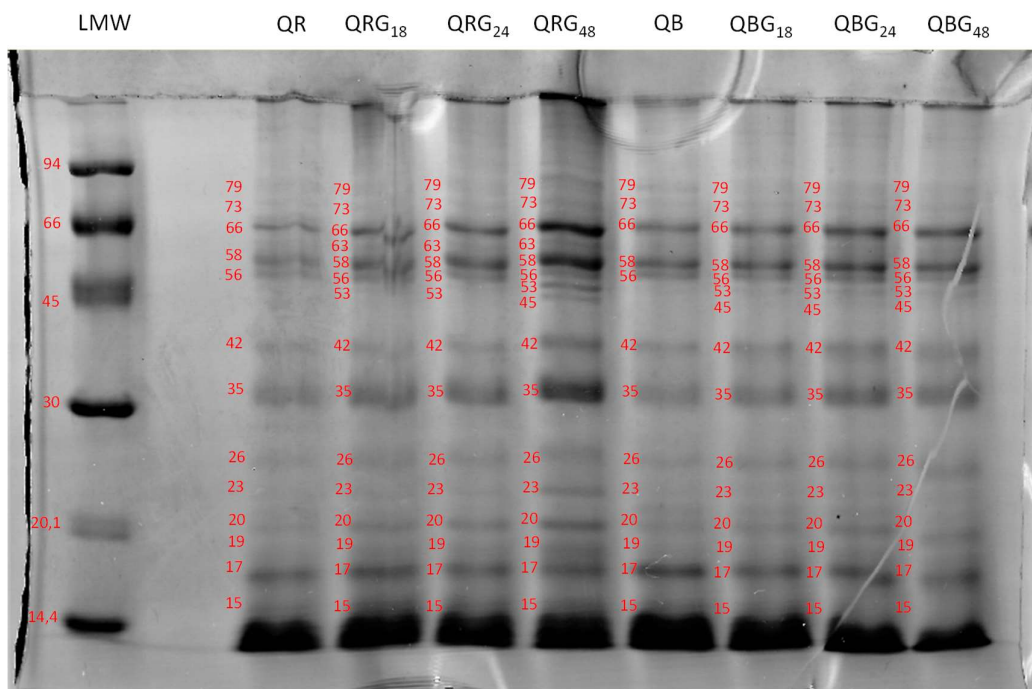
presentó la mayor actividad acuosa. Durante la germinación este parámetro disminuyó hasta las 24h y luego aumentó. Mientras que, en el caso de la quinoa roja, el mayor valor lo presentó la harina QRG<sub>48</sub>. Se pudo observar un aumento de aw con la germinación. Si bien el valor de aw fue variable, en ningún caso superó el valor de 0,7 por lo que las harinas se consideran seguras desde el punto de vista de la alteración fúngica.

#### III.B.4. Caracterización fracciones de proteínas y contenido de aminoácidos de las harinas de quinoa

Las Figuras 3.11, 3.12 y 3.13 muestran los perfiles de SDS-PAGE de las proteínas de quinoa blanca y roja extraídas con diferentes buffers. El buffer de extracción de pH 8 (Figura 3.11) permitió en ambas variedades de quinoa (blanca y roja) y a todos los tiempos de germinación, extraer mayoritariamente proteínas de masa molecular 66, 58, 17 kDa y en menor medida proteínas de 42, 35, 26 y 20 kDa. Se observó una banda muy intensa de masa molecular menor a 14,4 kDa que corrió prácticamente con el frente de corrida. En el caso de la quinoa blanca, se extrajo una leve mayor cantidad de proteína (66, 58 y 35 kDa) con un tiempo de germinación  $\geq 24$ h; para la roja, este efecto fue mucho mas pronunciado con 48h de germinación. Esto sugiere que en la quinoa roja la germinación libera mayor proporción de estas proteínas que se solubilizan en este buffer de pH 8. En el caso de la quinoa blanca, no podemos afirmar que no hubo hidrólisis o no se generaron proteínas producto de la germinación, debido a que quizá el pH y la fuerza iónica del buffer no fueron suficiente para favorecer su solubilización.

El agregado de SDS al buffer de extracción que es un agente desnaturalizante, aumentó significativamente la extracción de las proteínas, con una intensificación de todas las bandas, y principalmente en la quinoa roja (Figura 3.12). Se observaron también en todas las muestras agregados solubles de alta masa molecular que no entraron al gel.



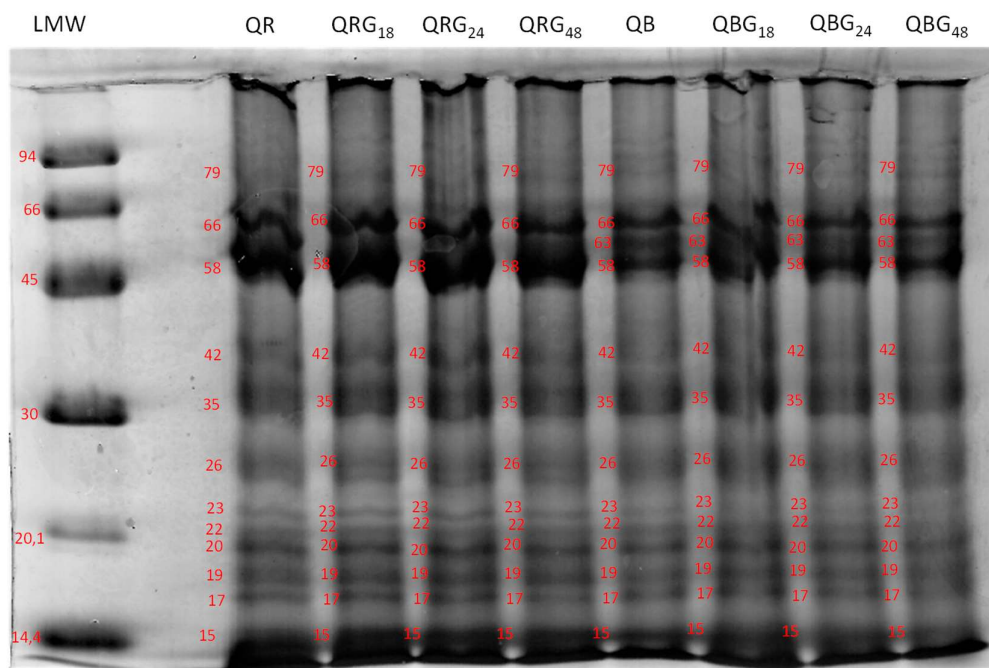


**Figura 3.11.** SDS-PAGE de proteínas solubles de harinas de quinoa blanca y quinoa roja sin germinar (QB y QR) y germinadas a diferentes tiempos (QBG<sub>18</sub>, QBG<sub>24</sub> y QBG<sub>48</sub>; QRG<sub>18</sub>, QRG<sub>24</sub> y QRG<sub>48</sub>). Buffer de extracción: A (buffer de pH 8).

Las bandas más intensas fueron las de 66 y 58 kDa, sugiriendo que dichas proteínas están formando agregados proteicos unidos por uniones no covalentes. La banda de 63 kDa está presente solamente en el extracto de quinoa blanca. Esta proteína, en la variedad blanca estuvo ausente cuando se extrajo en ausencia de SDS, esto sugiere que el buffer no fue capaz de disociarla de su unión a otras proteínas, pero sí se logró con el agente desnaturante (SDS). La ausencia de la proteína de 63 kDa en el extracto de quinoa roja indicaría que hay diferencias en la forma en que las proteínas están interaccionando entre sí en cada variedad, o sea, podría tener diferente estructura a pesar de tener el mismo PM.

Por otra parte se logró solubilizar o disociar en mayor proporción proteínas de masa molecular 26, 20, 19 y 15 kDa, todas ellas unidas entre sí o a otras de mayor tamaño (> 50 kDa) por uniones no covalentes y que antes por su gran tamaño no podían ser extraídas solo por efecto del pH alcalino del buffer (pH 8).

La extracción mediada por el SDS resultó independiente de la germinación. Sólo se observó efecto de la variedad en la banda de 63 kDa como se mencionó anteriormente.



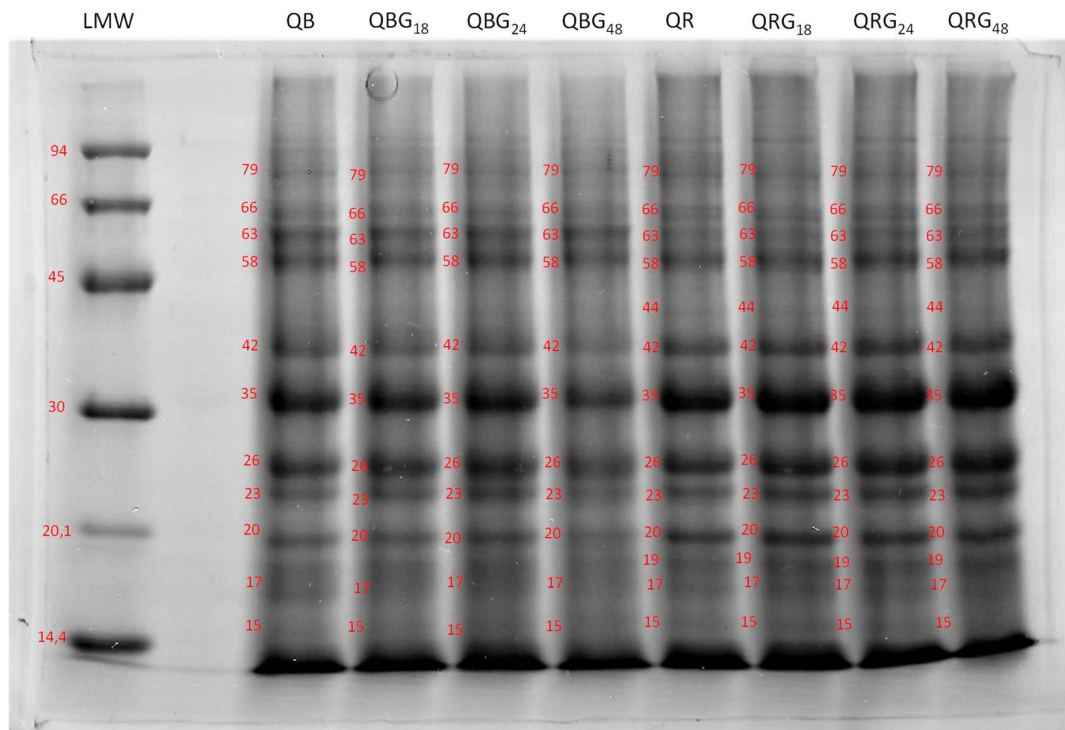
**Figura 3.12.** SDS-PAGE de proteínas solubles de harinas de quinoa blanca y quinoa roja sin germinar (QB y QR) y germinadas a diferentes tiempos (QBG<sub>18</sub>, QBG<sub>24</sub> y QBG<sub>48</sub>; QRG<sub>18</sub>, QRG<sub>24</sub> y QRG<sub>48</sub>). Buffer de extracción: B (buffer de pH 8 + SDS).

Por último, el buffer de extracción con el agregado de DTT junto con SDS (Figura 3.13) produjo disociación de enlaces covalentes de las proteínas por ruptura de puentes disulfuro (-S-S-) junto con la desnaturalización por ruptura de las uniones no-covalentes (puente hidrógeno e hidrofóbicas). Por esta razón por la ruptura de los agregados proteicos por este efecto dual, es que se extrae directamente mayor proporción de proteínas de menor masa molecular (< 40 kDa).

Se puede observar la ausencia de los agregados solubles de alta masa molecular que fueron disociados en moléculas más pequeñas. La banda más intensa, en todas las muestras, fue la de 35 kDa y en menor medida las de 42, 26 y 20 kDa, dichas bandas se correlacionan con las disociación de las subunidades que conforman la globulina 11S, las cuales se encuentran unidas mediante puentes disulfuro, y en este caso al tratar la muestra con DTT, dichos puentes se rompen y se pueden observar las subunidades (Janssen y col., 2017). También, hay proteínas de PM < 14,4 kDa que han corrido con el frente del gel, dichas proteínas según Janssen y col., (2017) se corresponden con la fracción de albumina 2S. Es evidente que la proteína de 35 kDa estaba unida por uniones S-S a otras proteínas, podría ser formando las bandas de 66 y 58 kDa cuya intensidad

disminuyó significativamente respecto al gel con SDS. Se vuelve apreciar una mayor proporción de la banda de 63 kDa en quinoa blanca.

Se observa una pequeña diferencia entre variedades. Para la quinoa roja se obtuvo mayor proporción de proteína de 35 kDa (banda más intensa) que para quinoa blanca, y fue independiente del tiempo de germinación de la semilla. Y en quinoa blanca, esta banda disminuyó su intensidad al aumentar el tiempo de germinación hasta 48 hs. La germinación por 48 hs de la quinoa blanca disminuyó también la intensidad de las bandas de 42 y 35 kDa. Esta disminución en la proporción de estas 3 bandas sugiere que luego de 48 hs de germinado, la proteína polimérica se disocia generándose proteínas más pequeñas. Los péptidos muy pequeños (< 14,4 kDa) generados como consecuencia de la germinación, no pudieron observarse en este gel.



**Figura 3.13.** SDS-PAGE de proteínas solubles de harinas de quinoa blanca y quinoa roja sin germinar (QB y QR) y germinadas a diferentes tiempos (QBG<sub>18</sub>, QBG<sub>24</sub> y QBG<sub>48</sub>; QRG<sub>18</sub>, QRG<sub>24</sub> y QRG<sub>48</sub>). Buffer de extracción: C (buffer de pH 8 + SDS + DTT).

Se puede concluir con este análisis que la estructura de las proteínas de la quinoa blanca es diferente a la de la roja; a pesar de tener las mismas fracciones o polipéptidos, están estabilizados en proteínas más grandes o agregados mediante diferentes tipos de enlaces. Por otro lado, el efecto de la germinación resultó mayormente evidenciado en la quinoa roja germinada por 48h.

La proteína presente en las semillas de quinoa posee un excelente equilibrio de aminoácidos esenciales, que son aquellos que el cuerpo humano no puede sintetizar. En la Tabla 3.14 se muestran los valores de los aminoácidos en la quinoa blanca sin germinar y germinada. En lo que respecta a los aminoácidos esenciales, en el caso de la QBG<sub>48</sub> se observó que los valores de 6 de ellos (Arginina, Valina, Metionina, Leucina, Fenilalanina y Triptófano) se mantuvieron estadísticamente similares a los de quinoa sin germinar (QB), mientras que el contenido de Treonina, Isoleucina y Lisina fue menor en QBG<sub>48</sub> que en QB. Por su parte el contenido de Histidina fue mayor en QBG<sub>48</sub>.

La suma de aminoácidos esenciales para las harinas de quinoa blanca fue de 74,1; 72,0; mayor a 66,1 y 65,4 g / 100 g de proteína en las harinas QB, QBG<sub>18</sub>, QBG<sub>24</sub> y QBG<sub>48</sub>, respectivamente. A pesar de que los porcentajes de aminoácidos esenciales disminuyeron como producto de la germinación, la composición de la proteína de quinoa se aproxima a la de la proteína ideal según los requisitos de la FAO para adultos, siendo la Metionina el aminoácido limitante en QBG<sub>48</sub>.

**Tabla 3.14.** Composición de aminoácidos de quinoa blanca sin germinar (QB) y germinada 18 h (QBG<sub>18</sub>), 24 h (QBG<sub>24</sub>) y 48 h (QBG<sub>48</sub>).

<b>Aminoácidos (mg / 100 g de proteínas)</b>	<b>QB</b>	<b>QBG<sub>18</sub></b>	<b>QBG<sub>24</sub></b>	<b>QBG<sub>48</sub></b>	<b>FAO/WHO /UNU 2007*</b>
<b>Lisina</b>	16,6 ± 1,6 <b>b</b>	15,6 ± 1,0 <b>b</b>	11,9 ± 2,5 <b>a</b>	12,5 ± 0,9 <b>a</b>	4,5
<b>Histidina</b>	6,4 ± 0,8 <b>a</b>	5,4 ± 0,8 <b>a</b>	12,0 ± 0,9 <b>c</b>	10,5 ± 1,9 <b>b</b>	1,5
<b>Valina</b>	6,5 ± 0,3 <b>bc</b>	6,7 ± 0,5 <b>c</b>	4,4 ± 0,1 <b>a</b>	5,7 ± 0,4 <b>b</b>	3,9
<b>Isoleucina</b>	15,8 ± 0,2 <b>b</b>	15,4 ± 0,8 <b>b</b>	12,2 ± 2,2 <b>a</b>	12,2 ± 0,5 <b>a</b>	3,0
<b>Leucina</b>	10,8 ± 0,8 <b>a</b>	10,8 ± 0,9 <b>a</b>	10,8 ± 0,1 <b>a</b>	9,5 ± 0,1 <b>a</b>	5,9
<b>Treonina</b>	8,1 ± 0,5 <b>b</b>	7,7 ± 0,4 <b>b</b>	6,1 ± 0,2 <b>a</b>	6,5 ± 0,3 <b>a</b>	
<b>Metionina</b>	1,2 ± 0,6 <b>ab</b>	1,7 ± 0,3 <b>b</b>	0,9 ± 0,1 <b>a</b>	0,8 ± 0,1 <b>a</b>	1,6
<b>Cisteína</b>	0,3 ± 0,1 <b>a</b>	0,5 ± 0,3 <b>b</b>	0,6 ± 0,1 <b>b</b>	0,5 ± 0,0 <b>ab</b>	0,6
<b>Tirosina</b>	4,0 ± 0,8 <b>a</b>	3,9 ± 0,7 <b>a</b>	2,9 ± 0,1 <b>a</b>	2,9 ± 0,4 <b>a</b>	2,3
<b>Fenilalanina</b>	6,9 ± 1,6 <b>a</b>	6,9 ± 0,3 <b>a</b>	5,7 ± 1,2 <b>a</b>	5,6 ± 0,3 <b>a</b>	
<b>Triptófano</b>	1,5 ± 0,1 <b>a</b>	1,3 ± 0,0 <b>a</b>	1,5 ± 0,3 <b>a</b>	1,6 ± 0,2 <b>a</b>	0,6
<b>Serina</b>	3,8 ± 0,6 <b>b</b>	2,8 ± 0,4 <b>a</b>	nd	2,5 ± 0,1 <b>a</b>	
<b>Ácido aspártico</b>	32,4 ± 0,0 <b>c</b>	35,7 ± 3,4 <b>c</b>	22,9 ± 2,7 <b>a</b>	26,3 ± 1,6 <b>ab</b>	
<b>Ácido glutámico</b>	51,5 ± 2,1 <b>c</b>	49,5 ± 3,4 <b>b</b>	44,3 ± 5,8 <b>ab</b>	38,1 ± 3,0 <b>a</b>	
<b>Alanina + prolina</b>	11,5 ± 1,1 <b>a</b>	13,5 ± 0,3 <b>a</b>	nd	10,6 ± 1,7 <b>a</b>	
<b>Glicina</b>	6,2 ± 0,9 <b>c</b>	5,8 ± 0,3 <b>bc</b>	4,9 ± 0,1 <b>a</b>	5,0 ± 0,2 <b>ab</b>	
<b>Arginina</b>	12,7 ± 2,1 <b>b</b>	11,9 ± 0,7 <b>b</b>	8,1 ± 3,0 <b>a</b>	9,8 ± 0,9 <b>ab</b>	

\* Requerimientos aminoácidos en la nutrición humana - FAO / OMS / UNU, 2007. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05). nd: no determinado

En la Tabla 3.15 se observan los valores de los aminoácidos en la quinoa roja sin germinar y germinada. Evaluando los aminoácidos esenciales, en el caso de la QRG<sub>24</sub> se observó que 7 de ellos (Arginina, Valina, Isoleucina, Leucina, Fenilalanina, Lisina y Triptófano) se mantuvieron estadísticamente similares a los de quinoa sin germinar (QR), mientras que para Treonina en QRG<sub>24</sub> el contenido fue menor que en QR. Por su parte el contenido de Histidina y Metionina fue significativamente mayor en QRG<sub>24</sub> y luego, dichos aminoácidos volvieron a disminuir con 48 h de germinación.

Por su parte, la suma de aminoácidos esenciales para las harinas de quinoa roja fue de 64,1; 66,9; 79,8 y 60,5 g / 100 g de proteína en las harinas QR, QRG<sub>18</sub>, QRG<sub>24</sub> y QRG<sub>48</sub>, respectivamente. Los porcentajes de aminoácidos esenciales presentaron un aumento con la germinación, respecto a QR, con la excepción de QRG<sub>48</sub>, en donde el valor fue un poco menor, disminuyó como producto de la germinación. La composición de la proteína de quinoa se aproxima a la de la proteína ideal según los requisitos de la FAO para adultos, siendo la Cisteína el aminoácido limitante en QRG<sub>48</sub>.

Bhatal y col., (2017) encontraron al germinar semillas de quinoa blanca por 4-5 h, que el contenido de lisina y triptófano en las muestras germinadas fue menor que en la quinoa sin germinar; sin observarse diferencias en la metionina.

Por otro lado, Fouad y Rehab (2015) estudiaron el efecto del tiempo de la germinación de lentejas sobre el perfil aminoacídico, encontrando una disminución en la Ile, Thr, Met y un incremento de His al igual que en nuestro caso. Estos autores atribuyeron este comportamiento a la movilización de las reservas de proteínas en los cotiledones, junto con la síntesis de nuevas proteínas, necesarias para el crecimiento de los brotes. Además señalaron que los aminoácidos producidos por la hidrólisis de las reservas de proteínas no se utilizan únicamente para sintetizar nuevos componentes, sino que también pueden utilizarse como fuente de energía, especialmente en las primeras etapas de la germinación (Fouad y Rehab, 2015).

**Tabla 3.15.** Composición de aminoácidos de quinoa roja sin germinar (QR) y germinada 18h (QRG<sub>18</sub>), 24 h (QRG<sub>24</sub>) y 48 h (QRG<sub>48</sub>).

<b>Aminoácidos (mg / 100 g de proteínas)</b>	<b>QR</b>	<b>QRG<sub>18</sub></b>	<b>QRG<sub>24</sub></b>	<b>QRG<sub>48</sub></b>	<b>FAO/WHO/ UNU 2007*</b>
<b>Lisina</b>	13,2 ± 0,6 a	13,3 ± 0,7 a	13,9 ± 2,1 a	12,2 ± 0,2 a	4,5
<b>Histidina</b>	6,8 ± 1,5 a	7,0 ± 1,1 a	22,1 ± 1,7 b	7,0 ± 1,4 a	1,5
<b>Valina</b>	5,5 ± 0,3 a	5,7 ± 0,1 a	5,1 ± 0,6 a	5,7 ± 0,5 a	3,9
<b>Isoleucina</b>	14,0 ± 1,2 a	13,9 ± 0,7 a	12,1 ± 1,1 a	12,7 ± 0,1 a	3,0
<b>Leucina</b>	9,5 ± 0,3 ab	10,5 ± 0,4 b	9,3 ± 0,7 a	9,1 ± 0,3 a	5,9
<b>Treonina</b>	6,7 ± 0,7 ab	7,4 ± 0,4 b	6,5 ± 0,1 a	6,9 ± 0,2 ab	
<b>Metionina</b>	1,1 ± 0,2 b	1,3 ± 0,1 b	2,5 ± 0,4 c	0,3 ± 0,1 a	1,6
<b>Cisteína</b>	0,5 ± 0,0 a	0,5 ± 0,2 a	0,4 ± 0,0 a	0,4 ± 0,0 a	0,6
<b>Tirosina</b>	3,8 ± 0,0 a	3,4 ± 0,4 a	2,9 ± 0,4 a	3,6 ± 0,9 a	2,3
<b>Fenilalanina</b>	5,6 ± 0,6 a	5,9 ± 0,8 a	6,2 ± 0,3 a	4,9 ± 0,2 a	
<b>Triptófano</b>	1,2 ± 0,1 a	1,4 ± 0,1 a	1,7 ± 0,4 a	1,3 ± 0,1 a	0,6
<b>Ácido aspártico</b>	26,2 ± 2,3 a	30,1 ± 1,3 b	25,4 ± 1,8 a	31,5 ± 0,0 b	
<b>Ácido glutámico</b>	43,6 ± 4,3 a	41,2 ± 4,4 a	39,5 ± 1,4 a	46,1 ± 1,0 a	
<b>Glicina</b>	5,6 ± 0,2 a	5,6 ± 0,3 a	5,7 ± 0,2 a	5,7 ± 0,3 a	
<b>Alanina + prolina</b>	10,5 ± 0,7 ab	11,4 ± 0,6 ab	10,2 ± 0,3 a	11,8 ± 0,6 b	
<b>Serina</b>	2,8 ± 0,5 ab	4,2 ± 1,1 b	2,1 ± 0,1 a	2,3 ± 0,7 ab	
<b>Arginina</b>	10,4 ± 0,8 a	11,2 ± 0,6 a	10,6 ± 0,9 a	11,4 ± 1,9 a	

\* Requerimientos aminoacídicos en la nutrición humana - FAO / OMS / UNU, 2007. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05).

### III.B.5. Contenido de minerales de las harinas de quinoa

Ciertos minerales presentes en las harinas obtenidas a partir de las semillas de quinoa blanca ya sean germinadas como sin germinar, pueden observarse en la Tablas 3.16. Los principales minerales encontrados en QB fueron potasio (K), fósforo (P), magnesio (Mg),

calcio (Ca) y sodio (Na). Además, se detectaron otros minerales como hierro (Fe), zinc (Zn) manganeso (Mn), y cobre (Cu) en menor cantidad. Diferentes autores encontraron valores del mismo orden de magnitud a los de este trabajo, como así también los principales minerales fueron similares en harina de quinoa blanca y negra (Demir y Bilgiçli, 2020; Bhinder y col., 2021).

En cuanto al efecto de la germinación sobre el contenido de minerales en las harinas de quinoa blanca (Tabla 3.16), se pudo observar que las harinas de quinoa germinadas, presentaron un mayor contenido de Ca y Na y menor Cu y Mn que en QB, mientras que el Mg no cambió independientemente del tiempo de tratamiento. A pesar del aumento de Na, el contenido de este mineral en 100 gramos de harina es muy inferior a la ingesta diaria recomendada (2400 mg/día) según Código Alimentario Argentino (2022).

Por su parte, en QR la cantidad de minerales encontrados fueron similares a QB, con excepción Na y Zn que fue mayor mientras que el K fue menor (Tablas 3.16 y 3.17).

**Tabla 3.16.** Contenido de minerales en las harinas de quinoa blanca sin germinar y germinadas durante 18, 24 y 48 h.

<b>Minerales (mg/Kg) (b.s.)</b>	<b>QB</b>	<b>QBG<sub>18</sub></b>	<b>QBG<sub>24</sub></b>	<b>QBG<sub>48</sub></b>
<b>Calcio (Ca)</b>	501 ± 28 <b>a</b>	769 ± 60 <b>b</b>	798 ± 55 <b>b</b>	787 ± 54 <b>b</b>
<b>Potasio (K)</b>	8285 ± 716 <b>b</b>	5977 ± 447 <b>a</b>	6118 ± 251 <b>a</b>	7536 ± 293 <b>b</b>
<b>Magnesio (Mg)</b>	2043 ± 31 <b>b</b>	1869 ± 14 <b>a</b>	2016 ± 17 <b>b</b>	2066 ± 17 <b>b</b>
<b>Sodio (Na)</b>	229 ± 5 <b>a</b>	359 ± 10 <b>b</b>	367 ± 18 <b>b</b>	396 ± 20 <b>b</b>
<b>Fósforo (P)</b>	4774 ± 71 <b>c</b>	4246 ± 64 <b>a</b>	4505 ± 68 <b>b</b>	4629 ± 70 <b>bc</b>
<b>Cobre (Cu)</b>	7,0 ± 0,1 <b>c</b>	5,9 ± 0,1 <b>a</b>	6,4 ± 0,1 <b>b</b>	5,9 ± 0,1 <b>a</b>
<b>Hierro (Fe)</b>	54,0 ± 1,5 <b>c</b>	53,8 ± 1,2 <b>c</b>	47,4 ± 1,0 <b>b</b>	42,9 ± 0,8 <b>a</b>
<b>Manganeso (Mn)</b>	16,7 ± 0,2 <b>c</b>	14,6 ± 0,3 <b>b</b>	13,9 ± 0,1 <b>a</b>	14,2 ± 0,1 <b>ab</b>
<b>Zinc (Zn)</b>	31,1 ± 0,2 <b>c</b>	58,5 ± 0,4 <b>d</b>	27,4 ± 0,5 <b>b</b>	26,2 ± 0,2 <b>a</b>

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas (p <0,05).



**Tabla 3.17.** Contenido de minerales en las harinas de quinoa roja sin germinar y germinadas durante 18, 24 y 48h.

<b>Minerales (mg/Kg) (b.s.)</b>	<b>QR</b>	<b>QRG<sub>18</sub></b>	<b>QRG<sub>24</sub></b>	<b>QRG<sub>48</sub></b>
<b>Calcio (Ca)</b>	456 ± 17 <b>a</b>	1036 ± 27 <b>b</b>	448 ± 11 <b>a</b>	1019 ± 88 <b>b</b>
<b>Potasio (K)</b>	6700 ± 359 <b>c</b>	5955 ± 306 <b>b</b>	6360 ± 132 <b>bc</b>	4471 ± 173 <b>a</b>
<b>Magnesio (Mg)</b>	1989 ± 15 <b>b</b>	1925 ± 22 <b>b</b>	1717 ± 11 <b>a</b>	1930 ± 37 <b>b</b>
<b>Sodio (Na)</b>	1010 ± 73 <b>c</b>	718 ± 34 <b>b</b>	528 ± 25 <b>a</b>	731 ± 56 <b>b</b>
<b>Fósforo (P)</b>	4349 ± 65 <b>c</b>	4059 ± 58 <b>b</b>	3777 ± 60 <b>a</b>	3923 ± 124 <b>ab</b>
<b>Cobre (Cu)</b>	5,5 ± 0,1 <b>b</b>	5,1 ± 0,1 <b>a</b>	5,0 ± 0,1 <b>a</b>	5,2 ± 0,1 <b>a</b>
<b>Hierro (Fe)</b>	37,1 ± 0,9 <b>b</b>	37,5 ± 0,7 <b>b</b>	33,5 ± 0,4 <b>a</b>	38,0 ± 0,9 <b>b</b>
<b>Manganeso (Mn)</b>	18,8 ± 0,1 <b>c</b>	16,8 ± 0,3 <b>b</b>	17,4 ± 0,2 <b>b</b>	15,7 ± 0,4 <b>a</b>
<b>Zinc (Zn)</b>	23,3 ± 0,2 <b>b</b>	38,6 ± 0,5 <b>c</b>	21,9 ± 0,4 <b>a</b>	22,5 ± 0,5 <b>ab</b>

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Respecto al contenido de minerales en las harinas de quinoa roja germinada (Tabla 3.17), se observó un aumento en el contenido de Ca (QRG<sub>18</sub> y QRG<sub>48</sub>), a la vez que el Mg y Fe no resultaron modificados por la germinación. Sin embargo, los niveles de K, Na, P, Cu, Mn y Zn, disminuyeron producto de la germinación.

Otros autores encontraron un aumento en el contenido de Ca, Fe, Zn en los germinados de quinoa blanca a 48 h (Demir y Bilgiçli, 2020) y 72 h (Darwish y col., 2020) respecto a la sin germinar. Mientras que, Bhinder y col., (2021) encontraron en la quinoa blanca germinada, un aumento en Fe, una disminución en K, Mg y Zn, y sin diferencias en Ca, Cu y Mn. Por otro lado, en la quinoa negra germinada no observaron cambios en el contenido de Ca, Mn, Cu y Fe, pero sí hubo una disminución en K, Mg y Zn (Bhinder y col., 2021).

Las diferentes tendencias encontradas en los minerales durante la germinación nos permite concluir que el contenido mineral depende de la variedad de quinoa de partida y de las condiciones de germinación, debido a que muchos de ellos podrían actuar como cofactores enzimáticos y variar de acuerdo al estadio del proceso.

### III.B.6. Perfil de ácidos grasos de las harinas de quinoa

En la Tabla 3.18 se muestran los valores de los ácidos grasos en la quinoa blanca. En la quinoa sin germinar (QB) se observó que el ácido linoleico (18:2) fue el mayoritario (49%), seguido de los ácidos oleico (18:1), palmítico y  $\alpha$ -linolénico (18:3) por lo que el porcentaje de insaturados respecto a los saturados fue mayor (88,9% vs 11,1%). Durante la germinación el porcentaje de la mayoría de los ácidos grasos no cambió, aunque el contenido de ácido oleico (18:1) disminuyó. A su vez los ácidos grasos esenciales linoleico (18:2- $\omega$ 6) y  $\alpha$ -linolénico (18:3- $\omega$ 3) aumentaron con la germinación, presentando los valores máximos en la harina QBG<sub>48</sub>. Este comportamiento, como fue explicado anteriormente para los lípidos del amaranto, podría ser atribuido a la acción de las enzimas desaturasas de la germinación activa que convierten el ácido oleico en ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico (Nelson y Cox, 2005).

**Tabla 3.18.** Contenido de ácidos grasos de los lípidos en las harinas de quinoa blanca sin germinar y germinadas. Contenido total de ácidos grasos saturados e insaturados, relación  $\omega$ 6/ $\omega$ 3.

Ácido grasos (g/100 g lípidos)	QB	QBG <sub>18</sub>	QBG <sub>24</sub>	QBG <sub>48</sub>
Ac. Mirístico (14:0)	0,1 ± 0,0 a	0,1 ± 0,0 a	0,1 ± 0 a	0,1 ± 0 a
Ac. Palmítico (16:0)	10,0 ± 0,2 a	9,9 ± 0,0 a	10,1 ± 0,1 a	10,1 ± 0,1 a
Ac. Esteárico (18:0)	0,6 ± 0,0 a	0,5 ± 0 a	0,5 ± 0,0 a	0,5 ± 0,0 a
Ac. Oleico (18:1 - $\omega$ 9)	30,0 ± 0,0 c	30,0 ± 0,1 c	29,8 ± 0,0 b	28,4 ± 0,1 a
Ac. Linoleico (18:2- $\omega$ 6)	49,0 ± 0,1 a	49,0 ± 0,0 a	48,9 ± 0,0 a	49,8 ± 0,2 b
Ac. $\alpha$ -Linolénico (18:3- $\omega$ 3)	8,69 ± 0,01 a	8,71 ± 0,06 a	8,89 ± 0,04 b	9,40 ± 0,04 c
Ac. Eicosanoico (20:0)	0,40 ± 0,05 a	0,39 ± 0,01 a	0,39 ± 0,02 a	0,37 ± 0,03 a
Ac. Eicosenoico (20:1 - $\omega$ 9)	1,30 ± 0,01 a	1,42 ± 0,06 a	1,35 ± 0,04 a	1,31 ± 0,03 a
Ácidos grasos saturados totales	11,1 ± 0,1 a	11,0 ± 0,0 a	11,0 ± 0,0 a	11,1 ± 0,1 a
Ácidos grasos insaturados totales	88,9 ± 0,1 a	89,0 ± 0,0 a	89,0 ± 0,0 a	88,9 ± 0,1 a
Relación $\omega$ 6/ $\omega$ 3	5,6 ± 0,0 b	5,6 ± 0,1 b	5,5 ± 0,0 b	5,3 ± 0,0 a

Diferentes letras es una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La OMS establece que el máximo valor de la relación  $\omega_6/\omega_3$  es 10:1. Si bien ambos ácidos grasos son esenciales, la ingesta excesiva de  $\omega_6$  presente en alimentos consumidos en mayor medida (legumbres, aceites, palta, entre otros) junto con menor consumo de los alimentos con  $\omega_3$  (semillas, algunos pescados, nueces, entre otros) genera un desbalance en la relación óptima que puede originar un deterioro en la salud. Si bien el contenido de ácidos grasos insaturados total no cambió con la germinación, se observó una mejora en la calidad debido a que aumentaron el  $\omega_6$  y  $\omega_3$  manteniendo la relación  $\omega_6/\omega_3$  constante, excepto en QBG<sub>48</sub> (5,3), donde la relación fue mínima (Tabla 3.18). La harina QBG<sub>48</sub> resulta un ingrediente atractivo en las dietas occidentales dado que mejora el balance entre ambos ácidos grasos.

En la Tabla 3.19 se muestran los valores de los ácidos grasos en la quinoa roja. En la quinoa no germinada (QR) se observó al igual que en la quinoa blanca (QB) una mayor cantidad del ácido linoleico, seguido de los ácidos oleico y palmítico, pero en una proporción diferente. En la QR el porcentaje de insaturados fue de 87,7% significativamente mayor que los saturados (12,3%). Se observó que, durante la germinación el contenido de ácido mirístico y ácido linoleico disminuyeron a diferencia de lo que ocurrió en la QB que se mantuvo en el caso del C14:0 y aumentó el 18:2. Por su parte, el contenido de ácido oleico aumentó a diferencia de QB. Por último, el ácido  $\alpha$ -linolénico aumentó durante la germinación, siendo máximo en la harina germinada durante 24 h (QRG<sub>24</sub>) (Tabla 3.18). En este caso, durante la germinación se incrementó la proporción de ácidos grasos insaturados. Además, la germinación generó una disminución en la relación  $\omega_6/\omega_3$ , presentando el menor valor para QRG<sub>24</sub>.

Park y Morita (2007) encontraron a partir del análisis de ácidos grasos presentes en semillas de quinoa blanca, que la relación  $\omega_6/\omega_3$  para los primeros tiempos de germinación (24 y 48 h a 30°C) aumentó respecto a la sin germinar, mientras que a las 72 h el cociente fue el menor.

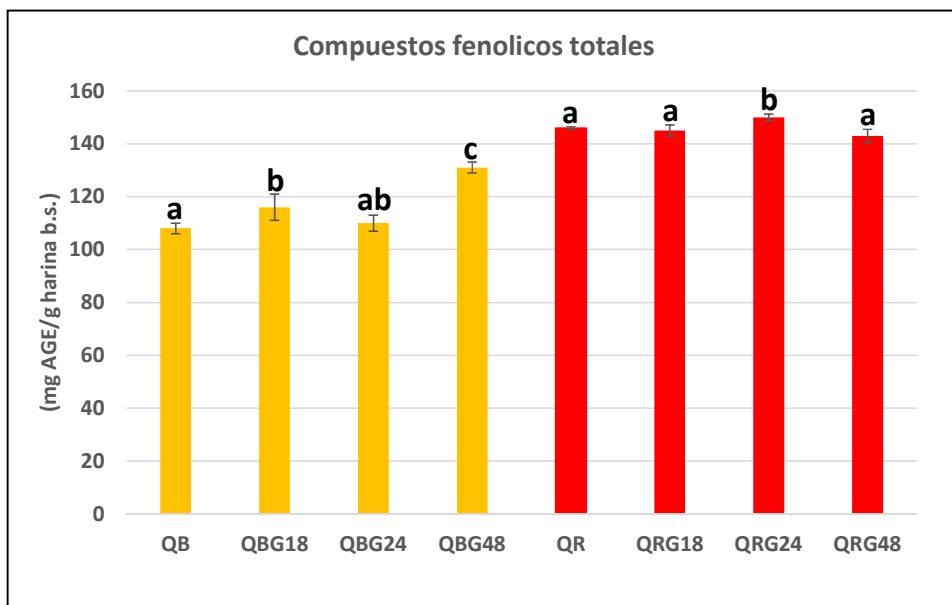
**Tabla 3.19.** Contenido de ácidos grasos de los lípidos en las harinas de quinoa roja sin germinar y germinadas. Contenido total de ácidos grasos saturados e insaturados, relación  $\omega 6 / \omega 3$ .

Ácidos grasos (g/100 g lípidos)	QR	QRG <sub>18</sub>	QRG <sub>24</sub>	QRG <sub>48</sub>
Ac. Mirístico (14:00)	0,2 ± 0,0 b	0,1 ± 0,0 a	0,165 ± 0,007 a	0,17 ± 0,01 a
Ac. Palmítico (16:00)	11,4 ± 0,1 a	11,1 ± 0,1 a	10,935 ± 0,02 a	11,1 ± 0,2 a
Ac. Esteárico (18:00)	0,4 ± 0,0 a	0,4 ± 0,0 a	0,395 ± 0,007 a	0,415 ± 0,007 a
Ac. Oleico (18:1, $\omega 9$ )	27,0 ± 0,0 a	28,0 ± 0,1 c	27,83 ± 0,01 bc	27,56 ± 0,2 b
Ac. Linoleico (18:2, $\omega 6$ )	53,2 ± 0,1 c	52,2 ± 0,0 a	52,12 ± 0,03 a	52,31 ± 0,05 b
Ac. $\alpha$ -Linolénico (18:3, $\omega 3$ )	6,17 ± 0,04 a	6,60 ± 0,03 b	6,83 ± 0,01 d	6,73 ± 0,01 c
Ac. Eicosanoico (20:00)	0,33 ± 0,03 a	0,31 ± 0,01 a	0,35 ± 0,01 a	0,32 ± 0,01 a
Ac. Eicosenoico (20:1 n9)	1,32 ± 0,09 a	1,33 ± 0,06 a	1,36 ± 0,01 a	1,35 ± 0,01 a
Ácidos grasos saturados totales	12,3 ± 0,1 b	12,0 ± 0,1 a	11,8 ± 0,0 a	12,0 ± 0,1 ab
Ácidos grasos insaturados totales	87,7 ± 0,1 a	88,0 ± 0,1 b	88,2 ± 0,0 b	88,0 ± 0,1 ab
Relación $\omega 6 / \omega 3$	8,6 ± 0,1 d	7,9 ± 0,0 c	7,6 ± 0,0 a	7,8 ± 0,0 b

Diferentes letras es una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### III.B.7. Actividad antioxidante de las harinas de quinoa

En la Figura 3.14 se muestra el contenido de compuestos fenólicos totales (CFT). En el caso de las harinas de quinoa blanca, el contenido de CFT aumentó significativamente con el tiempo de germinación, presentando el mayor valor la harina QBG<sub>48</sub>. Por su parte, en el caso de las harinas de quinoa roja, la única harina que presentó un mayor contenido de CFT fue la QRG<sub>24</sub>.

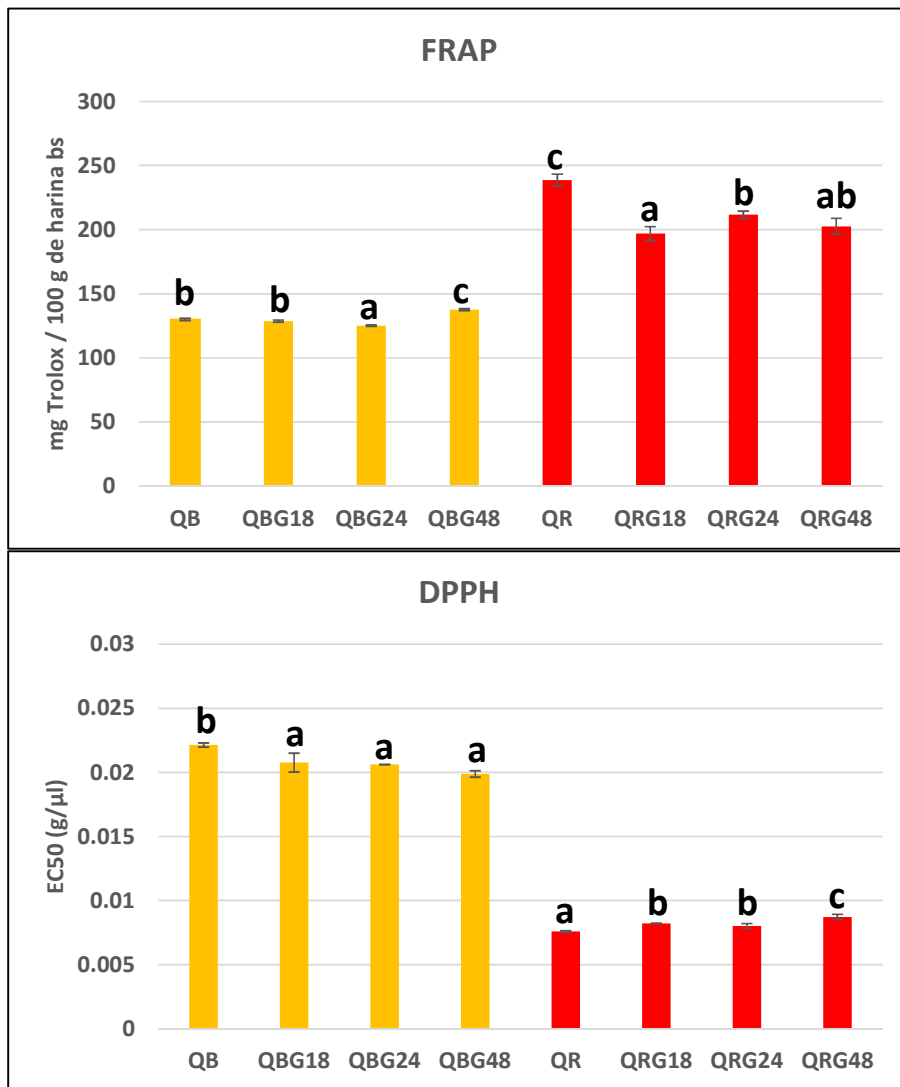


**Figura 3.14.** Contenido de fenoles totales de las harinas de semillas de quinoa blanca y roja sin germinar (QB- QR) y germinadas (QBG-QRG). Diferentes letras indican diferencias significativas en una misma variedad de quinoa ( $p < 0,05$ ).

En la Figura 3.15 se muestra la actividad antioxidante (AA) medida por dos métodos complementarios, encontrándose que la harina QBG<sub>48</sub> fue la que presentó mayor AA medida por el método de FRAP, mientras que el EC50 fue menor en todas las harinas germinadas (QBG) independientemente del tiempo de germinación (Figura 3.15.A). En quinoa roja se observó un comportamiento diferente. La actividad antioxidante disminuyó con la germinación siendo menor que en QR en ambos metodos (Figura 3.15.B).

Diversos autores encontraron que el contenido de compuestos fenólicos y de AA en harinas de quinoa blanca y roja aumentaron con la germinación (Carciochi y col., 2016; Padmashree y col., 2018 y Choque-Quispe y col., 2021). Similar tendencia en ambos parámetros fue encontrada en este trabajo para quinoa blanca pero diferente para la variedad roja, donde no variaron en los diferentes tiempos de germinación.

Podemos concluir que las harinas de quinoa roja tuvieron un mayor contenido de compuestos fenólicos totales y de actividad antioxidante comparado con las de quinoa blanca.



**Figura 3.15.** Actividad antioxidante por los métodos de **FRAP** y **DPPH** de las harinas de semillas de quinoa blanca y roja sin germinar (QB- QR) y germinadas (QBG-QRG). Diferentes letras indican diferencias significativas en una misma variedad de quinoa ( $p < 0,05$ ).

En función a lo discutido anteriormente y comparando las harinas germinadas de una misma variedad, se seleccionaron las mejores harinas para la utilización en panificados saludables en base a lo siguiente:

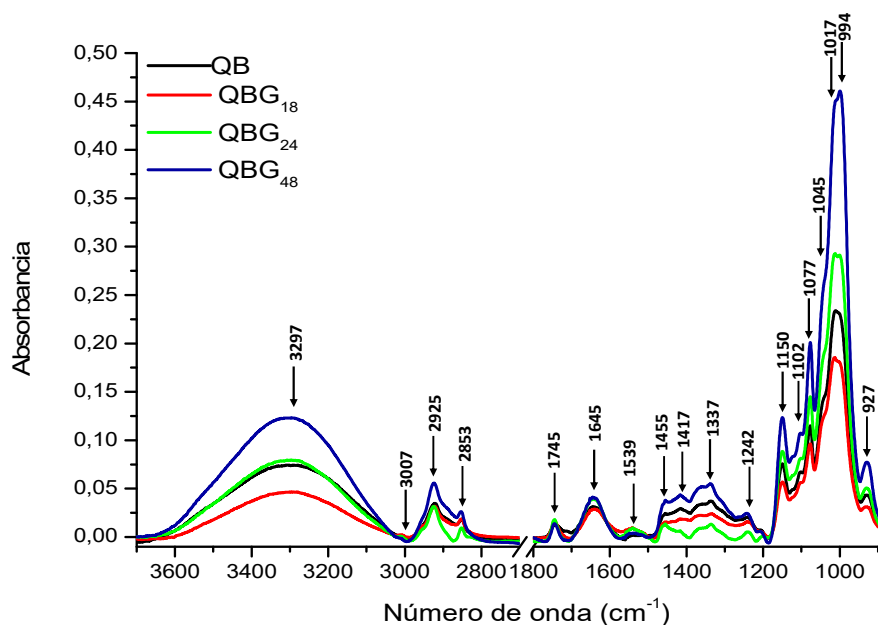
- la *quinoa blanca* germinada por 48 h (QBG<sub>48</sub>) debido a que presentó el mayor contenido de proteínas, fibra dietaria y lípidos. A su vez un mayor contenido de Ac. Linoleico (18:2-  $\omega$ 6) y Ac.  $\alpha$ -Linolénico (18:3-  $\omega$ 3) y una mínima relación  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 fue obtenida para QBG<sub>48</sub>. Por otro lado, QBG<sub>48</sub> presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

- la *quinua roja* germinada por 24 h (QRG<sub>24</sub>) tuvo el mayor contenido lipídico, siendo la de mayor aporte de Ac.  $\alpha$ -Linolénico (18:3-  $\omega$ 3) y presentando una relación  $\omega$ 6/ $\omega$ 3 mínima. Por otro lado, se evidenció el mayor contenido de aminoácidos esenciales (principalmente Lys, Hys y Met) y de compuestos fenólicos y un menor contenido de sodio.

### III.B.8. Propiedades estructurales y térmicas de las harinas de quinua

#### ATR-FTIR de las harinas de quinua

Las diferentes bandas correspondientes al estiramiento y deformación de los principales grupos funcionales presentes en las harinas de quinua blanca (QB) y germinadas durante 18 (QBG<sub>18</sub>), 24 (QBG<sub>24</sub>) y 48 h (QBG<sub>48</sub>) se muestran en la Figura 3.16. Puede observarse una banda ancha a 3297  $\text{cm}^{-1}$  en el espectro de las cuatro harinas atribuidas a vibraciones de estiramiento de grupos hidroxilo presentes en el agua y almidón. Siendo de mayor intensidad en QBG<sub>48</sub> y mínima para QBG<sub>18</sub>. En la región 3100 a 2800  $\text{cm}^{-1}$  se observaron 3 bandas: una a 3007  $\text{cm}^{-1}$  asociada a vibraciones de estiramiento de CH del carbono presente en un doble enlace que no cambió en las diferentes harinas (relacionada con los ácidos grasos poliinsaturados como puede observarse en la Tabla 3.18) y dos bandas a 2924 y 2852  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a las vibraciones de estiramiento asimétricas y simétricas de los grupos funcionales CH<sub>2</sub> alifáticos, respectivamente. Además, la banda de 2924  $\text{cm}^{-1}$  está asociada con la fracción de ácidos grasos saturados presente en los lípidos de la muestra (Guillén y Cabo, 2000). Ambas son de mayor intensidad en las QBG<sub>48</sub>. A 1745  $\text{cm}^{-1}$  se encontró una banda asociada a la vibración de estiramiento C=O del éster carbonilo del triglicérido cuya intensidad fue similar en todas las harinas.



**Figura 3.16.** Espectro FTIR-ATR de harina de quinoa blanca sin germinar (QB) y de harina de quinoa blanca germinada durante 18 (QBG<sub>18</sub>), 24 (QBG<sub>24</sub>) y 48 h (QBG<sub>48</sub>).

Las bandas pertenecientes a la Amida I ( $1645\text{ cm}^{-1}$ ) y a la Amida II ( $1539\text{ cm}^{-1}$ ) están asignadas a la vibración de flexión del grupo funcional N-H en la amida. La intensidad de la banda a  $1645\text{ cm}^{-1}$  fue máxima para las harinas QBG<sub>24</sub> y QBG<sub>48</sub>, mientras que en la banda de  $1539\text{ cm}^{-1}$  la intensidad máxima la presentaron QBG<sub>18</sub> y QBG<sub>24</sub>. En la región entre  $1500$  y  $1070\text{ cm}^{-1}$  se distinguieron 7 bandas, correspondientes a  $1455$ ,  $1417$ ,  $1337$ ,  $1242$ ,  $1150$ ,  $1102$  y  $1077\text{ cm}^{-1}$ . La muestra QBG<sub>48</sub> fue la que presentó la máxima intensidad para todas las bandas, mientras que las otras muestras no presentaron un comportamiento definido. Por último, en el espectro se observaron cinco bandas bien definidas a  $1045$ ,  $1017$ ,  $994$ ,  $927$  y  $860\text{ cm}^{-1}$  asociadas a la C(1)H flexión, vibración del enlace  $\alpha$  (1-4) del almidón y a la deformación CH y CH<sub>2</sub>, respectivamente (Bustos y col., 2015). La muestra que presentó mayor intensidad de dichas bandas fue, nuevamente, la QBG<sub>48</sub>, y luego la siguieron QBG<sub>24</sub>, QB y QBG<sub>18</sub>.

El resultado de la deconvolución de la Amida I se muestra en la Tabla 3.20. La muestra sin germinar presentó alta proporción de estructura hoja  $\beta$ -paralela, mayormente intermolecular y bajo porcentaje de  $\alpha$ -hélice y giros- $\beta$ . La germinación (18 h) disminuyó significativamente la hoja  $\beta$ -paralela intermolecular y aumentó la  $\alpha$ -hélice y los giros- $\beta$ ,



lo que se asocia a una estructuración o compactación de la proteína. A las 48 h hubo un aumento en la  $\alpha$ -hélice (46% respecto a QB), sin observarse cambios significativos en el resto de las estructuras secundarias.

Los resultados sugieren que 48 h de germinación producen un cambio en la estructura de las proteínas favoreciendo un plegamiento o estructura más compacta que la quinoa blanca sin germinar.

**Tabla 3.20.** Número de onda y porcentaje de estructura secundaria de proteínas (Amida I) en las harinas de quinoa blanca sin germinar (QB), germinado durante 18 h (QBG<sub>18</sub>), 24 h (QBG<sub>24</sub>) y 48 h (QBG<sub>48</sub>).

<b>Estructura secundaria</b>	<b>N° de onda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>QB</b>	<b>QBG<sub>18</sub></b>	<b>QBG<sub>24</sub></b>	<b>QBG<sub>48</sub></b>
<b>Hoja <math>\beta</math> paralela intermolecular</b>	<b>1620</b>	42 $\pm$ 2,5 <b>b</b>	37,7 $\pm$ 2,9 <b>ab</b>	32,5 $\pm$ 1,9 <b>a</b>	37,3 $\pm$ 2,4 <b>ab</b>
<b>Hoja <math>\beta</math> paralela intramolecular</b>	<b>1636</b>	18,5 $\pm$ 1,8 <b>a</b>	19,7 $\pm$ 1,1 <b>ab</b>	22,4 $\pm$ 0,3 <b>b</b>	19,7 $\pm$ 1,9 <b>ab</b>
<b>desordenada</b>	<b>1650</b>	21,6 $\pm$ 0,5 <b>b</b>	15,3 $\pm$ 1,4 <b>a</b>	18,5 $\pm$ 3,8 <b>ab</b>	17,9 $\pm$ 2,1 <b>ab</b>
<b><math>\alpha</math>-hélice</b>	<b>1661</b>	6,7 $\pm$ 1,0 <b>a</b>	9,2 $\pm$ 0,4 <b>b</b>	13,8 $\pm$ 0,4 <b>d</b>	11,3 $\pm$ 0,2 <b>c</b>
<b>Giros <math>\beta</math></b>	<b>1674</b>	6,4 $\pm$ 1,1 <b>a</b>	9,4 $\pm$ 1,0 <b>b</b>	6,1 $\pm$ 0,2 <b>a</b>	6,1 $\pm$ 1,4 <b>a</b>
<b>Hoja <math>\beta</math> antiparalela intermolecular</b>	<b>1684</b>	6,0 $\pm$ 0,8 <b>a</b>	8,3 $\pm$ 1,4 <b>b</b>	5,6 $\pm$ 0,4 <b>a</b>	7,5 $\pm$ 0,2 <b>ab</b>

Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a las bandas del almidón, (Tabla 3.21) no se observaron cambios en las bandas 995, 1022 y 1045 cm<sup>-1</sup>. Al comparar los valores de los cocientes 1045/1022 y 1022/995 se evidencia que la muestra que tiene una estructura más amorfa (menor valor de 1045/1022 y mayor de 1022/995) fue la QBG<sub>18</sub>. A mayor tiempo de tratamiento no hubo diferencias con QB.

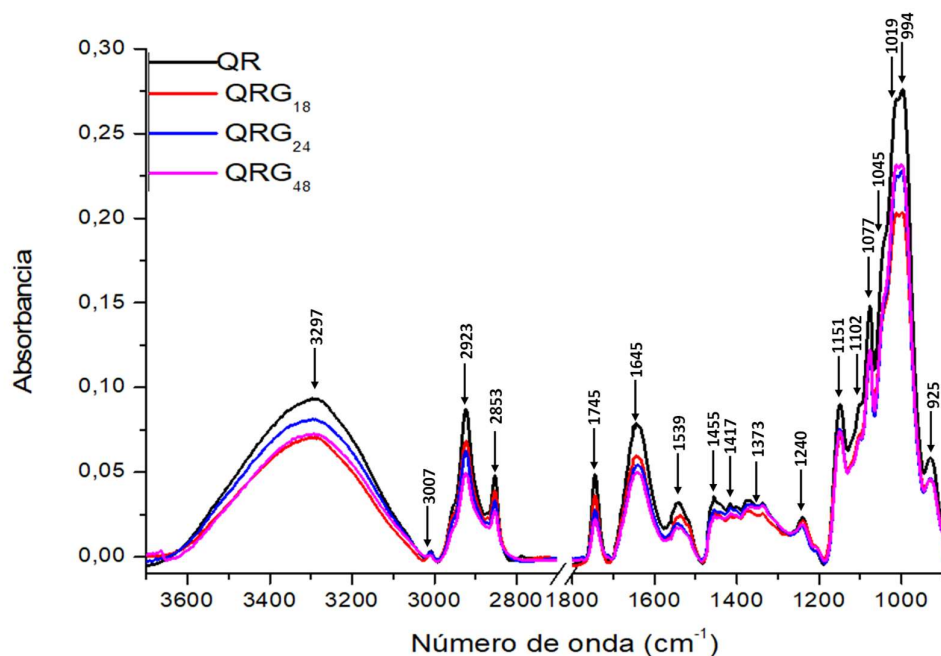
**Tabla 3.21.** Número de onda y contribución de los picos en la región del espectro entre los 900-1070  $\text{cm}^{-1}$  y cocientes entre los mismos de las harinas de quinoa blanca sin germinar (QB), germinado durante 18 h (QBG<sub>18</sub>), 24 h (QBG<sub>24</sub>) y 48 h (QBG<sub>48</sub>).

N° de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	QB	QBG <sub>18</sub>	QBG <sub>24</sub>	QBG <sub>48</sub>
995	59,0 ± 1,8 ab	56,8 ± 0,5 a	56,0 ± 0,7 a	60,3 ± 0,2 b
1022	30,2 ± 1,6 ab	32,5 ± 1,0 b	30,4 ± 0,4 ab	28,9 ± 0,4 a
1045	10,7 ± 0,6 a	10,7 ± 0,5 a	13,5 ± 0,4 b	10,7 ± 0,2 a
1045/1022 (cristalina)	0,36 ± 0,02 ab	0,33 ± 0,03 a	0,44 ± 0,01 b	0,37 ± 0,01 ab
1022/995 (amorfa)	0,51 ± 0,04 ab	0,57 ± 0,02 c	0,54 ± 0,01 b	0,48 ± 0,01 a

Banda 1045  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a la región cristalina. Banda 1022  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a la zona amorfa. Banda 995  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a las hélices de carbohidratos hidratadas. Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En la Figura 3.17 se muestran los espectros ATR-FTIR en la región 4000 a 800  $\text{cm}^{-1}$  de las bandas de estiramiento y deformación de los principales grupos funcionales de los diferentes componentes presentes en las harinas de quinoa roja (QR) y de la quinoa germinada durante 18 (QRG<sub>18</sub>), 24 (QRG<sub>24</sub>) y 48 h (QRG<sub>48</sub>). Se puede observar en el espectro bandas a la misma longitud de onda que las encontradas para quinoa variedad blanca, aunque con algunas diferencias en la intensidad. La muestra QR presentó una banda ancha a 3297  $\text{cm}^{-1}$  de mayor intensidad que las harinas germinadas. La misma tendencia se observó en las bandas a 2924 y 2852  $\text{cm}^{-1}$  donde la intensidad de estas bandas en QR fue mayor y en QRG<sub>48</sub> menor. Para la banda a 1744  $\text{cm}^{-1}$  se encontró que las muestras germinadas presentaron una menor intensidad que la muestra sin germinar. Con respecto a las bandas de Amida I (1645  $\text{cm}^{-1}$ ) y a la Amida II (1539  $\text{cm}^{-1}$ ), se observó que la muestra QR fue la de mayor intensidad en ambos casos, seguida de QRG<sub>18</sub>, mientras que la intensidad de QRG<sub>24</sub> fue un poco mayor que la de QRG<sub>48</sub>. En la región entre 1500 y 1070  $\text{cm}^{-1}$  se distinguieron 7 bandas, al igual que para la quinoa blanca, correspondientes a 1455, 1417, 1373, 1240, 1150, 1102 y 1077  $\text{cm}^{-1}$ . La muestra QR fue la que presentó la máxima intensidad para todas las bandas, mientras que las otras muestras no presentaron un comportamiento definido. Por último, en el espectro se observaron cinco bandas a 1045, 1017, 994, 925 y 860  $\text{cm}^{-1}$ , la muestra que presentó

mayor intensidad de dichas bandas fue, nuevamente, la QR, y luego la siguieron QRG<sub>24</sub> y QRG<sub>48</sub>, prácticamente sin diferencias, y siendo QRG<sub>18</sub> la de menor intensidad.



**Figura 3.17.** Espectro FTIR-ATR de harina de quinoa roja sin germinar (QR) y de harina de quinoa roja germinada durante 18 (QRG<sub>18</sub>), 24 (QRG<sub>24</sub>) y 48 h (QRG<sub>48</sub>).

La Tabla 3.22 muestra la estructura secundaria de las proteínas de quinoa roja. Luego de 24 h de germinación, las proteínas presentaron una estructura secundaria más desplegada que en QR, evidenciado con un incremento de las hojas  $\beta$  paralela intramolecular y una disminución de  $\alpha$ -hélice.

**Tabla 3.22.** Número de onda y porcentaje de estructura secundaria de proteínas (Amida I) en las harinas de quinoa roja sin germinar (QR), germinado durante 18 h (QRG<sub>18</sub>), 24 h (QRG<sub>24</sub>) y 48 h (QRG<sub>48</sub>).

<b>Estructura secundaria</b>	<b>N° de onda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>QR</b>	<b>QRG<sub>18</sub></b>	<b>QRG<sub>24</sub></b>	<b>QRG<sub>48</sub></b>
<b>Hoja β paralela intermolecular</b>	<b>1620</b>	30,3 ±4,1 a	29,3±1,9a	31,1±3,0a	31,0±1,3 a
<b>Hoja β paralela intramolecular</b>	<b>1636</b>	20,8 ±1,2 a	20,9±1,2a	26,9±2,8b	23,6±1,2ab
<b>desordenada</b>	<b>1650</b>	27,1±0,7 b	29,1±1,5c	25,2±3,0ab	21,7±1,7a
<b>α-hélice</b>	<b>1661</b>	10,7±0,4 b	12,1±2,5c	8,8±1,5 a	15,7±0,6 c
<b>Giros β</b>	<b>1674</b>	5,7±0,05 a	7,3±0,7 c	7,0±0,1 b	4,6±1,5 a
<b>Hoja β antiparalela intermolecular</b>	<b>1684</b>	6,6 ±0,7 b	5,6±1,2ab	5,1± 0,1 a	5,8± 0,7 ab

Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas en una misma (p< 0,05).

La Tabla 3.23 muestra los cambios de las bandas del almidón como consecuencia de la germinación de la quinoa roja. Se observó un aumento de la banda 995 cm<sup>-1</sup> y disminución de la 1022 cm<sup>-1</sup>, a diferencia de la quinoa blanca donde no hubo diferencias. La relación 1045/1022 aumentó producto de la germinación, mientras que 1022/995 disminuyó, indicando una disminución de las regiones amorfas del almidón (no necesariamente a expensas de las cristalinas) y un aumento de las uniones de hélices de carbohidrato hidratadas (Monroy y col., 2018). No se observaron diferencias significativas entre los diferentes tiempos de germinación.

**Tabla 3.23.** Número de onda y contribución de los picos en la región del espectro entre los 900-1070  $\text{cm}^{-1}$  y cocientes entre los mismos de las harinas de quinoa roja sin germinar (QR), germinado durante 18 h (QRG<sub>18</sub>), 24 h (QRG<sub>24</sub>) y 48 h (QRG<sub>48</sub>).

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	QR	QRG <sub>18</sub>	QRG <sub>24</sub>	QRG <sub>48</sub>
995	56,9 ± 1,1 a	62,1 ± 0,6 b	63,5 ± 1,8 b	61,9 ± 1,8 b
1022	32,0 ± 2,0 b	26,9 ± 0,8 a	25,2 ± 1,8 a	25,9 ± 2,2 a
1044	11,1 ± 1,0 a	11,0 ± 1,4 a	11,3 ± 0,01 a	12,1 ± 1,8 a
1045/1022	0,35 ± 0,05 a	0,41 ± 0,06 ab	0,45 ± 0,03 b	0,47 ± 0,1 b
1022/995	0,56 ± 0,05 b	0,43 ± 0,01 a	0,40 ± 0,04 a	0,42 ± 0,04 a

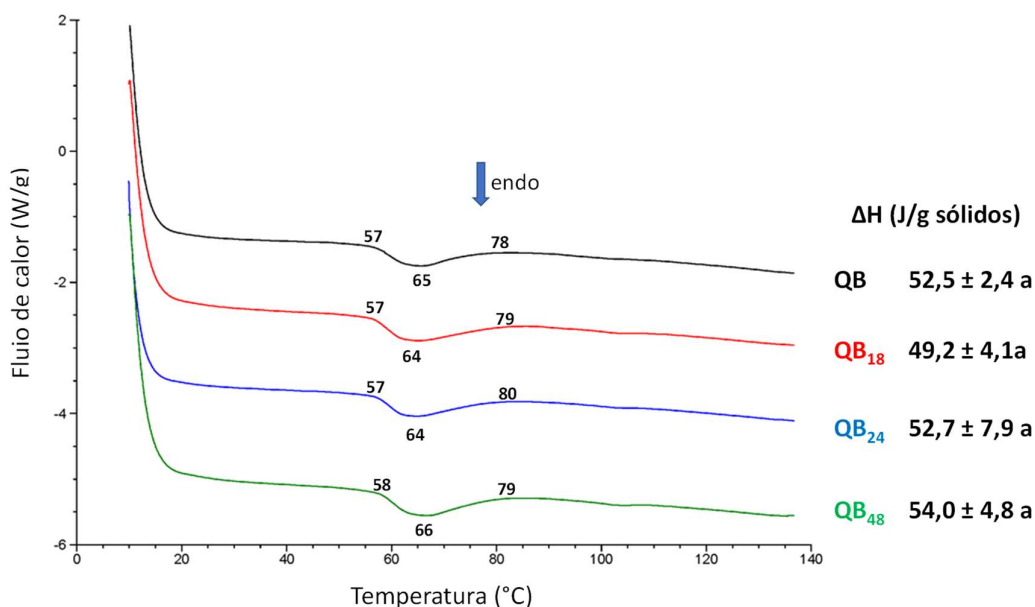
Banda 1045  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a la región cristalina. Banda 1022  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a la zona amorfa. Banda 995  $\text{cm}^{-1}$ : relacionada a las hélices de carbohidratos hidratadas.

Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Xing y col., (2021) utilizaron el análisis de FTIR para evaluar las propiedades estructurales del almidón aislado de quinoa blanca y roja sin germinar y germinadas por 24 y 48 horas. A partir de la relación de intensidad 1047  $\text{cm}^{-1}$ /1022  $\text{cm}^{-1}$  estimaron la cantidad de almidón cristalino en las muestras. Los valores de dicho cociente oscilaron entre 0,580 y 0,654, presentando los germinados valores más bajos, lo cual estaría reflejando que la germinación indujo una alteración en la estructura ordenada de los gránulos de almidón. En nuestras muestras, se observó un comportamiento similar en las harinas de quinoa roja, donde al incrementarse el tiempo de germinado, menor fue el valor del cociente 1047  $\text{cm}^{-1}$ /1022  $\text{cm}^{-1}$ . Sin embargo, en las muestras de quinoa blanca, solamente se detectó una pérdida de cristalinidad en QBG48.

### Propiedades térmicas de las harinas de quinoa

En la Figura 3.18 se muestran los termogramas obtenidos por DSC de las dispersiones de las harinas de quinoa blanca. Se observó un pico endotérmico en todas las muestras comprendido entre los 64-66°C el cual corresponde a la gelatinización del almidón (Xing y col., 2021) junto con la desnaturalización de las proteínas (López y col., 2018). La variación de entalpía ( $\Delta H$ ) en QB fue de 52,5 J/g. El proceso de germinación no modificó la temperatura del pico endotérmico ni el valor de variación de entalpía (Figura 3.18).

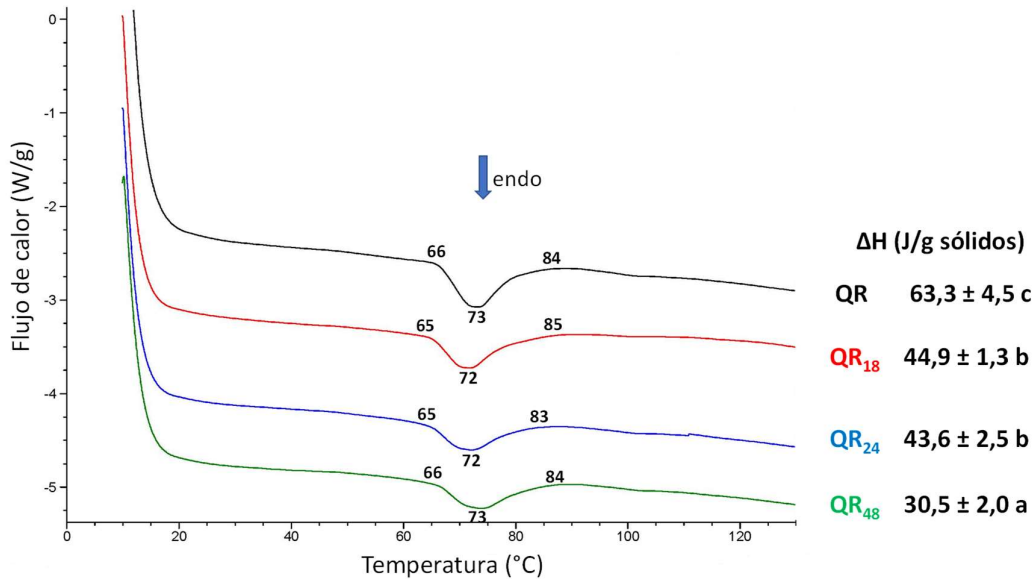


**Figura 3.18.** Termogramas DSC de las diferentes suspensiones de harina de quinoa blanca. QB: quinoa blanca sin germinar, QBG<sub>18</sub>: germinada durante 18 h, QBG<sub>24</sub>: germinada durante 24 h y QBG<sub>48</sub>: germinada durante 48 h. Se muestran los valores de temperatura y entalpía del proceso endotérmico ( $\Delta H$ ).

Estos resultados se pueden relacionar con lo discutido previamente, en donde el porcentaje de proteínas y almidón prácticamente no varía. Además mediante FTIR no se encontraron cambios en las regiones cristalinas y amorfas en los distintos tratamientos. Si bien el pico es probable que tenga contribución de proteínas y almidón, como este último es mayoritario, domina el proceso de gelatinización que suele observarse en almidones entre 60 y 65°C. La fracción 7S de las globulinas suele presentar pico a 70-75°C, mientras que la 11S lo hace entre 90 y 100°C. Por esta razón se puede suponer que la endoterma a 65°C sería atribuible principalmente al almidón.

Por otra parte, en la Figura 3.19 se pueden ver los termogramas correspondientes a las suspensiones de quinoa roja. En todas las muestras se observó un pico endotérmico entre 72-73°C. La variación de la entalpía en QR fue de 63,3 J/g (mayor que en QB). A diferencia de lo observado con QB, la germinación produjo una disminución significativa de la entalpía, alcanzando su mínimo valor para el caso de QRG<sub>48</sub> (Figura 3.19). Esta disminución de la variación de entalpía se puede asociar al menor contenido de almidón durante la germinación (QR=53% versus QRG<sub>48</sub>=49%) como se observó en la Figura 3.9.

B y la cristalinidad aumentó (mayor relación 1045/1022-FTIR). Asimismo, una disminución en el contenido de proteínas con la germinación (Figura 3.8 b) pudo haber contribuido a que se use menos energía en los procesos endotérmicos.



**Figura 3.19.** Termogramas DSC de las diferentes suspensiones de harina de quinoa roja: QR: quinoa roja sin germinar, QR<sub>18</sub>: germinada durante 18 h, QR<sub>24</sub>: germinada durante 24 h y QR<sub>48</sub>: germinada durante 48 h. Se muestran los valores de temperatura y entalpía del proceso endotérmico ( $\Delta H$ ).

Sin embargo, a diferencia de nuestros resultados, Xing y col. (2021) estudiaron el comportamiento térmico de suspensiones de almidón (50% p/v) extraído de quinoa blanca y roja germinada a 25°C durante 24 y 48 h, encontrando que la entalpía de gelatinización aumentó con la germinación. Estos autores, al igual que Li y col. 2017, relacionaron este efecto con que las amilasas hidrolizan preferentemente las regiones amorfas del almidón, lo que aumenta la estructura ordenada de doble hélice, pudiendo explicar el incremento en la entalpía de gelatinización del almidón de quinoa germinada. La diferencia con nuestros resultados puede deberse a que en las harinas sin germinar el almidón está nativo y unido a otros componentes, y parcialmente hidrolizado en las germinadas; mientras que el almidón aislado por estos autores ha sufrido cambios estructurales como consecuencia del proceso de extracción.

En concordancia con nuestros resultados, Jiménez y col. (2019) observaron que los valores de  $\Delta H$  disminuyeron en las suspensiones de harina de quinoa blanca germinada

(24°C por 24h) frente a la quinoa sin germinar, atribuyendo este comportamiento a la disminución del contenido del almidón luego de la germinación.

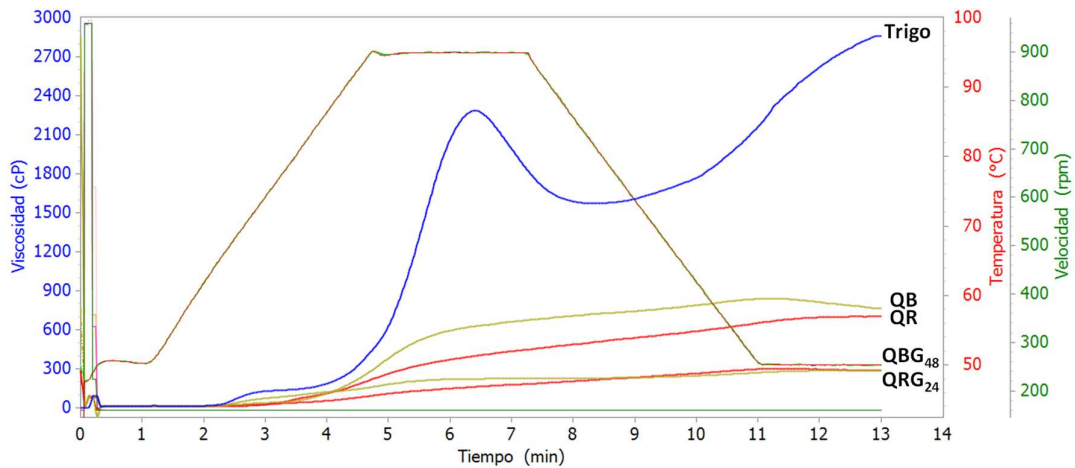
En función a lo anterior se podría explicar el comportamiento de las diferentes quinoas de este trabajo. En el caso de la quinoa blanca no se observaron cambios en el termograma, asociado con igual contenido de proteínas y almidón. Por otra parte, en la quinoa roja lo que puede estar ocurriendo es que el efecto del aumento de FDT de 12,4% (QR) hasta 18,3% (QRG48) junto con la disminución del contenido de almidón sea más importante que el ordenamiento de la estructura del mismo y por consiguiente el valor de  $\Delta H$  disminuya en las muestras germinadas.

### Propiedades de “pasting” de las harinas de quinoa

Los viscoamilogramas de las muestras de harinas de quinoa blanca y roja sin germinar (QB y QR) y germinadas (QBG<sub>48</sub> y QRG<sub>24</sub>) junto con la harina de trigo se muestran en la Figura 3.20. Mientras que en la Tabla 3.24 y 3.25 se muestran los parámetros obtenidos para QB y QR, respectivamente.

Al igual que en amaranto, en la Figuras 3.20 se observó un pico pronunciado entre los 6 y los 7 minutos, el cual se relaciona con la viscosidad máxima alcanzada durante la isoterma a 95°C. La harina de trigo fue la que presentó los valores más grandes en los parámetros medidos (Tablas 3.24 y Tabla 3.25), seguida de las harinas sin germinar QB y QR, aunque no se observó un pico tan pronunciado como en trigo. La viscosidad de pico fue mayor en QB respecto a QR. El comportamiento de la harina de trigo en comparación a las harinas de quinoa sin germinar, se puede interpretar debido a que el almidón de trigo con 25% amilosa frente a un 10-21% (Arendt y Zannini, 2013), provocando un menor hinchamiento del granulo de almidón, dando como resultado una curva más plana durante todo el ensayo.





**Figura 3.20.** Viscoamilograma de suspensiones de harinas de trigo, quinoa blanca (QB) y quinoa roja (QR) y germinadas (QBG<sub>48</sub> y QRG<sub>24</sub>).

En las harinas germinadas (QBG<sub>48</sub> y QRG<sub>24</sub>) prácticamente no se observó un pico de viscosidad máxima, lo cual podría deberse a la hidrólisis del almidón producto de la germinación como se observó en la Figura 3.9. Esta disminución de la viscosidad máxima se podría correlacionar con una estructura morfológica porosa que hace que los gránulos de almidón sean más susceptibles a la hidrólisis, lo que resultaría en una pérdida de resistencia al hinchamiento (Gutierrez-Osnaya y col., 2020). El almidón al ser hidrolizado por la  $\alpha$ -amilasa durante la germinación poseería cadenas más cortas y por lo tanto no podría mantener las interacciones polímero-polímero fuertes requeridas para la integridad de los gránulos hinchados (Steffolani y col., 2013; Xu y col., 2012), esto podría dar como resultado una disminución en la viscosidad pico, lo que sugeriría que la germinación debilita el poder espesante del almidón.

**Tabla 3.24.** Parámetros obtenidos a partir del viscoamilograma rápido.

Muestra	VP (cP)	VM (cP)	BD (cP)	VF (cP)	SB 1 (cP)	SB 2 (cP)	tp (min)
<b>Trigo</b>	2278 ± 13 <b>c</b>	1569 ± 4 <b>c</b>	709 ± 9 <b>c</b>	2849 ± 19 <b>c</b>	1280 ± 15 <b>c</b>	571 ± 6 <b>c</b>	6,37 ± 0,05 <b>b</b>
<b>QB</b>	662 ± 1 <b>b</b>	603 ± 3 <b>b</b>	59 ± 1 <b>b</b>	767 ± 2 <b>b</b>	164 ± 1 <b>b</b>	105 ± 1 <b>b</b>	7,0 ± 0,0 <b>a</b>
<b>QBG<sub>48</sub></b>	222 ± 5 <b>a</b>	216 ± 6 <b>a</b>	6 ± 1 <b>a</b>	282 ± 7 <b>a</b>	66 ± 1 <b>a</b>	61 ± 2 <b>a</b>	6,87 ± 0,09 <b>c</b>

Diferentes letras en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). VP: viscosidad de pico, VM: viscosidad mínima, BD: breakdown (VP – VM), SB: setback (SB1: VF – VM; SB 2: VF – VP), tp: tiempo del pico.

**Tabla 3.25.** Parámetros obtenidos a partir del viscoamilograma rápido.

Muestra	VP (cP)	VM (cP)	BD (cP)	VF (cP)	SB 1 (cP)	SB 2 (cP)	tp (min)
<b>Trigo</b>	2278 ± 13 <b>c</b>	1569 ± 4 <b>c</b>	709 ± 9 <b>c</b>	2849 ± 19 <b>c</b>	1280 ± 15 <b>c</b>	571 ± 6 <b>c</b>	6,37 ± 0,05 <b>a</b>
<b>QR</b>	427 ± 12 <b>b</b>	369 ± 11 <b>b</b>	58 ± 1 <b>b</b>	691 ± 16 <b>b</b>	322 ± 6 <b>b</b>	105 ± 1 <b>b</b>	7,0 ± 0,0 <b>b</b>
<b>QRG<sub>24</sub></b>	181 ± 4 <b>a</b>	155 ± 4 <b>a</b>	26 ± 0 <b>a</b>	286 ± 4 <b>a</b>	134 ± 1 <b>a</b>	61 ± 2 <b>a</b>	6,87 ± 0,09 <b>c</b>

Diferentes letras en una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). VP: viscosidad de pico, VM: viscosidad mínima, BD: breakdown (VP – VM), SB: setback (SB1: VF – VM; SB 2: VF – VP), tp: tiempo del pico.

Padmashree y col., (2018) encontraron que la viscosidad final fue mayor para las muestras de quinoa blanca y roja sin germinar que para la germinadas. A su vez, Xing y col. (2021) observaron el mismo comportamiento que el de este trabajo al analizar el comportamiento viscoamilográfico de almidón de quinoa blanca y roja germinada (25°C por 24 y 48 h) como sin germinar, en donde la viscosidad de pico fue mayor en las muestras de quinoa sin germinar, respecto a las harinas germinadas. A su vez, el pico de viscosidad fue mayor en la harina de quinoa blanca frente a la quinoa roja, atribuyéndolo al mayor porcentaje de amilosa en QB.

### III.B.9. Retención de solventes

La Tabla 3.26 muestra la capacidad de retención de solventes de las diferentes harinas de quinoa blanca. Se observó una menor capacidad de retención de agua a lo largo de la germinación indicando que durante la germinación disminuyeron los componentes hidrofílicos. Por otro lado, la capacidad de retención de sacarosa disminuyó a lo largo de la germinación, lo que podría señalar una pérdida de pentosanos posiblemente por efecto de la hidrólisis durante la germinación. Respecto a la capacidad de retención de carbonato de sodio, se observó un aumento del mismo con el avance de la germinación. Por último, las harinas germinadas presentaron menor capacidad de retención de ácido láctico respecto a QB.

**Tabla 3.26.** Capacidad de retención de los diferentes solventes en las muestras de quinoa blanca sin germinar y germinada.

	Muestras			
	QB	QB <sub>18</sub>	QB <sub>24</sub>	QB <sub>48</sub>
<b>CRA</b>	130,6 ± 0,7 <b>c</b>	125,9 ± 0,5 <b>b</b>	112,8 ± 2,0 <b>a</b>	113,2 ± 2,7 <b>a</b>
<b>CRS</b>	113,9 ± 5,5 <b>c</b>	105,7 ± 1,7 <b>bc</b>	101,5 ± 2,2 <b>b</b>	90,1 ± 4,9 <b>a</b>
<b>CRC</b>	109,7 ± 4,0 <b>a</b>	118,0 ± 0,9 <b>b</b>	124,5 ± 0,7 <b>c</b>	133,3 ± 0,9 <b>d</b>
<b>CRAcL</b>	130,4 ± 4,8 <b>b</b>	120,6 ± 4,6 <b>a</b>	118,1 ± 3,2 <b>a</b>	120,6 ± 0,8 <b>a</b>

CRA: capacidad de retención de agua, CRS capacidad de retención de sacarosa, CRC: capacidad de retención de carbonato de sodio, CRAcL: capacidad de retención de ácido láctico. Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Por su parte, en la Tabla 3.27 se muestra la capacidad de retención de solventes de las diferentes harinas de quinoa roja. En cuanto a la capacidad de retención de agua, de sacarosa y de carbonato de sodio no se observó una tendencia marcada con la germinación a diferencia de QB.

**Tabla 3.27.** Capacidad de retención de los diferentes solventes en las muestras de quinoa roja sin germinar y germinada.

	<b>Muestra</b>			
	<b>QR</b>	<b>QR<sub>18</sub></b>	<b>QR<sub>24</sub></b>	<b>QR<sub>48</sub></b>
<b>CRA</b>	120,5 ± 1,7 <b>bc</b>	115,7 ± 2,2 <b>b</b>	106,8 ± 4,7 <b>a</b>	125,6 ± 0,9 <b>c</b>
<b>CRS</b>	120,7 ± 1,9 <b>ab</b>	107,8 ± 8,0 <b>a</b>	115,2 ± 3,8 <b>ab</b>	114,4 ± 6,9 <b>ab</b>
<b>CRC</b>	125,3 ± 6,1 <b>c</b>	117,5 ± 2,8 <b>bc</b>	110,1 ± 0,2 <b>b</b>	117,3 ± 1,3 <b>bc</b>
<b>CRAcL</b>	133,0 ± 1,2 <b>c</b>	126,1 ± 4,6 <b>b</b>	118,1 ± 1,1 <b>a</b>	120,5 ± 1,5 <b>a</b>

CRA: capacidad de retención de agua, CRS capacidad de retención de sacarosa, CRC: capacidad de retención de carbonato de sodio, CRAcL: capacidad de retención de ácido láctico. Diferentes letras en una misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## **Conclusiones parciales- Parte B**

En función a los resultados obtenidos en ambas quinoas, se seleccionaron las harinas de quinoa blanca germinada por 48 h (QBG<sub>48</sub>) y de quinoa roja germinada por 24 h (QRG<sub>24</sub>) para utilizarlas en la elaboración de las masas y panes con harina de trigo, que reunieron las siguientes características que se resumen a continuación:

### **Quinoa blanca**

- ✓ La germinación durante 48h aumentó el contenido de fibra dietaria total y de lípidos, sin modificar el contenido de proteínas. Presentando QBG<sub>48</sub> el mayor contenido de Ac. Linoleico (18:2-  $\omega$ 6) y Ac.  $\alpha$ -Linolénico (18:3-  $\omega$ 3) y el mejor balance  $\omega$ 6/ $\omega$ 3. Por otro lado, QBG<sub>48</sub> presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.
- ✓ En condiciones no desnaturantes ni disociantes se extrajeron mayoritariamente proteínas de 66 y 58 kDa que forman agregados de alta masa molecular mediante uniones no covalentes (puente hidrogeno e hidrofóbicas) y que con la ruptura de S-S libera proteínas de 35 y 26 kDa. Hubo un leve incremento en la extracción de las proteínas de 66 y 58 kDa con la germinación.
- ✓ La estructura secundaria de las proteínas en QBG<sub>48</sub> fue más compacta que en la sin germinar.
- ✓ No se observaron cambios en las propiedades térmicas por DSC de la quinoa blanca (germinada y sin germinar) asociado a igual contenido de proteínas y almidón. Sin embargo por RVA la viscosidad de pico fue mayor en QB.

### **Quinoa roja**

- ✓ Luego de 24 h de germinación en las semillas de quinoa roja, la harina QRG<sub>24</sub> presentó mayor contenido de fibra dietaria total, proteínas y lípidos, aumentando el porcentaje de aminoácidos esenciales (Lys, Hys y Met) y de los ácidos grasos  $\alpha$ -linolenico y oleico. Por otro lado, en QRG<sub>24</sub> se evidenció el mayor contenido de compuestos fenólicos y menor contenido de sodio.
- ✓ Mediante electroforesis se extrajeron las mismas bandas que para la quinoa blanca, pero en mayor proporción a partir de muestras germinadas.

- ✓ QRG<sub>24</sub> presentó una estructura proteica más desplegada que QR y una mayor región cristalina del almidón.
- ✓ El contenido de almidón en QRG<sub>24</sub> fue menor y junto con el aumento de fibra disminuyó el valor de  $\Delta H$  (gelatinización de almidón y desnaturalización de proteínas).

# Capítulo IV

## Masas y Panes de trigo con harinas de amaranto

## IV.1. Masas

### IV.1.1. Caracterización de la harina de trigo

La composición porcentual de la harina de trigo utilizada en la elaboración de masas y panes con amaranto se muestra en la Tabla 4.1.

De acuerdo al porcentaje de cenizas esta harina se tipifica como 000, debido a que el porcentaje de ceniza es menor a 0,650% y mayor a 0,492% (CAA, 2022). El porcentaje de humedad es adecuado para esta harina. Es importante conocer el contenido de proteínas, ya que influye sobre los atributos de calidad del producto terminado (Wheat Marketing Center, 2004). En el caso de la harina utilizada, el contenido proteico hallado es el esperable para una harina de este tipo, apta para panificación.

**Tabla 4.1.** Composición porcentual de la harina de trigo

<b>Componente</b>	<b>Composición porcentual (%)</b>
<b>Proteínas (P)</b>	11,2 ± 0,2
<b>Lípidos (L)</b>	2,3 ± 0,1
<b>Humedad (H)</b>	12,2 ± 0,2
<b>Fibra dietaria total (FDT)</b>	4,8 ± 0,3
<b>Cenizas (C)</b>	0,6 ± 0,01
<b>Hidratos de carbono (HC)</b>	68,9 ± 0,4

Valores promedio ± DS

En la Tabla 4.2 se presentan los parámetros farinográficos, alveográficos y el contenido porcentual de gluten húmedo (GH), gluten seco (GS) y la relación gluten húmedo/gluten seco (GH/GS) correspondientes a la harina de trigo.

La harina de trigo tiene parámetros farinográficos indicativos de una harina de buena calidad panadera (Tabla 4.2). La relación P/L cercana a 1 y W también sugieren que esta harina resulta apta para la elaboración de productos de horno fermentados (panes). La relación GH/GS resultó cercana a la óptima que es 3, y da idea de la capacidad de retención de agua del gluten, también está asociada a la calidad panadera de la harina.



**Tabla 4.2.** Parámetros farinográficos, alveográficos y contenido de gluten de la harina.

<b>Parámetros farinográficos</b>			
<b>Ab (%)</b>	<b>t<sub>d</sub> (min)</b>	<b>Es (min)</b>	<b>Af (UB)</b>
55,9	11,7	20,5	50
<b>Parámetros alveográficos</b>			
<b>P (mm)</b>	<b>L (mm)</b>	<b>P/L (-)</b>	<b>W*10<sup>-4</sup> (J)</b>
86	62	1,4	241
<b>Contenido de gluten</b>			
<b>GH (%)</b>	<b>GS (%)</b>	<b>GH/GS (-)</b>	
33	10,7	3,1	

Ab: absorción farinográfica, t<sub>d</sub>: tiempo de desarrollo, Es: estabilidad, Af: aflojamiento, P: tenacidad, L: extensibilidad, W: trabajo alveografico, GH: gluten húmedo, GS: gluten seco.

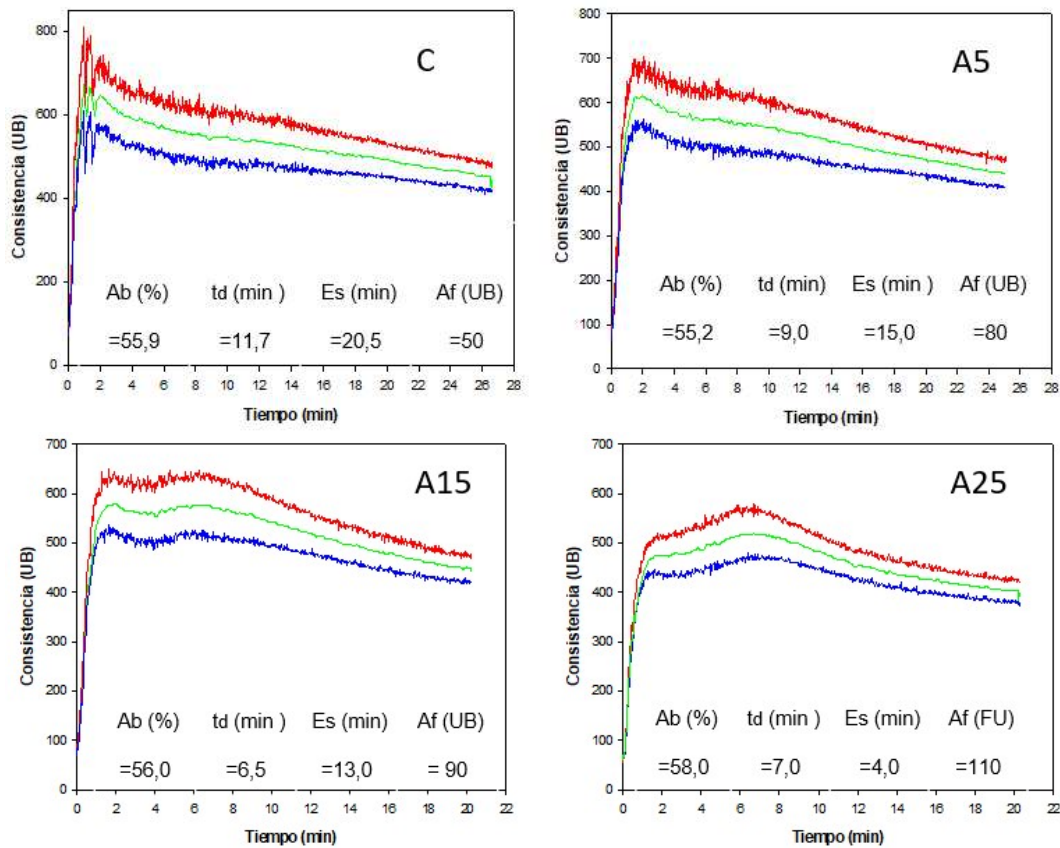
#### IV.1.2. Calidad panadera de las mezclas

##### IV.1.2.1. Perfiles farinográficos

Los farinogramas de las diferentes formulaciones se muestran en la Figura 4.1. La muestra C (harina de trigo) presentó un primer pico pronunciado a corto tiempo, asociado a la hidratación de los componentes de la harina; y un segundo pico alrededor de 12 minutos perteneciente al desarrollo óptimo de la red de gluten en la masa. La incorporación del 5% de harina de amaranto (A5) no cambió el farinograma respecto al de la harina de trigo, se obtuvo un primer pico con mayor consistencia que el segundo; mientras que el comportamiento opuesto se observó con mayores cantidades de harina de amaranto, 15 y 25% (A15 y A25) como puede observarse en la Figura 4.1.

Como vimos en el Capítulo III, el amaranto contiene un 12,8% de proteína y un 9,33% de FDT. Según Lamothe y col. (2015) el 80% de esa fibra es insoluble y podría junto con la proteína estar afectando la reología de la masa. El segundo pico farinográfico más pronunciado que el primero fue observado por diferentes autores atribuyéndole esas diferencias a cómo los diferentes componentes interaccionan con el agua. En este sentido, al incorporar en la harina de trigo fibra soluble como la inulina -hasta 12%p/p- (Salinas y Puppo, 2014), fibra principalmente insoluble como la que está presente en

harina de algarroba de la pulpa (hasta 30%) ó proteínas presentes en harina de germen de algarroba (Salinas y col., (2015) se observó un segundo pico más consistente que el primero. Por otra parte, Mis y col., (2012) obtuvieron un resultado similar al nuestro con la adición de avena con 12% de fibra mayormente soluble a la harina de trigo, observando un segundo pico superior al primero. Atribuyeron dicho comportamiento a la velocidad del proceso de hidratación de los componentes de la masa, lo que sugiere una menor tasa de hidratación en presencia de altas cantidades de fibra.



**Figura 4.1.** Farinogramas típicos obtenidos para la harina de trigo (**C**) y para las mezclas con 1,5% de NaCl y distintas cantidades de harina de trigo de amaranto sin germinar: 5% (**A5**), 15% (**A15**) y 25% (**A25**).

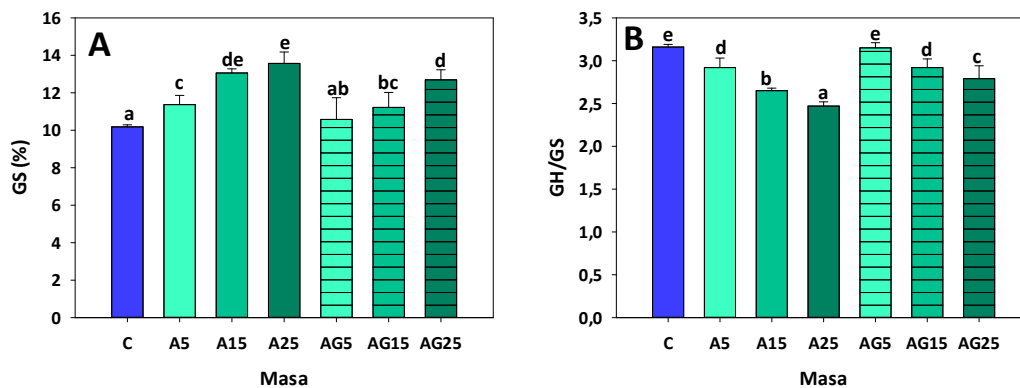
Los parámetros farinográficos obtenidos a partir del farinograma están insertos en cada uno de los gráficos de la Figura 4.1. Se puede observar que resultaron modificados con la presencia de harina de amaranto. La absorción de agua (Ab) aumentó con la adición de amaranto, especialmente en A25, mientras que el tiempo de desarrollo ( $t_d$ ) disminuyó principalmente en las mezclas con mayor contenido de amaranto (A15 y A25),

alcanzando valores inferiores a 10 min. La estabilidad de la masa durante el amasado (Es) disminuyó de 20,5 min (C) a 4 min (A25) y el grado de aflojamiento (Af) aumentó desde 50 (C) a 110 UB (A25).

Bojnanská y Smitalová (2014) reportaron el aumento de la absorción de agua y la disminución de la estabilidad farinográfica al reemplazar harina de trigo por harina de amaranto en un 30%. Sin embargo, Banerji y col. (2018) observaron una disminución en la absorción de agua y la estabilidad farinográfica con el reemplazo (20-50%) de la harina de trigo por harina de *A. hypochondriacus*. La disminución de la estabilidad, puede deberse a la dilución del gluten y a la pérdida de propiedades viscoelásticas, producto de la adición de amaranto. Otros autores observaron la misma tendencia al mezclar harina de trigo con harina de garbanzos (Mohammed y col., 2012) y con leguminosas como la soja, lupino, lentejas y frijoles (Doxastakis y col., 2002; Rosales-Juárez y col., 2008; Kohajdová y col., 2013). Este comportamiento podría atribuirse a la naturaleza y al mayor contenido de proteínas de estas semillas, que comúnmente son proteínas globulares que establecen una interacción diferente y más fuerte con el agua, lo que conduce a una alta absorción. Además, este comportamiento también podría deberse a la interacción del agua con los almidones y la fibra.

#### 4.1.2.2. Contenido de gluten de la masa de trigo y amaranto

Se conoce como gluten a la red formada por gluteninas y gliadinas hidratadas durante el amasado. Es importante la determinación del contenido de gluten, ya que permite conocer cómo se relacionan las gluteninas y gliadinas con el agua y con los diferentes componentes de las harinas. Todas las masas presentaron valores similares de gluten húmedo (GH): la masa C presentó un valor de  $31,8 \pm 0,5\%$  y la adición de harina de amaranto no cambió significativamente este parámetro en las distintas masas (A5:  $33,1 \pm 1,2\%$ , A15:  $34,6 \pm 0,6\%$  y A25:  $33,5 \pm 1,6\%$ ). Además, las masas con amaranto germinado presentaron valores de GH de alrededor del 33% para AG5 y AG15, mientras que para AG25, el valor fue significativamente mayor que el observado para C ( $35,4\%$  vs.  $31,8\%$ ). Este comportamiento podría deberse al contenido de proteínas de amaranto incorporadas a la harina de trigo y a la nueva estructura que adquieren esas proteínas después de la germinación (Aphalo y col., 2009). Los valores de gluten seco (GS) y la relación GH/GS se muestran en la Figura 4.2.



**Figura 4.2.** Contenido de gluten de las masas de harina de trigo y amaranto germinado y no germinado: **A)** Gluten seco (GS); **B)** relación de gluten húmedo a seco (GH / GS). Niveles de harinas de amaranto: muestras no germinadas: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15), 25% (A25); muestras germinadas: 5% (AG5), 15% (AG15), 25% (AG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Los valores de GS aumentaron con la incorporación de harina de amaranto, siendo más elevados en las masas con harina de amaranto sin germinar (Figura 4.2.A). Los valores de GS se pueden asociar con la proporción de proteína insoluble, ya que se obtiene luego del lavado continuo de la masa con agua y posterior secado, es decir, se van con el agua de lavado el almidón y las proteínas solubles, quedando las insolubles formando la matriz de gluten. Las masas con amaranto germinado presentaron una menor cantidad de gluten con respecto a las masas sin germinar, debido a que durante la germinación se hidrolizan las proteínas que podrían actuar en forma sinérgica con las proteínas de trigo en la estabilización de la matriz de gluten. Por otro lado, en cuanto a la relación GH/GS que da idea de la capacidad de retención de agua del gluten, tanto las masas A (sin germinar) como las AG (germinadas) presentaron la misma tendencia, una disminución de éste parámetro con el incremento del porcentaje de harina de amaranto (Figura 4.2.B). Sin embargo, se obtuvo un valor de alrededor de 3 asociado a una calidad óptima de panificación de la harina (Salinas y Puppo 2014). Además, la disminución observada fue menos pronunciada para AG.

#### IV.1.3. Propiedades de hidratación de la masa

La humedad, actividad acuosa y movilidad molecular dan idea de cómo se relaciona el agua con los componentes de la mezcla de harinas. Los valores de humedad de las diferentes masas estudiadas se muestran en la Tabla 4.3. La masa de trigo (C) presentó

un 43% de humedad. Este parámetro aumentó con el nivel de harina de amaranto (A y AG), alcanzando los valores más altos del 45% con el nivel máximo de adición de amaranto (A25 y AG25). El valor más alto de humedad va de la mano con un valor más alto de absorción de agua farinográfica (Figura 4.1.). Por otro lado, la disponibilidad de agua representada por la actividad acuosa ( $a_w$ ) (Tabla 4.3) fue estadísticamente la misma en todas las formulaciones ( $a_w \approx 0,97$ ), a la vez que el valor del pH se mantuvo constante en todas las masas, teniendo un valor de aproximado de 5,7-5,8 (Tabla 4.3.).

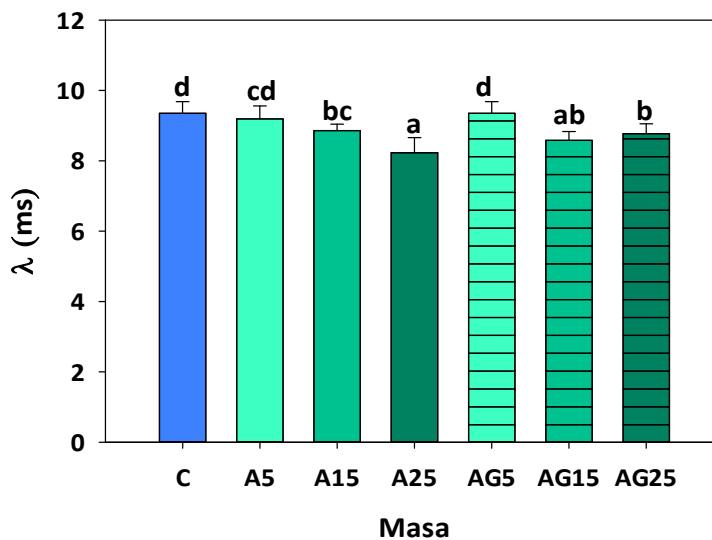
**Tabla 4.3.** Contenido de humedad, valores de actividad acuosa ( $a_w$ ) y de pH de las masas de harina de trigo y amaranto.

<b>Muestra</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b><math>a_w</math></b>	<b>pH</b>
<b>C</b>	43,1 ± 0,5 <b>a</b>	0,9766 ± 0,0026 <b>a</b>	5,78 ± 0,01 <b>a</b>
<b>A5</b>	43,6 ± 0,4 <b>b</b>	0,9767 ± 0,0013 <b>a</b>	5,68 ± 0,30 <b>a</b>
<b>A15</b>	44,2 ± 0,4 <b>c</b>	0,9771 ± 0,0017 <b>a</b>	5,77 ± 0,13 <b>a</b>
<b>A25</b>	44,8 ± 0,3 <b>d</b>	0,9768 ± 0,0008 <b>a</b>	5,81 ± 0,16 <b>a</b>
<b>AG5</b>	44,0 ± 0,2 <b>b</b>	0,9744 ± 0,0026 <b>a</b>	5,76 ± 0,10 <b>b</b>
<b>AG15</b>	44,3 ± 0,3 <b>c</b>	0,9756 ± 0,0018 <b>a</b>	5,77 ± 0,12 <b>b</b>
<b>AG25</b>	45,1 ± 0,2 <b>d</b>	0,9758 ± 0,0009 <b>a</b>	5,79 ± 0,15 <b>b</b>

Formulación con diferentes niveles de harinas de amaranto: no germinados: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15) y 25% (A25); germinados: 5% (AG5), 15% (AG15) y 25% (AG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

El tiempo de relajación de spin-spin  $^1\text{H}$  ( $\lambda$ ) representa la movilidad molecular de todos los componentes de la masa que tienen  $^1\text{H}$ , principalmente del agua. Los sistemas con tiempos de relajación más cortos son menos móviles (estado sólido) que aquellos con tiempos de relajación más largos (estado líquido). Los valores altos de  $\lambda$  denotan alta movilidad molecular; esto significa que, en la masa, el agua se encuentra unida a los otros componentes en una forma débil y, por lo tanto, está en un estado móvil de alta energía, lo que lleva a una estructura de gluten más lábil (Salinas y col., 2012). Este fenómeno depende de la estructura molecular de todos los componentes presentes en la masa. Los valores de  $\lambda$  de la masa se muestran en la Figura 4.3. La masa de trigo control (C) y la masa con 5% de harina de amaranto (A5 y AG5) presentaron la mayor movilidad

molecular estadísticamente significativa. Al aumentar el porcentaje de harina de amaranto (tanto germinada como sin germinar) se observó una disminución en los valores de  $\lambda$ , asociados con una menor movilidad molecular debido a la presencia de los diferentes componentes provenientes de las semillas de amaranto, principalmente proteínas y almidón, que podrían retener el agua. La tendencia observada para  $\lambda$  fue opuesta a la obtenida para el gluten seco (GS), asociado como se describió anteriormente, a las proteínas insolubles del sistema (Figura 4.2.A).



**Figura 4.3.**  $^1\text{H}$  spin-spin tiempo de relajación ( $\lambda$ ). Niveles de harina de amaranto no germinada: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15) y 25% (A25). Niveles de harina de amaranto germinado: 5% (AG5), 15% (AG15), 25% (AG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### IV.1.4. Caracterización reológica de las masas

Las propiedades reológicas de las masas resultan muy importantes, ya que permiten poder desarrollar productos con la calidad deseada. En las masas de trigo, el gluten tiene una importancia fundamental puesto que le confiere propiedades elásticas y de extensibilidad a la masa, para que luego del proceso de panificación dé lugar a una miga esponjosa y aireada. Es por ello que resulta importante poder caracterizar el comportamiento reológico de las masas con la incorporación de nuevos ingredientes en las formulaciones. A continuación, se describen los resultados obtenidos para los diferentes ensayos reológicos llevados a cabo sobre las masas compuestas harina de trigo-harina de amaranto germinado y sin germinar.

#### IV.1.4.1. Análisis del perfil de textura

El análisis del perfil de textura (TPA) de las masas panarias es un ensayo reológico empírico que puede ser útil a la hora de establecer relaciones entre las características reológicas de la masa y la calidad del producto final obtenido a partir de ella. En la Tabla 4.4 se muestran diferentes parámetros de textura obtenidos del análisis del perfil de textura de las masas.

La masa de harina de trigo (C) presentó una dureza de 1,5 N. La adición de harina de amaranto sin germinar (A) formó masas con mayor dureza que C, siendo más duras las masas con 5% de amaranto (Tabla 4.4). Al aumentar el reemplazo de amaranto la dureza disminuyó significativamente. Mientras que con la incorporación de harina de amaranto germinado (AG) las masas AG5 y AG15 presentaron similar dureza (1,7N) y significativamente mayor que la masa de trigo, sin embargo, al reemplazar con un 25% (AG25) la dureza disminuyó significativamente.

El aumento de la dureza de las masas como consecuencia del agregado de amaranto se podría explicar por el tipo de proteínas que provienen de este pseudocereal. Diferentes autores encontraron que tienen una alta proporción de proteínas globulares de tipo 11S y globulina-P (Avanza y Añón, 2007; Quiroga y col., 2009).

Estas proteínas globulares son solubles en agua a diferencia del gluten que es insoluble, aunque el gluten tiene la capacidad de absorber agua. La presencia de estas proteínas globulares promueve el desarrollo del gluten como se describió previamente en la Figura 4.2.A contribuyendo a la formación de una red más estructurada (menor  $\lambda$ , Figura 4.3). Sin embargo, con el incremento de harina de amaranto A y AG, se estaría produciendo una dilución en las proteínas de gluten la cual no puede ser compensada por las proteínas de amaranto, la masa se ablanda con la incorporación de amaranto, especialmente a 25%.

**Tabla 4.4.** Parámetros de textura de la masa de harina de trigo y amaranto.

Masa	Parámetros de textura				
	Dureza (N)	Cons (N.s)	Adh (N.s)	Elast (-)	Cohes (-)
<b>C</b>	1,5 ± 0,3 <b>a</b>	11,7 ± 2,0 <b>b</b>	5,0 ± 0,5 <b>ab</b>	0,87 ± 0,02 <b>a</b>	0,73 ± 0,04 <b>ab</b>
<b>A5</b>	2,0 ± 0,2 <b>d</b>	15,9 ± 1,4 <b>d</b>	5,0 ± 1,3 <b>ab</b>	0,90 ± 0,02 <b>bc</b>	0,72 ± 0,04 <b>a</b>
<b>A15</b>	1,8 ± 0,3 <b>c</b>	13,0 ± 1,4 <b>c</b>	5,3 ± 1,1 <b>b</b>	0,90 ± 0,01 <b>bcd</b>	0,75 ± 0,02 <b>cd</b>
<b>A25</b>	1,6 ± 0,2 <b>b</b>	12,2 ± 1,9 <b>b</b>	5,1 ± 0,6 <b>ab</b>	0,90 ± 0,02 <b>bcd</b>	0,75 ± 0,02 <b>bc</b>
<b>AG5</b>	1,7 ± 0,2 <b>bc</b>	13,5 ± 1,3 <b>c</b>	5,3 ± 0,8 <b>ab</b>	0,89 ± 0,02 <b>b</b>	0,73 ± 0,02 <b>ab</b>
<b>AG15</b>	1,7 ± 0,3 <b>bc</b>	12,1 ± 1,2 <b>b</b>	5,7 ± 0,5 <b>c</b>	0,90 ± 0,02 <b>cd</b>	0,76 ± 0,03 <b>cd</b>
<b>AG25</b>	1,5 ± 0,2 <b>a</b>	9,5 ± 1,3 <b>a</b>	4,9 ± 0,7 <b>a</b>	0,91 ± 0,01 <b>d</b>	0,77 ± 0,03 <b>d</b>

Parámetros de textura: Dureza, Consistencia (Cons), Adhesividad (Adh), Elasticidad (Elast), Cohesividad (Cohes). Formulación con diferentes niveles de harinas de amaranto: no germinadas: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15) y 25% (A25); germinadas: 5% (AG5), 15% (AG15) y 25% (AG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  DE.

Además de proteínas, el amaranto aporta alrededor de un 10% de fibra fundamentalmente insoluble que también podría contribuir a la dureza de la masa. En este sentido, Cotovanu y Mironeasa (2021) encontraron un aumento en la dureza de las masas de harina de trigo con harina de amaranto (*A. caudatus*) a medida que se incrementó (hasta un 20%) la cantidad de amaranto atribuyéndolo a ambos macrocomponentes (proteína y fibra).

La consistencia (Cons) de las masas varió en forma similar a la textura mientras que no se observaron diferencias significativas en la adhesividad (Adh), a excepción de AG15 que presentó el valor más alto (Tabla 4.4). La masa de trigo (C) tuvo el valor más bajo de elasticidad (Elast), y este parámetro aumentó con la adición de harina de amaranto tanto germinada como sin germinar. Por otro lado, la masa C y las masas con 5% de amaranto (A5 y AG5) presentaron menor cohesividad (Cohes) mientras que en las masas con 15% y 25% de harina de amaranto (A15, A25, AG15 y AG25) la cohesividad fue mayor.

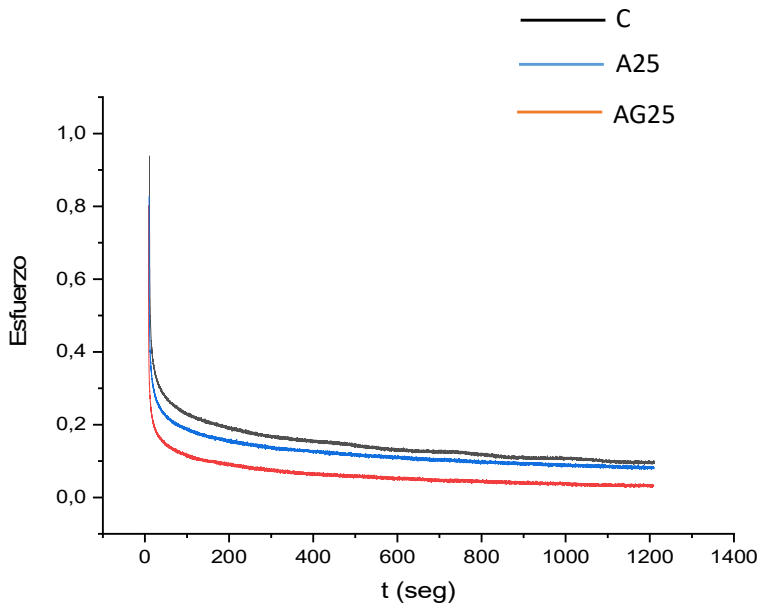
El aumento en la cohesividad junto con una disminución en la adhesividad y la movilidad molecular en la masa con niveles altos de harina de amaranto ( $\geq 15\%$ ) sugieren una fuerte interacción de los componentes de esta harina (proteínas, almidón, fibra) entre



sí y con el agua, lo que contribuye a mantener o disminuir ligeramente la dureza, consistencia y elasticidad de la masa.

#### IV.1.4.2. Estudios de relajación de las masas

En sólidos viscoelásticos como es el caso de la masa, el esfuerzo decae hacia un valor de equilibrio. Las curvas de relajación son curvas de esfuerzo decreciente en función del tiempo que exhiben tres zonas (Yadav y col., 2006): una primera zona de gran pendiente, una zona de decaimiento intermedio, y una tercera con una pendiente insignificante que alcanza un valor de esfuerzo de equilibrio. La relajación es un fenómeno relacionado con la reorientación molecular y estructural del sistema que se estudia a través de los módulos de elasticidad y relajación obtenidos del modelo generalizado de Maxwell. En la Figura 4.4 se puede observar un gráfico típico de esfuerzo en función del tiempo para la masa de trigo (C) y con 25% de adición de harina de amaranto germinado (AG25) y sin germinar (A25). El comportamiento de relajación de la masa puede describirse a través de dos procesos: una relajación rápida (de 0,1 a 10 s), la cual se asocia a moléculas pequeñas que se relajan más rápido, y un proceso lento (de 10 a 10.000 s) relacionado con la relajación de los polímeros de alto peso molecular que conforman el gluten (Dobraszczyk y Morgenstern, 2003; Li y col., 2003).



**Figura 4.4.** Curvas de relajación de esfuerzo obtenidas para masas las C, A25 y AG25.

Aplicando el modelo de Maxwell generalizado para regresionar las diferentes curvas de relajación podemos obtener los módulos elásticos (E) y tiempos de relajación (T) de las diferentes zonas. En general, el tiempo de relajación (T) tiene un comportamiento inverso al módulo elástico (E) y proporcional a la viscosidad ( $\eta$ ) y está relacionado con el grado de relajación; es decir, cuanto mayor es el valor de T, mayor es el componente viscoso con respecto al elástico, y por lo tanto la masa está más relajada. Los parámetros de relajación E y T de las masas para las diferentes zonas de la curva se muestran en la Figura 4.5.

Las Figuras 4.5 A y B muestran el módulo elástico (E1) y el tiempo de relajación (T1) correspondientes a la primera zona de las curvas de relajación. Ambos parámetros gobiernan la relajación al comienzo de la deformación, atribuida a la reorientación de las moléculas pequeñas. Las masas de trigo (C) y A5 presentaron el valor más alto de E1, mientras que las masas con 15% y 25% de harina de amaranto (germinado y si germinar) mostraron los valores más bajos de E1 (Figura 4.5.A), siendo la disminución más pronunciada en la masa con amaranto germinado. Los resultados podrían deberse a que, como vimos en el Capítulo III, la proteína del amaranto se hidrolizó parcialmente durante la germinación obteniéndose proteínas de menor tamaño que contribuyen en menor medida al componente sólido observándose un menor módulo elástico en la masa AG25. Por otro lado, esta variación significativa en E no se reflejó en T1, ya que no se observaron diferencias significativas con respecto a la masa C a excepción de AG25 (Figura 4.5.B). Este comportamiento sugiere que la masa AG25 tuvo el menor grado de relajación ( $<T1$ ) en la zona 1 con un E1 más bajo, lo que indica una baja viscosidad ( $T1 = \eta/E1$ ).

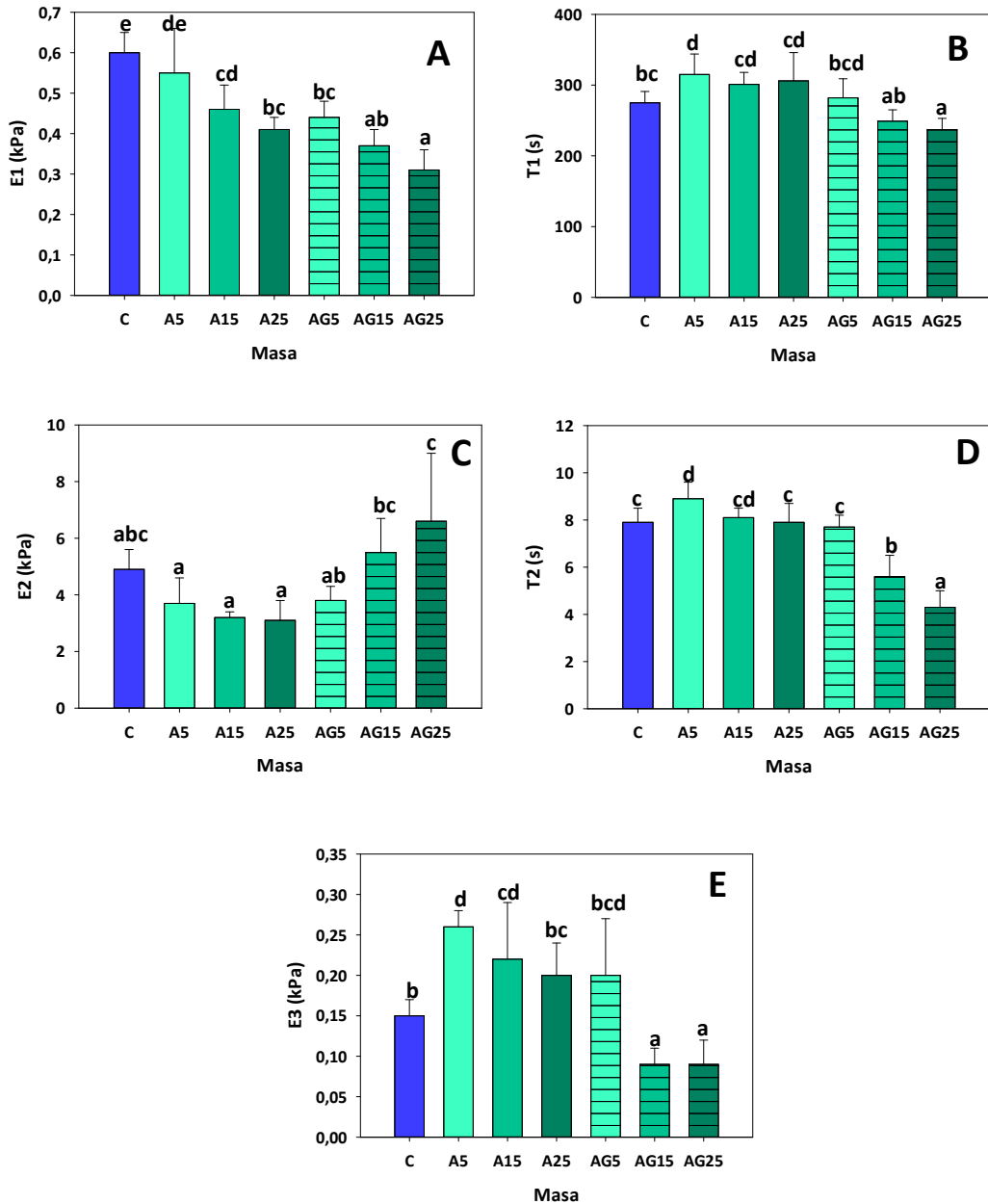
Todas las masas presentaron valores de E2 de un orden más alto, en comparación con los módulos E1 y E3 (Figura 4.5.A, C y E), debido a la presencia de proteínas de gluten poliméricas que son de mayor tamaño y experimentan menos relajación y, por lo tanto, contribuyen en gran medida a la elasticidad de la masa. No se observaron diferencias significativas en los valores de E2 con respecto a C para la masa con harina de amaranto sin germinar (A), mientras que, para AG, E2 aumentó con el incremento de la harina de AG (Figura 4.5.C). Este aumento en E2 sugiere la formación de una estructura estabilizada por polímeros de mayor elasticidad. Esto podría deberse a la contribución de las proteínas globulares de amaranto que después de la germinación cambiaron su

tamaño y conformación, adquiriendo una estructura que mejoró la interacción con el agua y, en consecuencia, la estructura de la masa, que también se evidenció por una menor movilidad molecular.

El comportamiento para el tiempo de relajación T2 (Figura 4.5.D) fue similar al observado para T1. Es decir, este parámetro disminuyó en las masas AG con el incremento de la cantidad de amaranto germinado. Los valores muy bajos de T2 para AG25 sugieren un bajo grado de relajación de los polímeros de gluten en presencia de proteínas de amaranto de semillas germinadas, en concordancia con el valor más alto de E2.

Finalmente, la Figura 4.5.E muestra los valores de E3 que representan el almacenamiento de energía en la masa en la zona 3, donde el esfuerzo no cambia con la deformación aplicada, alcanzando el estado de equilibrio. Las masas con los valores más altos de E3 fueron aquellas formuladas con semillas de amaranto no germinadas (masas A) y AG5, con valores superiores a C y sin diferencias significativas entre los diferentes niveles de harina A. La masa AG15 y AG25 presentaron valores más bajos de E3, asociados con un comportamiento elástico bajo en el equilibrio, después del proceso de deformación.

A pesar del menor tiempo de relajación T2 y un módulo elástico más alto E2 de la fracción polimérica de la masa AG25, esta muestra presentó mayor contribución a la viscosidad (menor E1) de las moléculas pequeñas resultando en un muy bajo módulo elástico de equilibrio (E3). El comportamiento de relajación de esta masa está en concordancia con el bajo valor de consistencia observado en TPA (Tabla 4.3.). Salinas y Puppo (2014) encontraron similar comportamiento para la masa formulada con citrato de calcio y 12% de inulina, es decir, valores bajos de dureza junto con valores bajos de E3. Por otro lado, Yang y col., (2019) encontraron un aumento del módulo de relajación E y de la dureza de la masa de trigo para pasta, al adicionar el agua en forma fraccionada durante el amasado. Atribuyendo dicho comportamiento a que al agregar pequeñas porciones de agua, los gránulos de almidón absorben el agua en su totalidad, favoreciendo la formación de la red de gluten y la masa puede producir mayor resistencia durante la compresión y consecuentemente mayor dureza.



**Figura 4.5.** Parámetros de relajación de la masa de harina de trigo y amaranto germinado y no germinado. Parámetros de relajación: módulos elásticos: E1 (A), E2 (C) y E3 (E). Tiempos de relajación: T1 (B) y T2 (D). Niveles de harinas de amaranto: muestras no germinadas: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15), 25% (A25); muestras germinadas: 5% (AG5), 15% (AG15), 25% (AG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### IV.1.4.3. Ensayo reológico dinámico

Otra forma de estudiar la viscoelasticidad de la masa es a través de la reología dinámica a baja deformación, en donde no se produce una ruptura de la estructura. Se dejó reposar la masa durante unos minutos antes de la medición para favorecer la relajación

de los polímeros de gluten. Los parámetros viscoelásticos obtenidos a partir de espectros mecánicos fueron los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y pérdida ( $G''$ ) y la relación  $G''/G' = \tan \delta$  (Tabla 4.5.). Los valores de  $G'$  y  $G''$  para la masa de amaranto aumentaron con respecto a la muestra C. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre la masa A y AG cuando se aumentó la cantidad de harina de amaranto. Por otro lado, el valor de  $\tan \delta$  para la muestra de trigo fue similar a los encontrados en bibliografía (Letang y col., 1999). En el caso de las masas de trigo y amaranto, los valores estuvieron en el rango de 0,341-0,425. Las masas A5 y C presentaron los valores más bajos de  $\tan \delta$  asociados con un comportamiento elástico mayor, similar al observado en el ensayo de relajación con alta deformación (E1 y E3 altas). A igual cantidad de harina de amaranto, las muestras con AG exhibieron valores más altos de  $\tan \delta$ , lo que sugiere un predominio en el comportamiento viscoso. El aumento de  $\tan \delta$ , asociado con una matriz más viscosa, estuvo en concordancia con un menor valor de consistencia de la masa obtenido en el ensayo de textura, siendo el efecto más pronunciado para AG25 (Tabla 4.4.).

**Tabla 4.5.** Parámetros viscoelásticos de las masas de harina de trigo y amaranto.

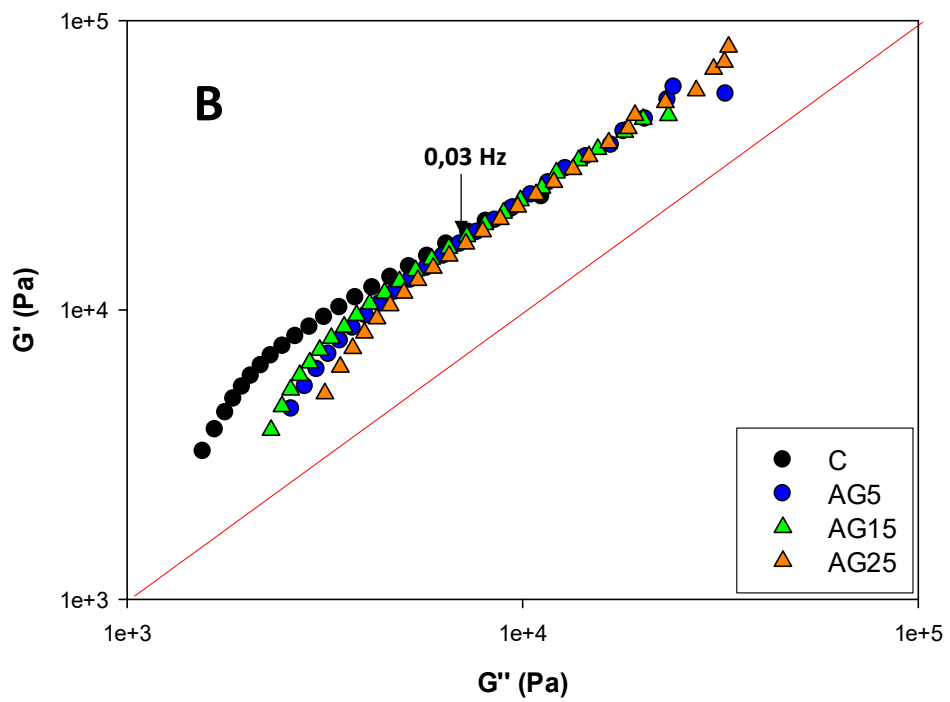
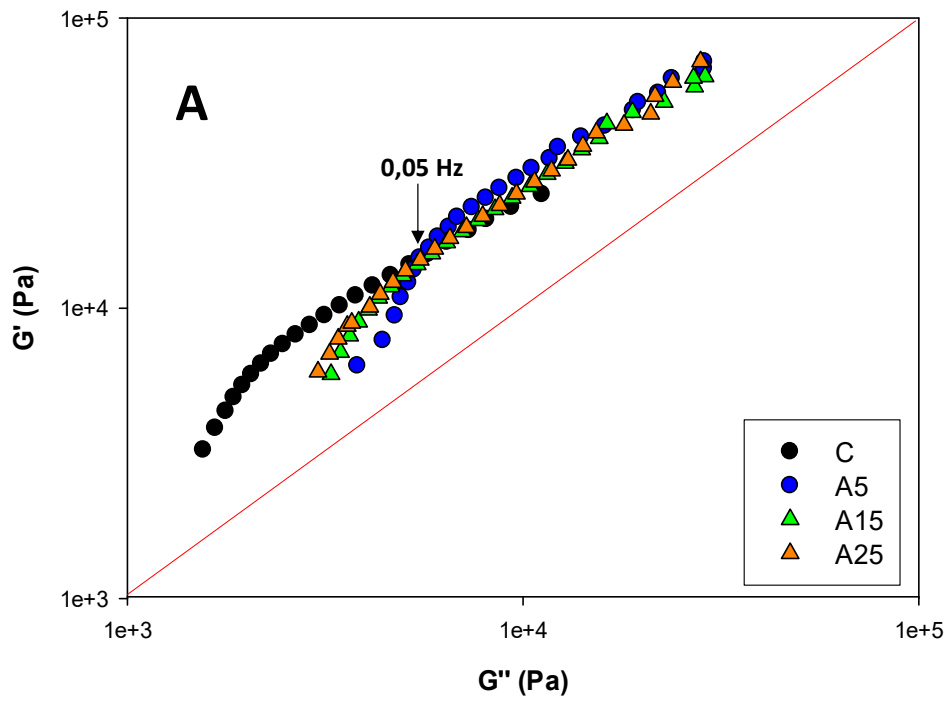
Masa	Parámetros viscoelásticos (1 Hz)		
	$G'$ (kPa)	$G''$ (kPa)	$\tan \delta$ (-)
<b>C</b>	10,8 ± 0,3 <b>a</b>	3,7 ± 0,15 <b>a</b>	0,341 ± 0,002 <b>a</b>
<b>A5</b>	21,7 ± 4,3 <b>b</b>	7,9 ± 1,9 <b>b</b>	0,362 ± 0,029 <b>ab</b>
<b>A15</b>	22,3 ± 1,9 <b>b</b>	8,4 ± 1,0 <b>b</b>	0,374 ± 0,019 <b>b</b>
<b>A25</b>	23,5 ± 3,9 <b>b</b>	9,1 ± 1,7 <b>b</b>	0,388 ± 0,023 <b>bc</b>
<b>AG5</b>	21,2 ± 3,1 <b>b</b>	8,8 ± 1,4 <b>b</b>	0,415 ± 0,008 <b>cd</b>
<b>AG15</b>	21,0 ± 6,9 <b>b</b>	8,8 ± 3,3 <b>b</b>	0,412 ± 0,023 <b>cd</b>
<b>AG25</b>	21,3 ± 0,9 <b>b</b>	9,0 ± 0,4 <b>b</b>	0,425 ± 0,007 <b>d</b>

Niveles de harinas de amaranto: no germinadas: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15) y 25% (A25); germinadas: 5% (AG5), 15% (AG15) y 25% (AG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

Otra alternativa para analizar los espectros mecánicos es evaluar la dependencia entre  $G'$  y  $G''$  en todo el rango de frecuencia estudiado (Figura 4.6). La igualdad de los módulos

$G'$  y  $G''$  ( $\tan \delta = 1$ ) se evidencia por una línea roja a  $45^\circ$ . La relación entre estos dos módulos se muestra como una curva. La proximidad de esta curva a la línea roja sugiere un comportamiento más viscoso de la muestra. A su vez, la pendiente de la curva  $G'$  versus  $G''$  se ha utilizado como un indicador de los cambios en la morfología de los diferentes polímeros (Ahmed y col., 2013). Una superposición de las curvas indica que no hay diferencias en la morfología de los polímeros, mientras que si no hay superposición sugiere la formación de una matriz heterogénea. Aquellas masas que presentan una curva con una pendiente alta hacen referencia a una red más elástica (Salinas y col., 2015). A bajas frecuencias ( $< 0,05$  Hz), en las que prácticamente no hay deformación de la masa y los cambios observados son atribuibles a la naturaleza de la estructura de la masa, la curva de la masa C fue la más alta, mientras que las curvas de A5, A15 y A25 se colocaron debajo, siendo A5 la más baja (Figura 4.6. A). A niveles bajos de adición de harina de amaranto (5%) se produciría un ablandamiento de la matriz del gluten, mientras que a niveles altos este efecto debilitador se compensaría con un refuerzo de la estructura del gluten probablemente debido a la contribución de las proteínas globulares de amaranto. Por esta razón, en el nivel más alto (25%) la masa de amaranto (A25) presentó un comportamiento de la curva similar al obtenido para la masa de trigo (C).

En contraste, la masa con AG (Figura 4.6. B) mostró una tendencia similar a la observada para la masa con harina de amaranto sin germinar a bajas frecuencias ( $< 0,03$  Hz). Las principales diferencias para las masas AG son que la curva más alejada de la de C fue AG25. Este resultado sugiere que, con una gran cantidad de AG, el contenido de componentes de baja masa molecular presentes en la masa es mayor, debido a la despolimerización durante la germinación, lo que conduce a una matriz menos estructurada con un comportamiento reológico más viscoso. Para todas las masas analizadas, a valores altos de  $G'$  y  $G''$  se observó una superposición total de las curvas, lo que sugiere una variación semejante de ambos módulos a altas frecuencias de deformación.



**Figura 4.6.** Módulo elástico ( $G'$ ) en función del módulo viscoso ( $G''$ ) de la masa de harina de trigo con: harinas de amaranto no germinadas (A) o germinadas (B).

## IV.2. Panes

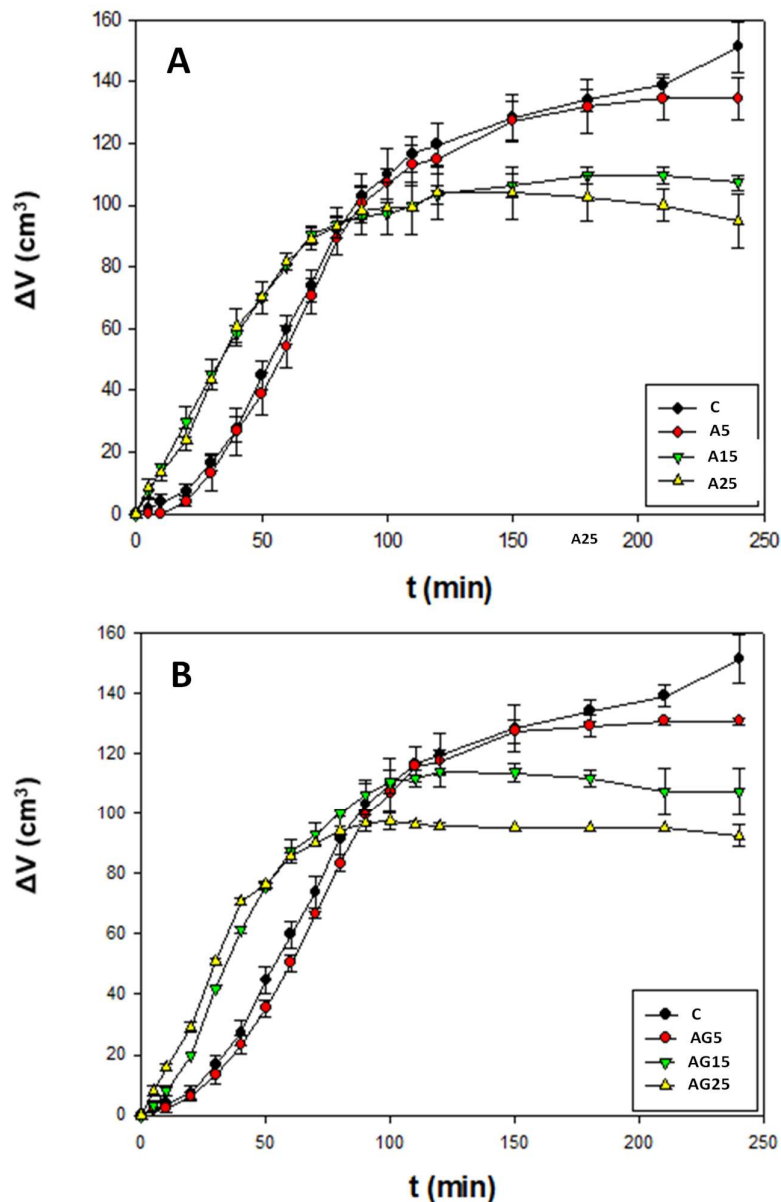
### IV.2.1. Proceso de fermentación de la masa

Desde el punto de vista tecnológico, es importante conocer los procesos involucrados en la fabricación de pan, como la fermentación de la masa. Diferentes ingredientes contribuyen con algunos componentes que afectarían el metabolismo de la levadura o interferirían con la formación de la red de gluten, modificando el volumen final del pan. Es por esto que se realizaron las curvas de fermentación de las diferentes formulaciones que se describieron en el inciso II.4.4.1. Las curvas de fermentación de las diferentes masas se muestran en la Figura 4.7, y los parámetros obtenidos del modelado de las curvas se muestran en la Tabla 4.6. Las masas C y A5 presentaron curvas similares y ambas con forma sigmoidea. Estas formulaciones presentaron valores de incremento de volumen ( $\Delta V$ ) más bajos que los observados para las muestras A15 y A25 a tiempos de fermentación bajos ( $< 85$  min). Además, la masa A15 y A25 presentaron curvas similares, pero con crecimiento exponencial (Figura 4.7.A). Este comportamiento sugiere que, a tiempos de fermentación bajos, la masa con el mayor contenido de harina de amaranto fermenta más fácilmente, probablemente debido a la presencia de azúcares simples disponibles para ser utilizados por las levaduras. Después de 85 minutos de fermentación, las curvas se cruzaron y las masas C y A5 presentaron valores marcadamente más altos que los de A15 y A25, con un crecimiento sostenido en el caso de la muestra C. Para las masas A15 y A25 se obtuvo una meseta después de 150 minutos, lo que sugiere que el proceso de fermentación se completó. El cambio en la forma de la curva para el 15% y el 25% de adición estaría directamente relacionado con el tipo de matriz que se está formando debido a la dilución de las proteínas del gluten. Este cambio también podría atribuirse a la incorporación de proteínas globulares de amaranto que podrían retener el agua disminuyendo la dureza y la elasticidad de la masa favoreciendo su expansión, pero con un volumen bajo. El resultado es una expansión de la masa menor que la observada para la masa con trigo solamente, debido a la formación de una matriz de proteína de gluten rellena de proteínas globulares de amaranto hidratadas que evitan una mayor expansión a tiempos más largos. Además, la harina de amaranto contribuye con un 9% de fibra dietaria que interferiría con la matriz de gluten,



afectando sus propiedades viscoelásticas que son necesarias para la expansión de la masa, la retención de dióxido de carbono y la formación de alvéolos.

Las curvas de fermentación obtenidas para las masas con harina de AG (Figura 4.7.B) fueron similares a las curvas de las masas con A (Figura 4.7.A) a bajos tiempos de fermentación. En tiempos más largos (> 100 min), se observó para AG5 que el valor de  $\Delta V$  continuó aumentando, mientras que AG15 y AG25 presentaron una meseta. Hacia el final del ensayo, los valores de  $\Delta V$  disminuyeron a medida que aumentó la cantidad de harina de AG en la mezcla.



**Figura 4.7.** Curvas de fermentación de la masa **A)** Masa con harina de trigo (C) y diferentes niveles de harinas de amaranto sin germinar (A5, A15, A25) **B)** Masa con harina de trigo (C) y masa con diferentes harinas de amaranto germinado (AG5, AG15 y AG25).

Los parámetros obtenidos de la ecuación (Ec. 2.31) para la curva de fermentación obtenida experimentalmente permiten interpretar matemáticamente el comportamiento de las diferentes zonas de las curvas de fermentación observadas en la Figura 4.7.

Los valores de volumen máximo (parámetro a, Tabla 4.6) disminuyeron significativamente al aumentar el contenido de harina de amaranto (A), sin diferencias significativas entre A15 y A25.

**Tabla 4.6.** Parámetros cinéticos obtenidos a partir del ensayo de fermentación de la masa.

Formulación	Fermentación			
	a (cm <sup>3</sup> )	b (min <sup>-1</sup> )	c	t <sub>f</sub> (min)
<b>C</b>	146 ± 5 <b>d</b>	0,024 ± 0,002 <b>a</b>	3,4 ± 0,5 <b>b</b>	102,3 ± 2,2 <b>e</b>
<b>A5</b>	135 ± 6 <b>c</b>	0,030 ± 0,002 <b>ab</b>	4,9 ± 0,8 <b>c</b>	94,4 ± 2,6 <b>d</b>
<b>A15</b>	109 ± 2 <b>b</b>	0,028 ± 0,001 <b>a</b>	1,5 ± 0,2 <b>a</b>	62,5 ± 1,9 <b>c</b>
<b>A25</b>	102 ± 6 <b>ab</b>	0,039 ± 0,005 <b>bc</b>	2,2 ± 0,4 <b>ab</b>	54,3 ± 1,9 <b>b</b>
<b>AG5</b>	132 ± 2 <b>c</b>	0,032 ± 0,001 <b>ab</b>	5,8 ± 0,7 <b>c</b>	93,7 ± 0,9 <b>d</b>
<b>AG15</b>	112 ± 4 <b>b</b>	0,042 ± 0,003 <b>c</b>	3,0 ± 0,2 <b>b</b>	56,6 ± 1,9 <b>b</b>
<b>AG25</b>	94 ± 4 <b>a</b>	0,055 ± 0,011 <b>d</b>	2,6 ± 0,8 <b>ab</b>	41,6 ± 3,4 <b>a</b>

Formulación con diferentes niveles de harinas de amaranto: no germinadas: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15) y 25% (A25); germinadas: 5% (AG5), 15% (AG15) y 25% (AG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (p <0,05). Los valores se expresan como media ± DE.

La constante cinética (parámetro b, Tabla 4.6) se mantuvo constante hasta un 15% de harina de amaranto, con un aumento significativo para A25. Este parámetro, relacionado con la velocidad de fermentación, resultó significativamente mayor para la masa AG15 y principalmente para la masa AG25 con respecto a la masa de trigo (C) y a la masa con el mismo nivel de harina de semillas sin germinar (A) (Tabla 4.6). Los valores de ΔV más bajos que se observaron después de 100 minutos en la masa AG25 (Figura 4.7.B) también se reflejaron en el valor del parámetro a, que representa el Vmax de la masa (Tabla 4.6). El parámetro c aumentó significativamente para la masa con un reemplazo del 5% (A5 y AG5), experimentando una gran disminución con el 15% de A y AG, permaneciendo constante con el nivel de 25% de harina de amaranto. El tiempo de

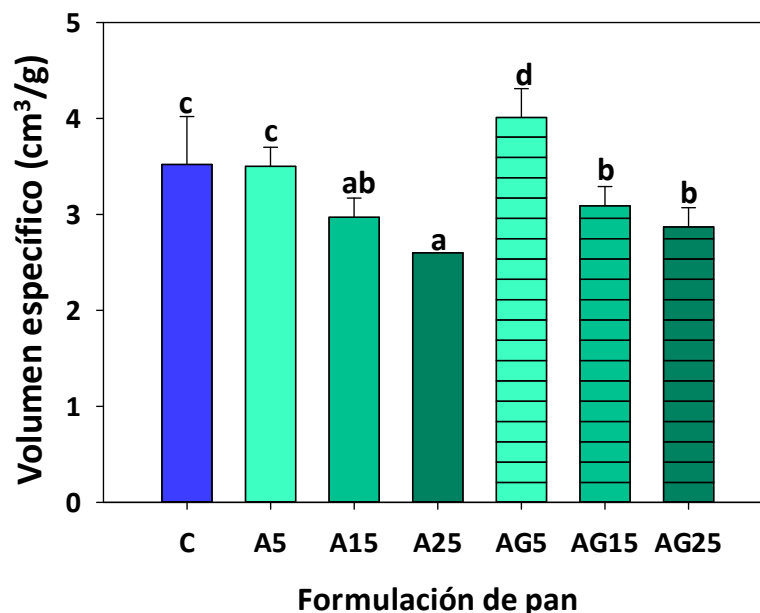
fermentación ( $t_f$ ) disminuyó significativamente con la adición de harina de amaranto (A y AG) (Tabla 4.6), con una disminución importante en los niveles más altos de estas harinas, principalmente en la masa AG25, cuyo  $t_f$  fue significativamente menor que el valor obtenido para A25. Estos resultados sugieren que, durante la germinación, los nuevos azúcares simples generados, principalmente la glucosa, podrían mejorar la fermentación de la levadura, acelerando este proceso (mayor b, menor c y menor  $t_f$ ) (Jayaram y col., 2013).

#### IV.2.2. Evaluación de la calidad panadera

Una fermentación óptima de la masa conduce a la formación adecuada de la miga y corteza durante el proceso de horneado en la fabricación de pan. Por lo tanto, la calidad del pan depende en buena parte de las condiciones de la etapa anterior.

##### IV.2.2.1. Volumen específico de los panes

La calidad del pan medida a través del volumen específico (Vesp) de las piezas se muestra en la Figura 4.8.



**Figura 4.8.** Volumen específico (Vesp) de panes de trigo con amaranto sin germinar y germinado. Pan de trigo sin amaranto (C). Niveles de harina de amaranto: 5% (A5 y AG5), 15% (A15 y AG15) y 25% (A25 y AG25). Panes con harina no germinada (A) y con harina de amaranto germinado (AG). Diferentes letras en la misma figura indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

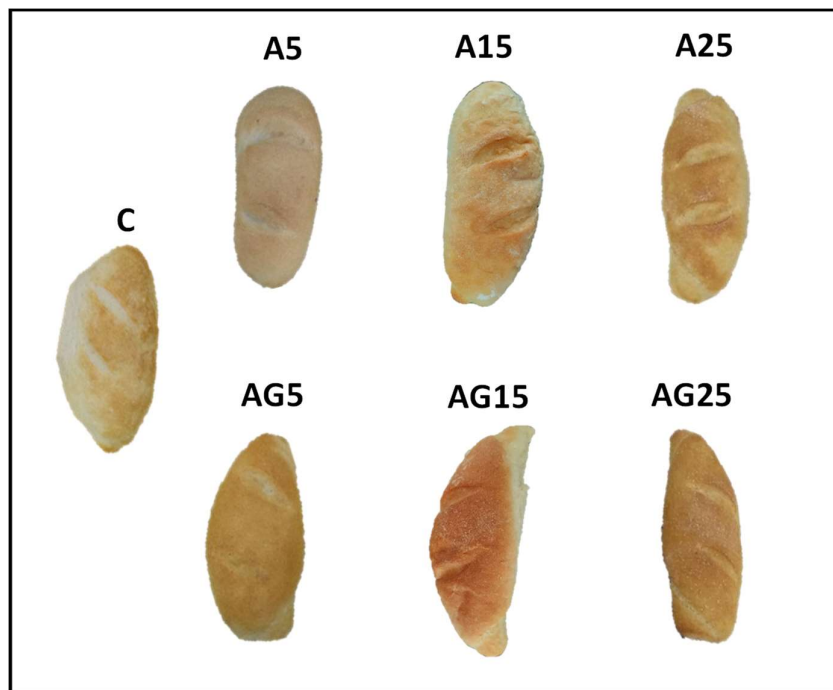
Se observó que en los panes con harina de amaranto sin germinar (A) el Vesp disminuyó significativamente con un 15% y 25% de harina de amaranto y sin diferencias significativas entre ambos tipos de panes. Aunque esta disminución no fue relevante, los valores cambiaron de un Vesp de 3,5 cm<sup>3</sup>/g para el pan de trigo (C) a 2,6 cm<sup>3</sup>/g para los panes con la mayor cantidad de harina de amaranto (Figura 4.8). En el caso de los panes con harina de amaranto germinado (AG), hubo un aumento significativo en el Vesp del pan AG5 en comparación con el pan C, que luego disminuyó para AG15 y AG25 a valores ligeramente más altos que los panes A de igual porcentaje (Figura 4.8).

Los resultados sugieren que con la harina germinada se obtuvieron panes de mayor volumen que con la harina no germinada con el mismo porcentaje de adición. Una disminución en Vesp en los panes A y AG está directamente relacionada con un Vmax más bajo (parámetro a) obtenido durante la fermentación, debido a la dilución de las proteínas del gluten y la incorporación de fibra con la harina de amaranto. A pesar de que los valores de  $\Delta V$  para AG25 (100-240 min) son ligeramente bajos con respecto a la masa A25, los valores de Vesp de los panes fueron más altos. Una posible explicación para esta relación inversa podría deberse a que en la masa AG25 durante la fermentación, la levadura produjo una gran cantidad de dióxido de carbono debido a la alta cantidad de azúcares simples, fundamentalmente glucosa, generados como consecuencia de la germinación. Más cantidad de dióxido de carbono junto con la evaporación del agua a altas temperaturas, expande enormemente la masa AG25 hasta la muerte de la levadura. Además, la estructura de la miga AG25, fijada durante el horneado debido a la gelatinización del almidón y la desnaturalización de las proteínas, resultaría por ejemplo quizá más suave, con una pared alveolar menos rígida, probablemente debido a que la estructura de la miga se estabilizó por polímeros de proteínas y carbohidratos de menor peso molecular. Yaqoob y col. (2018) estudiaron el efecto de la adición (hasta un 25%) de harina germinada de cebada a tortas de trigo, y la compararon con las preparadas con harina de cebada no germinada. Aunque en ambos casos el volumen de la torta disminuyó con el aumento de la cebada, el volumen fue mayor en las tortas de cebada germinada. Estos autores atribuyen esta disminución en el volumen de la torta a la ausencia en la cebada de proteínas de gluten. Por otro lado, Ertaş (2015) formuló panes de trigo con harina de lupino de semillas germinadas y

no germinadas (hasta un 10%) encontrando que el volumen de panes con harina de lupino no cambió con respecto al pan de trigo, sino que aumentó en aquellos con la muestra germinada. Este autor atribuyó este aumento de volumen a la alta actividad de la amilasa durante la germinación.

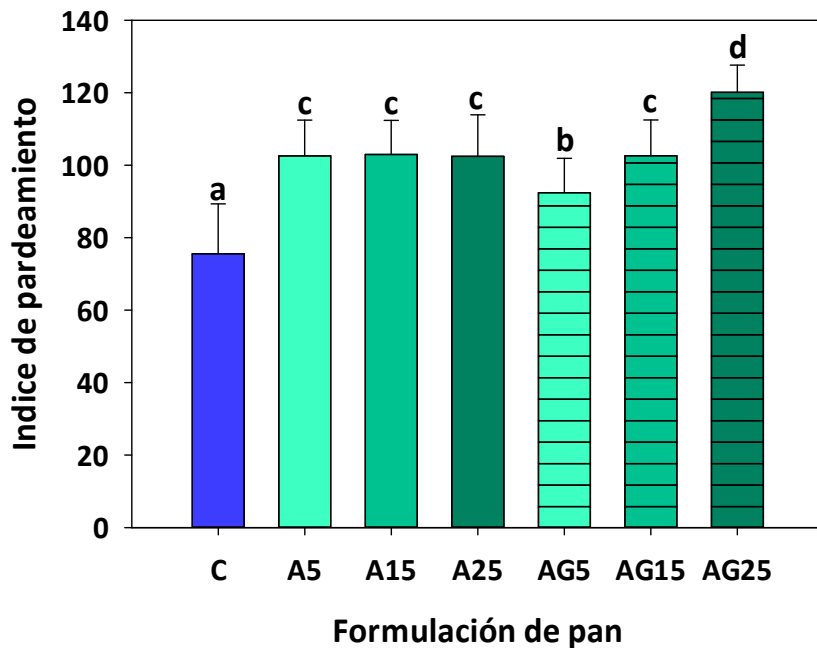
#### IV.2.2.2. Color de la corteza

El color de la corteza de los panes es un parámetro importante al momento de la elección del pan por parte del consumidor. En la Figura 4.9 se observan los panes obtenidos en el laboratorio en donde se puede observar a simple vista un cambio de color de corteza entre los diferentes panes. El índice de pardeamiento (IP) es un parámetro que se calcula teniendo en cuenta los tres valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos por medio del colorímetro, el cual se encuentra relacionado con la coloración marrón de la corteza tal como se describió en la sección II.4.3.2. Este color característico de la corteza se debe a la reacción de pardeamiento no enzimático (Reacción de Maillard) entre los hidratos de carbono reductores (con grupos carbonilos libres) y los grupos aminos pertenecientes a residuos aminoacídicos de las proteínas.



**Figura 4.9.** Imagen comparativa de los panes con harina de trigo solo (C), con harina de amaranto sin germinar en un 5, 15 y 25% (A5, A15 y A25) y con amaranto germinado en un 5, 15 y 25% (AG5, AG15 y AG25).

Los panes con harina de amaranto sin germinar presentaron un IP más alto que el pan de trigo C y sin diferencias significativas en los diferentes niveles (Figura 4.10), mientras que el IP para los panes con harina de amaranto germinado también aumentó con respecto al C, pero hubo un aumento significativo cuando el nivel de harina de amaranto fue mayor. Se observó el valor más alto para el pan AG25. Los valores encontrados sugieren que las moléculas pequeñas que se generan durante la germinación de las semillas por hidrólisis de las proteínas y del almidón generan grupos amino libres y carboxilos reductores, respectivamente, que favorecen la reacción de Maillard conduciendo a compuestos coloreados en la corteza del pan. Este efecto se intensificó al agregar una mayor proporción de esta harina a la harina de trigo. Otros autores observaron resultados similares para productos de panadería hechos con harinas de semillas germinadas como la cebada (Yaqoob y col., 2018) y el caupí (Hallén y col., 2004). Un buen volumen y un color pardo, junto con la esponjosidad de la miga, son parámetros relacionados con una buena calidad panadera. Por lo tanto los panes AG califican para aceptación según estos parámetros.



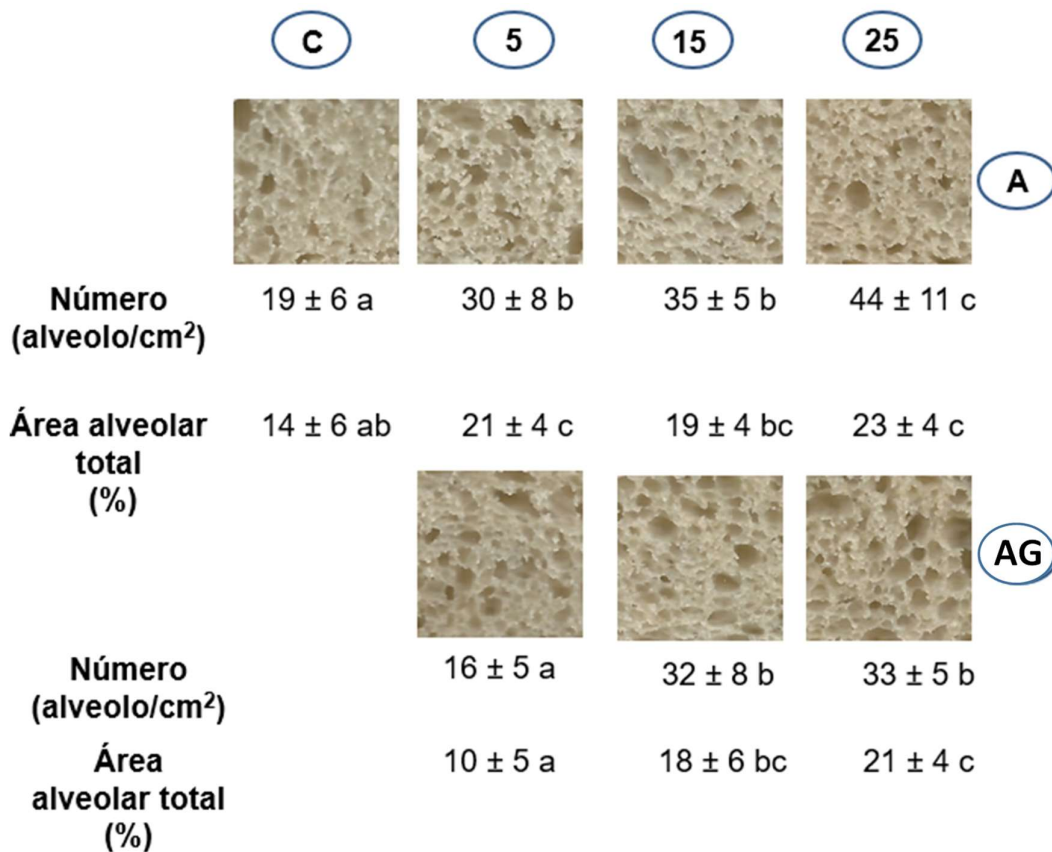
**Figura 4.10.** Índice de pardeamiento de la corteza de los panes de trigo con amaranto sin germinar y germinado. Pan de trigo sin amaranto (C). Niveles de harina de amaranto: 5% (A5 y AG5), 15% (A15 y AG15) y 25% (A25 y AG25). Panes con harina no germinada (A) y con harina de amaranto germinada (AG). Diferentes letras en la misma figura indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

#### IV.2.2.3. Humedad y actividad acuosa de la miga

La esponjosidad de la miga está relacionada con la humedad y la aireación o alvéolos generados por la producción de dióxido de carbono durante la fermentación de la masa y la formación de una resistente pared alveolar. La humedad de la miga en el pan control C fue de  $45,9 \pm 0,6\%$  y no se observaron diferencias significativas en todas las formulaciones estudiadas, obteniendo valores (%) en un rango de  $45,0 \pm 0,2$  a  $45,9 \pm 0,1$  para todas las migas de los panes con amaranto. El valor de la actividad acuosa de la miga C fue de  $0,966 \pm 0,001$  y las migas que contenían amaranto resultaron en valores similares, alrededor de 0,97 en el rango 0,966-0,969. Estos resultados sugieren que ni el nivel ni el tratamiento de la harina de amaranto pudieron modificar las propiedades de hidratación de la miga de pan.

#### IV.2.2.4. Alveolado de la miga

Las paredes que rodean las burbujas de gas en la masa son las que se fijan durante la cocción, formando la red de la miga en el pan, lo que confiere al producto su firmeza y elasticidad. La apariencia y los parámetros alveolares promedios (número de alvéolos por unidad de área y área alveolar total) de las migas se muestran en la Figura 4.11. El número de alvéolos aumentó significativamente con el nivel de harina de amaranto, especialmente en panes A. Sin embargo, en las migas de panes con AG el número de alvéolos fue ligeramente menor. El área alveolar total ocupada en la miga C fue 14% mientras que con A los panes presentaron migas más aireadas independientemente de la cantidad de A. En cambio en migas AG, un aumento en el número de alvéolos se correlacionó con un aumento del área alveolar total al incrementar el agregado de harina germinada.

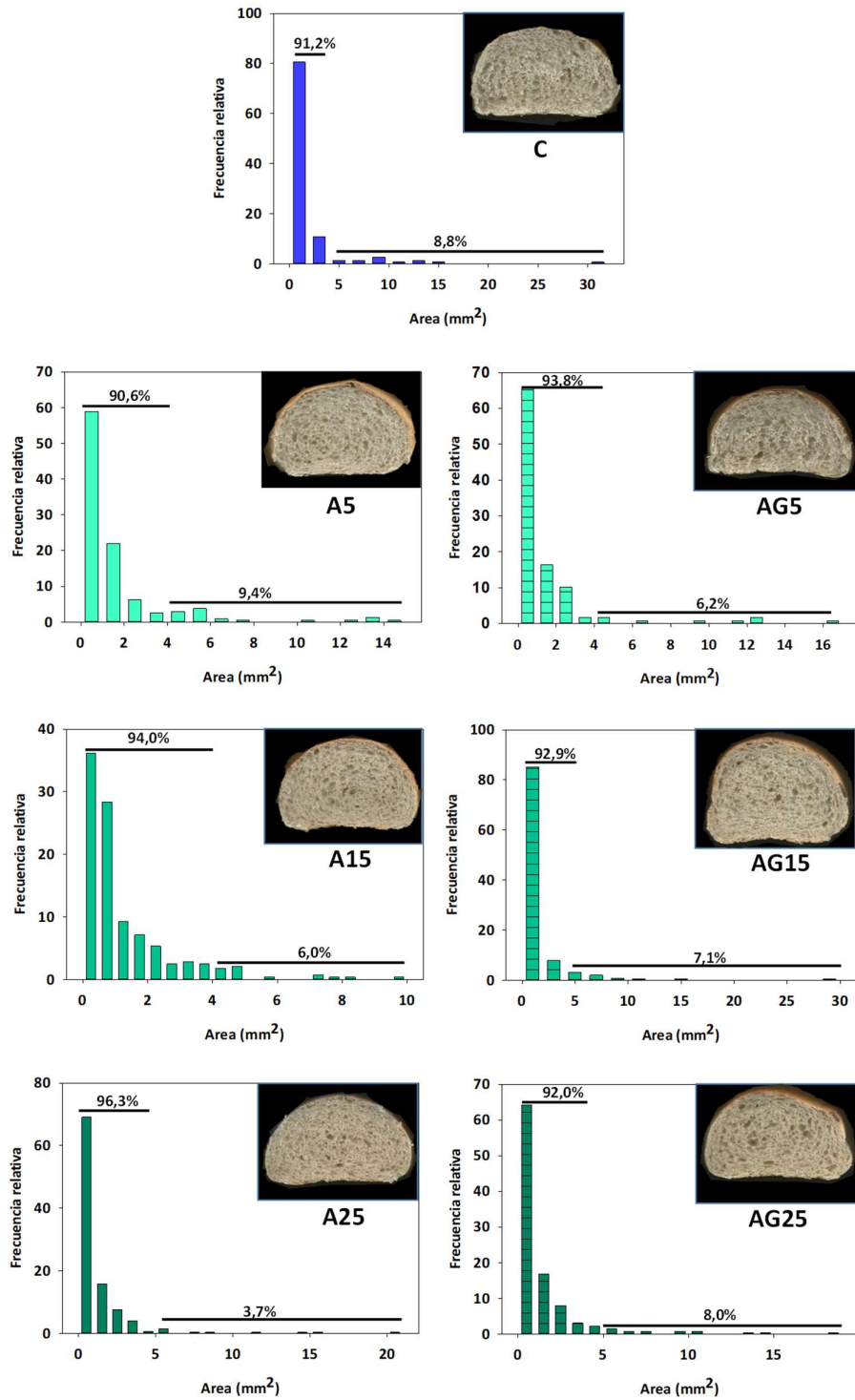


**Figura 4.11.** Aspecto de la miga de pan, y valores (media ± DE) del número de alvéolos por área y área total ocupada por los alvéolos. Formulaciones de pan: muestras sin germinar: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15), 25% (A25); muestras germinadas: 5% (AG5), 15% (AG15), 25% (AG25). Diferentes letras en el mismo parámetro indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Al incorporar amaranto germinado, en la Figura 4.12 se observa una disminución de la frecuencia relativa de alvéolos de tamaños pequeños, desde 93,8% (AG5) hasta 92,0% (AG5), por lo que a igual número de alvéolos, son más grandes en migas con mayor reemplazo de amaranto germinado, asociado a un mayor área alveolar, como se observó en la Figura 4.11.

A su vez, las migas de los panes con harina de amaranto germinado tuvieron un porcentaje de alveolos de mayor tamaño ( $> 4 \text{ mm}^2$ ) que los panes con harina de amaranto sin germinar en los mismos niveles de adición, excepto al menor nivel de adición (5%). Lo mencionado anteriormente sugiere la formación de migas AG15 y AG25 con alvéolos de mayor tamaño con una baja proporción de pared alveolar y posiblemente más suave.





**Figura 4.12.** Histogramas de distribución de tamaño de alvéolos en miga de pan: control (C), panes con amaranto sin germinar al 5 (A5), 15 (A15) y 25% (A25) y con amaranto germinado al 5 (AG5), 15 (AG15) y 25% (AG25). Las rodajas de los diferentes panes se pueden observar en las imágenes que figuran en los histogramas.

Rosales-Juárez y col., (2008) encontraron al sustituir harina de trigo por harina de soja tanto germinada como sin germinar, la cantidad de alvéolos por área disminuyó en los panes de trigo complementados con harina de soja; y esta disminución fue mayor cuando se incorporó harina de soja germinada. Por otro lado, Millar y col., (2019) no encontraron diferencias significativas en la cantidad de alveolos por área ni en el tamaño de los alveolos de panes de trigo sustituidos en un 30 % con harina de arvejas tanto germinadas como sin germinar.

#### IV.2.2.5. Propiedades reológicas de las migas de pan

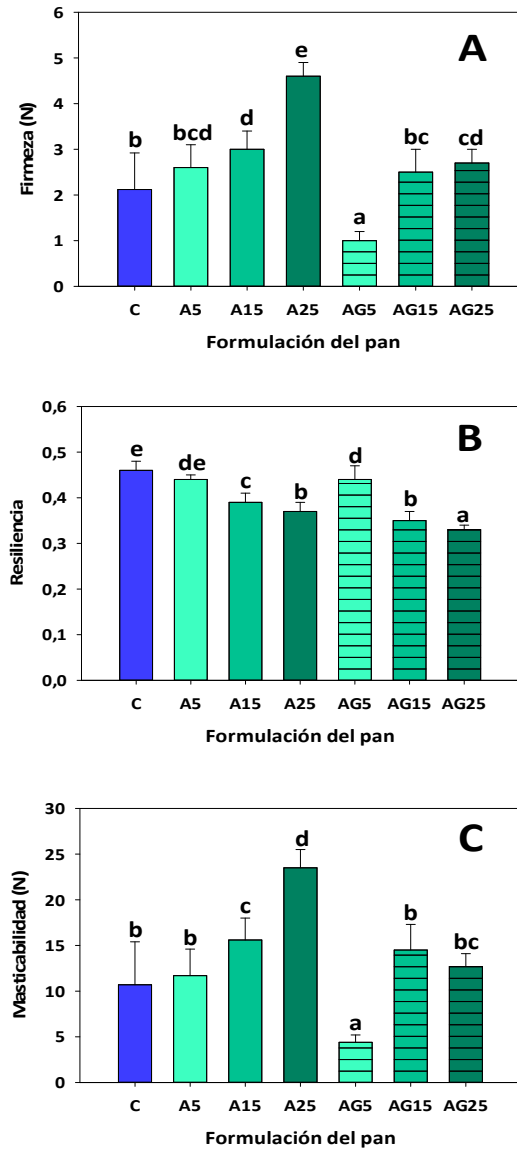
##### Textura de la miga

Los parámetros de textura de la miga se muestran en la Figura 4.13. La firmeza de la miga A5 fue similar a la de trigo (C). A medida que se incorporó harina A, la firmeza aumentó significativamente siendo máxima en la miga A25 (Figura 4.13 A). Este aumento significativo en la dureza de la miga A25 podría deberse a la formación de una miga más compacta que se corresponde con un mayor número de alvéolos pequeños que los encontrados en las migas A15 y A5 (como se observó en la Figura 4.12), sumado también a que los panes A25 fueron los más pequeños.

En el caso del pan AG5, la miga fue la más blanda, y la firmeza aumentó con niveles mayores al 15% de AG (Figura 4.13 A). A igual porcentaje de amaranto, la firmeza de las migas AG fue menor que las migas A especialmente al 25%.

Los resultados sugieren que durante la germinación se sintetizan enzimas, tales como proteasas y amilasas que hidrolizan la proteína y el almidón en componentes más pequeños. Cuando estas moléculas más pequeñas interactúan con las proteínas del trigo forman una matriz de gluten más flexible que conduce a una miga más aireada, con alveolos de mayor tamaño y, por lo tanto, de baja firmeza. Además, la firmeza presentó una relación inversa con el volumen del pan. Ertaş (2015) encontró similar comportamiento, una mayor firmeza en los panes con harina de lupino con respecto a los formulados con lupino germinado; por su parte Ouazib y col., (2016) encontraron también, que la adición de harina de garbanzo germinado, produjo panes con una menor firmeza que los panes con harina de garbanzo sin germinar. Por otro lado, otros autores

encontraron el comportamiento opuesto en panes con diferentes harinas germinadas: arvejas (Sadowska y col., 2003; Millar y col., 2019), poroto caupí (Hallén y col., 2004), quinoa (Park y Morita 2005), soja (Rosales -Juarez y col., 2008) y cebada (Yaqoob y col., 2018).



**Figura 4.13.** Parámetros de textura de los panes de harina de trigo con amaranto germinado y sin germinar. **A)** Firmeza, **B)** Resiliencia y **C)** Masticabilidad. Niveles de harinas de amaranto: muestras no germinadas: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15), 25% (A25); muestras germinadas: 5% (AG5), 15% (AG15), 25% (AG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La resiliencia es una medida de cómo se recupera un alimento después de someterlo a una deformación en relación a la velocidad y la fuerza aplicadas en el ensayo de

compresión. Todos los valores fueron inferiores a 0,5 y se observó una disminución gradual en este parámetro al aumentar el nivel de ambos tipos de harinas de amaranto (Figura 4.13 B), observando los valores más bajos para AG25. Este resultado indica que la harina de amaranto germinado no contribuye a la recuperación de la estructura de la miga después de la deformación aplicada, lo que podría estar relacionado con la presencia de una baja proporción de proteínas de mayor tamaño, como consecuencia del proceso de germinación, que son las que confieren propiedades elásticas.

La masticabilidad (Figura 4.13 C) presentó similar comportamiento que la firmeza en todas las migas.

Por otra parte, no hubo diferencias significativas en la cohesividad, elasticidad y adhesividad de las migas. Los valores de cohesividad variaron entre 0,66 (AG25) y 0,73 (C, A5, AG5), mientras que los valores de elasticidad variaron entre 6,3 (A5) y 7,4 mm (A15 y A25); los de adhesividad se mantuvieron en el rango de 0,1-0,3.

Diferentes autores encontraron resultados similares en parámetros de calidad de panes con harina de trigo con diferentes especies de amaranto: Miranda-Ramos y col., (2019) utilizaron hasta 50% de *A. spinosus* y *A. hypochondriacus* (hasta 50%), mientras que Sanz-Penella y col., (2013) usaron hasta de 40% *A. cruentus*. Los autores encontraron que el amaranto provocó una disminución en el volumen específico, una corteza más oscura y una miga con una mayor cantidad de alvéolos por área. Además, las migas presentaron una mayor firmeza, elasticidad y masticabilidad, atribuyendo dicho comportamiento a que las harinas de amaranto al aportar proteínas, como la albumina, tienen la capacidad de interactuar con las gluteninas de trigo a través de enlaces disulfuro, lo que no debilitaría demasiado la red del gluten. A la vez, que el alto contenido de lípidos polares en el amaranto puede tener funcionalidad como agente estabilizador de gases durante la elaboración del pan, lo que probablemente mejora la elasticidad del mismo (D'Amico y col., 2017).

### Relajación de la miga

La relajación es un fenómeno relacionado con la reorientación molecular del sistema en el tiempo que conduce a cambios estructurales. Bajo deformación constante, la conformación de las cadenas de moléculas de glucosas del almidón ya gelatinizado y proteínas desnaturalizadas durante el horneado cambia, modificando su distribución en

el espacio disponible, lo que llevaría a una disminución del esfuerzo. En las curvas de relajación de un sólido viscoelástico, el esfuerzo decae a un valor de equilibrio. Estas curvas se tratan matemáticamente con el modelo generalizado de Maxwell. Las curvas de relajación de la masa presentan tres zonas como se discutió en la sección IV.1.4.2. La disminución exponencial del esfuerzo durante la relajación de la miga fue menos pronunciada que la observada en la masa; por lo tanto, la relajación de la miga se puede describir con un modelo más simple que la masa, debido a que durante la cocción las proteínas se desnaturalizan, el almidón gelatiniza y el agua se pierde formando una estructura más rígida en la miga que en la masa. Xiong y col. (2015) midieron la relajación de la miga en tortas de arroz fermentado con *Brettanomyces custersii* y aplicaron a la curva de relajación el modelo utilizado anteriormente por Xu y col. (2007). Los parámetros obtenidos por estos autores que aplicaron el modelo de Maxwell de un solo término fueron el módulo elástico (E1) y el tiempo de relajación (T1) que representan la orientación estructural de los componentes de la miga responsables de este proceso de relajación (Xiong y col., 2015). La cocción fija la estructura de la miga del pan e inmoviliza ambos tipos de componentes: los polímeros grandes que forman la estructura de la red (proteínas y almidón) y las pequeñas moléculas que interactúan con ellos. Esta reducción de la movilidad de la matriz permite la aplicación de un solo elemento de Maxwell en el modelado de la curva de relajación.

La Tabla 4.7 muestra los diferentes parámetros de relajación de la miga que permiten comprender el comportamiento de la misma después de la cocción. Los valores de E1 de la miga fueron 2 órdenes de magnitud mayor que E1 y un orden mayor que E2 de la masa, cuyos valores promedio fueron 0,5 y 5 kPa, respectivamente (sección IV.1.4.2.). Además, los tiempos de relajación en la miga presentaron un orden de magnitud intermedia entre T1 y T2 obtenido para las masas. Este comportamiento confirma el menor grado de relajación de la miga debido a la fijación de la estructura durante el calentamiento de la masa (horneado). El módulo elástico E1 no cambió significativamente en migas con A en comparación con C hasta 15% de reemplazo, pero este parámetro aumentó significativamente en la miga A25. Este comportamiento sugiere que grandes cantidades de harina de amaranto sin germinar, conducen a estructuras más compactas con baja relajación (bajo T1).

Los valores del módulo de equilibrio E0 fueron similares a los respectivos E1 y mostraron la misma tendencia con la adición de cantidades crecientes de harina de amaranto sin germinar (Tabla 4.7). En comparación con los valores obtenidos para panes de amaranto y trigo, Xiong y col. (2015) encontraron para las tortas de arroz valores considerablemente más bajos de módulos elásticos E0 y E1 que fueron 237 y 112 Pa, respectivamente. Las migas de los panes preparados con harina de amaranto germinado (AG) presentaron un comportamiento algo diferente al de las migas A. La incorporación de harina de amaranto germinado al 5% (AG5) disminuyó significativamente E1 y E0 de la miga, con respecto al pan de trigo (C) (Tabla 4.7); esta disminución en E para AG5 fue consistente con el mayor Vesp y la menor firmeza y masticabilidad obtenidas para este pan. Los niveles más altos de harina de amaranto germinado (AG15 y AG25) presentaron mayores módulos elásticos (E0 y E1) sin diferencias significativas entre ambas formulaciones (Tabla 4.7). Este aumento significativo en los módulos elásticos de relajación de AG15 y AG25, en comparación con AG5, acompañado de un menor tiempo de relajación (T1) asociado a un predominio del componente elástico sobre el viscoso sugiere que la mayor proporción de moléculas de proteínas poliméricas que no fueron modificadas por la germinación podría estar contribuyendo al aumento de E0 y E1. Las proteínas globulares de amaranto contribuyen a generar una matriz más elástica, probablemente debido a una mayor retención de agua, lo que conduce a la formación de una matriz más estructurada de proteínas, principalmente después del proceso de cocción. Este aumento en los módulos de elasticidad de la miga estuvo acompañado por una mayor masticabilidad y firmeza descrita anteriormente, aunque con la presencia de alvéolos de mayor tamaño.

**Tabla 4.7.** Parámetros obtenidos a partir del ensayo de relajación de las migas de pan.

<b>Muestra</b>	<b>E1 (kPa)</b>	<b>T1 (s)</b>	<b>E0 (kPa)</b>
<b>C</b>	56 ± 8 <b>bc</b>	11,6 ± 0,3 <b>d</b>	56 ± 8 <b>c</b>
<b>A5</b>	48 ± 10 <b>b</b>	11,3 ± 0,4 <b>cd</b>	44 ± 7 <b>b</b>
<b>A15</b>	59 ± 10 <b>c</b>	10,7 ± 0,5 <b>a</b>	51 ± 8 <b>c</b>
<b>A25</b>	129 ± 6 <b>d</b>	10,5 ± 0,2 <b>a</b>	92 ± 7 <b>d</b>
<b>AG5</b>	22 ± 6 <b>a</b>	11,3 ± 0,5 <b>bc</b>	18 ± 4 <b>a</b>
<b>AG15</b>	67 ± 8 <b>c</b>	10,8 ± 0,2 <b>ab</b>	49 ± 4 <b>bc</b>
<b>AG25</b>	67 ± 8 <b>c</b>	10,7 ± 0,3 <b>a</b>	49 ± 4 <b>bc</b>

Formulación de pan con diferentes niveles de harinas de amaranto: no germinado: 0% (C), 5% (A5), 15% (A15) y 25% (A25); germinado: 5% (AG5), 15% (AG15) y 25% (AG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

El tiempo de relajación T1 no cambió, con respecto a la miga C, con la incorporación de un 5% de harina de amaranto (A5). Se observó una leve disminución con altos niveles de A (A15 y A25). Los valores promedio fueron de alrededor de 10 s (Tabla 4.7). El tiempo de relajación de la torta de arroz fermentado reportado por Xiong y col. (2015) fue 2,6 s, más largo que 0,2 s del arroz al vapor determinado por Xu y col. (2007), pero inferiores a los valores obtenidos para los panes de amaranto y trigo en la presente tesis (Tabla 4.7). Los valores más altos de T1 están relacionados con un alto grado de relajación, por lo tanto, los panes de amaranto y trigo presentaron un mayor grado de relajación en comparación con los panes de arroz.

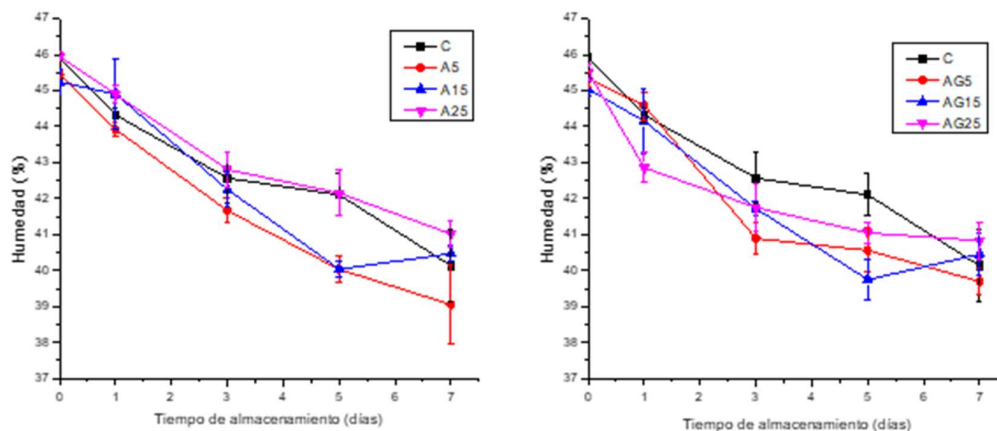
#### IV.2.3. Evaluación de la vida útil de los panes

Se estudiaron los cambios en la calidad panadera luego del almacenamiento a 1, 3, 5 y 7 días. Se evaluó la humedad, actividad acuosa, firmeza y relajación de la miga de los panes almacenados de la misma manera en que se procedió para los panes frescos.

##### IV.2.3.1. Humedad y actividad acuosa de la miga durante el almacenamiento

La humedad de las migas tanto de los panes frescos como de los almacenados se muestra en la Figura 4.14. Se observó una pérdida significativa de humedad en todas las

migas al cabo de los 7 días de almacenamiento. Hasta el día 1 no se observaron diferencias en el contenido de humedad para ninguna de las formulaciones. Sin embargo, del día 3 en adelante, se presentaron las diferencias, en donde las migas C y las que tenían un 25% de amaranto (tanto A como AG) fueron las que presentaron la mayor humedad. Por lo que, puede observarse que la adición de un 25% tanto de A como de AG, produce una conservación de agua en los panes similar al pan de harina de trigo. Por su parte, si bien la humedad de la miga varió a lo largo del almacenamiento la disponibilidad de la misma, medida por la actividad acuosa, no se vio modificada a lo largo de todo el almacenamiento en ninguna de las diferentes migas, siempre teniendo un valor aproximado de 0,96.



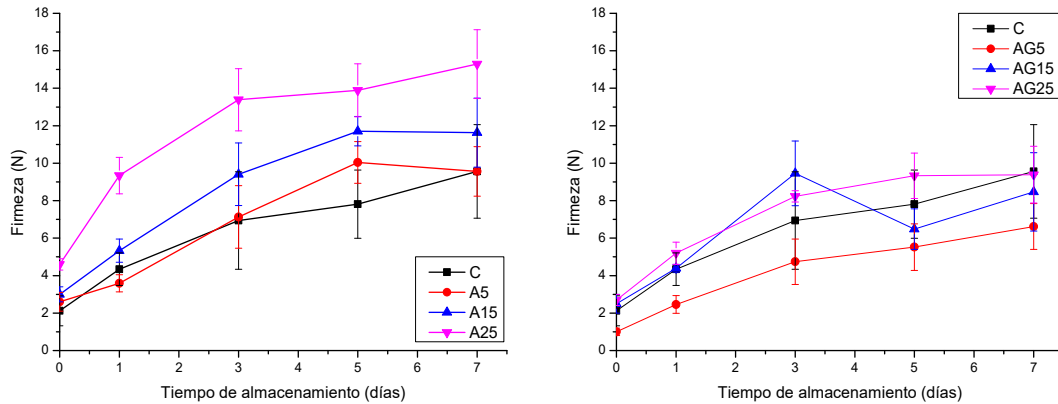
**Figura 4.14.** Evolución de la humedad de los panes de harina de trigo con harina de amaranto germinado y sin germinar a lo largo del almacenamiento.

#### IV.2.3.2. Firmeza de la miga durante el almacenamiento

Durante el almacenamiento se produce una pérdida de la frescura del pan, lo cual reduce su aceptabilidad por parte de los consumidores. Este fenómeno es conocido como envejecimiento del pan, en el cual ocurren algunos de los siguientes procesos: endurecimiento de la miga, pérdida de crocancia de la corteza y deterioro de las propiedades organolépticas (Cauvain, 1998). En la Figura 4.15 se observan los valores de la firmeza durante el almacenamiento de las migas de los diferentes panes. Se puede observar en migas con A un aumento marcado de la firmeza hasta el tercer día de almacenamiento que luego se mantuvo constante, siendo mayor el incremento de firmeza en las migas con mayor porcentaje de amaranto (A25). No se observaron



diferencias en el incremento de la firmeza de las migas con AG, excepto en AG5 que fue menor durante el periodo estudiado.



**Figura 4.15.** Evolución de la firmeza de los panes con harina de trigo con harina de amaranto germinado y sin germinar a lo largo del almacenamiento.

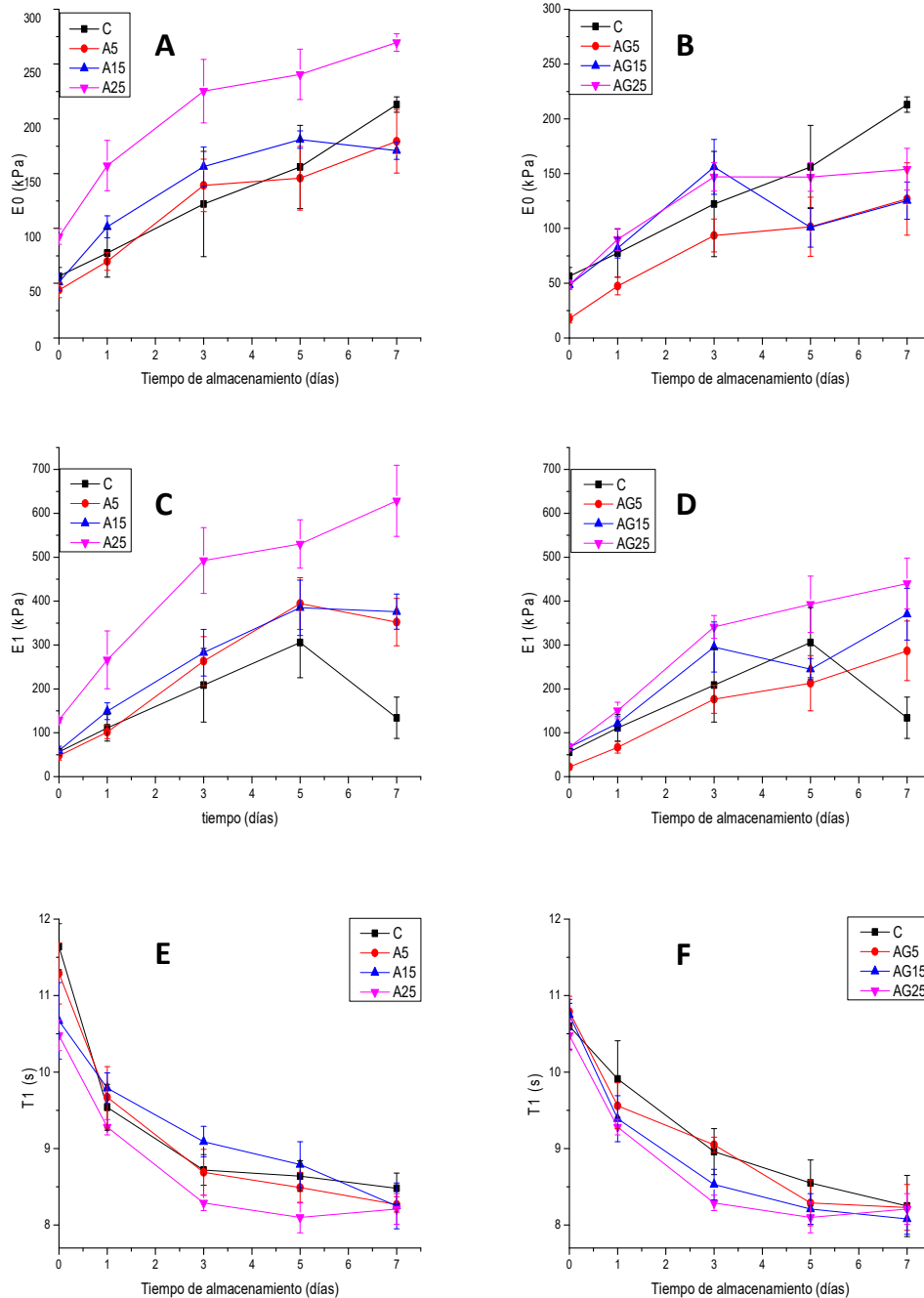
Con el almacenamiento se incrementa la firmeza en todos los casos como consecuencia de la pérdida de humedad y la retrogradación del almidón (Pateras, 1998; Gray y col., 2003). Un resultado similar fue encontrado por Guardado-Félix y col., (2020) al suplementar panes de trigo con harina de garbanzo tanto germinado como sin germinar, estos autores observaron que la firmeza de los panes fue mayor en los panes almacenados por 4 días que en los panes frescos.

#### IV.2.3.3. Relajación de la miga durante el almacenamiento

En la Figura 4.16 se observan los parámetros obtenidos a partir de la curva de relajación de las migas de los panes frescos y almacenados. Se puede observar que durante el almacenamiento tanto el parámetro E0 como E1 aumentaron, mientras que T1 disminuyó. Esto concuerda con el aumento de la firmeza, es decir los panes se tornan cada vez más elásticos y menos viscosos, por consiguiente, más duros.

De los gráficos se deduce que el nivel 25% presentó los mayores valores de E0 y E1, como también los más bajos de T1, especialmente en A. Esto sugiere que la harina AG a ese mismo nivel resultó más efectiva en la amortiguación de cambios estructurales de la matriz de la miga durante el tiempo de almacenamiento. Los menores valores de T1,

en comparación con la miga del pan de trigo, sugieren una mayor contribución a mantener la elasticidad de las paredes alveolares de la miga.



**Figura 4.16.** Parámetros de relajación de los panes de harina de trigo y amaranto germinado y no germinado. Parámetros de relajación: módulos elásticos: E0 (A y B) y E1 (C y D). Tiempos de relajación: T1 (E y F).

## **Conclusiones parciales**

### **Masas**

- ✓ La incorporación de harina de amaranto (hasta un 25%) produjo cambios relativamente menores en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de la masa de trigo, incluida una mayor absorción de agua y la presencia de proteínas insolubles en agua.
- ✓ La masa con harina de semillas de amaranto germinadas al máximo nivel ensayado (AG25) tuvo el mayor contenido de agua y también una movilidad molecular más baja asociada con un cierto grado de estructuración de la masa. A pesar de la modificación de las proteínas globulares del amaranto como consecuencia de la germinación de la semilla, la masa AG25 presentó la misma dureza pero con una mayor elasticidad que la de trigo (TPA) y mayor módulo elástico de la fracción polimérica ( $>E2$  y  $<T2$ ). La evidencia de este comportamiento más elástico es la respuesta de la estructura de la masa a grandes deformaciones. La masa una vez formada tiene una estructura cuya viscoelasticidad se mide a muy baja deformación; en esas condiciones la masa AG25 resultó más viscosa que elástica.

### **Panes**

A pesar de los cambios producidos en las masas se pudieron obtener los respectivos panes.

- ✓ La masa AG25 fue la que fermentó más rápido debido a la presencia de un alto contenido de sustratos importantes para la fermentación de las levaduras que se generaron durante la germinación.
- ✓ Aunque el volumen de masa fermentada fue menor para AG25, los panes obtenidos presentaron mayor volumen específico y fueron más oscuros que los panes A25. El alto volumen y el color tostado son dos de las propiedades de calidad requeridas por los consumidores.
- ✓ Además, la miga de AG25 presentó un mayor número de alvéolos por unidad de área y un área alveolar total mayor que la miga de pan de trigo. En comparación con la miga de A25, la AG25 presentó menos alvéolos para la misma superficie

ocupada, lo que indica que estos alvéolos son más grandes resultando una miga más aireada.

- ✓ La firmeza de la miga con harina de amaranto aumentó, sin embargo AG25 presentó un valor similar a la de la miga del pan de trigo. Los parámetros de relajación (E1 y T1) de la miga AG25 fueron similares a los de la miga C.
- ✓ Se puede concluir que el pan fresco con un 25% de harina de amaranto germinado presentó las mejores características panaderas.
- ✓ Si bien la firmeza aumenta durante el almacenamiento para todos los panes, la harina de semilla de amaranto germinada logró amortiguar dicho aumento, efecto no producido por la harina sin germinar.

# Capítulo V

## Masas y Panes de trigo con harinas de quinoa blanca y roja

## V.1. Masas

### V.1.1 Caracterización de las harinas de trigo y de quinoa

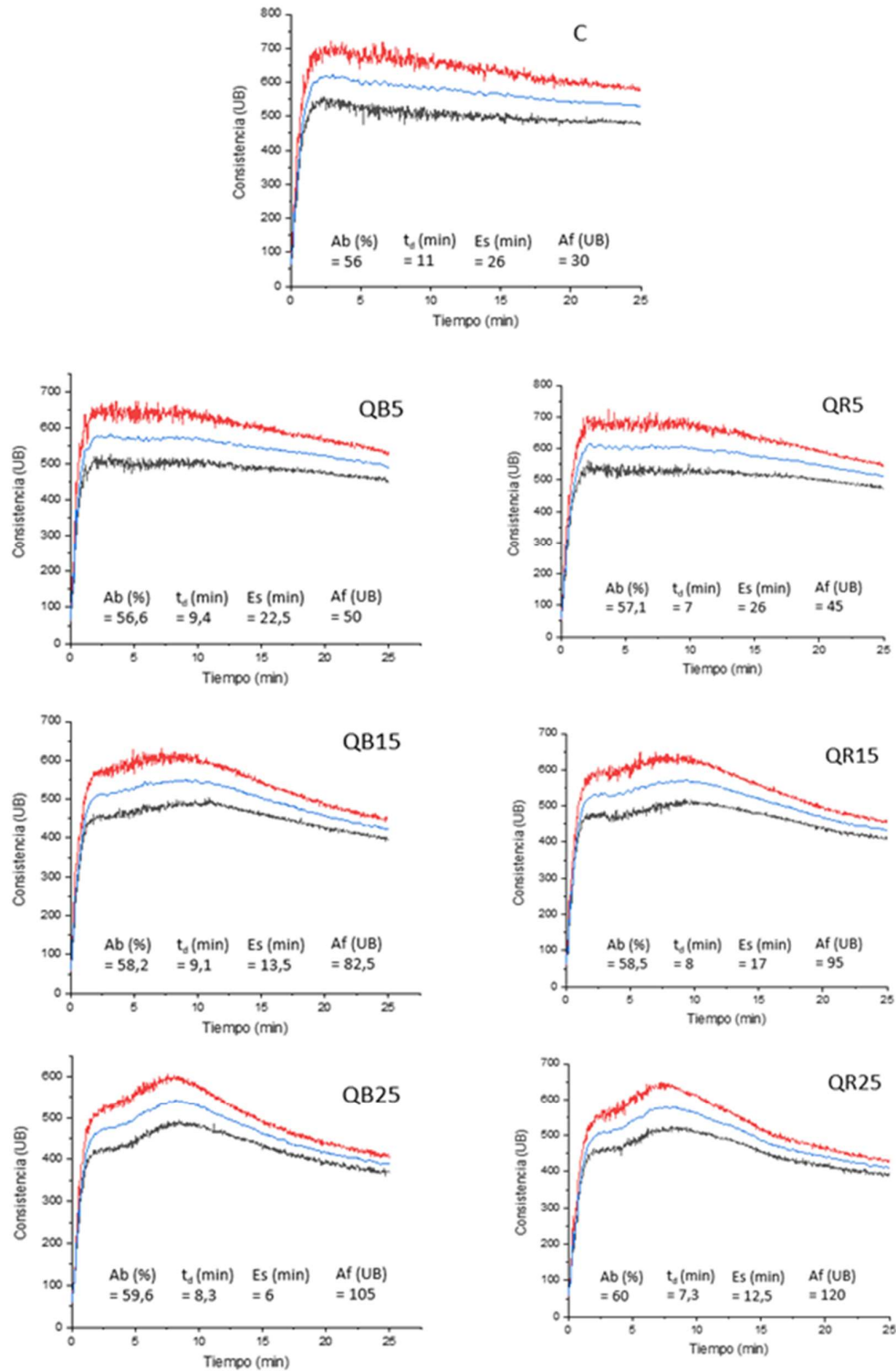
La harina de trigo utilizada fue de la misma calidad que la que uso para masas y panes de amaranto.

### V.1.2. Calidad panadera de las mezclas

#### V.1.2.1. Perfiles farinográficos

Los farinogramas de las diferentes formulaciones se muestran en la Figura 5.1. La muestra C (harina de trigo) presentó un primer pico pronunciado a corto tiempo, asociado a la hidratación de los componentes de la harina; y un segundo pico alrededor de 11 minutos perteneciente al desarrollo óptimo de la red de gluten en la masa como se describió en el Capítulo III. En la Figura 5.1 se observa que la incorporación del 5% de harina de quinoa de ambas variedades (QB5 y QR5) no cambió la forma del farinograma respecto al de la harina de trigo, se obtuvo un primer pico con mayor consistencia que el segundo; mientras que el comportamiento opuesto, es decir un segundo pico más pronunciado que el primero, se observó con  $\geq 15\%$ .

Los parámetros farinográficos que se muestran en la Figura 5.1 se vieron modificados con la presencia de harina de quinoa. El tiempo de desarrollo ( $t_d$ ) disminuyó principalmente con el agregado de quinoa blanca, alcanzándose un valor cercano a los 8 min (QB25), a su vez la absorción de agua ( $A_b$ ) aumentó al aumentar el contenido de harina de quinoa blanca. La estabilidad de la masa durante el amasado ( $E_s$ ) disminuyó de 26 min (C) a 6 min (QB25) y el grado de aflojamiento ( $A_f$ ) aumentó desde 30 (C) a 105 UB (QB25).



**Figura 5.1.** Farinogramas obtenidos para la harina de trigo (C) y para las mezclas con 5%, 15% y 25 % de quinoa blanca (QB5, QB15, QB25) y roja (QR5, QR15, QR25).

En el caso de la quinoa roja se observó el mismo comportamiento con los distintos niveles.

Tomoski y col. (2011), El- Sohaimy (2019) y Park y col (2005), informaron un aumento de la absorción de agua y la disminución de la estabilidad farinográfica al reemplazar harina de trigo por harina de quinoa; mientras que, Rodriguez-Sandoval y col. (2012) y Stikic y col (2012) observaron una disminución en la absorción de agua y un aumento en la estabilidad farinográfica con el agregado a la harina de trigo de semillas de quinoa entera, lo que explicaría un comportamiento distinto al nuestro.

La disminución de la estabilidad puede deberse a la dilución del gluten y la pérdida de propiedades viscoelásticas, producto de la adición de quinoa debido a que no posee proteínas formadoras de gluten, sino más bien proteínas globulares que interactúan de una manera diferente con el agua, lo que conduce a una mayor absorción, quizás debido a la presencia de fibra. Similar comportamiento fue observado en amaranto (Capítulo IV).

#### V.1.2.2. Contenido de gluten de la masa de trigo y quinoa

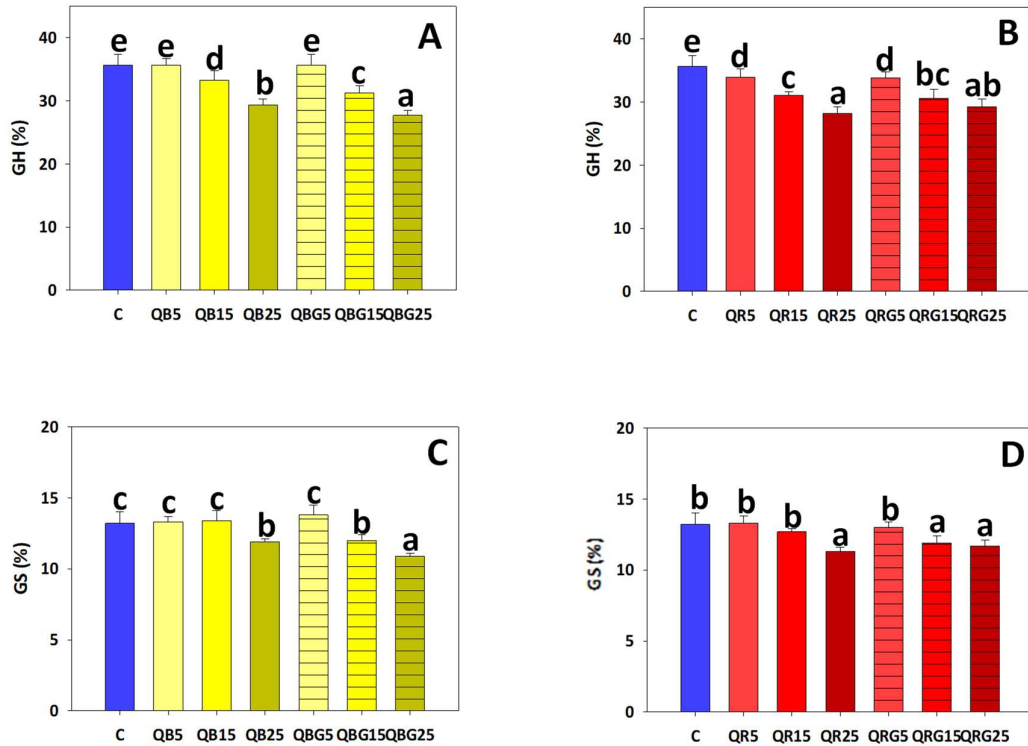
El contenido de gluten húmedo (GH) y gluten seco (GS) de masas con harina de quinoa blanca y roja tanto germinada (QBG, QRG) como sin germinar (QB, QR) se muestran en la Figura 5.2.

El mayor contenido de GH se observó en las muestras con harina de trigo (C) como también en las masas con un 5% de ambas harinas de quinoa (QB5 y QBG5) siendo el valor en promedio del 35,7% (Figura 5.2.A). Además, puede observarse que al aumentar el porcentaje de QB, el valor del GH disminuyó especialmente en las formulaciones con quinoa germinada, siendo mínimo en QBG25 (27,7 %). En la Figura 5.2 B se muestra el valor de GH para las masas con QR. Al aumentar el contenido de quinoa roja, los valores de GH disminuyeron independientemente del tratamiento, siendo mínimos para las masas QR25 (28,2%) y QRG25 (29,3%).

Se observó que los menores valores de gluten seco (GS) lo presentaron las masas con 25% de harina de quinoa ( QB25, QBG25, QR25 y QRG25) (Figura 5.2 C y D).

Por otro lado, se calculó el cociente GH/GS, en donde no se observaron diferencias significativas para las distintas masas estudiadas, siendo el valor promedio cercano a 3 (2,6).





**Figura 5.2.** Contenido de gluten húmedo-GH (A y B) y gluten seco-GS (C y D) de las masas de harina de trigo y de harinas de quinoa blanca (QB y QBG) y roja (QR y QRG). Niveles: 0% (C), 5%, 15% y 25%. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Comparando ambas variedades de quinoa se observó una tendencia similar en el valor de gluten húmedo y seco de las masas conteniendo tanto quinoa blanca como roja, en donde al aumentar la cantidad de quinoa se produce una disminución en el contenido de gluten (GH y GS). Este resultado es esperable, ya que las proteínas formadoras de la red de gluten son aportadas por el trigo exclusivamente. Una mayor disminución de GS en las masas con quinoa germinada podría deberse a la dilución del gluten conjuntamente con la incorporación de polímeros proteicos de menor tamaño, especialmente en QBG.

Resultados similares fueron encontrados por Suarez-Estrella y col. (2020), donde observaron un debilitamiento en la red de gluten, producto de la incorporación de harina de quinoa germinada en masas con harina de trigo. Los resultados obtenidos sugieren que pese a que las proteínas en la quinoa son la globulina 11S y la globulina-p, tanto en blanca como en roja, no estarían interviniendo en la formación de la matriz de

gluten junto con las proteínas de trigo, debido a que el gluten seco también disminuye con el aumento de quinoa.

### V. 1.3. Propiedades de hidratación de la masa

Los parámetros de hidratación de las masas de harina de trigo y quinoa blanca (sin germinar y germinada) se muestran en la Tabla 5.1. La humedad de la masa con harina de trigo solamente (C) fue la menor, al incrementar el contenido de quinoa blanca (QB y QBG), los valores de humedad aumentaron en concordancia con lo observado en la Figura 5.1, es decir, un mayor valor de la absorción de agua farinográfica condujo a valores de humedad de la masa mayores. Un parámetro que varió significativamente en especial para las muestras QB, fue el pH de la masa; el valor más bajo se observó para la masa de trigo C y el más alto en la masa QB25. Si bien QB produjo un aumento progresivo significativo, dicho aumento fue leve.

Con respecto a la actividad acuosa, dicho parámetro aumentó con el agregado de quinoa blanca resultando más elevados para las muestras QBG; un aumento de  $a_w$  sugiere una mayor disponibilidad de agua, como en el caso de las masas con quinoa blanca germinada.

**Tabla 5.1.** Propiedades de hidratación de la masa de harina de trigo y quinoa blanca germinada (QBG) y sin germinar (QB).

Masa	Humedad (%)	pH	$a_w$
C	43,52 ± 0,18 a	5,07 ± 0,02 a	0,9884 ± 0,0018 a
QB5	43,98 ± 0,02 b	5,14 ± 0,02 b	0,9863 ± 0,0011 a
QB15	44,66 ± 0,09 d	5,21 ± 0,02 d	0,9877 ± 0,0010 a
QB25	45,16 ± 0,08 e	5,36 ± 0,02 c	0,9918 ± 0,0012 bc
QBG5	43,87 ± 0,14 b	5,16 ± 0,02 b	0,9937 ± 0,0007 c
QBG15	44,35 ± 0,20 c	5,10 ± 0,03 a	0,9923 ± 0,0016 bc
QBG25	44,67 ± 0,06 d	5,10 ± 0,01 a	0,9911 ± 0,0009 b

Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa blanca: no germinadas: 0% (C), 5% (QB5), 15% (QB15) y 25% (QB25); germinadas: 5% (QBG5), 15% (QBG15) y 25% (QBG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

En masas con quinoa roja puede observarse en la Tabla 5.2 que cuanto mayor fue el contenido de harina de quinoa (QR y QRG), mayor fue la humedad; en concordancia con la absorción farinográfica de agua que también aumentó (ver Figura 5.1.). Al igual que en quinoa blanca, si bien las masas presentaron diferencias significativas en valores de pH, los valores estuvieron en el rango de 5,1-5,4. La actividad acuosa, al igual que en masas con quinoa blanca fue alta, entre 0,98 y 0,99. Las masas QR presentaron mayor disponibilidad de agua que las masas QRG (Tabla 5.2).

**Tabla 5.2.** Propiedades de hidratación de la masa de harina de trigo y quinoa roja germinada (QRG) y sin germinar (QR).

Masa	Humedad (%)	pH	aw
C	43,52 ± 0,18 a	5,07 ± 0,02 b	0,9884 ± 0,0018 a
QR5	44,24 ± 0,02 b	5,14 ± 0,02 cd	0,9897 ± 0,0041 ab
QR15	44,63 ± 0,06 c	5,17 ± 0,02 d	0,9936 ± 0,0017 c
QR25	45,24 ± 0,06 e	5,42 ± 0,02 e	0,9927 ± 0,0013 bc
QRG5	44,26 ± 0,07 b	5,04 ± 0,02 a	0,9880 ± 0,0022 a
QRG15	44,85 ± 0,04 d	5,08 ± 0,01 b	0,9873 ± 0,0017 a
QRG25	45,32 ± 0,03 e	5,11 ± 0,01 c	0,9890 ± 0,0003 ab

Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa roja: no germinadas: 0% (C), 5% (QR5), 15% (QR15) y 25% (QR25); muestras germinadas: 5% (QRG5), 15% (QRG15) y 25% (QRG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

Como se explicó en el Capítulo IV para amaranto, altos valores de movilidad molecular ( $\lambda$ ) están relacionados a una estructura de masa más débil o lábil. Por esta razón es que se evaluó dicho parámetro en las masas de harina de trigo con harina de quinoa blanca y roja, tanto sin germinar como germinada (Tabla 5.3).

La masa control (C) fue la que presentó la menor movilidad molecular ( $\lambda$ ). En general, a medida que aumentó el contenido de quinoa blanca tanto germinada como sin germinar se incrementó la  $\lambda$ , asociándose a una mayor movilidad molecular de los  $^1\text{H}$  en la masa. La formación de una matriz más lábil, menos estructurada, favorece la disociación del agua de otros componentes, alcanzando un estado de alta energía.

**Tabla 5.3.** Tiempo de relajación ( $\lambda$ ) de spin-spin  $^1\text{H}$  de las masas de harina de trigo y quinoa germinada blanca (QBG) y roja (QRG) y quinoas blanca y roja sin germinar (QB y QR).

$\lambda$ (ms)			
Quinoa blanca		Quinoa roja	
C	6,8 $\pm$ 0,7 a	C	6,8 $\pm$ 0,7 a
QB5	7,3 $\pm$ 0,3 b	QR5	8,1 $\pm$ 0,5 bc
QB15	8,8 $\pm$ 0,3 e	QR15	8,0 $\pm$ 0,3 bc
QB25	8,4 $\pm$ 0,2 de	QR25	7,9 $\pm$ 0,7 b
QBG5	8,1 $\pm$ 0,4 cd	QRG5	7,8 $\pm$ 0,4 b
QBG15	7,9 $\pm$ 0,5 c	QRG15	8,5 $\pm$ 0,4 c
QBG25	8,4 $\pm$ 0,5 de	QRG25	8,0 $\pm$ 0,4 bc

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  DE.

En este punto cabe resaltar algunas diferencias, especialmente a niveles de 5 y 15%. Por un lado, en muestras QB (sin germinar),  $\lambda$  aumentó en forma significativa y progresiva hasta un 15%, valor que permaneció constante al 25%; para las muestras QBG se observó un gran aumento al 5% pero que no resultó significativamente diferente al del 15%, aunque fue significativamente mayor al 25%. Masas con 25% (QB25 y QBG25) presentaron similar movilidad molecular. Cuando la semilla no está germinada, las proteínas y almidones con su estructura intacta absorben agua a través de las uniones puente hidrógeno (especialmente a 15 y 25%), limitando de esta forma la unión del agua con las proteínas de trigo, dando lugar a una matriz de gluten más débil. La germinación de quinoa blanca produce la hidrólisis de estas macromoléculas (proteínas y almidón), cambiando su estructura y dejando expuestos mayor proporción de sitios hidrofílicos para la formación de puentes hidrogeno, por eso es que ya el 5% produce una matriz más lábil cuyo valor de  $\lambda$  casi no cambia con la concentración.

A diferencia de las masas con quinoa blanca, a medida que se incrementó el contenido de quinoa roja tanto germinada como sin germinar los valores de  $\lambda$  aumentaron respecto a C, pero no cambiaron significativamente entre los diferentes niveles.

#### V.1.4. Caracterización reológica de las masas

A continuación, se describen los resultados obtenidos para los diferentes ensayos reológicos llevados a cabo sobre las diferentes masas compuestas harina de trigo-harina de quinoa.

##### V.1.4.1. Análisis de perfil de textura

En la Tabla 5.4 se muestran los diferentes parámetros obtenidos del análisis del perfil de textura de las masas de harina de trigo y quinoa blanca germinada (QBG) y sin germinar (QB). Al adicionar QB se observó una disminución en la dureza, alcanzando el menor valor al 25% (QB25) mientras que un incremento en QBG formó masas más duras. A su vez los valores de adhesividad, elasticidad, cohesividad y resiliencia no presentaron diferencias significativas entre las diferentes masas estudiadas (Tabla 5.4). Resultados similares fueron encontrados por Vasquez-Lara y col (2016) al analizar masas con harina de quinoa en diferentes proporciones (hasta un 10%), en donde las masas con quinoa presentaron menor dureza que la masa con trigo solamente. Por otro lado, Park y col (2005) no encontraron diferencias en la dureza de las masas al realizar reemplazos de harina de trigo por harina de quinoa hasta un 30%.

Por otro lado, en la Tabla 5.5 se muestran los parámetros de textura de las masas con harina de trigo y quinoa roja germinada (QRG) y sin germinar (QR). En cuanto a la dureza se observa un comportamiento similar al de las masas con quinoa blanca, en donde el incremento de QR tuvo una tendencia a disminuir la dureza a partir del 15%, mientras que al aumentar el contenido de QRG se produjo un aumento en este parámetro. A su vez similar comportamiento se evidenció en la adhesividad, elasticidad y cohesividad. Es decir, al aumentar el nivel de QR, se produjo una disminución en los parámetros mencionados anteriormente; mientras que con la quinoa roja germinada se observó un aumento de los mismos, en algunos casos se mantuvieron similares al control. Por su parte, el único parámetro que no se vio modificado significativamente fue la resiliencia.

**Tabla 5.4.** Parámetros de textura de la masa de harina de trigo y quinoa blanca.

Muestra	Parámetros de textura				
	Dureza (N)	Adhesividad (N.s)	Elasticidad (mm)	Cohesividad (-)	Resiliencia (-)
<b>C</b>	1,24 ± 0,29 <b>bc</b>	3,3 ± 1,0 <b>a</b>	6,92 ± 1,64 <b>a</b>	0,9 ± 0,2 <b>a</b>	0,11 ± 0,03 <b>a</b>
<b>QB5</b>	1,29 ± 0,13 <b>c</b>	3,6 ± 0,8 <b>a</b>	7,0 ± 1,2 <b>a</b>	0,9 ± 0,1 <b>a</b>	0,10 ± 0,01 <b>a</b>
<b>QB15</b>	1,13 ± 0,16 <b>b</b>	3,7 ± 0,7 <b>a</b>	7,36 ± 1,1 <b>a</b>	0,87 ± 0,13 <b>a</b>	0,09 ± 0,02 <b>a</b>
<b>QB25</b>	0,92 ± 0,12 <b>a</b>	3,5 ± 0,5 <b>a</b>	7,18 ± 0,69 <b>a</b>	0,90 ± 0,09 <b>a</b>	0,08 ± 0,02 <b>a</b>
<b>QBG5</b>	1,27 ± 0,18 <b>c</b>	3,4 ± 0,6 <b>a</b>	6,48 ± 0,66 <b>a</b>	0,82 ± 0,07 <b>a</b>	0,1 ± 0,02 <b>a</b>
<b>QBG15</b>	1,46 ± 0,26 <b>d</b>	3,4 ± 1,0 <b>a</b>	6,56 ± 1,31 <b>a</b>	0,76 ± 0,12 <b>a</b>	0,1 ± 0,02 <b>a</b>
<b>QBG25</b>	1,43 ± 0,15 <b>d</b>	3,8 ± 0,7 <b>a</b>	7,15 ± 1,26 <b>a</b>	0,82 ± 0,1 <b>a</b>	0,08 ± 0,01 <b>a</b>

Parámetros de textura: Dureza, Adhesividad (Adh), Elasticidad (Elast), Cohesividad (Cohes), Resiliencia (Resil). Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa blanca: no germinadas: 0% (C), 5% (QB5), 15% (QB15) y 25% (QB25); germinadas: 5% (QBG5), 15% (QBG15) y 25% (QBG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  DE.

**Tabla 5.5.** Parámetros de textura de la masa de harina de trigo y quinoa roja.

	<b>Parámetros de textura</b>				
<b>Muestra</b>	<b>Dureza (N)</b>	<b>Adhesividad (N.s)</b>	<b>Elasticidad (mm)</b>	<b>Cohesividad (-)</b>	<b>Resiliencia (-)</b>
<b>Control</b>	1,24 ± 0,29 <b>b</b>	3,3 ± 1,0 <b>c</b>	6,92 ± 1,64 <b>b</b>	0,9 ± 0,2 <b>de</b>	0,11 ± 0,03 <b>a</b>
<b>QR5</b>	1,2 ± 0,15 <b>b</b>	3,4 ± 0,5 <b>c</b>	6,96 ± 0,82 <b>b</b>	0,8 ± 0,1 <b>bc</b>	0,1 ± 0,02 <b>a</b>
<b>QR15</b>	1,02 ± 0,17 <b>a</b>	1,9 ± 1,1 <b>a</b>	5,21 ± 1,02 <b>a</b>	0,62 ± 0,11 <b>a</b>	0,08 ± 0,01 <b>a</b>
<b>QR25</b>	0,94 ± 0,2 <b>a</b>	2,3 ± 1,0 <b>b</b>	5,4 ± 1,37 <b>a</b>	0,79 ± 0,19 <b>b</b>	0,06 ± 0,01 <b>a</b>
<b>QRG5</b>	1,28 ± 0,18 <b>bc</b>	4,6 ± 0,6 <b>d</b>	7,45 ± 0,97 <b>b</b>	0,86 ± 0,07 <b>cd</b>	0,08 ± 0,01 <b>a</b>
<b>QRG15</b>	1,40 ± 0,27 <b>cd</b>	4,8 ± 0,5 <b>d</b>	8,15 ± 0,87 <b>c</b>	0,95 ± 0,05 <b>e</b>	0,08 ± 0,02 <b>a</b>
<b>QRG25</b>	1,42 ± 0,20 <b>d</b>	4,5 ± 0,5 <b>d</b>	7,32 ± 0,61 <b>b</b>	0,91 ± 0,06 <b>de</b>	0,07 ± 0,02 <b>a</b>

Parámetros de textura: Dureza, Adhesividad (Adh), Elasticidad (Elast), Cohesividad (Cohes), Resiliencia (Resil). Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa roja: no germinadas: 0% (C), 5% (QR5), 15% (QR15) y 25% (QR25); germinadas: 5% (QRG5), 15% (QRG15) y 25% (QRG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

La diferencia observada en la dureza de las masas de ambas variedades de quinoa sin germinar (QB y QR) frente a las germinadas (QBG y QRG), se podría deber a que al aumentar la cantidad de quinoa sin germinar, se produce una dilución creciente del gluten, un aumento de la humedad y de la movilidad molecular que conduce a masas más blandas.

En el caso de las masas con QBG y QRG, se genera un incremento en el contenido de FDT, lo cual podría no solo compensar la pérdida de dureza por la dilución del gluten (como ocurre en QB y QR) sino que su interacción con el almidón, proteínas y agua favorecería la formación de una matriz más estructurada que genera masas de mayor dureza.

La adhesividad de las masas con QB no varió, mientras que en las masas con QR disminuyó. La masa menos pegajosa obtenida con QR indicaría una diferente interacción de los polímeros con el agua en la masa, dicha agua se encontraría más unida a estas macromoléculas, y por consiguiente no estaría migrando a la superficie originando masas menos adhesivas.

La germinación no cambió la adhesividad de las masas QBG mientras que las masas con QRG fueron las más adhesivas con respecto a C y QR. Esto podría deberse a un aumento en el porcentaje de lípidos y un cambio conformacional en la estructura de las proteínas, como vimos en FTIR. Estos cambios modifican la afinidad por el agua, conduciendo a una mayor adhesividad, independiente del nivel de harina germinada agregada.

La cohesividad se relaciona con la capacidad de los componentes de la masa para permanecer unidos entre sí. En el caso de las masas con quinoa blanca la cohesividad no se modificó indicando que todos los componentes estructurales de las masas se mantienen unidos. En el caso de la quinoa roja, las masas con QRG fueron más cohesivas que las QR por lo que tendrían la capacidad de deformarse sin romperse, mientras que con QR estaría formando una masa más débil y con menos tendencia de las partículas de la masa a permanecer unidas. En cuanto a la elasticidad, el comportamiento se puede correlacionar con la cohesividad, es decir, masas más cohesivas son más elásticas.

#### V.1.4.2. Relajación de las masas

En el caso de los materiales viscoelásticos, el tiempo de relajación (T) es el resultado de la acción combinada del comportamiento elástico (E) y el comportamiento viscoso ( $\eta$ ).



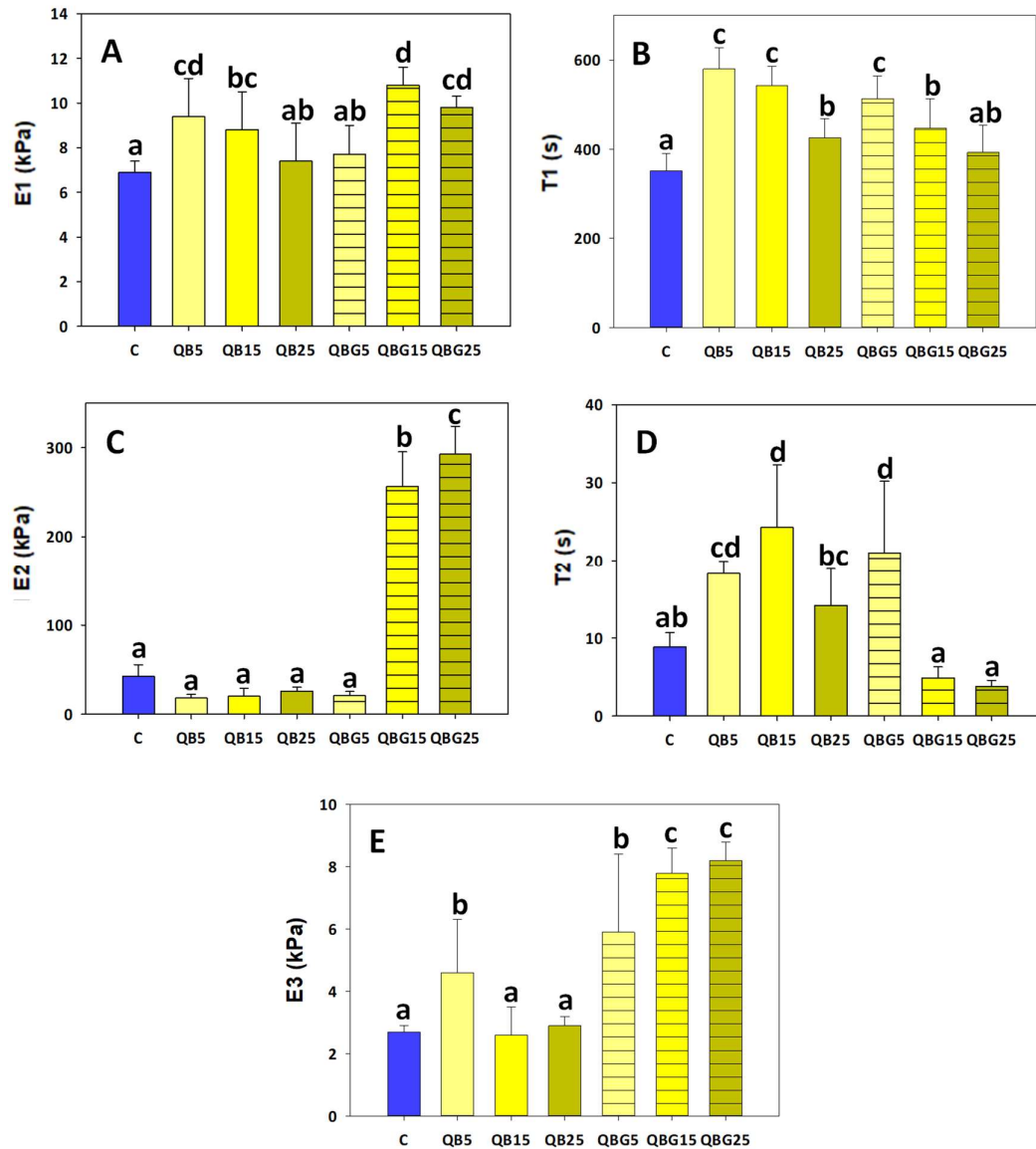
Los parámetros de relajación E y T de las masas con quino blanca (QB y QBG) se muestran en la Figura 5.3.

En las Figuras 5.3 A y B se muestran el módulo elástico (E1) y el tiempo de relajación (T1), respectivamente. Ambos parámetros gobiernan la relajación al comienzo de la deformación, atribuida como mencionamos antes, a la reorientación de las moléculas pequeñas. En cuanto a los valores de E1 (Figura 5.3.A), el menor valor lo presentó la masa C, las masas con QB presentaron un valor mayor de E1 respecto a C (excepto QB25), alcanzando su máximo para la masa QB5. Por otra parte, al incrementarse el contenido de QBG el valor de E1 aumentó (15% y 25%). El comportamiento para el tiempo de relajación T1 (Figura 5.3.B) fue similar tanto para las masas con quinoa blanca germinada como sin germinar, donde el máximo T1 fue mayor en masas con 5%, y un incremento en la adición de ambas quinoas disminuyó este parámetro. Esto se relacionaría con la contribución de los polímeros de menor tamaño (generados durante la germinación) a una mayor elasticidad de la masa.

Los valores de E2 y T2 se atribuyen al reordenamiento en la matriz de la masa de los polímeros de mayor tamaño. Las masas C junto con las QB y QBG5 no presentaron diferencias en los valores de E2 (Figura 5.3.C). Al igual que en E1, la adición de QBG en niveles  $\geq 15\%$  generaron un aumento en el valor del módulo elástico E2. Esta tendencia sugiere que durante la germinación se podrían haber formado polímeros de estructura y tamaño diferente a los originales que conducirían a la formación de una matriz de gluten más elástica. Asimismo, y dada la relación entre E y T, esta variación significativa en E2 se reflejó en T2, ya que en la Figura 5.3.D se observa que con el aumento de QB se produjo un considerable aumento en este tiempo de relajación respecto a C. En el caso de las masas con QBG, para el nivel más bajo (QBG5) se produjo un aumento significativo de T2 respecto al valor de C, pero al aumentar el contenido de la harina germinada ( $\geq 15\%$ ) los valores de T2 disminuyeron igualándose al valor de C (concordante con un mayor valor del módulo elástico E2). Este comportamiento da idea de que las masas con harina germinada tuvieron menor grado de relajación (menor T2) en la zona intermedia de la curva de relajación con un E2 significativamente más alto, lo que indica una mayor contribución de elasticidad de la masa.

Estos resultados sugerirían que las proteínas de quinoa germinadas estarían interaccionando con las proteínas de trigo contribuyendo a la formación de una

estructura de gluten diferente a la convencional, de hecho el contenido de GH fue menor; quizás podrían estar interaccionando por uniones no-covalentes en forma interpenetradas, a modo de “fillers” estructurantes. Además, durante la germinación aumentan los componentes solubles en agua, los cuales podrían tener un efecto de lubricación más evidente durante la determinación de la relajación de la tensión (Yang y col., 2019).



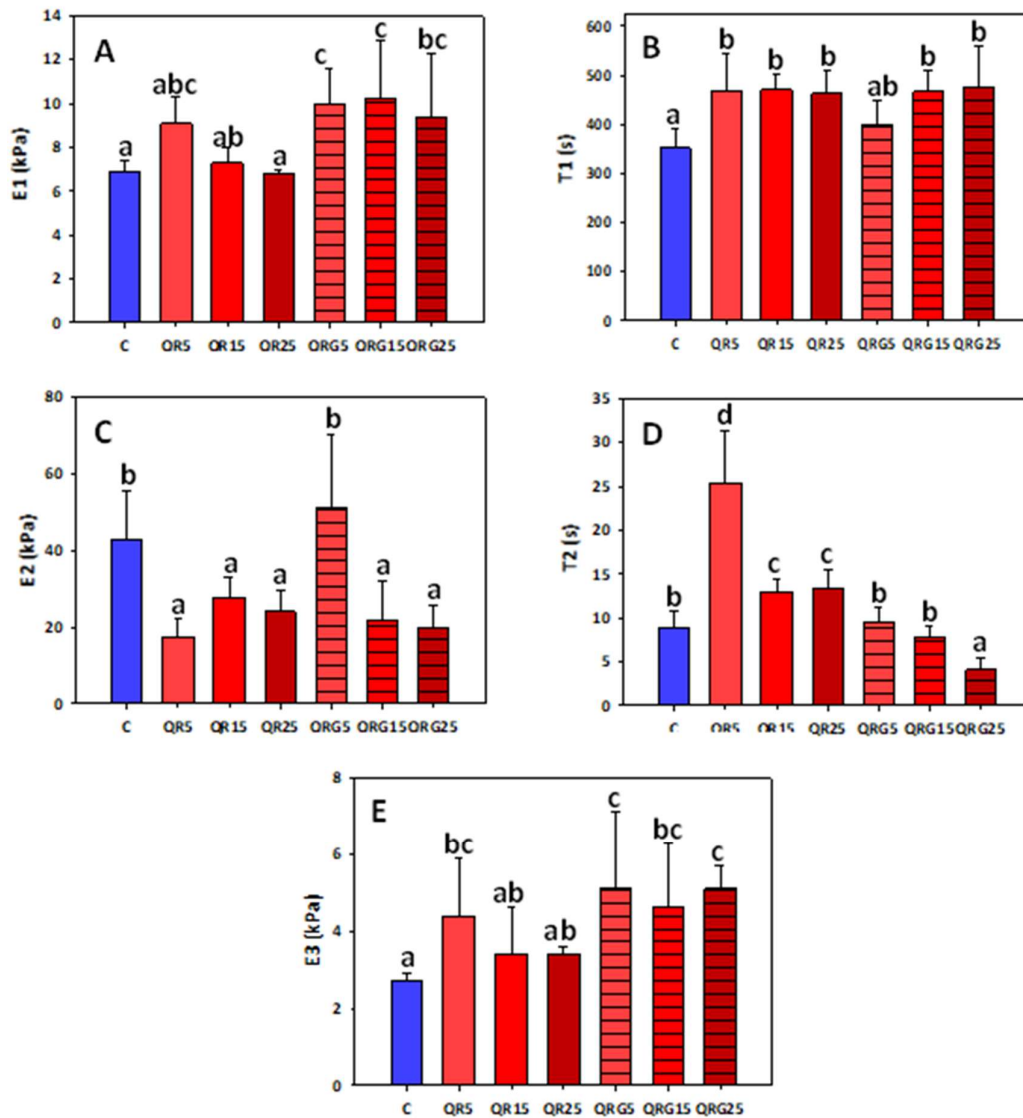
**Figura 5.3.** Parámetros de relajación de la masa de harina de trigo y quinoa blanca germinada y sin germinar. Parámetros de relajación: módulos elásticos: E1 (A), E2 (C) y E3 (E). Tiempos de relajación: T1 (B) y T2 (D). Niveles de harinas de quinoa blanca: muestras sin germinar: 0% (C), 5% (QB5), 15% (QB15), 25% (QB25); muestras germinadas: 5% (QBG5), 15% (QBG15), 25% (QBG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Finalmente, la Figura 5.3.E muestra los valores de E3 que representan el almacenamiento de energía en la masa en la zona 3, donde el esfuerzo no cambia con la deformación aplicada, alcanzando el estado de equilibrio. Yang y col. (2019) relacionaron la tensión de equilibrio con el enlace covalente. Los valores más altos de E3 fueron los correspondientes a las masas formuladas con QBG, alcanzando su máximo en el caso de los mayores niveles (15 y 25%). Asimismo, las masas con QB presentaron similar E3 que la masa de trigo (C), a excepción de la QB5. Estos resultados demuestran que, las masas con QBG presentan un comportamiento elástico en el equilibrio, después del proceso de deformación. El comportamiento de relajación de esta masa está en concordancia con los valores de dureza observados en TPA (Tabla 5.4).

Los parámetros de relajación E y T de las masas con quinoa roja se muestran en la Figura 5.4. Las masas con trigo y QR, a diferencia de las QB, presentaron valores menores de E1 (Figura 5.4.A). Sin embargo, para las masas con QRG se observó que para todos los niveles de adición se produjo un aumento de E1 respecto a C. El tiempo de relajación T1 (Figura 5.4.B) fue similar tanto para las masas con QR como con QRG, dado que en todos los casos fue mayor a C, sin observarse diferencias significativas en los diferentes niveles. En cuanto a E2, la masa C presentó un valor más elevado que las QR, sin diferencias significativas entre ellas (Figura 5.4.C). La masa QRG5 presentó un valor semejante a C, pero para masas con niveles de adición más elevados (15 y 25%) los valores decayeron, no observándose diferencias significativas con las QR. La variación observada para E2 se vio reflejada en los valores de T2 para las masas con QR, ya que los valores de T2 fueron mayores que el de C. Sin embargo, las masas con QRG no exhibieron el mismo comportamiento, dado que no hubo diferencias significativas con C, a excepción de QRG25 que fue significativamente menor (Figura 5.4.D).

Al incorporar un 5% de quinoa roja, la incorporación de proteínas parcialmente hidrolizadas por germinación en QRG5 ayuda a mantener la estructura de la matriz de gluten del trigo a diferencia de QR5. A este fenómeno estaría contribuyendo una estructura polimérica generada que interaccionaría en forma diferente con las proteínas de trigo, asegurando la misma matriz. Como el agregado de moléculas de menor tamaño esta en baja proporción (5%) esto contribuye a mantener las viscoelasticidad de la masa.

Por último, la Figura 5.4. E muestra los valores de E3 que representan el almacenamiento de energía en la masa en el estado de equilibrio. La masa C fue la que presentó el menor valor de E3. Por su parte todas las masas con QR presentaron un leve aumento respecto a C, siendo la QR5 la del valor más alto de E3. Para las masas con QRG se observó que todas presentaron los valores más altos de E3, siendo superiores a C y a todas las masas con harina sin germinar. Esto estaría indicando que, en el equilibrio, las masas con QRG presentaron un mayor carácter elástico y una mayor dureza (visto por TPA).



**Figura 5.4.** Parámetros de relajación de la masa de harina de trigo y quinoa roja germinada y sin germinar. Parámetros de relajación: módulos elásticos: E1 (A), E2 (C) y E3 (E). Tiempos de relajación: T1 (B) y T2 (D). Niveles de harinas de quinoa roja: muestras sin germinar: 0% (C), 5% (QR5), 15% (QR15), 25% (QR25); muestras germinadas: 5% (QRG5), 15% (QRG15), 25% (QRG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### V.1.4.3. Ensayo reológico dinámico

En cuanto a los ensayos de viscoelasticidad de la masa por medio de reología dinámica a baja deformación, en donde no se produce ruptura de la estructura de la masa, se obtuvieron las curvas de barrido de frecuencia ( $G'$  y  $G''$  vs. Frecuencia) o espectros mecánicos. Los parámetros viscoelásticos obtenidos a partir de estos espectros mecánicos, a 1 Hz, fueron los módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y pérdida ( $G''$ ) y la relación  $G''/G' = \tan \delta$ .

En la Tabla 5.6 se observan los parámetros viscoelásticos de las masas con harina de quinoa blanca sin germinar (QB) y germinada (QBG).

**Tabla 5.6.** Parámetros viscoelásticos (f=1 Hz) de la masa de harina de trigo y quinoa blanca.

Masa	Parámetros viscoelásticos (1 Hz)		
	$G'$ (kPa)	$G''$ (kPa)	$\tan \delta$ (-)
<b>C</b>	20,8 ± 0,8 <b>bcd</b>	9,6 ± 0,3 <b>b</b>	0,46 ± 0,00 <b>b</b>
<b>QB5</b>	18,7 ± 2,4 <b>bcd</b>	8,5 ± 1,6 <b>ab</b>	0,45 ± 0,03 <b>ab</b>
<b>QB15</b>	17,9 ± 1,6 <b>abc</b>	8,1 ± 0,7 <b>ab</b>	0,45 ± 0,00 <b>ab</b>
<b>QB25</b>	18,6 ± 2,0 <b>ab</b>	8,4 ± 1,4 <b>ab</b>	0,45 ± 0,03 <b>ab</b>
<b>QBG5</b>	15,3 ± 1,9 <b>a</b>	7,1 ± 0,9 <b>a</b>	0,46 ± 0,01 <b>b</b>
<b>QBG15</b>	21,9 ± 3,0 <b>cd</b>	9,4 ± 1,4 <b>b</b>	0,43 ± 0,01 <b>a</b>
<b>QBG25</b>	22,3 ± 1,2 <b>d</b>	9,6 ± 0,5 <b>b</b>	0,43 ± 0,00 <b>a</b>

Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa blanca: no germinadas: 0% (C), 5% (QB5), 15% (QB15) y 25% (QB25); germinadas: 5% (QBG5), 15% (QBG15) y 25% (QBG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

La masa control (C) fue la que presentó el mayor valor de  $G'$  que disminuyó con el contenido de QB, aunque dicha disminución no fue significativa, indicando que la QB no cambió la componente elástica de la masa de trigo. Asimismo, tanto  $G'$  como  $G''$  tendieron a disminuir, por consiguiente, el valor de  $\tan \delta$  adquirió valores semejantes entre las diferentes masas (aproximadamente 0,45) ya que es el cociente de los mismos. Valores superiores a 1 estarían indicando que predomina el carácter viscoso, en tanto valores entre 0,1-0,5 denotan un mayor carácter elástico; por su parte, valores cercanos a 1 indican que no hay un predominio ni viscoso ni elástico. En el caso de las masas con

harina de quinoa blanca germinada (QBG) se observó un valor muy bajo de  $G'$  para QBG5 que luego aumentó considerable y significativamente alcanzando el valor de la masa C. Los valores de  $G'$  y  $G''$  aumentaron al incrementar el nivel de QBG adicionada, sin embargo, estos valores no fueron en ningún caso superiores a los de la masa C y a pesar de ello, la  $\tan \delta$  disminuyó moderadamente, debido al hecho de que el aumento del componente elástico ( $G'$ ) fue mayor que el del componente viscoso ( $G''$ ). En conclusión, las masas con QBG en cantidades 15 y 25% resultaron levemente más elásticas. Este comportamiento concuerda con el mayor valor de E2 (módulo elástico de polímeros) presentado por dichas muestras.

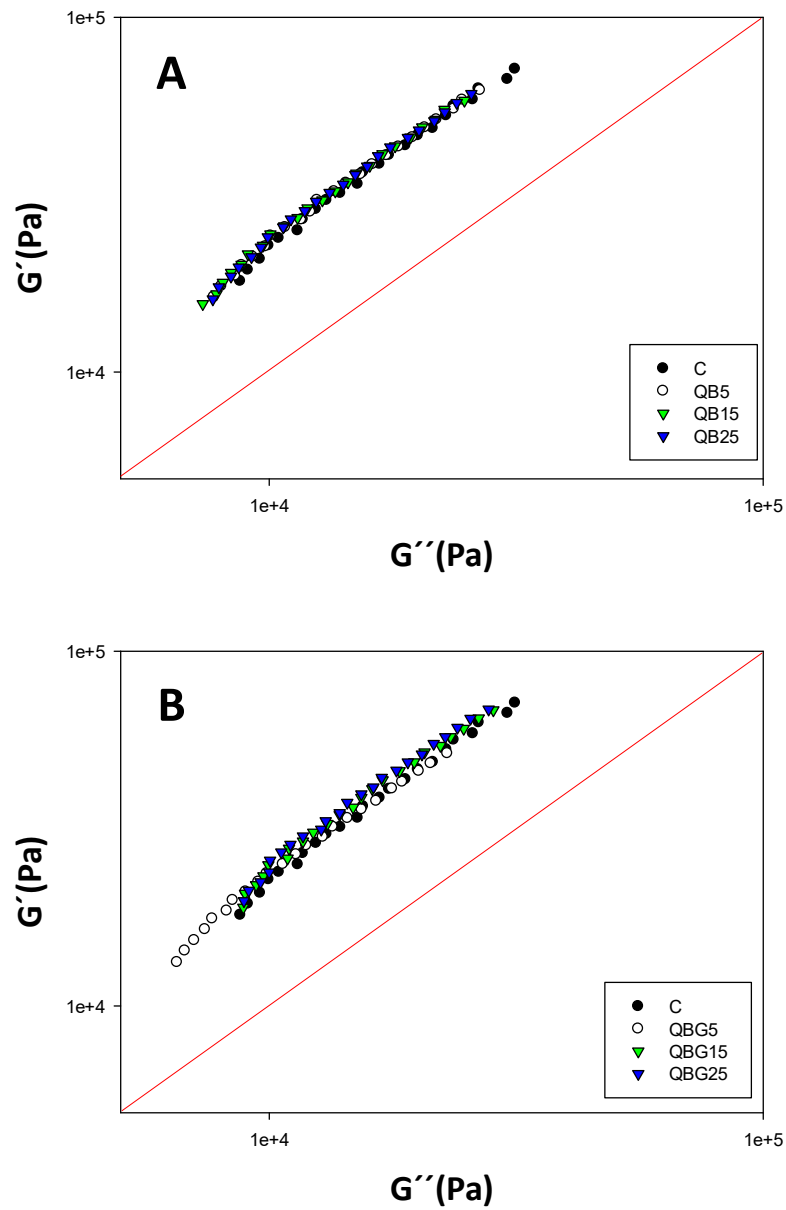
La Tabla 5.7 muestra los parámetros viscoelásticos de las masas conteniendo harina de quinoa roja germinada (QRG) como sin germinar (QR). En este caso, tanto para las masas con harina con QR como con QRG, los parámetros  $G'$  y  $G''$  no variaron respecto a la masa C ni tampoco entre los distintos niveles de adición. En cuanto a la  $\tan \delta$ , para las masas con harina de QR, no se observaron diferencias entre los diferentes niveles de adición ni respecto a la masa C.

**Tabla 5.7.** Parámetros viscoelásticos ( $f=1\text{Hz}$ ) de la masa de harina de trigo y quinoa roja.

Masa	Parámetros viscoelásticos (1 Hz)		
	$G'$ (kPa)	$G''$ (kPa)	$\tan \delta$ (-)
C	20,8 ± 0,8 a	9,6 ± 0,3 a	0,46 ± 0,00 ab
QR5	21,8 ± 3,3 a	10,2 ± 2,4 a	0,47 ± 0,04 ab
QR15	20,2 ± 1,6 a	9,8 ± 1,2 a	0,48 ± 0,03 b
QR25	20,8 ± 1,9 a	9,8 ± 0,9 a	0,47 ± 0,00 ab
QRG5	18,7 ± 1,5 a	9,0 ± 0,5 a	0,48 ± 0,01 b
QRG15	20,0 ± 2,0 a	9,1 ± 1,1 a	0,45 ± 0,01 ab
QRG25	21,7 ± 1,0 a	9,5 ± 0,7 a	0,44 ± 0,02 a

Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa roja: no germinadas: 0% (C), 5% (QR5), 15% (QR15) y 25% (QR25); germinadas: 5% (QRG5), 15% (QRG15) y 25% (QRG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

Las Figuras 5.5 y 5.6 muestran la relación entre  $G'$  y  $G''$  para los diferentes valores de frecuencia de oscilación en las masas con quinoa blanca y quinoa roja, respectivamente.



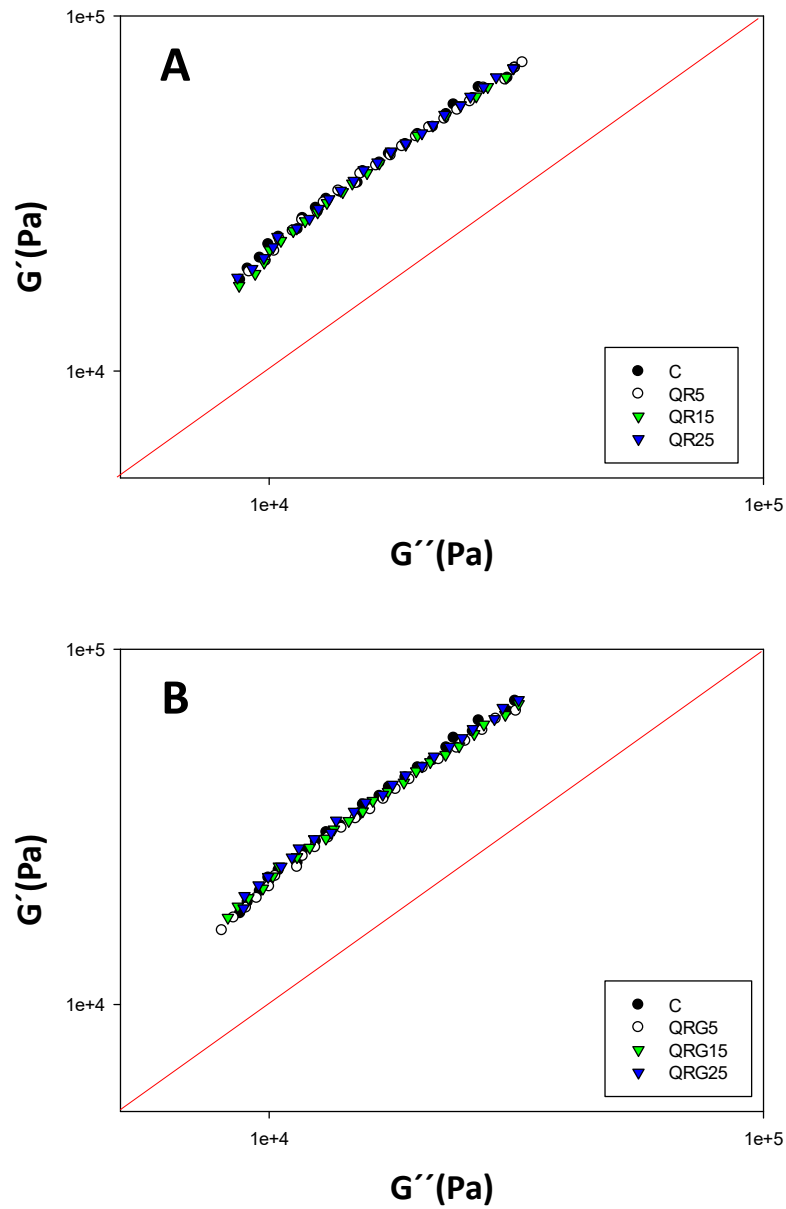
**Figura 5.5.** Módulo elástico ( $G'$ ) en función del módulo viscoso ( $G''$ ) de la masa de harina de trigo con: harina de quinoa blanca sin germinar (A) y germinada (B).

Como describimos en el Capítulo IV la igualdad de los módulos está dada por una línea a  $45^\circ$  y la relación entre ambos se muestra como una curva, cuanto más próxima la curva a la línea, mayor es el comportamiento viscoso. Además la pendiente de la curva  $G'$  versus  $G''$  se utiliza como indicador de los cambios en la morfología de los diferentes polímeros.

En las masas con harina de quinoa blanca de semillas sin germinar no se observaron diferencias en las curvas y resultaron todas superpuestas, por lo que no se evidencia heterogeneidad de los polímeros de la matriz (Figura 5.5.A) y todas ellas por encima de la línea de  $45^\circ$  evidenciando un predominio del comportamiento elástico. Las muestras de harina germinada también presentaron un comportamiento de predominio elástico (situadas por encima de la línea de  $45^\circ$ ) por un lado la curva QBG5 comenzó desde valores de  $G'$  más bajos y se superpuso con C a partir de  $1 \times 10^4$  Pa mientras que las curvas QBG15 y QBG25 estuvieron superpuestas por encima de las otras dos (Figura 5.5.B), sugiriendo un comportamiento levemente más elástico como el observado en la Tabla 5.6.

Las masas QR y QRG presentaron todas el mismo comportamiento ( $G' > G''$ ) que en la masa de trigo y ubicados todas por sobre la recta de  $45^\circ$  y superpuestas independiente del nivel y del tratamiento de la semilla (Figura 5.6 A y B).





**Figura 5.6.** Módulo elástico ( $G'$ ) en función del módulo viscoso ( $G''$ ) de la masa de harina de trigo con: harina de quinoa roja sin germinar (A) y germinada (B).

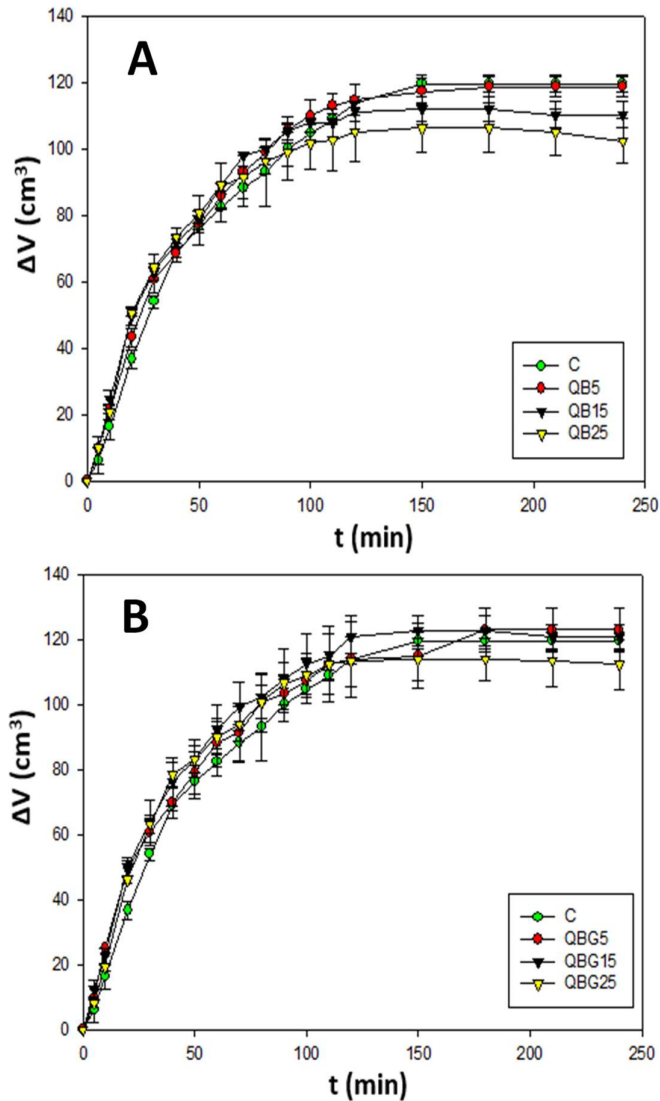
Las propiedades de hidratación y reológicas de la masa definen la calidad tecnológica final del producto, o sea, del pan. Los principales aspectos relacionados con dicha calidad se discuten a continuación.

## V.2. Panes

### V.2.1. Proceso de fermentación de la masa

Las curvas de fermentación de las diferentes masas con harina de quinoa blanca sin germinar y germinada se muestran en las Figuras 5.7.A y 5.7.B, respectivamente. En la Figura 5.7.A se observa que, para el caso de las masas con QB, todas las curvas presentaron un comportamiento similar, con crecimiento exponencial hasta aproximadamente los 115 minutos. Luego de ese tiempo se detectaron dos comportamientos diferentes: a niveles  $\geq 15\%$ , las curvas QB15 y QB25 presentaron una meseta especialmente QB25, mientras que las curvas C y QB5 continuaron aumentando hasta los 150 minutos, para a partir de ahí presentar una meseta hasta el final del ensayo. El cambio en el comportamiento de las curvas a partir de los 115 minutos podría estar directamente relacionado con el tipo de matriz que se está formando debido a la dilución de las proteínas del gluten. Este cambio al igual que en amaranto, se podría deber a que la quinoa aporta proteínas globulares, las cuales serían capaces de retener agua originando una disminución en la dureza y la elasticidad de las masas favoreciendo así la expansión de las mismas, pero con un volumen más bajo que las masas de trigo. Además, la harina de quinoa contribuye con entre un 7,3 - 10,3% de fibra dietaria total (b.s.) que modificaría la matriz de gluten, afectando sus propiedades viscoelásticas que son necesarias para la expansión de la masa, la retención de dióxido de carbono y la formación de los futuros alvéolos en la miga de pan. Las curvas de fermentación obtenidas para las masas con harina de quinoa blanca de semilla germinada (Figura 5.8.B) fueron todas similares entre sí.

Las curvas de fermentación se analizaron matemáticamente utilizando el modelo de Chapman (Ec. 2.31) según se describió en el Capítulo II. Los valores de volumen máximo (parámetro  $a$ , Tabla 5.8) disminuyeron significativamente al aumentar el contenido de harina de quinoa blanca (QB), sin diferencias significativas entre QB15 y QB25, mientras que en las muestras con harina de quinoa blanca germinada (QBG) se observó una ligera disminución solamente cuando se adicionó un 25%, sin embargo, las masas con QBG alcanzaron un mayor valor de  $\Delta V$ .



**Figura 5.7.** Curvas de fermentación de la masa. **A)** Masa con harina de trigo (C) y diferentes niveles de harinas de quinoa blanca no germinada: 5% (QB5); 15% (QB15) y 25% (QB25). **B)** Masa con harina de trigo (C) y masa con diferentes harinas de quinoa blanca germinada: 5% (QBG5), 15% (QBG15) y 25% (QBG25).

La constante cinética (parámetro  $b$ , Tabla 5.8) se mantuvo constante hasta un 15% de harina de quinoa blanca tanto germinada como sin germinar, con un aumento significativo con un 25% de adición (QB25 y QBG25), sin evidenciar diferencias entre las masas con QB y QBG. El parámetro  $c$  no resultó modificado para ninguna de las masas con harina de quinoa blanca.

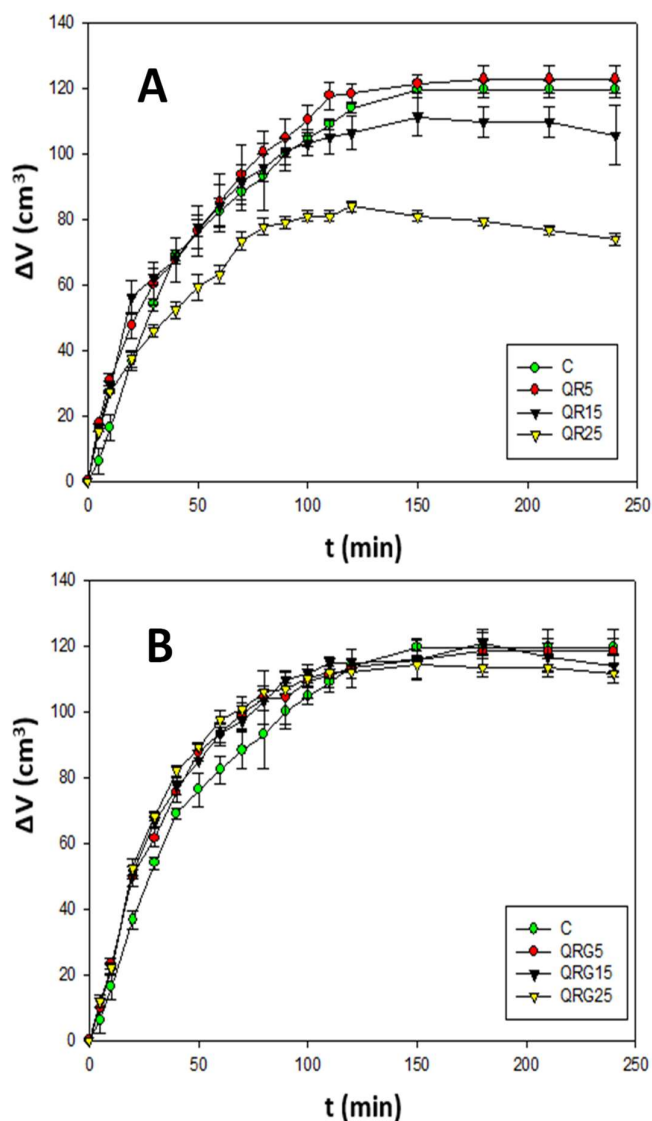
El tiempo de fermentación ( $t_f$ ) disminuyó significativamente con la adición de harina de quinoa (QB y QBG) (Tabla 5.8.), principalmente en la masa QB25 y QBG25.

**Tabla 5.8.** Parámetros cinéticos obtenidos del ensayo de fermentación de la masa.

Formulación	Fermentación			
	a (cm <sup>3</sup> )	b (min <sup>-1</sup> )	c	t <sub>f</sub> (min)
<b>C</b>	122 ± 4 <b>cd</b>	0,021 ± 0,006 <b>ab</b>	1,2 ± 0,3 <b>ab</b>	71,7 ± 9,1 <b>d</b>
<b>QB5</b>	121 ± 3 <b>bcd</b>	0,023 ± 0,001 <b>ab</b>	1,1 ± 0,1 <b>ab</b>	63,6 ± 2,2 <b>cd</b>
<b>QB15</b>	113 ± 4 <b>ab</b>	0,028 ± 0,004 <b>bcd</b>	1,1 ± 0,2 <b>ab</b>	51,5 ± 3,7 <b>ab</b>
<b>QB25</b>	105 ± 8 <b>a</b>	0,035 ± 0,006 <b>d</b>	1,2 ± 0,2 <b>ab</b>	45,0 ± 4,7 <b>a</b>
<b>QBG5</b>	125 ± 7 <b>d</b>	0,019 ± 0,001 <b>a</b>	0,9 ± 0,1 <b>a</b>	66,6 ± 1,9 <b>cd</b>
<b>QBG15</b>	124 ± 7 <b>d</b>	0,024 ± 0,004 <b>abc</b>	1,0 ± 0,1 <b>ab</b>	59,2 ± 6,1 <b>bc</b>
<b>QBG25</b>	114 ± 8 <b>abc</b>	0,031 ± 0,002 <b>cd</b>	1,3 ± 0,1 <b>b</b>	50,7 ± 2,7 <b>ab</b>

Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa blanca: no germinadas: 0% (C), 5% (QB5), 15% (QB15) y 25% (QB25); germinadas: 5% (QBG5), 15% (QBG15) y 25% (QBG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  DE.

Por otro lado, en la Figura 5.8 se pueden visualizar las curvas de fermentación de las masas conteniendo harinas de quinoa roja sin germinar (A) y germinada (B). En la Figura 5.8.A se observa que todas las curvas tienen un crecimiento exponencial alcanzando el máximo volumen luego de los 150 min de fermentación ( $\leq 15\%$  de QR) y 115 min (QR25). Sin embargo, se observa un menor incremento en el valor de  $\Delta V$  en QR25. Por otro lado, una vez alcanzado el máximo incremento de volumen, las curvas de las masas C, QR5 y QR15 se mantuvieron constante, alcanzando QR15 menores valores de  $\Delta V$ . Mientras que la masa QR25 presentó por encima de los 115 min un descenso marcado y constante de  $\Delta V$  en el tiempo, lo que indica un proceso de sobre-fermentación para esta masa a tiempos mayores a 115 min.



**Figura 5.8.** Curvas de fermentación de la masa. **A)** Masa con harina de trigo (C) y diferentes niveles de harinas de quinoa roja no germinada: 5% (QR5); 15% (QR15) y 25% (QR25). **B)** Masa con harina de trigo (C) y masa con diferentes harinas de quinoa blanca germinada: 5% (QRG5), 15% (QRG15) y 25% (QRG25).

En el caso de las masas con quinoa roja germinada (Figura 5.8.B) se observó que todas las curvas tuvieron un comportamiento de crecimiento exponencial hasta los 115 minutos, en donde los valores de  $\Delta V$  fueron similares en todos los casos. A partir de ese tiempo, la curva QRG25 se aplanó alcanzando un valor asintótico, a diferencia de QR25 que disminuyó; por consiguiente, el proceso se completó a los 115 min sin detrimento del volumen de masa fermentada con tiempos mayores. Las curvas C, QRG5 y QRG15 tuvieron un ligero aumento de  $\Delta V$  hasta los 150 minutos. Lo más importante de observar es que las masas con mayor adición de harina de quinoa roja germinada alcanzaron

valores más altos de  $\Delta V$  que las correspondientes con quinoa sin germinar. Esto podría explicarse en el hecho que, durante la germinación de la quinoa roja, se produjeron compuestos que reforzaron la estructura de la red de gluten.

Los parámetros de la curva de fermentación de las masas con quinoa roja se muestran en la Tabla 5.9. Los valores de volumen máximo (parámetro a, Tabla 5.9) disminuyeron significativamente al aumentar el contenido de harina de quinoa roja sin germinar (QR) y germinada (QRG), observándose el valor más bajo con el mayor porcentaje de esta harina (25%). La constante cinética (parámetro b, Tabla 5.9.) no se modificó en las masas con QR, mientras que se observó un incremento en b en las masas QRG15 y QRG25, siendo más grande en el caso de QRG25, alcanzando más rápidamente el volumen máximo. El parámetro c no resultó modificado en ninguna de las masas con harina de quinoa germinada, mientras que las masas QR5 y QR15 fueron las que presentaron el menor valor de este parámetro. Evidenciando una forma de la curva de fermentación un tanto diferente en estas muestras. Menor c se relaciona con una menor inflexión, y un aumento más rápido del volumen.

**Tabla 5.9.** Parámetros cinéticos obtenidos del ensayo de fermentación de la masa.

Formulación	Fermentación			
	a (cm <sup>3</sup> )	b (min <sup>-1</sup> )	c	t <sub>f</sub> (min)
<b>C</b>	122 ± 4 <b>de</b>	0,022 ± 0,006 <b>ab</b>	1,2 ± 0,3 <b>cd</b>	71,7 ± 9,1 <b>c</b>
<b>QR5</b>	128 ± 2 <b>e</b>	0,018 ± 0,004 <b>a</b>	0,8 ± 0,0 <b>ab</b>	66,9 ± 1,4 <b>c</b>
<b>QR15</b>	111 ± 6 <b>b</b>	0,022 ± 0,002 <b>abc</b>	0,8 ± 0,0 <b>a</b>	54,4 ± 3,6 <b>b</b>
<b>QR25</b>	81 ± 1 <b>a</b>	0,028 ± 0,003 <b>bc</b>	0,9 ± 0,1 <b>abc</b>	46,7 ± 4,3 <b>ab</b>
<b>QRG5</b>	118 ± 7 <b>cd</b>	0,028 ± 0,001 <b>bc</b>	1,1 ± 0,0 <b>bcd</b>	52,9 ± 3,1 <b>b</b>
<b>QRG15</b>	118 ± 2 <b>cd</b>	0,029 ± 0,004 <b>c</b>	1,1 ± 0,2 <b>cd</b>	51,6 ± 3,0 <b>ab</b>
<b>QRG25</b>	113 ± 2 <b>bc</b>	0,037 ± 0,004 <b>d</b>	1,3 ± 0,1 <b>d</b>	43,4 ± 2,2 <b>a</b>

Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa roja: no germinadas: 0% (C), 5% (QR5), 15% (QR15) y 25% (QR25); germinadas: 5% (QRG5), 15% (QRG15) y 25% (QRG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

El tiempo de fermentación ( $t_f$ ) disminuyó significativamente con la adición de harina de quinoa roja (QR y QRG) (Tabla 5.9), con una disminución importante en los niveles más altos de estas harinas, principalmente en QR25 y QRG25.

Suarez-Estrella y col., (2020) encontraron, al estudiar las curvas de fermentación de masas con distintos niveles de quinoa germinada (10, 20 y 30%), que en la primera hora del ensayo todas las masas evolucionaron de manera similar. Sin embargo, en la segunda hora, las masas con 20 y 30% ya no retuvieron más gas y bajó su volumen; mientras que la masa con 10% y con harina de trigo solamente, tardaron más en llegar a su volumen máximo, pero se mantuvieron estables. Estos autores también atribuyeron este comportamiento a un debilitamiento de la red de gluten.

## V.2.2. Evaluación de la calidad panadera

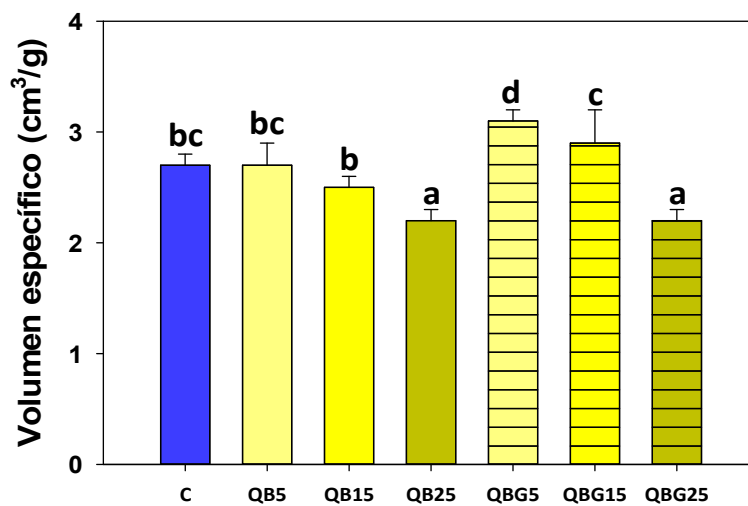
El volumen específico, el color de la corteza, la humedad, actividad acuosa, alveolado de la miga y reología de las migas se midió con el fin de caracterizar la calidad panadera de las diferentes piezas de pan.

### V.2.2.1. Volumen específico de los panes

La calidad del pan medida a través del volumen específico (Vesp) de las piezas de pan se muestra en las Figuras 5.9 y 5.10 para los panes con harina de quinoa blanca y quinoa roja, respectivamente. En los panes con harina de quinoa blanca (Figura 5.9), se observó que en los panes QB (hasta 15%) el Vesp fue similar a C, sin embargo hubo una disminución significativa al adicionar un 25%, pasando de un Vesp de 2,7 g/cm<sup>3</sup> g para el pan de trigo (C) a 2,2 cm<sup>3</sup>/g para los panes QB25. En el caso de los panes con harina de quinoa blanca germinada, hubo un aumento significativo en el Vesp de los panes QBG5 (3,1 cm<sup>3</sup>/g) y QBG15 (2,9 cm<sup>3</sup>/g) en comparación con el pan C, que luego disminuyó en QBG25 alcanzando un valor similar al pan con quinoa sin germinar (QB25). Los resultados sugieren que la harina germinada condujo a panes de mayor volumen que la harina no germinada con porcentaje de adición  $\leq 15\%$ .

Resultados similares fueron encontrados por Stikic y col., (2012), Tomoski y col., (2011), Park y col., (2005), El-Sohaimy y col., (2019), Rosell y col., (2009) y Rodriguez-Sandoval y

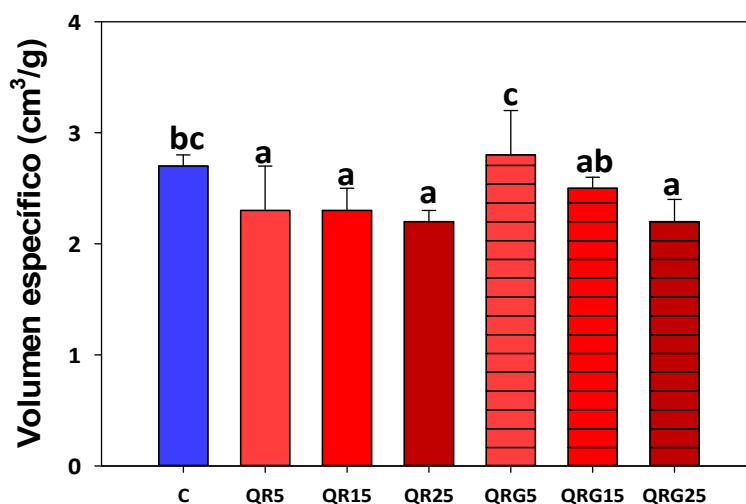
col., (2012), los cuales al aumentar el nivel de reemplazo de harina de trigo por harina de quinoa, obtuvieron panes con un volumen específico menor al pan con harina de trigo solamente. Por otro lado, Suarez-Estrella y col (2020), encontraron que el reemplazo de harina de trigo por un 20% de harina de quinoa germinada, permitió obtener un panificado con un Vesp mayor al de harina de trigo. A su vez, realizaron un pan con un 20% de harina de quinoa sin germinar y el mismo presentó un volumen específico no solo menor al que tenía harina germinada, sino también menor al del pan de trigo.



**Figura 5.9.** Volumen específico de los panes de harina de trigo con quinoa blanca sin germinar y germinada. Pan de trigo sin quinoa (C). Niveles de harina de quinoa: 5% (QB5 y QBG5), 15% (QB15 y QBG15) y 25% (QB25 y QBG25). Diferentes letras en la misma Figura indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Por otro lado, los valores de Vesp de todos los panes elaborados con harina de quinoa roja fueron estadísticamente similares entre sí y menores al pan C (Figura 5.10). Mientras que en los panes con quinoa germinada se observó que la utilización de un 5% de esta harina (QRG5) produjo similar Vesp que el trigo y un incremento del contenido de QR disminuyó el Vesp hasta valores menores que el C.





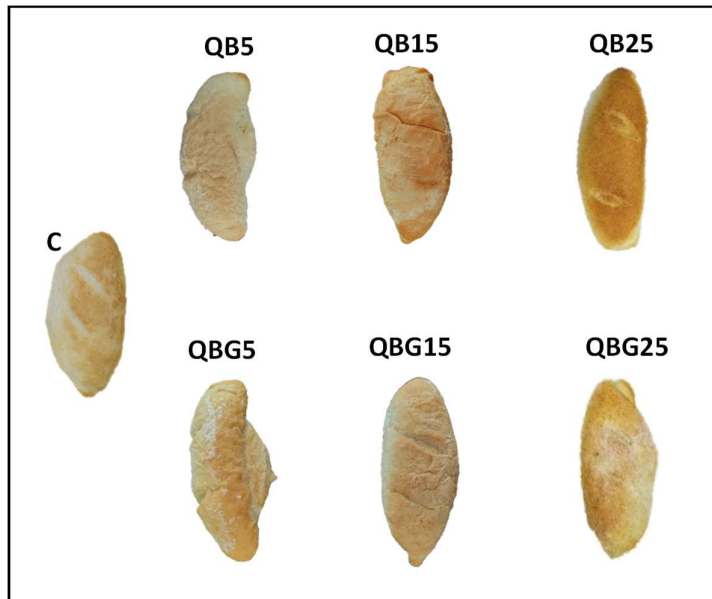
**Figura 5.10.** Volumen específico de los panes de harina de trigo con quinoa roja sin germinar y germinada. Pan de trigo sin quinoa (C). Niveles de harina de amaranto: 5% (QR5 y QRG5), 15% (QR15 y QRG15) y 25% (QR25 y QRG25). Diferentes letras en la misma Figura indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Una disminución en Vesp en los panes con quinoa tanto blanca como roja y ya sea germinada o sin germinar, está directamente relacionada con un Vmax de masa más bajo (parámetro a) obtenido durante la fermentación, debido a la dilución de las proteínas del gluten y la incorporación de fibra con la harina de quinoa, similar a lo que ocurrió en panes con amaranto

#### V.2.2.2. Color de la corteza

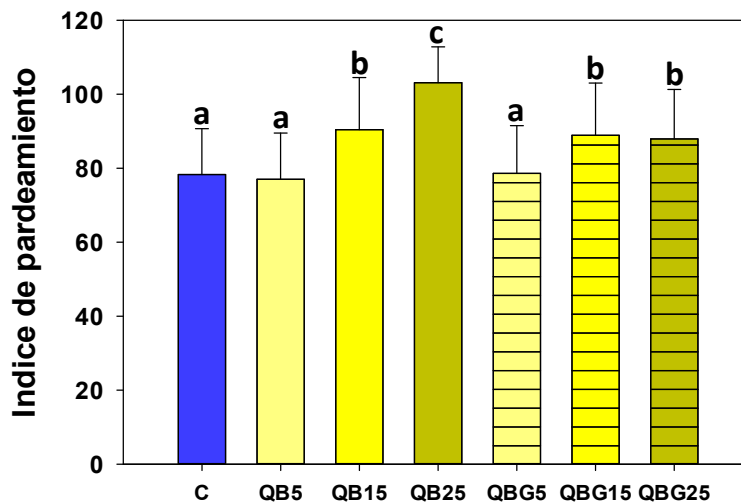
Un color atractivo de la corteza es un parámetro que resulta agradable a la hora de la elección del pan por parte de los consumidores. La Figura 5.11 muestra las fotos de los panes de trigo con la adición de quinoa blanca (germinada y sin germinar), en las que se puede visualizar a simple vista la diferente tonalidad desarrollada en los productos durante el horneado.

Dicho atributo se evaluó mediante el índice de pardeamiento (IP), relacionado con la coloración marrón de la corteza (Capítulo II, sección 4.3.2.). Como mencionamos anteriormente, el color amarronado de la corteza se debe a la reacción de pardeamiento no-enzimático entre los hidratos de carbono reductores y los grupos aminos pertenecientes a residuos aminoácidos de las proteínas (Reacción de Maillard).



**Figura 5.11.** Panes con harina de trigo solo (C), con harina de quinoa blanca sin germinar en un 5, 15 y 25% (QB5, QB15 y QB25) y con quinoa blanca germinada en un 5, 15 y 25% (QBG5, QBG15 y QBG25).

En la Figura 5.12 se muestra el índice de pardeamiento de los panes con harina de trigo y quinoa blanca germinada y sin germinar.

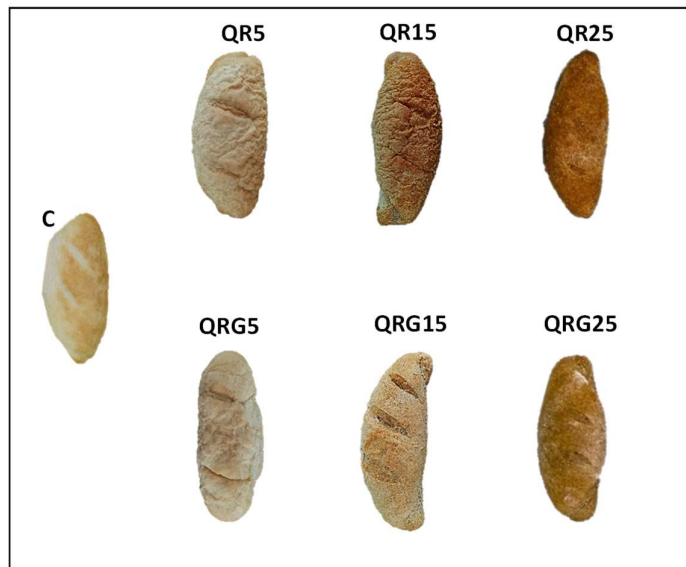


**Figura 5.12.** Índice de pardeamiento de los panes de harina de trigo con quinoa blanca sin germinar y germinada. Pan de trigo sin quinoa (C). Niveles de harina de amaranto: 5% (QB5 y QBG5), 15% (QB15 y QBG15) y 25% (QB25 y QBG25). Diferentes letras en la misma Figura indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

En el nivel más bajo de adición (5%) se observó que tanto los panes con quinoa germinada como sin germinar presentaron un índice similar al pan de trigo (C), por su

parte al adicionar más quinoa (15 y 25 %) los panes de ambos tipos tuvieron un pardeamiento mayor que el pan C, principalmente en el pan QB25.

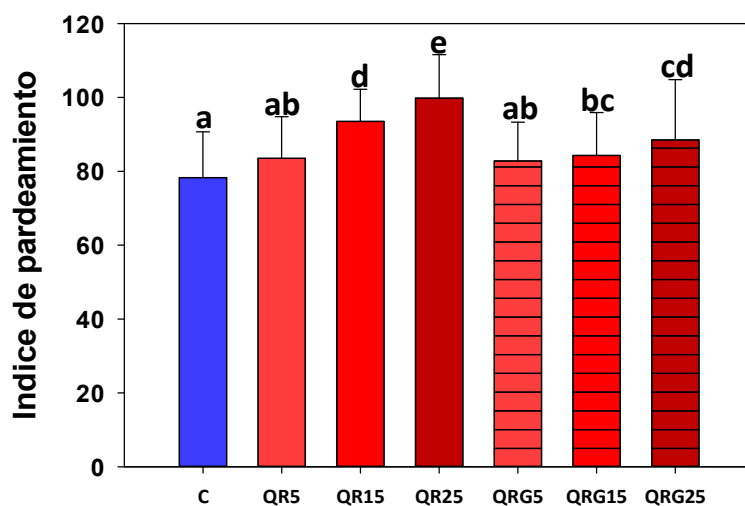
A su vez, en la Figura 5.13 se pueden observar los panes de trigo con el agregado de quinoa roja, donde se visualiza la diferente tonalidad desarrollada en los panificados.



**Figura 5.13.** Panes con harina de trigo solo (C), con harina de quinoa roja sin germinar en un 5, 15 y 25% (QR5, QR15 y QR25) y con quinoa roja germinada en un 5, 15 y 25% (QRG5, QRG15 y QRG25).

Por otro lado, en la Figura 5.14 se muestra el índice de pardeamiento de los panes con harina de trigo y ambos tipos de quinoa roja. En panes con ambas quinoa roja se observó un aumento del IP a medida que se incrementó el porcentaje de harina de quinoa. Sin embargo, a niveles mayorea a 15% los panes con harina sin germinar presentaron un IP mayor que los panes con harina germinada, a igual porcentaje de adición, como se puede comprobar en la Figura 5.13.

El-Sohaimy y col (2019) y Rosell y col (2009) también encontraron un incremento en el oscurecimiento de la corteza de los panes, al aumentar la cantidad de harina de quinoa en la formulación.



**Figura 5.14.** Índice de pardeamiento de los panes de harina de trigo con quinoa roja sin germinar (QR) y germinada (QRG). Pan de trigo sin quinoa (C). Niveles de harina de amaranto: 5% (QR5 y QRG5), 15% (QR15 y QRG15) y 25% (QR25 y QRG25). Diferentes letras en la misma Figura indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La germinación favorece la hidrólisis de las proteínas y el almidón aumentando los grupos  $-NH_2$  libres y los carbonilos, respectivamente. Además, se producen cambios estructurales en dichas proteínas, que podrían favorecer el ocultamiento de los grupos amino de los aminoácidos que dificulten la unión de los mismos al grupo carbonilo de los azúcares reductores, inhibiendo de esta forma en parte la reacción de Maillard y produciendo un menor pardeamiento, como el observado en QRG en comparación con QR. Dicho comportamiento en la quina blanca podría deberse a que las proteínas en QBG adoptan una estructura más compacta (visto en FTIR) y contiene menor porcentaje de lisina ( $16,6 = QB$  versus  $12,5 = QBG48$ ). En cambio, para QRG se observó que las proteínas adoptan una estructura menos compacta, sin embargo ese desplegamiento, no implicaría que se expongan más grupos aminos libres necesarios para la reacción de Maillard. Por otro lado, el contenido de lisina no se modificó con la germinación en QR (aprox 13% de lisina).

### V.2.2.3. Humedad y actividad acuosa de la miga

Tanto la humedad como la formación de aire, es decir el tamaño y la cantidad de alveolos generados producto de la fermentación, son los que van a determinar la esponjosidad de la miga. La humedad y actividad acuosa de las diferentes migas se

muestran en la Tabla 5.10. La humedad de la miga C fue de 44 siendo el valor mas bajo de todos los panes. El aumento de harina de quinoa de las dos variedades germinada y sin germinar incrementó la humedad de los panes, siendo máxima con un 25% de ambas variedades de quinoa sin germinar: 45,9% (QB25) y 46,3% (QR25). Este aumento en la humedad de los panes es consecuente con la mayor absorcion farinografica de agua (Figura 5.1).

**Tabla 5.10.** Contenido de humedad y valores de actividad acuosa (aw) de los panes de harina de trigo y quinoa blanca y roja.

Muestra	Quinoa blanca		Quinoa roja	
	Humedad (%)	aw	Humedad (%)	aw
<b>C</b>	44,1 ± 0,3 <b>a</b>	0,980 ± 0,002 <b>a</b>	44,1 ± 0,3 <b>a</b>	0,980 ± 0,002 <b>a</b>
<b>5</b>	44,4 ± 0,2 <b>b</b>	0,978 ± 0,002 <b>a</b>	45,3 ± 0,2 <b>bc</b>	0,978 ± 0,002 <b>a</b>
<b>15</b>	45,4 ± 0,0 <b>d</b>	0,978 ± 0,001 <b>a</b>	45,7 ± 0,1 <b>cd</b>	0,978 ± 0,001 <b>a</b>
<b>25</b>	45,9 ± 0,1 <b>e</b>	0,980 ± 0,002 <b>a</b>	46,3 ± 0,4 <b>e</b>	0,978 ± 0,001 <b>a</b>
<b>G5</b>	44,6 ± 0,1 <b>b</b>	0,977 ± 0,001 <b>a</b>	45,1 ± 0,3 <b>b</b>	0,981 ± 0,000 <b>a</b>
<b>G15</b>	45,1 ± 0,1 <b>c</b>	0,976 ± 0,001 <b>a</b>	45,2 ± 0,2 <b>b</b>	0,982 ± 0,001 <b>a</b>
<b>G25</b>	45,5 ± 0,1 <b>d</b>	0,983 ± 0,006 <b>a</b>	45,8 ± 0,1 <b>d</b>	0,986 ± 0,002 <b>a</b>

Formulación con diferentes niveles de harinas de quinoa blanca y roja: no germinadas: 0% (C), 5% (QB5 y QR5), 15% (QB15 y QR15) y 25% (QB25 y QR25); germinadas: 5% (QBG5 y QRG5), 15% (QBG15 y QRG15) y 25% (QBG25 y QRG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  DE.








Por otra parte, pese a que la humedad de los panes fue variable, la actividad acuosa de los mismos no presentó diferencias significativas en ninguno de los panes respecto al control. El valor de la actividad acuosa de todos las migas de los panes fue de alrededor de 0,980.

#### V.2.2.4. Alveolado de la miga

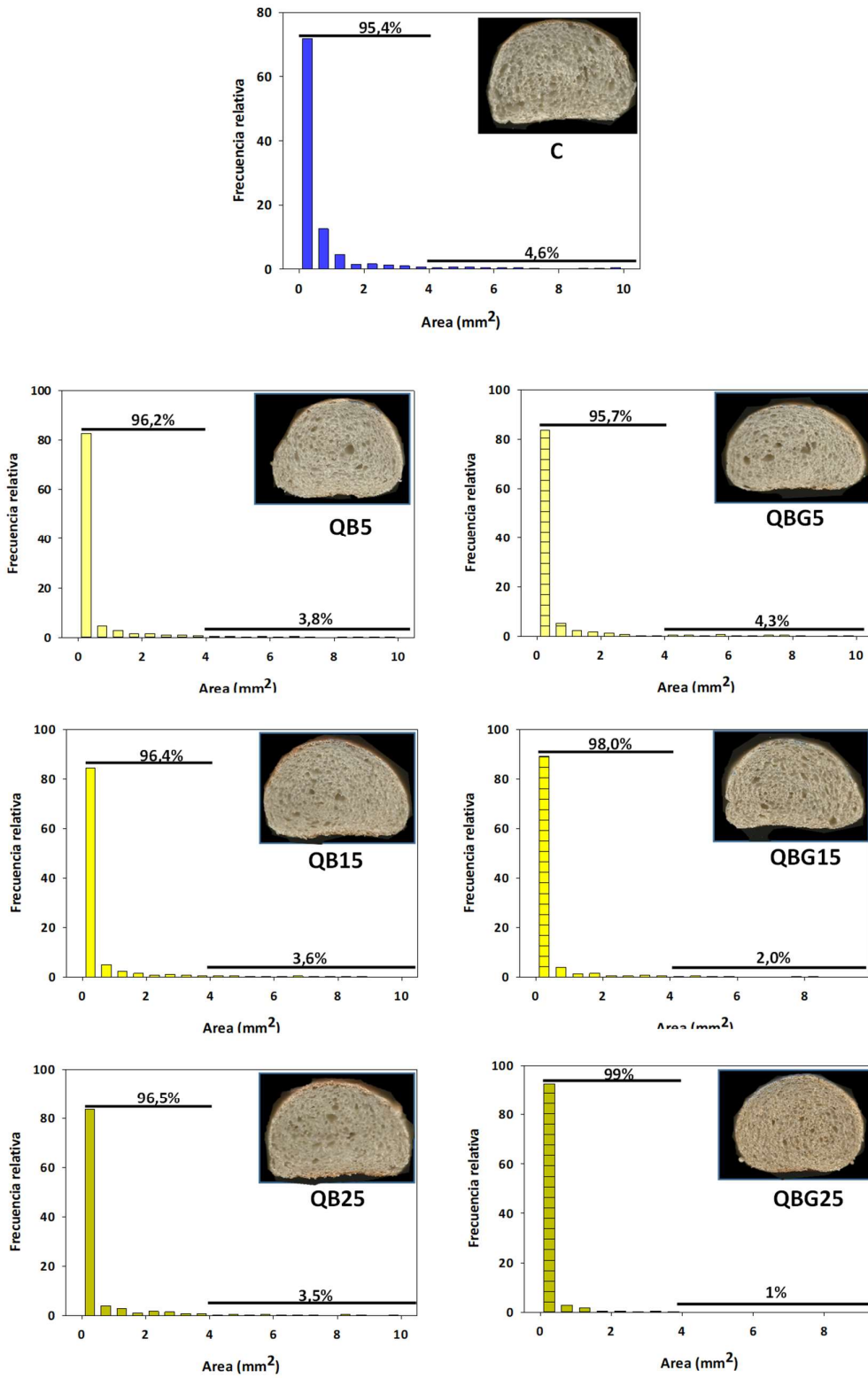
Al igual que en amaranto, se estudió posibles cambios del alveolado como consecuencia de cambios en la formulación. La apariencia y los parámetros alveolares de las migas de

los panes con harina de trigo y quinoa blanca sin germinar y germinada se muestran en la Figura 5.15.

El número de alvéolos por unidad de área fue similar en todos los casos, excepto en QB5 que aumentó significativamente. Pese a que el número de alveolos se mantuvo prácticamente igual al de la miga de trigo-C, el área total que ocuparon los mismos no cambió con el incremento de QB y disminuyó en las migas con QBG. Por último, la circularidad de los alveolos fue variable, ya que para los panes con harina QB no se observaron prácticamente diferencias significativas entre los distintos niveles de esta harina y la miga C; sin embargo, en los panes con harina QBG se observó que a mayor cantidad de quinoa, mayor fue la circularidad de los alveolos, es decir, se formaron alveolos más pequeños y circulares.

	C	5	15	25	
					QB
Cantidad (alveolo/cm <sup>2</sup> )	19 ± 4 a	27 ± 4 b	21 ± 5 a	20 ± 5 a	
Área total de alveolos (%)	21 ± 6 c	19 ± 5 bc	18 ± 6 bc	17 ± 4 ab	
Circularidad	0,86 ± 0,03 b	0,83 ± 0,02 a	0,86 ± 0,02 b	0,86 ± 0,01 b	
					QBG
Cantidad (alveolo/cm <sup>2</sup> )		24 ± 6 ab	20 ± 7 a	18 ± 4 a	
Área total de alveolos (%)		18 ± 9 bc	16 ± 3 ab	12 ± 1 a	
Circularidad		0,85±0,03 ab	0,89 ± 0,02 c	0,92 ± 0,02 d	

**Figura 5.15.** Aspecto de la miga de pan, y valores (media ± DE) del número de alvéolos por área, área total ocupada por alvéolos y circularidad de los alveolos. Pan de trigo: 0% (C). Panes con harina de quinoa blanca. Sin germinar: 5% (QB5), 15% (QB15), 25% (QB25). Germinada: 5% (QBG5), 15% (QBG15), 25% (QBG25). Diferentes letras en el mismo parámetro indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )






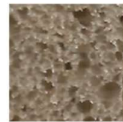



**Figura 5.16.** Histogramas de distribución de tamaño de alvéolos e imagen en las migas de pan: control (C), panes con quinoa blanca sin germinar (QB) y germinada (QBG).

Por su parte, en la Figura 5.16 se muestran los histogramas de los panes con harina de trigo (C) y con quinoa blanca sin germinar (QB) y germinada (QBG). Se observó para todos los panes que el porcentaje de alveolos pequeños (menores a  $4 \text{ mm}^2$ ) fue superior al 95%. A su vez, las migas con QB presentaron un 96% de alveolos pequeños mientras que la adición de QBG aumentó desde 95,7% (QBG5) hasta 99% (QBG25) el porcentaje de alveolos pequeños.

En la Figura 5.17 se muestran la apariencia y los parámetros alveolares de las migas de los panes con harina de trigo (C) y quinoa roja sin germinar (QR) y germinada (QRG). La cantidad de alveolos en las migas QR fue mayor respecto a C, sin observarse diferencias significativas entre los diferentes niveles de adición de quinoa. En el caso de las migas con QRG, en los niveles del 5 y 15%, se cuantificaron mayor cantidad de alveolos respecto a C, sin embargo en el máximo nivel (QRG25), la cantidad de alveolos fue igual a la de C. En lo que respecta al área que ocupan esos alveolos, el mayor porcentaje lo presentó la miga C. El aumento de QR y QRG originó migas con menor área alveolar total, en donde prácticamente no se observaron diferencias entre QR y QRG ni entre los diferentes niveles de las mismas.



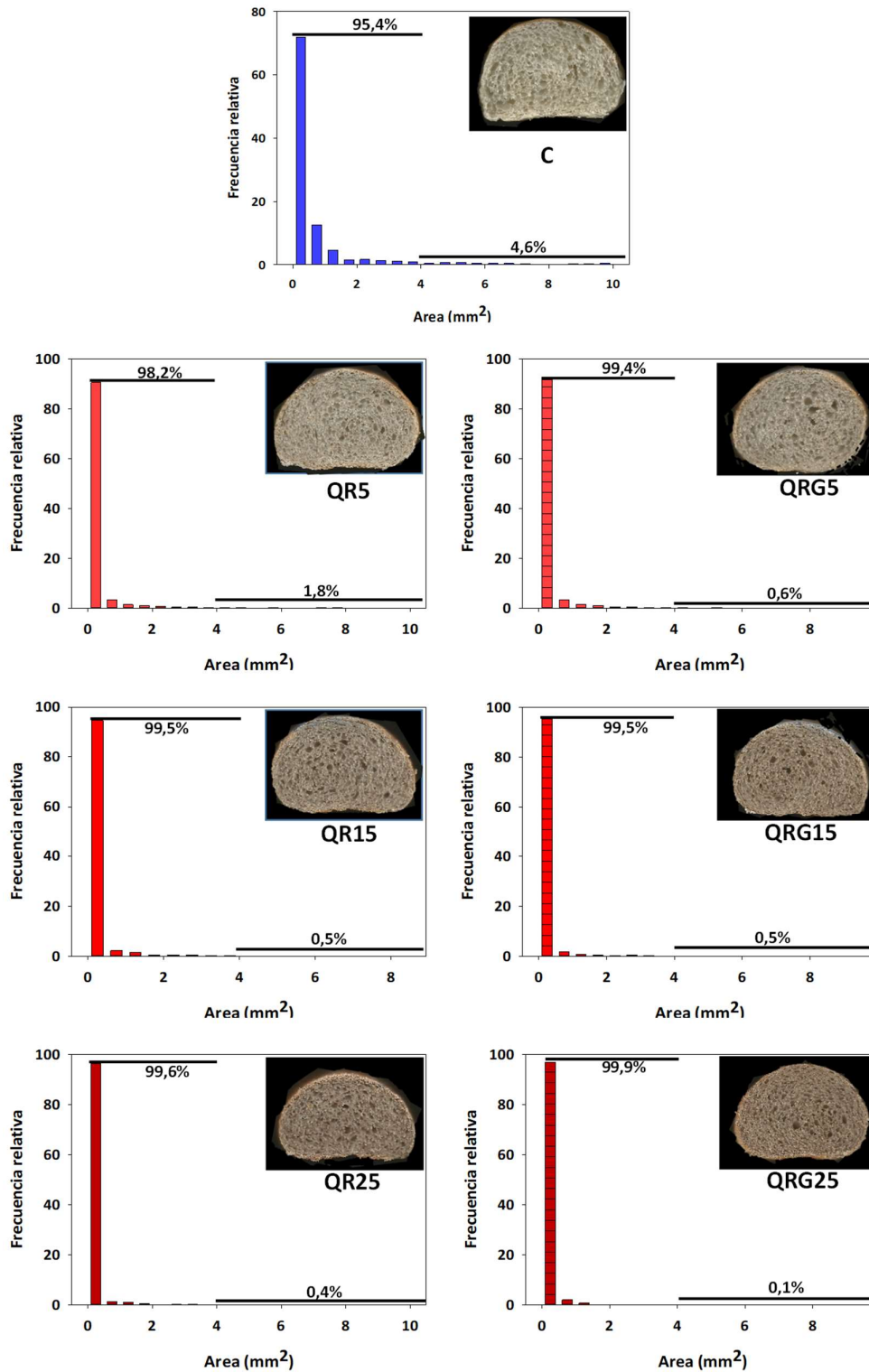
	<b>C</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	
					<b>QR</b>
<b>Cantidad (alveolo/cm<sup>2</sup>)</b>	19 ± 4 a	25 ± 5 c	24 ± 7 bc	23 ± 6 bc	
<b>Área total de alveolos (%)</b>	21 ± 6 c	13 ± 1 b	12 ± 0 b	11 ± 0 a	
<b>Circularidad</b>	0,86 ± 0,03 a	0,91 ± 0,02 b	0,93 ± 0,02 bcd	0,94 ± 0,02 cd	
					<b>QRG</b>
<b>Cantidad (alveolo/cm<sup>2</sup>)</b>		23 ± 5 bc	21 ± 4 b	19 ± 5 a	
<b>Área total de alveolos (%)</b>		12 ± 1 b	11 ± 0 a	11 ± 0 a	
<b>Circularidad</b>		0,92 ± 0,02 bc	0,94 ± 0,01 cd	0,95 ± 0,01 d	

**Figura 5.17.** Aspecto de la miga de pan, y valores (media ± DE) del número de alvéolos por área, área total ocupada por alvéolos totales y circularidad de los alveolos. Pan de trigo: 0% (C). Panes con harina de quinoa blanca. Sin germinar: 0% (C), 5% (QR5), 15% (QR15), 25% (QR25). Germinadas: 5% (QRG5), 15% (QRG15), 25% (QRG25). Diferentes letras en el mismo parámetro indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Finalmente, la circularidad de los alveolos fue mínima para el pan C, y al aumentar el contenido de quinoa (QR y QRG) la circularidad fue mayor.

La frecuencia de distribución del tamaño de los alveolos de los panes con QR se muestra en la Figura 5.18. Se observó para todos los panes con QR y QRG que el porcentaje de alveolos pequeños (menores a 4 mm<sup>2</sup>) fue alrededor del 99%, superior al 95%, presentando por la miga C. La quinoa roja, germinada o no, provocó migas con alveolos pequeños independientemente del porcentaje agregado.

Ballester-Sánchez y col (2019) encontraron también que el número de alveolos/cm<sup>2</sup> fue significativamente similar tanto en panes con harina de quinoa al 25% (tanto blanca como roja) como en panes con harina de trigo solamente, donde obtuvieron valores de 17,6 alveolos/cm<sup>2</sup> para el pan de trigo y valores cercanos a los 18 alveolos/cm<sup>2</sup> con ambos tipos de quinoa.



**Figura 5.18.** Histogramas de distribución de tamaño de alvéolos e imagen en las migas de pan: control (C), panes con quinoa roja sin germinar (QR) y germinada (QRG).

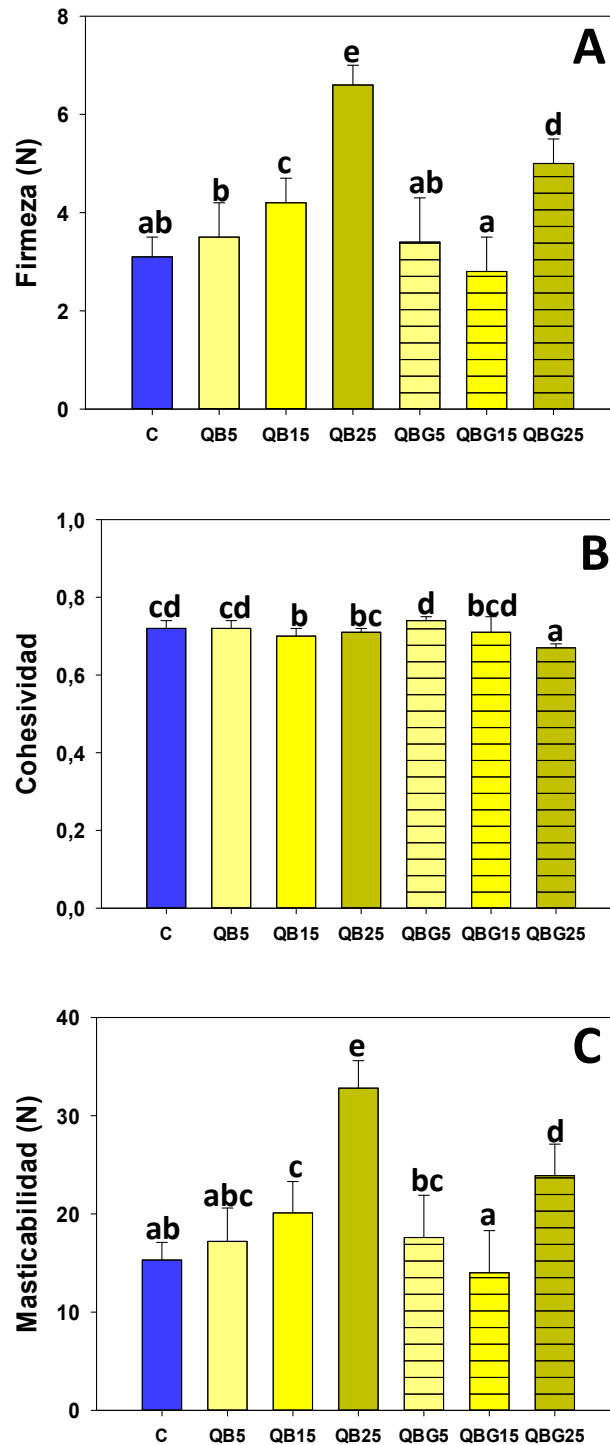
### V.2.2.5. Propiedades reológicas de las migas de pan

#### Textura de la miga

Los parámetros de textura de la miga de los panes de harina de trigo (C) y con quinoa blanca sin germinar (QB) y germinada (QBG) se muestran en la Figura 5.19. La firmeza de la miga aumentó gradualmente a medida que se incorporó 5 y 15% de QB, el aumento fue significativamente más pronunciado en la miga QB25 (Figura 5.19. A). En el caso de las migas con QBG, tanto QBG5 como QBG15 mostraron una firmeza sin diferencias significativas respecto a C y aumentó con la adición de 25% (Figura 5.19. A). Sin embargo, la firmeza de QBG25 fue significativamente menor que la de QB25.

No se observaron cambios en la cohesividad (Figura 5.19.B) ni con el tipo de harina ni con el tratamiento excepto QBG25 que resultó levemente menor.

La masticabilidad presentó el mismo comportamiento que la firmeza en todas las migas, siendo mayor la masticabilidad en el caso de las migas con harina de quinoa sin germinar (Figura 5.19.C). Por su parte, no hubo diferencias significativas en la resiliencia, elasticidad y adhesividad de las migas. Los valores de resiliencia variaron entre 0,43 (QBG25) y 0,48 (QB25), mientras que los valores de elasticidad variaron entre 6,8 (C) y 7,2 mm (QBG5 y QBG25) y los de adhesividad se mantuvieron alrededor del valor 0,1.



**Figura 5.19.** Parámetros de textura del pan de harina de trigo y quinoa blanca germinada y sin germinar. **A)** Firmeza, **B)** Cohesividad y **C)** Masticabilidad. Niveles de harinas de quinoa blanca: muestras no germinadas: 0% (C), 5% (QB5), 15% (QB15), 25% (QB25); muestras germinadas: 5% (QBG5), 15% (QBG15), 25% (QBG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

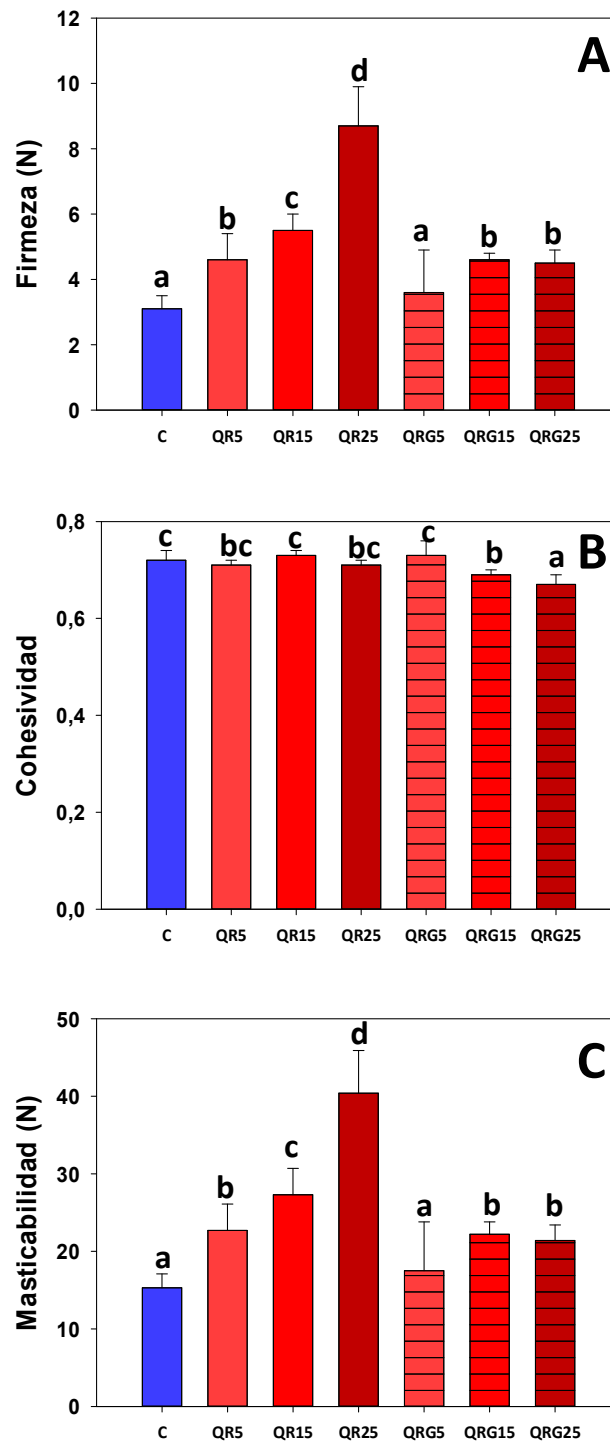
Los parámetros de textura de la miga de los panes harina de quinoa roja se muestran en la Figura 5.20. La firmeza de la miga aumentó gradualmente a medida que se incorporó QR, alcanzando el mayor valor para QR25 (Figura 5.20.A). En el caso de las muestras con QRG, la miga con 5% (QRG5) no presentó diferencia de dureza con C, mientras que QRG15 y QRG25 tuvieron una dureza significativamente mayor a C, pero no presentaron diferencias significativas entre sí. De cualquier manera, los valores más elevados de dureza lo presentaron las migas de los panes con QR.

En cuanto a la cohesividad (Figura 5.20.B), las migas de los panes QR no presentaron diferencias significativas con C. Por su parte, la cohesividad de las migas con QRG disminuyó a medida que se incrementó el nivel de quinoa.

La masticabilidad (Figura 5.20.C) presentó el mismo comportamiento que la firmeza en todas las migas, exhibiendo un valor mayor en el caso de las migas con QR. Por su parte, no hubo diferencias significativas en la resiliencia, elasticidad y adhesividad de las migas. Los valores de resiliencia variaron entre 0,41 (QRG25) y 0,45 (C y QRG5), mientras que los valores de elasticidad variaron entre 6,7 (QRG5) y 7,0 mm (QRG25) y los de adhesividad se alrededor de 0,1.

Los panes de QRG25 presentaron menor dureza y masticabilidad que los correspondientes de quinoa blanca (QBG25).

Diversos autores encontraron resultados similares (Ballester-Sánchez y col, 2019; Tomoskozi y col, 2011; Park y col, 2005; El-Sohaimy y col, 2019; Rosell y col, 2009), en donde un incremento de harina de quinoa agregada aumentó la dureza y masticabilidad de los panes, en tanto que la elasticidad, resiliencia y cohesividad no resultó modificada. Simultáneamente, Suarez-Estrella y col (2020) encontraron que los panes con harina de quinoa germinada eran más blandos que aquellos que tenían harina de quinoa sin germinar, en iguales niveles de agregado, atribuyendo este comportamiento a que la germinación aumenta la actividad de la alfa-amilasa y esto origina panes más blandos.



**Figura 5.20.** Parámetros de textura del pan de harina de trigo y quinoa roja germinada y sin germinar. **A)** Firmeza, **B)** Cohesividad y **C)** Masticabilidad. Niveles de harinas de quinoa blanca: muestras no germinadas: 0% (C), 5% (QR5), 15% (QR15), 25% (QR25); muestras germinadas: 5% (QRG5), 15% (QRG15), 25% (QRG25). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

## Relajación de la miga

La Tabla 5.11 muestra los diferentes parámetros de relajación de la miga de los panes con harina de trigo (C) y quinoa blanca germinada (QBG) y sin germinar (QB). El módulo elástico E1 tuvo un aumento significativo al incrementar la cantidad de QB comparado con C. Mientras que las migas QBG a niveles  $\leq 15\%$  presentaron menor E1 mientras que aumentó significativamente en QBG25. Con respecto a T1, el agregado de QB generó un aumento de T1, sin observarse diferencias significativas entre los distintos niveles. En tanto para las migas con QBG, la incorporación de quinoa ocasionó un incremento de T1 (QBG5 y QBG15), sin embargo QBG25 se mantuvo en el mismo valor que C. Con respecto a los valores del módulo de equilibrio E0 fueron similares a los respectivos E1 y mostraron la misma tendencia con la adición de cantidades crecientes de QB y QBG.

**Tabla 5.11.** Parámetros obtenidos del ensayo de relajación de las migas de pan con quinoa blanca.

Muestra	E1 (kPa)	T1 (s)	E0 (kPa)
C	67 ± 8 b	10,2 ± 0,5 a	62 ± 7 ab
QB5	69 ± 11 b	11,1 ± 0,4 cd	68 ± 11 b
QB15	83 ± 8 c	10,7 ± 0,2 bc	82 ± 9 c
QB25	137 ± 13 e	11,0 ± 0,1 cd	135 ± 10 e
QBG5	53 ± 14 a	10,9 ± 0,5 cd	56 ± 13 a
QBG15	53 ± 7 a	11,2 ± 0,5 d	53 ± 8 a
QBG25	101 ± 15 d	10,5 ± 0,2 ab	96 ± 12 d

Formulación de pan con diferentes niveles de harina de quinoa blanca: no germinada: 5% (QB5), 15% (QB15) y 25% (QB25); germinada: 5% (QBG5), 15% (QBG15) y 25% (QBG25). Pan de trigo: 0% (C). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media  $\pm$  DE.

La Tabla 5.12 muestra los diferentes parámetros de relajación de la miga de los panes con harina de trigo y quinoa roja. El módulo elástico E1, comparado con C, tuvo un aumento significativo al incrementarse el nivel de harina de quinoa sin germinar (QR). Por otro lado, las migas de los panes con harina de quinoa germinada (QRG) no presentaron diferencias significativas sino hasta alcanzar el 25% respecto a C. La miga C presentó la menor relajación (menor T1), mientras que QR no produjo cambios de la

misma. Para el caso de los panes con QRG, en todos los casos los valores de T1 fueron mayores a C, sin embargo, al aumentar el contenido de quinoa adicionada, los valores de T1 presentaron un descenso. Por último, los valores del módulo de equilibrio E0 fueron similares a los respectivos E1 y mostraron la misma tendencia con la adición de cantidades crecientes de QR y QRG.

**Tabla 5.12.** Parámetros obtenidos del ensayo de relajación de las migas de pan con quinoa roja.

<b>Muestra</b>	<b>E1 (kPa)</b>	<b>T1 (s)</b>	<b>E0 (kPa)</b>
<b>C</b>	67 ± 8 <b>a</b>	10,2 ± 0,5 <b>ab</b>	62 ± 7 <b>a</b>
<b>QR5</b>	90 ± 17 <b>b</b>	10,7 ± 0,3 <b>c</b>	90 ± 16 <b>b</b>
<b>QR15</b>	114 ± 8 <b>c</b>	10,5 ± 0,2 <b>bc</b>	106 ± 7 <b>c</b>
<b>QR25</b>	187 ± 23 <b>d</b>	10,0 ± 0,2 <b>a</b>	159 ± 18 <b>d</b>
<b>QRG5</b>	71 ± 26 <b>a</b>	11,3 ± 0,5 <b>d</b>	69 ± 25 <b>a</b>
<b>QRG15</b>	62 ± 15 <b>a</b>	10,5 ± 0,3 <b>bc</b>	91 ± 10 <b>b</b>
<b>QRG25</b>	96 ± 11 <b>b</b>	10,7 ± 0,3 <b>c</b>	86 ± 6 <b>b</b>

Formulación de pan con diferentes niveles de harina de quinoa roja: no germinado: 5% (QR5), 15% (QR15) y 25% (QR25); germinado: 5% (QRG5), 15% (QRG15) y 25% (QRG25). Pan de trigo: 0% (C). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Los valores se expresan como media ± DE.

Los resultados encontrados sugieren que tanto la adición de QB como de QR, originan migas con un mayor carácter elástico que las respectivas migas con harinas de quinoa germinada (QBG y QRG). Lo cual es coincidente con la mayor firmeza de los panes con harina de quinoa sin germinar tanto blanca como roja, tal como se observó en los ensayos de TPA.

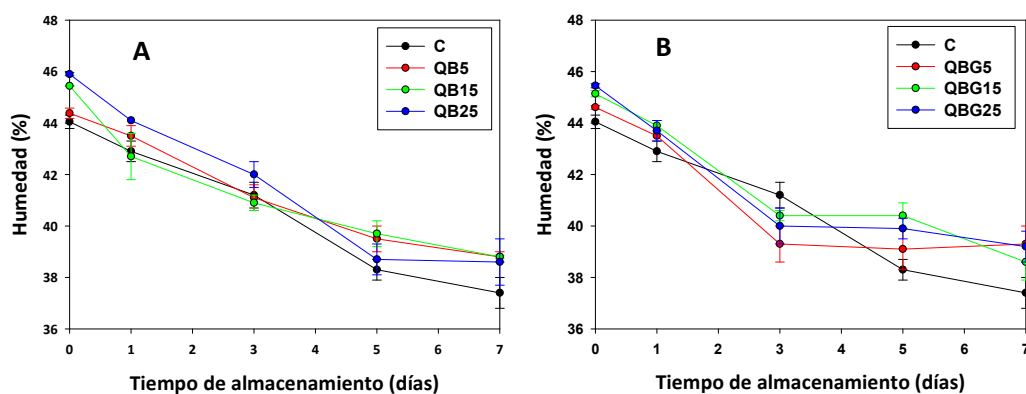
### V.2.3. Evaluación de la vida útil de los panes

Se evaluaron los cambios en la calidad panadera luego del almacenamiento por 1, 3, 5 y 7 días. Se determinó la humedad, actividad acuosa, firmeza y relajación de la miga de los panes de igual forma que se realizó para los panes frescos.



### V.2.3.1. Humedad y actividad acuosa de la miga durante el almacenamiento

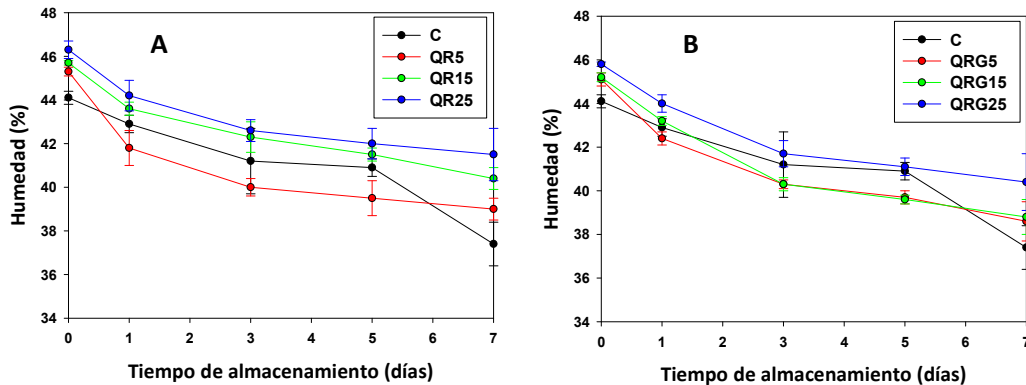
La evolución de la humedad de las migas a lo largo del almacenamiento para los panes con harina de quinoa blanca tanto sin germinar como germinada se muestra en la Figura 5.21. Se observó una pérdida significativa de humedad en todas las migas al cabo de los 7 días de almacenamiento. Las migas frescas QB15 y QB25 fueron más húmedas que las C y QB5, pero perdieron el agua más rápidamente (mayor pendiente) que las migas con menor contenido de quinoa, hasta el quinto día y después la humedad se mantuvo constante (Figura 5.21.A). Las migas con QBG fueron más húmedas que la de trigo pero hasta el día 3 perdieron agua más rápidamente, manteniéndose constante en el tiempo con valores mayores al de C (Figura 5.21.B). En el día 1, los panes que conservaron una mayor humedad fueron los que tenían un mayor nivel de quinoa (germinada y sin germinar). Sin embargo a partir del día 3 en adelante, sobre todo en los días 5 y 7, ya no se evidenciaron diferencias significativas en la humedad de todas las formulaciones. Igualmente, todos los panes con quinoa, independiente de la variedad y el tratamiento, mantuvieron más la humedad al día 7 de almacenamiento.



**Figura 5.21.** Evolución del porcentaje de agua de los panes de harina de trigo con harina de quinoa blanca sin germinar (A) y germinada (B) a lo largo del almacenamiento.

Al igual que la humedad, la actividad acuosa de la miga tuvo un ligero descenso a lo largo del almacenamiento, ya que al día 0 todas las muestras presentaron valores cercanos a 0,98, y hacia el final del almacenamiento los valores fueron cercanos a 0,96; sin embargo, pese a la ligera disminución del valor de aw, en ningún caso hubo diferencias significativas entre las diferentes formulaciones en el mismo día de almacenamiento.

En la Figura 5.21 se muestra el porcentaje de humedad durante el almacenamiento para los panes con harina de quinoa roja tanto sin germinar como germinada. Al igual que lo observado con la quinoa blanca, a lo largo del almacenamiento los panes fueron deshidratándose en todas las formulaciones. Sin embargo, a diferencia de los panes con QB, en este caso los panes que mayor humedad presentaron a lo largo de todo el almacenamiento fueron aquellos con un 25% de harina de quinoa (QR25 y QRG25).



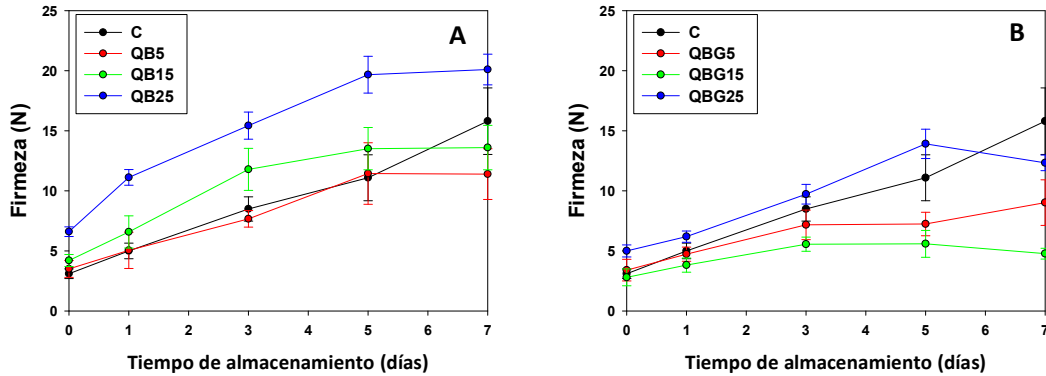
**Figura 5.22.** Evolución del porcentaje de agua de los panes de harina de trigo con harina de quinoa roja sin germinar (A) y germinada (B) a lo largo del almacenamiento.

La actividad acuosa presentó un comportamiento similar al observado para muestras con quinoa blanca, es decir que los panes frescos presentaron una actividad acuosa cercana a 0,98 y durante el almacenamiento el valor de  $a_w$  tomó valores cercanos a 0,96, con la excepción de los panes con la mayor cantidad de quinoa (QR25 y QRG25), en donde el valor de la actividad acuosa se mantuvo cercano a 0,98.

### V.2.3.2. Firmeza de la miga durante el almacenamiento

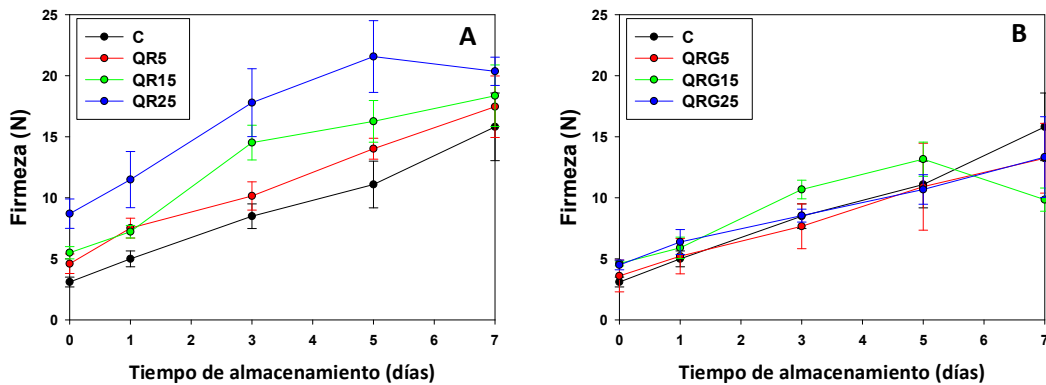
En las Figuras 5.23 y 5.24 se observan los valores de la firmeza de las migas de los panes de trigo y con harina de quinoa blanca y roja germinada y sin germinar, para los panes frescos y durante el almacenamiento.

A mayor porcentaje de QB mayor firmeza de la miga durante el almacenamiento, especialmente a valores  $\geq 15\%$  (Figura 5.23.A); mientras que la QBG mitigó el incremento de firmeza, presentando las migas QBG25 similar cinética que la miga del pan de trigo (Figura 5.23.B).



**Figura 5.23.** Evolución de la firmeza de los panes con harina de trigo y harina de quinoa blanca sin germinar (A) y germinada (B) a lo largo del almacenamiento.

En la Figura 5.24.A se observa que a mayor QR, mayor firmeza que se incrementa en el tiempo, sin embargo la incorporación de harina germinada incrementó la firmeza en menor proporción resultando similar a la de la miga de trigo, independientemente del porcentaje de QRG estudiado (Figura 5.24.B).

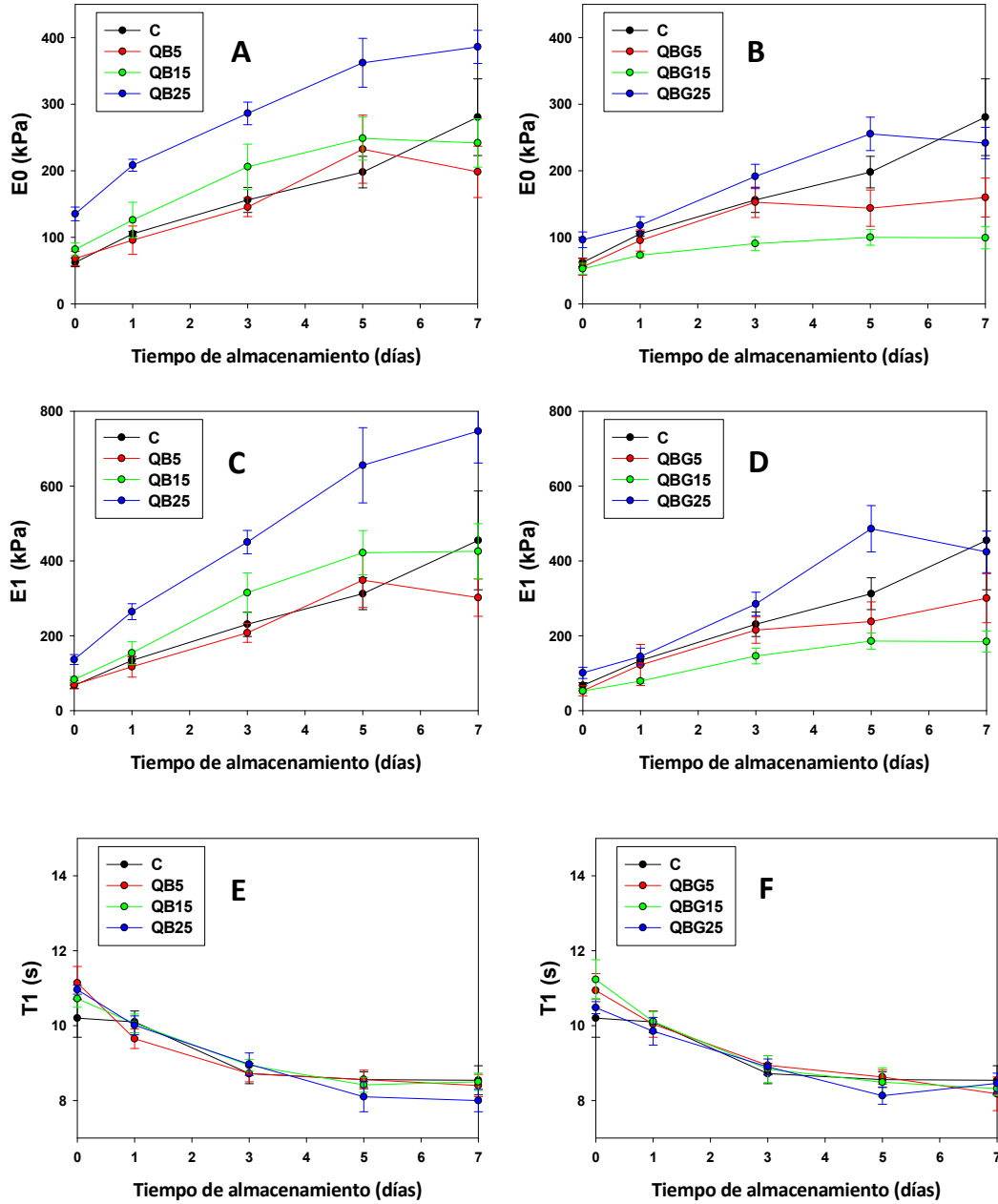


**Figura 5.24.** Evolución de la firmeza de los panes con harina de trigo y harina de quinoa roja sin germinar (A) y germinada (B) a lo largo del almacenamiento.

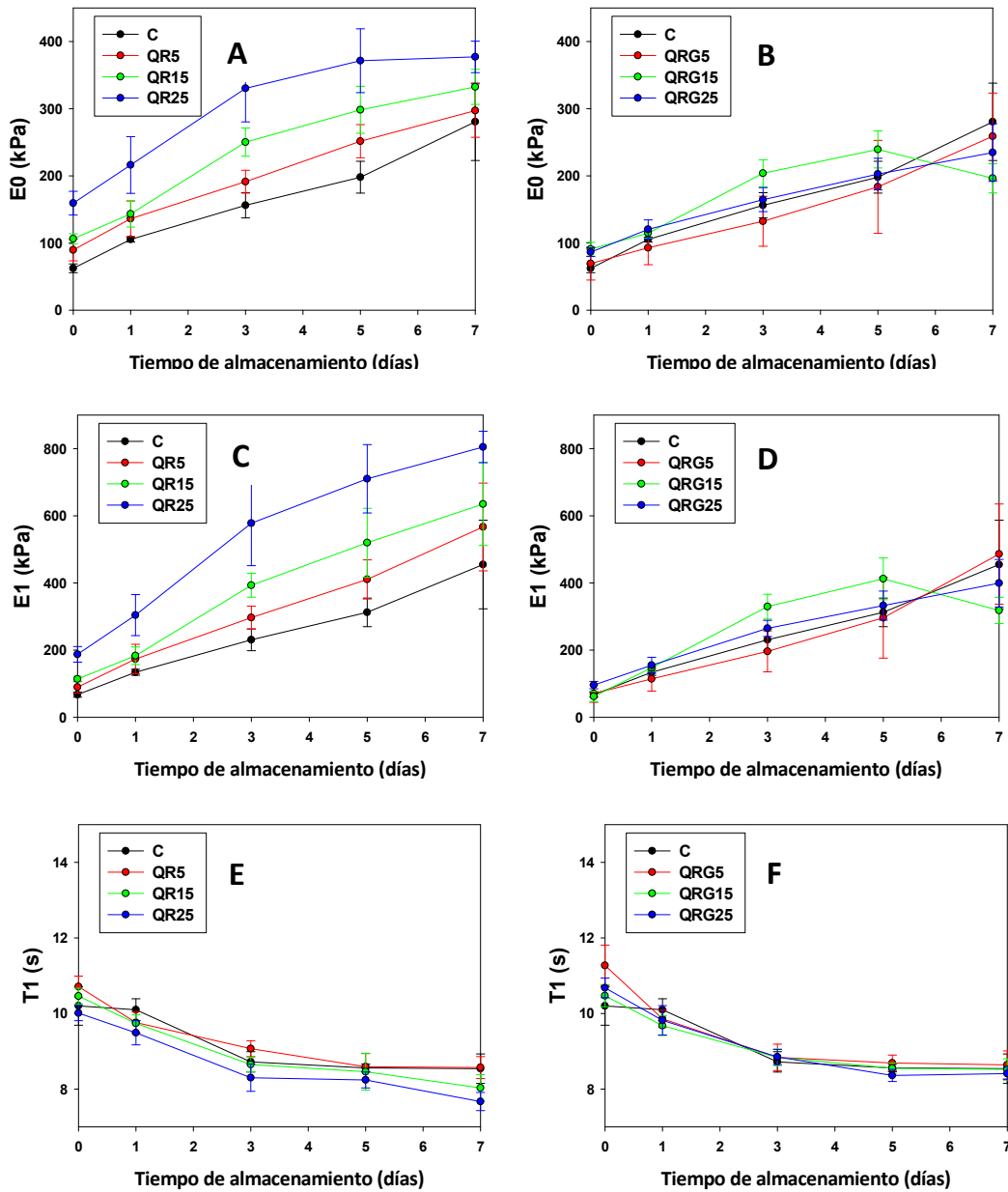
### V.2.3.3. Relajación de la miga durante el almacenamiento

En las Figura 5.25 y 5.26 se muestran los parámetros obtenidos a partir de las curvas de relajación durante el almacenamiento de las migas de los panes con harina de trigo y las diferentes harinas de quinoa. Se pudo observar que con ambos tipos de quinoa (blanca y roja) tanto germinada como sin germinar, los parámetros relacionados a la elasticidad (E0 y E1) aumentaron a lo largo del almacenamiento, mientras que el parámetro relacionado al comportamiento viscoso (T1) disminuyó con el transcurso de los días. Dicho comportamiento se encuentra relacionado con el aumento de la firmeza

observado en las Figuras 5.23 y 5.24, es decir, un aumento en la dureza o firmeza de la miga está estrictamente relacionado con el aumento en el carácter elástico por sobre el viscoso.



**Figura 5.25.** Parámetros de relajación de los panes de harina de trigo y quinoa blanca sin germinar y germinada. Parámetros de relajación: módulos elásticos: E0 (A, B) y E1 (C, D). Tiempos de relajación: T1 (E, F).



**Figura 5.26.** Parámetros de relajación de los panes de harina de trigo y quinoa roja sin germinar y germinada. Parámetros de relajación: módulos elásticos: E0 (A, B) y E1 (C, D). Tiempos de relajación: T1 (E, F).

## **Conclusiones parciales**

### **Masas**

- ✓ El agregado de quinoa no cambia el perfil farinográfico, pero se forma una masa en menor tiempo que absorbe mas agua y es menos estable durante el amasado
- ✓ Las masas con 25% de quinoa blanca y roja presentaron menor gluten (GH y GS) especialmente con germinados, pero con óptima relación GH/GS, dando lugar a una matriz menos estructurada y más húmeda.
- ✓ Las masas con 25% de quinoa germinada resultaron más duras y elásticas (menor  $\tan \delta$ , mayor E1 y E3) que las sin germinar, independientemente de la variedad.
- ✓ Todas las masas con quinoa blanca (QB y QBG) presentaron la misma adhesividad, mientras que las QRG fueron mucho más adhesivas que las QR.

### **Panes**

- ✓ Las masas con 25% de ambas variedades de quinoa fermentaron en menor tiempo, con un comportamiento diferencial en su cinetica: QB y QBG fueron relativamente similares, mientras que en la quinoa roja, la fermentacion en QRG fue más estable en comparacion con QR.
- ✓ Los panes con 25% de quinoa (ambas variedades) dio lugar a panes de similar volumen específico y una corteza de color más tostado, principalmente en QB y QR.
- ✓ En quinoa blanca, las migas QB25 y QBG25 presentaron un predominio del comportamiento elástico sobre el viscoso ( $>E$  y  $<T$ ), especialmente en QB. Además, las migas con QBG fueron más blandas que las QB, a pesar de tener alveolos pequeños y similar área alveolar.
- ✓ Las migas con un 25% de quinoa roja presentaron alveolos pequeños (QR y QRG). Sin embargo, las QRG25 fueron más blandas, menos cohesiva y elásticas ( $< E0$ ) que QR25.
- ✓ En todas las migas con ambas quinoas germinadas, el incremento en la firmeza fue menor durante el almacenamiento, comparado con las migas de quinoa sin germinar.

# Capítulo VI

## Calidad sensorial, nutricional y funcional de los panes de amaranto y quinoa

A partir de todo lo estudiado hasta acá se pudo dilucidar que el nivel máximo de harina de amaranto y quinoas (25%) fue el indicado para la obtención de los productos con la mejor calidad tecnológica. Es por ello que se decidió estudiar el perfil sensorial, nutricional y funcional de los panes con 25% de agregado de harinas de estos pseudocereales (germinados y sin germinar).

## VI.1. Análisis sensorial de los panes

### VI.1.1. Amaranto

Se evaluó el consumo y los parámetros de aceptabilidad sensorial de los panes con la máxima adición de harina de amaranto germinado y sin germinar (A25 y AG25) tales como apariencia, textura, sabor, color y aceptabilidad general con un panel de 35 personas no entrenadas, con las características descritas en la sección II.4.6. En cuanto al consumo de panes, el 46% de los panelistas indicaron consumir diariamente pan, el 40% indicó que consumen semanalmente panes y el 14% señaló que consumen pan mensualmente. A su vez, el 100% de los panelistas indicaron que consumen pan con sal, mientras que un 43% señaló que consumen pan de tipo integral (con sal). Indicando que el consumo de pan es muy frecuente entre los evaluadores.

En la Tabla 6.1 se muestran los valores promedios de los parámetros evaluados en los panes. Se pudo observar que no hubo diferencias en la apariencia, la textura y el color, sin embargo en los panes AG25 se observó un puntaje mayor en el sabor y la aceptabilidad general. Cabe destacar que ambos panes evaluados recibieron puntajes promedio superiores a seis en la escala de nueve puntos utilizada para todos los atributos, lo que puede interpretarse como una buena aceptación de las características sensoriales de los productos y que se podría adicionar hasta un 25% de harina de amaranto tanto germinada como sin germinar sin ocasionar rechazo en los consumidores.



**Tabla 6.1.** Puntaje promedio asignado para cada atributo sensorial de los panes de trigo con 25% de harina de amaranto tanto germinado como sin germinar.

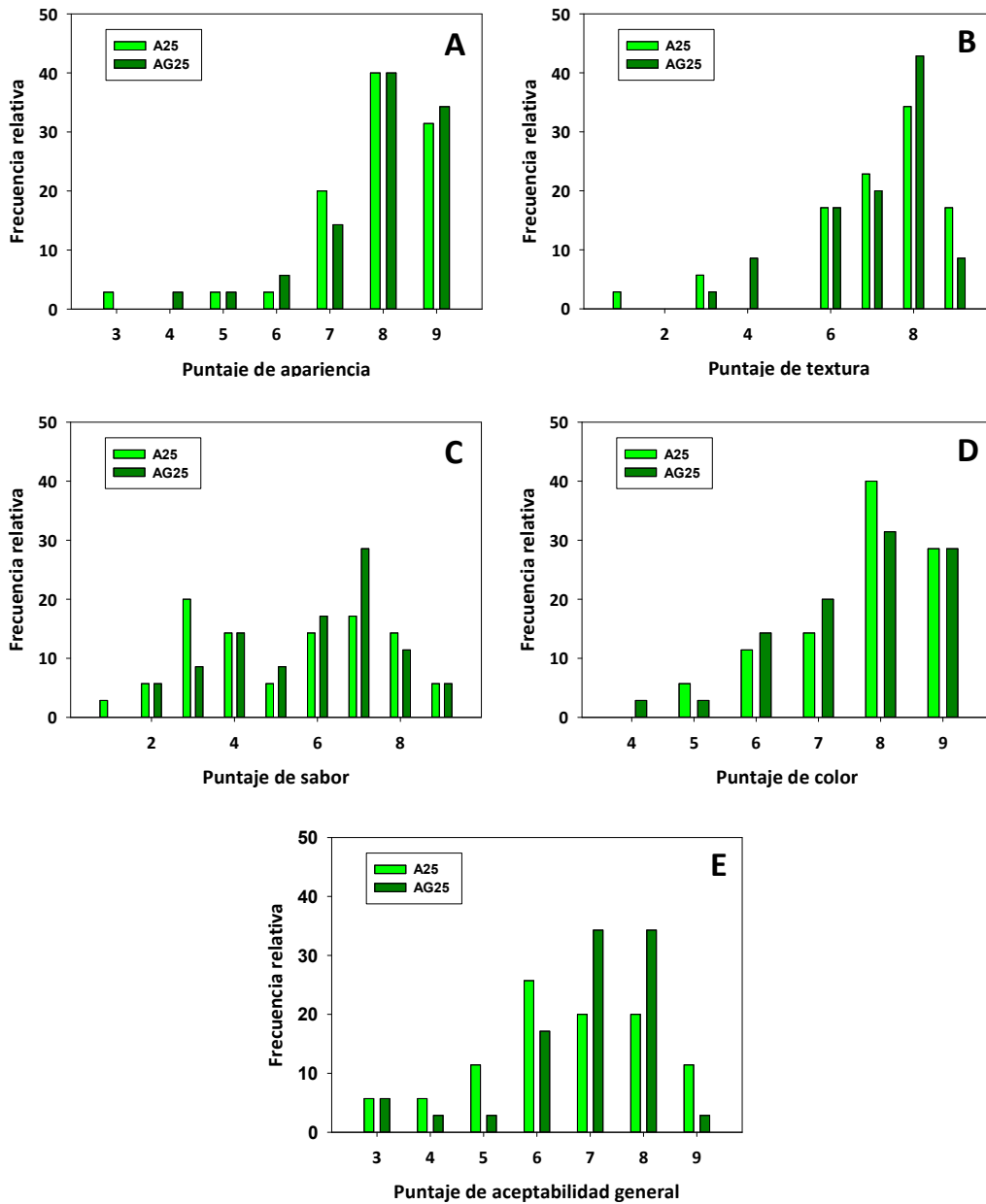
<b>Muestra</b>	<b>Apariencia</b>	<b>Textura</b>	<b>Sabor</b>	<b>Color</b>	<b>Aceptabilidad general</b>
<b>A25</b>	7,8 ± 1,3	7,1 ± 1,8	5,3 ± 2,2	7,7 ± 1,2	6,5 ± 1,6
<b>AG25</b>	7,9 ± 1,2	7,1 ± 1,5	5,8 ± 1,9	7,6 ± 1,3	6,9 ± 1,4

Promedios ±DS.

Por su parte, observando la Figura 6.1 se puede tener una visión más detallada de los puntajes obtenidos en la evaluación. Poniendo especial atención en aquellos puntajes mayores o iguales a 7, se observó que tanto la apariencia, textura como el color tuvieron una mayor incidencia en los panes A25 por sobre los AG25; en cambio para el sabor fue mucho mayor la incidencia de puntajes altos en AG25. Pese que en general la incidencia de notas altas en los diversos parámetros fue mayor en A25 que en AG25, la aceptabilidad general presentó mayores puntajes elevados en AG25 (72%-AG25 vs 51%-A25). Lo anteriormente mencionado demuestra que para los consumidores el parámetro que tuvo mayor peso para determinar la aceptabilidad general fue el sabor.

### VI.1.2. Quinoa

Con respecto al consumo por parte de los evaluadores que realizaron el panel sensorial acerca de los panes con quinoa blanca, el 6% de los panelistas indicaron consumir mensualmente pan, el 26% indicó que consumen semanalmente panes y el 68% señaló que consumen pan diariamente. A su vez, el 100% de los panelistas indicaron que consumen pan con sal, mientras que un 49% señaló que consumen pan de tipo integral (con sal).



**Figura 6.1.** Histogramas de puntajes de los diferentes atributos evaluados (A- apariencia, B- textura, C-sabor, D-color y E-aceptabilidad general) de los panes de trigo con 25% de harina de amaranto sin germinar (A25) y germinado (AG25).

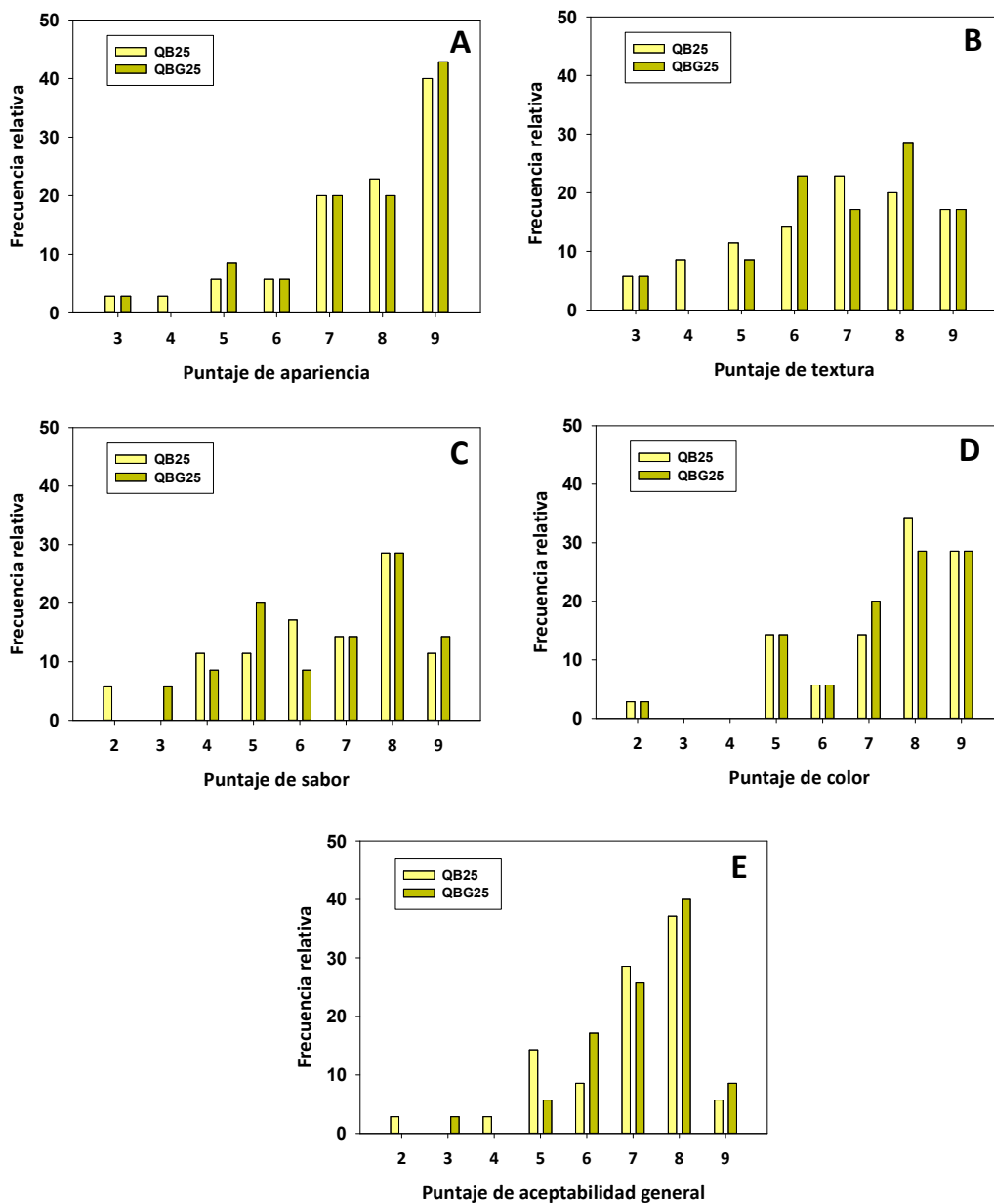
Lo valores medios de los parámetros evaluados para los panes con quinoa blanca se muestran en la Tabla 6.2. No se observaron diferencias en la apariencia, color y sabor. Sin embargo, tanto la textura como la aceptabilidad general fueron mayor en el caso del pan QBG25. Se observa que ambos tipos de panes recibieron puntajes superiores a los seis puntos en todos los parámetros y como se señaló para amaranto, esto puede asociarse a una buena aceptabilidad por parte de los consumidores.

**Tabla 6.2.** Puntaje promedio asignado para cada atributo sensorial de los panes de trigo con 25% de harina de quinoa blanca germinada y sin germinar.

<b>Muestra</b>	<b>Apariencia</b>	<b>Textura</b>	<b>Sabor</b>	<b>Color</b>	<b>Aceptabilidad general</b>
<b>QB25</b>	7,7 ± 1,6	6,7 ± 1,8	6,5 ± 1,9	7,4 ± 1,7	6,9 ± 1,5
<b>QBG25</b>	7,7 ± 1,5	7,0 ± 1,6	6,6 ± 1,8	7,4 ± 1,6	7,2 ± 1,3

Promedios ±DS.

La frecuencia relativa de los puntajes obtenidos para los diferentes parámetros sensoriales de los panes con quinoa blanca se muestra en la Figura 6.2. Al igual que para amaranto, se puso especial énfasis en aquellos puntajes mayores o iguales a 7. Con respecto a la frecuencia de puntajes elevados tanto para la apariencia como para el color, no se encontraron diferencias entre QB25 y QBG25. Por su parte, tanto para la textura como para el sabor, el pan QBG25 presentó mayor incidencia de notas mayores. Por último, la aceptabilidad general tuvo mayor porcentaje de notas elevadas para QBG25, sugiriendo que este pan tuvo mayor aceptación por parte de los evaluadores.



**Figura 6.2.** Histogramas de puntajes de los diferentes atributos evaluados (A- apariencia, B- textura, C- sabor, D- color y E- aceptabilidad general) de los panes de trigo con 25% de harina de quinoa blanca sin germinar (QB25) y germinada (QBG25).

Por último, las personas que evaluaron los panes con harina de quinoa roja documentaron un consumo de pan tanto diario como semanal del 40%, y un 20% mensual. Por su parte el 100% consume pan con sal y el 51% pan integral con sal.

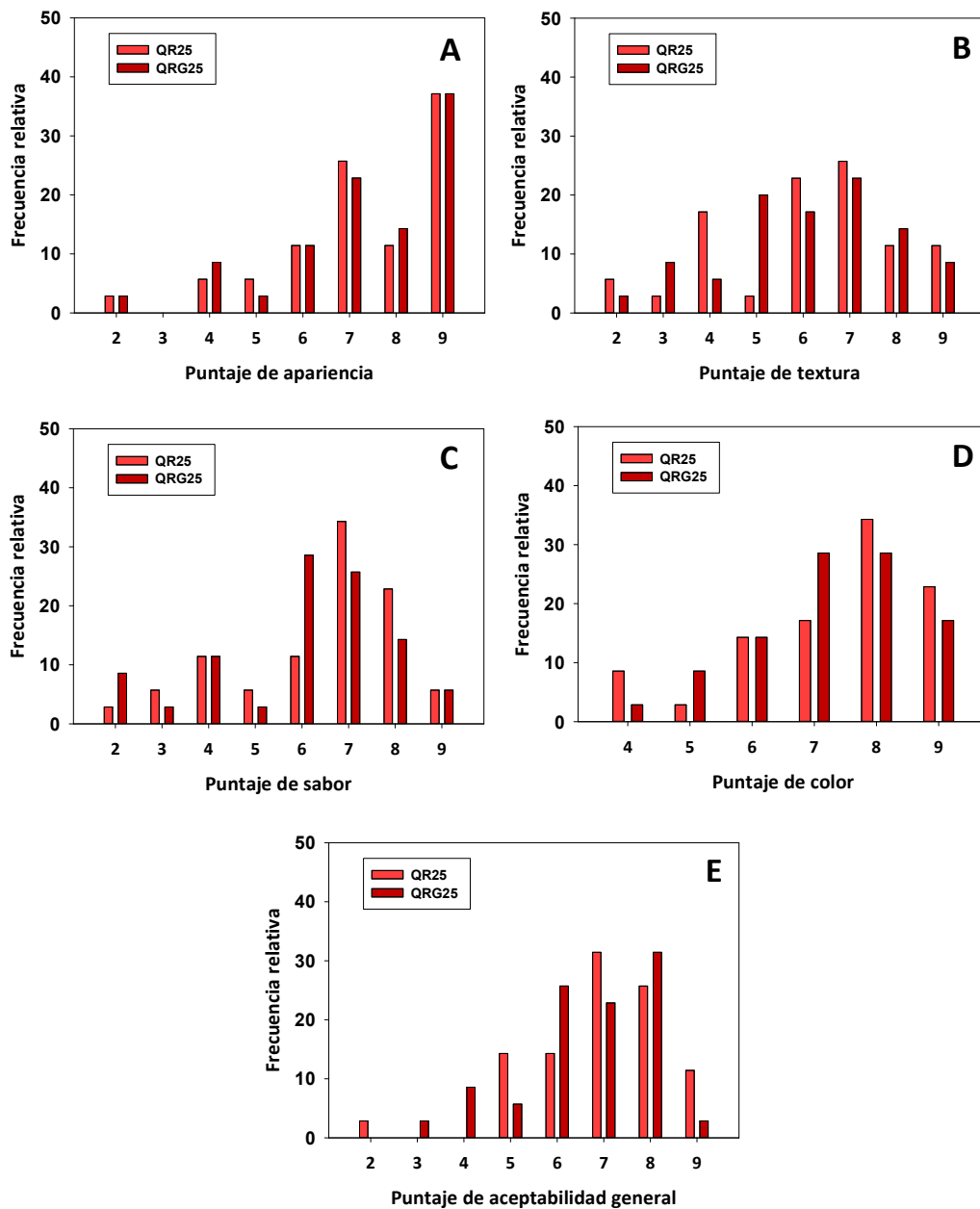
Los puntajes promedios de los parámetros evaluados se presentan en la Tabla 6.3. Se observó que no hubo prácticamente diferencias en la apariencia, la textura y el color entre ambos panes. Para los panes QR25 se observó un puntaje mayor para el sabor y la aceptabilidad general. Pese a la diferencia en la aceptabilidad general, todos los panes con quinoa roja también presentaron para los atributos valores superiores a 6 (seis), lo que indica una buena aceptación de las características sensoriales de los panes. Estos resultados nuevamente sugieren que podría adicionarse un 25% de harina de quinoa roja tanto sin germinar como germinada, sin producir un rechazo por parte de los consumidores.

**Tabla 6.3.** Puntaje asignado para cada atributo sensorial de los panes de trigo con 25% de harina de quinoa roja germinada y sin germinar.

<b>Muestra</b>	<b>Apariencia</b>	<b>Textura</b>	<b>Sabor</b>	<b>Color</b>	<b>Aceptabilidad general</b>
<b>QR25</b>	7,3 ± 1,8	6,1 ± 1,9	6,4 ± 1,8	7,3 ± 1,5	6,9 ± 1,5
<b>QRG25</b>	7,3 ± 1,8	6,1 ± 1,8	6,0 ± 1,9	7,2 ± 1,3	6,6 ± 1,4

Promedios ±DS.

En la Figura 6.3 se presenta la frecuencia relativa de los parámetros evaluados a partir de la cual se puede tener más detalles sobre la evaluación. Tanto la textura y fundamentalmente el sabor presentaron una mayor incidencia de puntajes elevados (mayores o iguales a 7) en QR25 frente a QRG25. En tanto que la apariencia y el color, no presentaron diferencias en el porcentaje de notas elevadas entre ambos panes. Por último, la aceptabilidad general tuvo una incidencia mucho mayor de calificaciones altas en QR25 en comparación con QRG25.



**Figura 6.3.** Histogramas de puntajes de los diferentes atributos evaluados (A- apariencia, B- textura, C- sabor, D- color y E- aceptabilidad general) de los panes de trigo con 25% de harina de quinoa roja sin germinar (QR25) y germinada (QBG25).

## VI.2. Composición, compuestos fenólicos y actividad antioxidante de panes frescos

### VI.2.1. Amaranto

En la Tabla 6.4 se muestra la composición porcentual de los panes de trigo (C) y los panes con la adición máxima de amaranto tanto sin germinar (A25) y germinado (AG25). Respecto a la humedad, tal como se discutió en los resultados en IV.2.2.3., no se observaron diferencias significativas en el contenido de agua de los distintos panes. Con respecto al contenido de proteínas, se observó que en panes con harina de amaranto germinada (AG25) el contenido proteico fue mayor que en el pan de trigo y el pan A25. En el caso de los lípidos se pudo observar que el menor valor lo presentó nuevamente el pan C, mientras que no se hallaron diferencias entre los panes con amaranto germinado y sin germinar. El contenido de cenizas fue mínimo en el caso del pan AG25 y máximo para el pan A25. El mínimo valor de fibra dietaria total lo presentó el pan con harina de trigo; mientras que los panes con ambos tipos de amaranto presentaron un mayor contenido de fibra, presentando el pan A25 el mayor valor. Por último, el porcentaje de hidratos de carbono fue mayor tanto en el pan C como para el AG25.

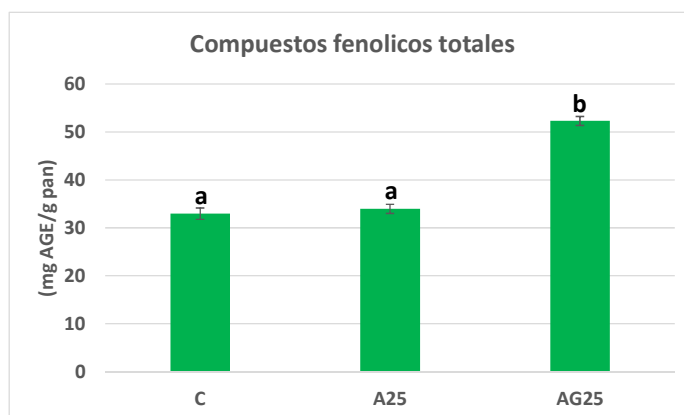
**Tabla 6.4.** Composición porcentual de pan con harina de trigo (C) y con la adición de 25% de harina de amaranto sin germinar (A25) y germinado (AG25).

Composición	Pan		
	C	A25	AG25
Humedad (%)	45,9 ± 0,6 a	45,9 ± 0,1 a	45,5 ± 0,2 a
Proteínas (%)	6,84 ± 0,00 a	6,93 ± 0,10 a	7,16 ± 0,05 b
Lípidos (%)	0,38 ± 0,03 a	0,67 ± 0,04 b	0,61 ± 0,00 b
Cenizas (%)	1,37 ± 0,09 b	1,47 ± 0,05 c	1,28 ± 0,00 a
Fibra (%)	3,61 ± 0,09 a	5,72 ± 0,06 c	4,17 ± 0,15 b
Carbohidratos (%)	41,9 ± 0,6 b	39,3 ± 0,2 a	41,3 ± 0,3 b

Formulación de pan: pan de trigo (C); pan con harina amaranto sin germinar en un 25% (A25) y pan con harina de amaranto germinado en un 25% (AG25). Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE. EL porcentaje de carbohidratos diferente de fibra se calculó por diferencia.

Se calculó el aporte calórico de los diferentes panes utilizando los factores de Atwater. El pan C aporta 99,2 kcal/porción, el pan A25 95,4 kcal/porción y el pan AG25 99,6 Kcal/porción, siendo la porción equivalente a 50 g según lo que establece el Código Alimentario Argentino (CAA, 2022).

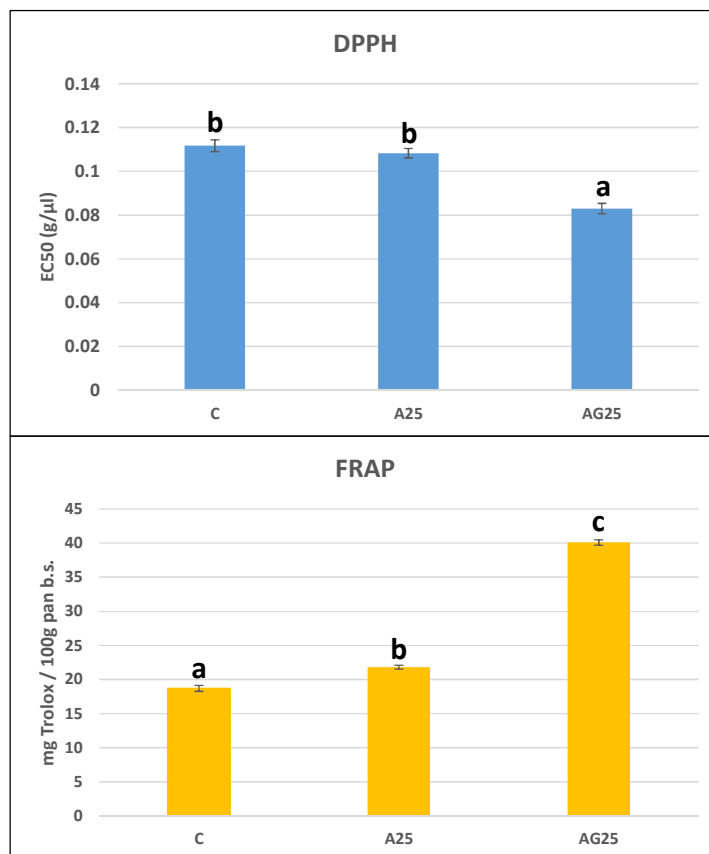
Por otro lado, en la Figura 6.4 se muestra el contenido de compuestos fenólicos totales en el pan de trigo (C) y en los panes con amaranto (A25 y AG25). Se observó que el agregado de amaranto sin germinar no generó un aumento en el contenido de compuestos fenólicos respecto a C, a diferencia del amaranto germinado que produjo panes con un mayor contenido de compuestos fenólicos.



**Figura 6.4.** Contenido de fenoles totales de los panes de trigo (C), y con la adición de amaranto sin germinar (A25) y germinado (AG25) Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a la actividad antioxidante, la misma se muestra en la Figura 6.5. En lo que respecta al pan C, fue el que menor actividad antioxidante presentó (por ambos métodos). Luego el pan A25 presentó una leve mayor actividad antioxidante, solo por el método de FRAP. En tanto que AG25 presentó la mayor actividad antioxidante, en ambos métodos. Esta mayor actividad antioxidante podría estar relacionada al mayor contenido de compuestos fenólicos que presentó dicho pan (Figura 6.4.).





**Figura 6.5.** Actividad antioxidante por los métodos de **DPPH** y **FRAP** para los panes de trigo (C), y con la adición de amaranto sin germinar (A25) y germinado (AG25). Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La hidrólisis enzimática durante la germinación podría favorecer la hidrólisis de los polifenoles unidos a proteínas. Esa liberación de grupos aromáticos conjuntamente con la generación de otras moléculas con capacidad antioxidante contribuiría al aumento de los valores de FRAP y disminución del  $EC_{50}$  por DPPH de AG25.

### VI.1.2. Quinoa

En la Tabla 6.5 se presenta la composición porcentual de los panes de trigo (C) y los panes con el mayor contenido de quinoa blanca germinada y sin germinar. El contenido de humedad si bien presentó diferencias significativas en los distintos panes, el valor estuvo entre el 44-46%. El mayor contenido de proteínas lo presentó el pan con harina de trigo solamente (C), ambos tipos de panes con quinoa presentaron entre un 3,3-3,7% menos de proteínas respecto a C. Se pudo observar que el menor valor en el contenido de lípidos lo presentó el pan C, mientras que el mayor contenido lipídico lo presentó el

pan con quinoa blanca germinada (QBG25). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas en el contenido de cenizas en ninguno de los panes. A su vez, el contenido de fibra dietaria total presentó su mínimo valor para el pan con harina de trigo y tuvo su máximo valor en el pan QB25. Por último, el porcentaje de hidratos de carbono fue mayor en el pan C, mientras que no se observaron diferencias significativas en los panes con quinoa blanca tanto germinada como sin germinar.

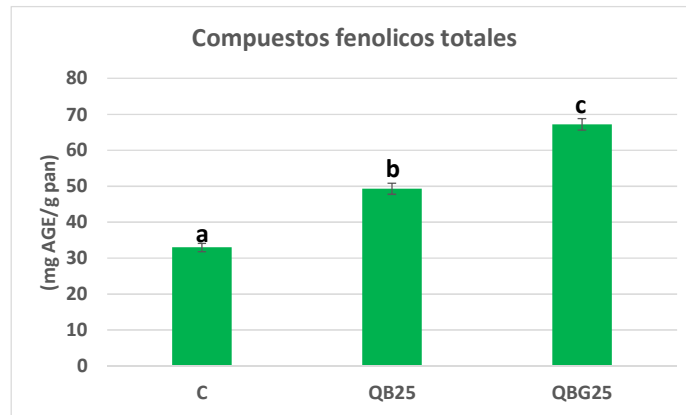
**Tabla 6.5.** Composición porcentual de pan con harina de trigo (C) y con la adición de 25% de harina de quinoa blanca (QB25) y harina blanca de semilla germinada (QBG25).

Composición	Pan		
	C	QB25	QBG25
<b>Humedad (%)</b>	44,1 ± 0,3 a	45,90 ± 0,06 c	45,45 ± 0,08 b
<b>Proteínas (%)</b>	7,84 ± 0,00 b	7,55 ± 0,06 a	7,58 ± 0,12 a
<b>Lípidos (%)</b>	0,30 ± 0,06 a	0,39 ± 0,00 b	0,6 ± 0,04 c
<b>Cenizas (%)</b>	1,27 ± 0,08 a	1,27 ± 0,02 a	1,24 ± 0,08 a
<b>Fibra (%)</b>	5,42 ± 0,25 a	5,78 ± 0,01 b	6,30 ± 0,16 c
<b>Carbohidratos (%)</b>	41,12 ± 0,37 b	39,11 ± 0,09 a	38,8 ± 0,23 a

Formulación de pan: pan de trigo (C); pan con harina de quinoa blanca sin germinar en un 25% (QB25) y pan con harina de quinoa blanca germinada en un 25% (QBG25). Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE. EL porcentaje de carbohidratos diferente de fibra se calculó por diferencia.

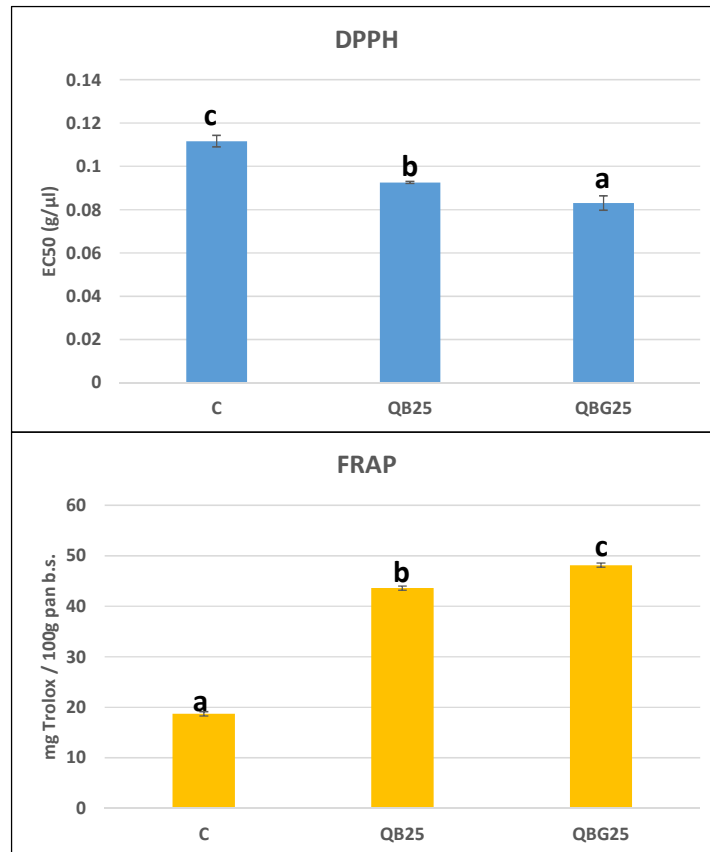
Se calculó por otro parte el aporte calórico por porción (50g) de pan, obteniendo como resultado que el pan QB25 aporta 95,1 Kcal/g mientras que QBG25 95,5 Kcal/g.

El contenido de compuestos fenólicos del pan de trigo (C) y con la adición de quinoa blanca sin germinar (QB25) y germinada (QBG25) se muestra en la Figura 6.6. Se observó un aumento significativo en el contenido de compuestos fenólicos, especialmente en el pan QBG25.



**Figura 6.6.** Contenido de fenoles totales de los panes de trigo (C), y con la adición de quinoa blanca sin germinar (QB25) y germinada (QBG25). Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La actividad antioxidante de los panes con quinoa blanca se muestra en la Figura 6.7. La incorporación de harina de quinoa blanca generó un aumento en la actividad antioxidante medida por ambos métodos, siendo mayor la actividad antioxidante en QBG25. Esta mayor actividad antioxidante, estaría estrechamente relacionada con el mayor contenido de compuestos fenólicos (Figura 6.6).



**Figura 6.7.** Actividad antioxidante por los métodos de **DPPH** y **FRAP** para los panes de trigo (C), y con la adición de quinoa blanca sin germinar (QB25) y germinada (QBG25). Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

La Tabla 6.6 exhibe la composición porcentual de los panes con harina de quinoa roja germinada (QRG25) y sin germinar (QR25). El contenido de humedad fue variable, siendo mayor para las migas con quinoa. En cuanto al contenido de proteínas, el mayor valor lo presentó C, seguido por QRG25 y por último QR25. En lo que respecta al contenido de lípidos, el pan de trigo presentó el menor valor, mientras el mayor se observó en el pan QRG25. El contenido de cenizas no presentó diferencias significativas para ningún pan. La cantidad de fibra dietaria total fue mayor en los panes con quinoa, observándose un contenido mayor en QRG25. Por último, los hidratos de carbono fueron más abundantes en el pan de trigo, mientras que no se encontraron diferencias significativas entre QR25 y QRG25.

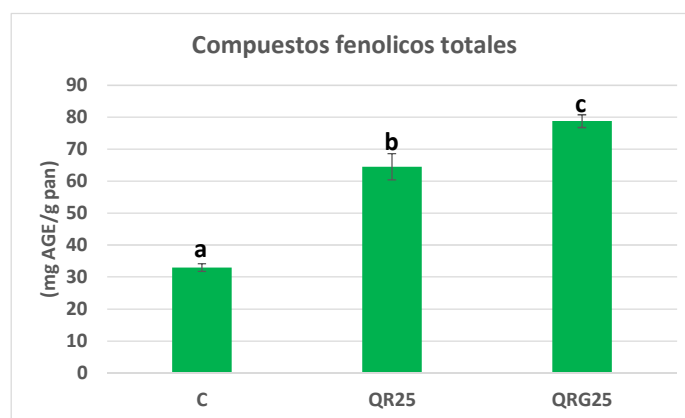
Del cálculo del aporte calórico se obtuvo que el pan QR25 aporta 91,7 Kcal/porción y el QRG25 92,6 Kcal/porción.

**Tabla 6.6.** Composición porcentual de pan con harina de trigo (C) y con la adición de 25% de harina de quinoa roja sin germinar (QR25) y germinada (QRG25).

Composición	Pan		
	C	QR25	QRG25
Humedad (%)	44,1 ± 0,3 a	46,30 ± 0,40 b	45,80 ± 0,10 b
Proteínas (%)	7,84 ± 0,00 c	6,88 ± 0,02 a	7,28 ± 0,13 b
Lípidos (%)	0,30 ± 0,06 a	0,48 ± 0,05 b	0,72 ± 0,06 c
Cenizas (%)	1,27 ± 0,08 a	1,28 ± 0,04 a	1,24 ± 0,00 a
Fibra (%)	5,42 ± 0,25 a	7,19 ± 0,15 b	7,57 ± 0,28 c
Carbohidratos (%)	41,12 ± 0,37 b	37,87 ± 0,43 a	37,39 ± 0,33 a

Formulación de pan: pan de trigo (C); pan con 25% de harina de quinoa roja sin germinar (QR25) y con harina de quinoa roja germinada (QRG25). Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores se expresan como media ± DE. EL porcentaje de carbohidratos se calculó por diferencia.

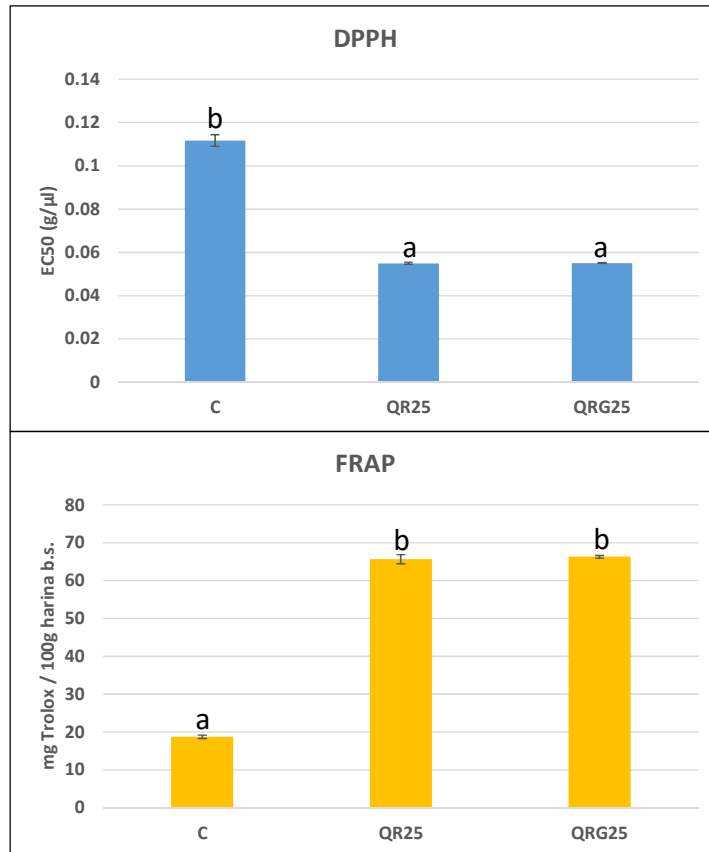
En la Figura 6.8 se muestra el contenido de compuestos fenólicos en los panes de trigo (C) y con el agregado de quinoa roja sin germinar (QR25) y germinada (QRG25). Al igual que con la quinoa blanca, la adición de quinoa roja produjo un aumento en el contenido de compuestos fenólicos respecto a C, siendo mayor el contenido en el pan con quinoa germinada.



**Figura 6.8.** Contenido de fenoles totales de los panes de trigo solamente (C), y con la adición de quinoa roja sin germinar (QR25) y germinada (QRG25) Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Los panes tanto con quinoa roja sin germinar como germinada exhibieron una mayor actividad antioxidante que el pan C (Figura 6.9), pero sin diferencias significativas entre

QR25 y QRG25. Estos resultados indicarían que no sólo los compuestos fenólicos sino también otros componentes estarían aportando a la actividad antioxidante.



**Figura 6.9.** Actividad antioxidante por los métodos de **DPPH** y **FRAP** para los panes de trigo solamente (C), y con la adición de quinoa roja sin germinar (QR25) y germinada (QRG25) Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

### ***Factores antinutricionales***

En bibliografía se reporta que los factores antinutricionales más importantes en amaranto son los inhibidores de proteasas y en segundo lugar el ácido fítico. Si bien los mismos no fueron cuantificados en las harinas de amaranto, existe evidencia científica de que ambos factores disminuyen considerablemente en diversos alimentos/frutos/semillas con la germinación (Elizalde y col., 2009; Sokrab y col., 2012; Devi y col., 2015; Luo y Xie, 2013; Murugkar, 2011). A su vez la fermentación y la cocción contribuyen a la disminución de los mismos (Qazi y col., 2003).

Por otro lado, en la quinoa el mayor factor antinutricional son las saponinas, pero las mismas se eliminan con el lavado previo de las semillas hasta no observar la presencia de espuma (Elizalde y col., 2009)

Por lo anteriormente mencionado es que consideramos que la inclusión de amaranto y quinoa germinados no contribuiría con factores antinutricionales a los panes obtenidos a partir de los mismos.

### V.3. Determinación de actividad antitumoral

La actividad antitumoral de los panes se estudió a través del efecto sobre la viabilidad celular de los productos que se encuentran en la fase acuosa resultante de la digestión *in vitro* en células derivadas de cáncer humano de colon HCT-116 (Tabla 6.7). Esta técnica permite evaluar de manera directa la viabilidad celular y de manera indirecta la proliferación celular. El porcentaje de viabilidad celular de los digeridos de los distintos panes se muestra en la Tabla 6.7. Los porcentajes estuvieron entre un 100 y 97% para las diferentes concentraciones ensayadas, por lo que puede deducirse que no tuvieron actividad antitumoral en las condiciones estudiadas.

**Tabla 6.7.** Efecto de la concentración de los digeridos sobre el porcentaje de viabilidad celular.

Pan	% de viabilidad celular						
	Concentración de las muestras ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )						
	0	25	50	100	150	250	1000
<b>C</b>	100 $\pm$ 0	99,9 $\pm$ 3,0	100 $\pm$ 0,2	100 $\pm$ 1,4	96,8 $\pm$ 2,5	100 $\pm$ 2,8	100 $\pm$ 1,2
<b>A25</b>	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 1,3	99,9 $\pm$ 2,1	99,4 $\pm$ 1,3	100 $\pm$ 0,9	100 $\pm$ 1,6	99,9 $\pm$ 0,4
<b>AG25</b>	100 $\pm$ 1,4	99,4 $\pm$ 4,0	98,4 $\pm$ 5,3	99,6 $\pm$ 2,6	97,3 $\pm$ 2,0	97,9 $\pm$ 3,8	98,2 $\pm$ 2,2
<b>QB25</b>	100 $\pm$ 0	98,7 $\pm$ 2,5	100 $\pm$ 3,4	98,8 $\pm$ 1,2	98,6 $\pm$ 1,3	97,8 $\pm$ 3,0	97,5 $\pm$ 2,1
<b>QBG25</b>	100 $\pm$ 1,4	97,9 $\pm$ 3,1	98,7 $\pm$ 3,7	98,1 $\pm$ 4,5	100 $\pm$ 0,7	100 $\pm$ 3,4	100 $\pm$ 2,1
<b>QR25</b>	100 $\pm$ 1,4	99,1 $\pm$ 2,1	100 $\pm$ 4,8	100 $\pm$ 1,1	96,6 $\pm$ 8,3	99,5 $\pm$ 4,0	97,6 $\pm$ 2,3
<b>QRG25</b>	100 $\pm$ 0	97,4 $\pm$ 1,6	100 $\pm$ 2,1	98,1 $\pm$ 3,1	98,2 $\pm$ 1,2	100 $\pm$ 4,8	100 $\pm$ 2,3

## ***Conclusiones parciales***

### ***Panes con amaranto***

- ✓ El sabor y la aceptabilidad general fueron mayores en AG25.
- ✓ Los panes con amaranto (A y AG) presentaron mayor cantidad de fibra dietaria y lípidos de mejor perfil nutricional con respecto al pan de trigo. Aportando el mayor porcentaje de proteínas el pan AG25. Además, éste presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos totales y de actividad antioxidante.

### ***Panes con quinoa blanca***

- ✓ La aceptabilidad general fue mayor en QBG25, pero no hay predominio de ningún parámetro.
- ✓ Los panes con quinoa blanca (QB y QBG) presentaron similar contenido de proteínas y mayor contenido de lípidos y de fibra dietaria junto con un menor aporte calórico que los panes de trigo.
- ✓ Los panes QB25 y QBG25 aportan mayores compuestos fenólicos y una mayor actividad antioxidante, superior en QBG25.

### ***Panes con quinoa roja***

- ✓ El pan QR25 tuvo una aceptabilidad mayor que en el germinado, en donde la mayor influencia la tiene el sabor. Sin embargo en QRG25 los puntajes fueron en su mayoría buenos ( $\geq 6$ ).
- ✓ El contenido de lípidos y fibra en los panes con quinoa roja (QR y QRG) fueron mayores que en el de trigo. Siendo ambos panes clasificados como "alto contenido de fibra", especialmente en QRG25.
- ✓ El pan QRG25 tuvo mayor contenido de proteínas que QR25.
- ✓ El aporte calórico fue menor y la actividad antioxidante mayor en los panes con quinoa (QR25 y QRG25) respecto al pan de trigo.

Los panes estudiados no modificaron el porcentaje de viabilidad celular indicando que no presentarían actividad antitumoral a nivel del colon.



# Conclusiones generales

## **AMARANTO**

La germinación durante 18h a 30°C permitió obtener una harina con mejor perfil nutricional debido a que aumentó el contenido de cenizas, de proteínas (con mayor proporción de lisina) y disminuyó el contenido de lípidos (con mejor relación  $\omega_6/\omega_3$ ) debido al incremento de los ácidos grasos esenciales, especialmente ácido  $\alpha$ -linolénico. Además, presentó mayor actividad antioxidante.

Las proteínas y el almidón se hidrolizaron como consecuencia de la germinación, aumentando la proporción de moléculas poliméricas de menor tamaño, resultando en una estructura proteica menos compacta y con una mayor región amorfa del almidón. Estos cambios se reflejaron en los menores valores de energía necesarios para desnaturalizar y gelatinizar. La hidrólisis de las macromoléculas generó compuestos hidrofílicos con una mayor capacidad de retención de agua.

La masa con 25% de harina de amaranto germinado (AG25) en ausencia de deformación (viscoelasticidad lineal) resultó más viscosa ( $> \tan \delta$ ) que la masa de trigo. La aplicación de esfuerzo a grandes deformaciones (TPA y relajación) evidenció una mayor elasticidad de la masa ( $>E_2$  y  $<T_2$ ), la formación de una matriz más húmeda, más estructurada ( $<\lambda$ ), con mayor contenido de gluten y de igual dureza que la masa de trigo.

A pesar que el tiempo de fermentación e incremento de volumen de la masa fermentada fue menor para AG25, los panes presentaron mayor volumen específico y fueron más oscuros que los A25. Además, la migas con 25% de amaranto (A y AG) resultaron más aireadas que la miga de trigo, especialmente la AG25.

Las migas con amaranto sin germinar fueron más duras que con amaranto germinado, presentando AG25 similar firmeza que la miga de trigo. Además, el incremento de éste parámetro fue menor durante el almacenamiento indicando una mayor vida útil de estos panes.

Los panes con amaranto (A y AG) presentaron mayor cantidad de fibra dietaria y lípidos de mejor perfil nutricional con respecto al pan de trigo. Aportando el mayor porcentaje de proteínas el pan AG25.

### **QUINOA**

La harina de semillas de **quinoa blanca** germinada durante 48h a 20°C (QBG<sub>48</sub>) no cambió el contenido proteico, sin embargo, aumentó el contenido de fibra dietaria total y de lípidos, resultando más abundantes los ácidos grasos insaturados Linoleico (18:2- $\omega$ 6) y  $\alpha$ -Linolénico (18:3- $\omega$ 3) junto con una mejor relación  $\omega$ 6/ $\omega$ 3. Asimismo el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante se incrementaron en esta harina. A pesar de que el contenido de proteínas no cambió en QBG<sub>48</sub>, se evidenció por FTIR una estructura secundaria más compacta. La germinación produjo con la hidrólisis del almidón y las proteínas, macromoléculas con estructuras más estables al tratamiento térmico (DSC), a pesar de ello la harina QBG<sub>48</sub> desarrolló en presencia de agua menor viscosidad de pasta (RVA).

La germinación por 24 h a 20°C de semillas de **quinoa roja**, permitió obtener una harina (QRG<sub>24</sub>) con un nivel aumentado de fibra dietaria total, proteínas y lípidos. El perfil nutricional de la harina resultó mejorado con el incremento de los aminoácidos esenciales (Lys, Hys y Met) y de los ácidos grasos  $\alpha$ -linolénico y oleico. A dicho perfil contribuyó un mayor contenido de compuestos fenólicos y un menor nivel de sodio. La germinación modificó la estructura secundaria de las proteínas haciéndolas más desplegadas como también contribuyó a la cristalinidad del almidón (FTIR). El menor contenido de almidón de QRG<sub>24</sub> fue evidenciado por la menor variación de la entalpia de gelatinización (DSC).

El agregado de harina de quinoa produjo cambios en diferentes propiedades del gluten y la masa, sin embargo la germinación de las semillas no provocó un cambio sustancial con respecto a la materia prima sin germinar. La dilución de la harina de trigo con 25% de harina de quinoa condujo a un menor contenido de gluten, una masa menos

estructurada y más húmeda para ambas variedades. La elasticidad y la dureza de las masas fueron mayores con 25% de quinoa germinada (QBG25 y QRG25). La adhesividad de las masas fue dependiente de la variedad y el tratamiento, resultando las QRG más adhesivas.

La incorporación de harina de quinoa de ambas variedades en un 25% a la harina de trigo permitió la formación de masas que fermentaron más rápido, sin embargo tuvieron diferente cinética. Si bien no hubo diferencias entre QB25 y QBG25, en la quinoa roja la masa QRG25 fue más estable respecto a QR25. A bajos niveles de harina de quinoa se obtuvieron los mayores volúmenes de pan con harinas de semillas germinadas, mientras que a 25% produjo panes más pequeños independientemente del tratamiento y de la variedad. El color tostado de la corteza aumentó con el nivel de harina no germinada para ambas variedades (QB25 y QR25). La firmeza de todas las migas fue mayor que la del pan de trigo, resultando mas blandas las migas con harinas germinadas (en mayor medida en la quinoa roja). Esta diferencia entre las muestras germinadas y sin germinar se reprodujo durante el almacenamiento pero con mayores valores de firmeza.

La cantidad de proteínas de los panes no resultó modificada con el agregado de quinoa blanca (QB y QBG) a la harina de trigo, sin embargo, estos panes presentaron mayor contenido de lípidos y de fibra dietaria total; el nivel de fibra en QBG25 resultó mayor al 6% por lo que según el Código Alimentario Argentino se lo puede clasificar como de "alto contenido de fibra".

Al igual que en la quinoa blanca, los panes con 25% de harina de quinoa roja (QR25 y QRG25) presentaron un mayor contenido de lípidos y de fibra dietaria total, pudiendo también clasificarse como altos en fibra, sin embargo el nivel de proteínas de QRG25 fue superior al de QR25.

Los panes mejorados nutricionalmente con los tres cultivos andinos germinados fueron aceptados por parte de los consumidores, presentaron mayor actividad antioxidante,

sin embargo no se observó en células tumorales de colon una inhibición de la actividad celular en las condiciones estudiadas.

# Referencias

- AACC (2000). American Association of Cereal Chemists (AACC International). (2000), 10<sup>o</sup> Ed. St. Paul, MN: The American Association of Cereal Chemists, Inc.
- Abugoch, L. E., Martínez, E. N., & Añón, M. C. (2003). Influence of the extracting solvent upon the structural properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) glutelin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(14), 4060-4065.
- Abugoch, L. E., Romero, N., Tapia, C. A., Silva, J., & Rivera, M. (2008). Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 56(12), 4745-4750.
- Adeniyi, P. O., & Obatolu, V. A. (2014). Effect of germination temperature on the functional properties of grain amaranthus. *Am J Food Sci Technol*, 2, 76-79.
- Agricultura Argentina (2021). <https://surdelsur.com/es/agricultura-argentina/>. Consultado en Agosto de 2021.
- Ahamed, N. T., Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., & Pal, M. (1996). Physicochemical and functional properties of *Chenopodium quinoa* starch. *Carbohydrate polymers*, 31(1-2), 99-103.
- Ahmed, J., Almusallam, A. S., Al-Salman, F., AbdulRahman, M. H., & Al-Salem, E. (2013). Rheological properties of water insoluble date fiber incorporated wheat flour dough. *LWT-Food Science and Technology*, 51(2), 409–416.
- Aiking, H. (2011). Future protein supply. *Trends in Food Science & Technology*, 22(2-3), 112-120.
- Alimentos Argentinos (2016). Amaranto. Una pequeña gran semilla. Nutrición y educación alimentaria. Ficha N° 58. [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Nutricion/fichaspdf/Ficha\\_58\\_Amaranto.pdf](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Nutricion/fichaspdf/Ficha_58_Amaranto.pdf). Consultada en Agosto de 2021.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food chemistry*, 119(2), 770-778.
- Antezana, R. N. V., Ticona, G. M., Yucra, F. E. Z., Cayllahua, D. Q., Alejo, R. M., & Churqui, U. J. M. (2015). Efecto de la germinación y cocción en las propiedades nutricionales

- de tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Revista Investigaciones Altoandinas*, 17(2), 169-172.
- Aphalo, P., Martínez, E. N., & Añón, M. C. (2009). Structural modifications of amaranth proteins during germination. *The protein journal*, 28(3), 131-138.
- Aphalo, P., Martínez, E. N., & Añón, M. C. (2015). Amaranth sprouts: a potential health promoting and nutritive natural food. *International Journal of Food Properties*, 18(12), 2688-2698.
- Araujo-Farro, P. C., do Amaral Sobral, J. P., & Menegalli, F. C. (2005). Comparison of starch pasting and retrogradation properties of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), rice, potato, cassava, wheat and corn starches. In 2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering.
- Araujo-Farro, P. C., Podadera, G., Sobral, P. J., & Menegalli, F. C. (2010). Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. *Carbohydrate Polymers*, 81(4), 839-848.
- Arendt, E. K., & Zannini, E. (2013). Quinoa. *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*, 409–438.
- Argumedo, W. (1999). Factibilidad tecnológica en la preparación de nachos y Corn chips fortificados con amaranto (*amaranthus cruentus*). Trabajo de graduación para optar al título de: Licenciatura en Química y Farmacia, Universidad De El Salvador.
- Arjona-Roman, J. L., Melendez-Perez, R., Vazquez-Duran, A., Del Rio-Garcia, J. C., Mendez-Albores, A., & Moreno-Martinez, E. (2011). Thermal and pasting properties of citric acid supplemented poultry diets. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(12), 1573-1579.
- Armero, E., & Collar, C. (1998). Crumb firming kinetics of wheat breads with anti-staling additives. *Journal of cereal Science*, 28(2), 165-174.
- Asami, D. K., Hong, Y. J., Barrett, D. M., & Mitchell, A. E. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(5), 1237-1241.
- ASTM (2013). *Standard Specification for Woven Wire Test Sieve Cloth and Test Sieves*. West Conshohocken, PA.: ASTM International.

- Avallone, R., Plessi, M., Baraldi, M., & Monzani, A. (1997). Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of food composition and analysis*, 10(2), 166-172.
- Avanza, M. V., & Añón, M. C. (2007). Effect of thermal treatment on the proteins of amaranth isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(4), 616–623.
- Bacic, A., & Stone, B. (1980). A (1→3)-and (1→4)-linked  $\beta$ -d-glucan in the endosperm cell-walls of wheat. *Carbohydrate research*, 82(2), 372-377.
- Baik M. Y., & Chinachoti P. (2000). Moisture redistribution and phase transition during bread staling. *Cereal Chemistry*, 77, 484-488.
- Baker, L. A., & Rayas-Duarte, P. (1998). Freeze-thaw stability of amaranth starch and the effects of salt and sugars. *Cereal Chemistry*, 75(3), 301-307.
- Ballester-Sánchez, J., Yalcin, E., Fernández-Espinar, M. T., & Haros, C. M. (2019). Rheological and thermal properties of royal quinoa and wheat flour blends for breadmaking. *European Food Research and Technology*, 245(8), 1571-1582.
- Banerji, A., Ananthanarayan, L., & Lele, S. (2018). Rheological and nutritional studies of amaranth enriched wheat chapatti (Indian flat bread). *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13361.
- 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 Science and Technology*, 51(1), 211-217.
- Barraza-Garza, G., de la Rosa, L. A., Martínez-Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotte, M., & Alvarez-Parrilla, E. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista latinoamericana de química*, 41(3), 125-148.
- Bazile, D., & Baudron, F. (2014). Dinámica de expansión mundial del cultivo de la quinua respecto a su alta biodiversidad.
- Becker, R., Wheeler, E. L., Lorenz, K., Stafford, A. E., Grosjean, O. K., Betschart, A. A., & Saunders, R. M. (1981). A compositional study of amaranth grain. *Journal of Food Science*, 46(4), 1175-1180.
- Belton, P. S. (1999). On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science* 29: 103–107.

- Belton, P.S. (2003). The molecular basis of dough rheology. Capítulo 13 en Bread making Improving Quality. Editado por Stanley P. Cauvain. Publicado por Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Inglaterra.
- Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F., & Galieni, A. (2019). Sprouted grains: A comprehensive review. *Nutrients*, 11(2), 421.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999). Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in enzymology*, 299, 15-27.
- Bergesse, A., & Calandri, E. (2013). Antecedentes y Estadísticas de producción y consumo regional e internacional de la quinoa. En A. Bergesse, P. Boiocchi, E. Calandri, N. Cervilla, V. Gianna, C. Guzmán, y otros, & F. Grasso (Ed.), *Aprovechamiento integral del grano de quinoa. Aspectos Tecnológicos, Fisicoquímicos, Nutricionales y Sensoriales* (Primera ed., págs. 3-10).
- Bet, C. D., de Oliveira, C. S., Colman, T. A. D., Bisinella, R. Z. B., Beninca, C., Lacerda, L. G., ... & Schnitzler, E. (2019). Aqueous extraction of organic amaranth starch and their by-products. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 138(4), 2733-2749.
- Betschart, A. A., Irving, D. W., Shepherd, A. D., Wheeler, E. L., & Saunders, R. M. (1979). Nutritional studies on *Amaranthus hypochondriacus* y its milling fractions. En *Proceedings of the Second Amaranth Conference*. Rodale Press Inc., Emaus, PA (pp. 59-65).
- Bhargava, A., Shukla, S., & Ohri, D. (2006). *Chenopodium quinoa*—an Indian perspective. *Industrial crops and products*, 23(1), 73-87.
- Bhathal, S. K., Kaur, N., & Gill, J. (2017). Effect of processing on the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Agric. Res. J*, 54, 90-93.
- Bigne, F., Puppo, M. C., & Ferrero, C. (2016). Rheological and microstructure characterization of composite dough with wheat and mesquite (*Prosopis* spp) flours. *International Journal of Food Properties*, 19(2), 243–256.
- Bojnanská, T., & Smitalová, J. (2014). Impact of amaranth (*amaranth* sp.) on technological quality of bakery products during frozen storage. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3, 187-189.



- Borges, J., Bonomo, R., De Paula, C. D., Oliveira, L., & Cesário, M. (2010). Características físico-químicas, nutricionais e formas de consumo da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Temas agrários*, 15(1), 9-23.
- Bourne, M.C. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Segunda edición. Academic Press, California, Estados Unidos.
- Breene, W. M. (1991). Food uses of grain amaranth. *Cereal foods world*, 36(5), 426-430.
- Brinegar, C., & Goundan, S. (1993). Isolation and characterization of chenopodin, the 11S seed storage protein of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(2), 182-185.
- Buera, M.P., Retriella, C., & Lozano, R.D. (1985). Definition of colour in the non-enzymatic browning. *Die Farbe*, 33: 316-326.
- Bustos, C. R. B., Ramírez, L. F., Duarte, P. D., Guzmán, A. M., & Acero, J. (2015). Quinoa, *Chenopodium quinoa* (Willd.) en Colombia Caracterización de granulos de almidón nativo de quinoa por IR-ATR, MEB, DRX. *Revista de Investigación*, 8(2), 122-131.
- CAA (2022). Código Alimentario Argentino. ALIMENTOS FARINACEOS - CEREALES, HARINAS Y DERIVADOS Tomo I-a. Capítulo IX (Art. 661-Res.167).
- Cai, Y. Z., Corke, H., and Wu, H.X. (2004). Amaranth. En C.W. Wrigley, H. Corke, and C.E. Walker (Eds.), *Encyclopedia of Grain Science*, (Vol. 1, pp 1–10). Elsevier, Oxford.
- Campbell, G.M. (2003). Bread aeration. Capítulo 17 en *Breadmaking Improving Quality*. Editado por Stanley P. Cauvain. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra.
- Campbell, G.M., Fang, C., & Muhamad, I.I. (2007). On predicting roller milling performance VI -Effect of kernel hardness and shape on the particle size distribution from first break milling of wheat. *Food and Bioproducts Processing*, 85 (C1):7-23.
- Carciochi, R. A., Galván-D'Alessandro, L., Vandendriessche, P., & Chollet, S. (2016). Effect of germination and fermentation process on the antioxidant compounds of quinoa seeds. *Plant foods for human nutrition*, 71(4), 361-367.
- Cárdenas, M. (1944). Descripción preliminar de las variedades de *Chenopodium quinoa* de Bolivia. *Revista de Agricultura*. Universidad Mayor San Simón de Cochabamba (Bol.) Vol, 2, 13-26.
- Cauvain, S. P. (1998). Improving the control of staling in frozen bakery products. *Trends in Food Science & Technology*, 9(2), 56-61.

- Cauvain, S.P. (2002). Pan: el producto (Capítulo1); Procesos de panificación (Capítulo 2). En: Fabricación de pan editado por Cauvain, S.P. y Young, L.S. Editorial Acirbia S.A, Zaragoza, España.
- Chandla, N. K., Saxena, D. C., & Singh, S. (2017). Amaranth (*Amaranthus* spp.) starch isolation, characterization, and utilization in development of clear edible films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), e13217.
- Chauhan, A., & Singh, S. (2013). Influence of germination on physicochemical properties of Amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 4(3), 215-220.
- Chlopicka, J., Pasko, P., Gorinstein, S., Jedryas, A., & Zagrodzki, P. (2012). Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads. *LWT-Food Science and Technology*, 46(2), 548-555.
- Choi, H., Kim, W., & Shin, M. (2004). Properties of Korean amaranth starch compared to waxy millet and waxy sorghum starches. *Starch-stärke*, 56(10), 469-477.
- Choque-Quispe, D., Ligarda-Samanez, C. A., Ramos-Pacheco, B. S., Leguía-Damiano, S., Calla-Florez, M., Zamalloa-Puma, L. M., & Colque-Condeña, L. (2021). Phenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Protein Content of Three Varieties of Germinated Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Ingeniería e Investigación*, 41(2).
- Cian, R. E., Garzón, A. G., Ancona, D. B., Guerrero, L. C., & Drago, S. R. (2015). Hydrolyzates from *Pyropia columbina* seaweed have antiplatelet aggregation, antioxidant and ACE I inhibitory peptides which maintain bioactivity after simulated gastrointestinal digestion. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 881-888.
- Cleemput, G., Roels, S.P., Van Oort, M., Grobet, P.J., Delcour, J.A. (1993). Heterogeneity in the structure of water –soluble arabinoxylans in European wheat flours of variable bread-making quality. *Cereal Chemistry* 70: 324-329.
- Cornejo, F., Novillo, G., Villacrés, E., & Rosell, C. M. (2019). Evaluation of the physicochemical and nutritional changes in two amaranth species (*Amaranthus quitensis* and *Amaranthus caudatus*) after germination. *Food Research International*, 121, 933-939.
- Cornish, G.B., Bekes, F., Allen, H.M., Martin, D.J. (2001). Flour proteins linked to quality traits in an Australian doubled haploid wheat population. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52: 1339-1348.

- Coțovanu, I., & Mironeasa, S. (2021). Impact of different amaranth particle sizes addition level on wheat flour dough rheology and bread features. *Foods*, 10(7), 1539.
- Courtis, A. C. (2013). Cátedra de Fisiología Vegetal. *Fisiologia Vegetal*, 1, 1-22.
- Cucinare (2019). Radiografía del argentino que come pan. (23/12/2019). <https://www.cucinare.tv/2019/12/23/radiografia-del-argentino-que-come-pan/>. Consultado en mayo de 2020.
- Cusack, D. F. (1984). Quinoa-grain of the Incas. *Ecologist*, 14(1), 21-31.
- D. L. Nelson and M. M. Cox (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed. (WH Freeman) pp. 601-652.
- D'Amico, S., Schoenlechner, R., Tömöskösi, S., & Langó, B. (2017). Proteins and amino acids of kernels. *Pseudocereals: chemistry and technology*, 94-116.
- Danisova, C., Holotnakova, E., Hozova, B., & Buchtova, V. (1994). Effect of germination on a range of nutrients of selected grains and legumes. *Acta Alimentaria*, 23(3): 287-298.
- Darwish, A. M., Al-Jumayi, H. A., & Elhendy, H. A. (2021). Effect of germination on the nutritional profile of quinoa (*Cheopodium quinoa* Willd.) seeds and its anti-anemic potential in Sprague–Dawley male albino rats. *Cereal Chemistry*, 98(2), 315-327.
- De León, C. P., Esperanza, M., & Cruz, M. (2013). Utilidad en la alimentación de algunas semillas germinadas: brotes de soja y trigo. *Boletín de La Real Sociedad Española de Historia Natural I Sección Biológica*, 107, 47-55.
- Demir, B., & Bilgiçli, N. (2020). Changes in chemical and anti-nutritional properties of pasta enriched with raw and germinated quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) flours. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3884-3892.
- Dengate, H.N. (1984). Swelling, pasting and gelling of wheat starch. *Advances en Cereal Science and Technology*, 6: 49-82.
- Devi, C. B., Kushwaha, A., & Kumar, A. (2015). Sprouting characteristics and associated changes in nutritional composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Journal of food science and technology*, 52(10), 6821-6827.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, G., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2012). *InfoStat versión 2012*. Grupo InfoStat, FCA. Retrieved from [www.infostat.com.ar](http://www.infostat.com.ar).
- Di Yenno, F., Sigauco, D., Terré, E. (2020). ¿En qué regiones está localizada la producción y comercialización de trigo en Argentina? *Commodities. Informativo Semanal*

- Mercados. <https://www.bcr.com.ar/es/print/pdf/node/77584>. Accedido en enero de 2022.
- Dini, I., Schettino, O., Simioli, T., & Dini, A. (2001). Studies on the constituents of *Chenopodium quinoa* seeds: Isolation and characterization of new triterpene saponins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(2), 741-746.
- Dirección de Industria Alimentaria - S.A.G.P. y A. (2021). Prometedora resurrección del amaranto. [http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/html/18/18\\_07\\_amaranto.htm](http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/html/18/18_07_amaranto.htm). Consultado en Agosto de 2021).
- Dizès, J., & Bonifacio, A. (1992). Estudio en microscopía electrónica de la morfología de los órganos de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) y de la cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) en relación con la resistencia a la sequía.
- Dobraszczyk, B. J., & Morgenstern, M. P. (2003). Rheology and the breadmaking process. *Journal of Cereal Science*, 38(3), 229-245.
- Dogan, A., Siyakus, G., & Severcan, F. (2007). FTIR spectroscopic characterization of irradiated hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Food Chemistry*, 100(3), 1106-1114.
- Doxastakis, G., Zafiriadis, I., Irakli, M., Marlani, H., & Tananaki, C. (2002). Lupin, soya and triticale addition to wheat flour doughs and their effect on rheological properties. *Food Chemistry*, 77(2), 219-227.
- Eliasson, A. C. (Ed.). (2006). Eliasson, A. C., & Gudmundsson, M. (2006). 10 Starch. *Carbohydrates in Food*, 159, 391
- Eliasson, A., & Gudmundsson, M. (1996). Starch: Physicochemical and functional aspects. En: *Carbohydrates in Food*. Editado por Eliasson, A. Marcel Dekker, USA. 431-503.
- Elizalde, A. D. D., Portilla, Y. P., & Chaparro, D. C. (2009). Factores antinutricionales en semillas. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 7(1), 45-54.
- El-Sohaimy, S. A., Shehata, M. G., Mehany, T., & Zeitoun, M. A. (2019). Nutritional, physicochemical, and sensorial evaluation of flat bread supplemented with quinoa flour. *International journal of food science*, 2019.
- Ertaş, N. (2015). Technological and chemical characteristics of breads made with lupin sprouts. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 7(3): 313-319.

- Escudero, N. L., De Arellano, M. L., Luco, J. M., Giménez, M. S., & Mucciarelli, S. I. (2004). Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(1), 15-21.
- Evers, T., & Millar, S. (2002). Cereal grain structure and development: some implications for quality. *Journal of cereal science*, 36(3), 261-284.
- FAO/OMS/UNU (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/OMS/UNU expert consultation. Organización mundial de la salud (OMS)
- Fouad, A. A., & Rehab, F. M. (2015). Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (*Lens culinaris* Medik.) sprouts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(3), 233-246.
- Gallardo, M., González, J. A., & Ponessa, G. (1997). Morfología del fruto y semilla de *Chenopodium quinoa* Willd.(«quinoa») Chenopodiaceae. *Lilloa*, 39(1), 71-80.
- Galwey, N. W., Leakey, C. L. A., Price, K. R., & Fenwick, G. R. (1989). Chemical composition and nutritional characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food sciences and nutrition*, 42(4), 245-261.
- Gamel, T. H., Linssen, J. P., Mesallam, A. S., Damir, A. A., & Shekib, L. A. (2006a). Effect of seed treatments on the chemical composition of two amaranth species: oil, sugars, fibres, minerals and vitamins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 82-89.
- Gamel, T. H., Linssen, J. P., Mesallam, A. S., Damir, A. A., & Shekib, L. A. (2006b). Seed treatments affect functional and antinutritional properties of amaranth flours. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(7), 1095-1102.
- Gamel, T. H., Mesallam, A. S., Damir, A. A., Shekib, L. A., & Linssen, J. P. (2007). Characterization of amaranth seed oils. *Journal of food lipids*, 14(3), 323-334.
- Gamel, TH, Linssen JP, Mesallem AS, Damir AA, Shekib LA. 2005. Effect of seed treatments on the chemical composition and properties of two amaranth species: starch and protein. *J Sci Food Agric* 85:319–27.
- Gan, Z., Ellis P.R., & Schofield J.D. (1995). Mini review: Gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *Journal of Cereal Science*, 21, 215-230.

- García, A. V., Beltrán Sanahuja, A., & Garrigos Selva, M. D. C. (2013). Characterization and classification of almond cultivars by using spectroscopic and thermal techniques. *Journal of food science*, 78(2), C138-C144.
- Ghiasi, K., Hosene, R.C., & Varriano-Marston, E. (1982). Effects of Flour Components and Dough Ingredients on Starch Gelatinization. *Cereal Chemistry*, 60 (1): 58-61.
- Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Weisz, M., & Trakhtenberg, S. (2002). Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 886-891.
- Gray, J. A., & Bemiller, J. N. (2003). Bread staling: molecular basis and control. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(1), 1-21.
- Grosch W., & Wieser H. (1999). Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *Journal of Cereal Science*, 29: 1-16.
- Gross, R., Koch, F., Malaga, I., De Miranda, A. F., Schoeneberger, H., & Trugo, L. C. (1989). Chemical composition and protein quality of some local Andean food sources. *Food Chemistry*, 34(1), 25-34.
- Guardado-Félix, D., Lazo-Vélez, M. A., Pérez-Carrillo, E., Panata-Saquicili, D. E., & Serna-Saldívar, S. O. (2020). Effect of partial replacement of wheat flour with sprouted chickpea flours with or without selenium on physicochemical, sensory, antioxidant and protein quality of yeast-leavened breads. *LWT*, 129, 109517.
- Guillén, M. D., & Cabo, N. (1999). Usefulness of the frequency data of the Fourier transform infrared spectra to evaluate the degree of oxidation of edible oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(2), 709-719.
- Guillén, M. D., & Cabo, N. (2000). Some of the most significant changes in the Fourier transform infrared spectra of edible oils under oxidative conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(14), 2028-2036.
- Gutiérrez-Osnaya, L. J., Hernández-Urbe, J. P., Castro-Rosas, J., Román-Gutiérrez, A. D., Camacho-Díaz, B. H., Palma-Rodríguez, H. M., ... & Guzmán-Ortiz, F. A. (2020). Influence of germination time on the morphological, morphometric, structural, and physicochemical characteristics of Esmeralda and Perla barley starch. *International journal of biological macromolecules*, 149, 262-270.

- Hallén, E., İbanoğlu, Ş., & Ainsworth, P. (2004). Effect of fermented/germinated cowpea flour addition on the rheological and baking properties of wheat flour. *Journal of food engineering*, 63(2), 177-184.
- Hames, B. D. (1998). *Gel electrophoresis of proteins: a practical approach*, Oxford; New York, Oxford University Press.
- Hasperué, J. H., Guardianelli, L., Rodoni, L. M., Chaves, A. R., & Martínez, G. A. (2016). Continuous white–blue LED light exposition delays postharvest senescence of broccoli. *LWT-Food Science and Technology*, 65, 495-502.
- Hassan, B.H., Alhamdan, A.M., & Elansari, A.M. (2005). Stress relaxation of dates at khalal and rutab stages of maturity. *Journal of Food Engineering*, 66: 439-445.
- He, H. P., Cai, Y., Sun, M., & Corke, H. (2002). Extraction and purification of squalene from *Amaranthus* grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(2), 368-372.
- Jacobsen, S. E. (2003). The worldwide potential for quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food reviews international*, 19(1-2), 167-177.
- Jacobsen, S. E., & Stølen, O. (1993). Quinoa-morphology, phenology, and prospects for its production as a new crop in Europe. *European Journal of Agronomy*, 2(1), 19-29.
- James, L. E. A. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Advances in food and nutrition research*, 58, 1-31.
- Jane, J. (2004). Starch: Structure and Properties. Capítulo 7 en *Chemical and functional properties of food saccharides*. Editado por Piotr Tomasik. CRC PRESS LLC. Boca Raton -Washington, D.C. Estados Unidos.
- Janssen, F., Pauly, A., Rombouts, I., Jansens, K. J., Deleu, L. J., & Delcour, J. A. (2017). Proteins of amaranth (*Amaranthus* spp.), buckwheat (*Fagopyrum* spp.), and quinoa (*Chenopodium* spp.): A food science and technology perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 39-58.
- Jayaram, V. B., Cuyvers, S., Lagrain, B., Verstrepen, K. J., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2013). Mapping of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites in fermenting wheat straight-dough reveals succinic acid as pH-determining factor. *Food Chemistry*, 136(2), 301-308.

- Jideani, V. A., & Onwubali, F. C. (2009). Optimisation of wheat-sprouted soybean flour bread using response surface methodology. *African Journal of Biotechnology*, 8(22): 6364-6373.
- Jimenez, M. D., Lobo, M., & Sammán, N. (2019). 12th IFDC 2017 Special Issue—Influence of germination of quinoa (*Chenopodium quinoa*) and amaranth (*Amaranthus*) grains on nutritional and techno-functional properties of their flours. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84, 103290.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412-422.
- Kim, S.K., & D' Appolonia, B.L. (1977). Effect of pentosans on retrogradation of wheat starch gels. *Cereal Chemistry*, 54: 150- 160.
- Kohajdová, Z., Karovičová, J., & Magala, M. (2013). Effect of lentil and bean flours on rheological and baking properties of wheat dough. *Chemical Papers*, 67(4), 398–407.
- Komlenić, D.K, Ugarčić-Hardi, Ž., Jukić, M., Planinić, M., Bucić-Kojić, A., & Strelec, I. (2010). Wheat dough rheology and bread quality effected by *Lactobacillus brevis* preferment, dry sourdough and lactic acid addition. *International Journal of Food Science and Technology*, 45 (7): 1417–1425.
- Kozioł, M. J. (1992). Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of food composition and analysis*, 5(1), 35-68.
- Lamothe, L. M., Srichuwong, S., Reuhs, B. L., & Hamaker, B. R. (2015). Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. *Food chemistry*, 167, 490-496.
- León A.E., & Rosell C.M. (2007). De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. Báez impresiones, primera edición, Argentina pp. 17-71.
- Letang, C., Piau, M., & Verdier, C. (1999). Characterization of wheat flour–water doughs. Part I: Rheometry and microstructure. *Journal of Food Engineering*, 41(2), 121–132.
- Lezcano, E. (2013). Cadena Quinoa y Amaranto. Alimentos Argentinos. Obtenido de [http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/farinaceos/Productos/2014/01Ene\\_quinoaamaranto.pdf](http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/farinaceos/Productos/2014/01Ene_quinoaamaranto.pdf). Consultado en Agosto de 2021.
- Li, C., Oh, S. G., Lee, D. H., Baik, H. W., & Chung, H. J. (2017). Effect of germination on the structures and physicochemical properties of starches from brown rice, oat,



- sorghum, and millet. *International journal of biological macromolecules*, 105, 931-939.
- Li, W., Dobraszczyk, B. J., & Schofield, J. D. (2003). Stress relaxation behavior of wheat dough, gluten, and gluten protein fractions. *Cereal chemistry*, 80(3), 333-338.
- Lindsay M.P., & Skerritt J.H. (1999). The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure-function perspectives. *Trend in Food Science and Technology*, 10: 247-253.
- Londoño Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In *Desarrollo y transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista.
- López, D. N., Galante, M., Robson, M., Boeris, V., & Spelzini, D. (2018). Amaranth, quinoa and chia protein isolates: Physicochemical and structural properties. *International journal of biological macromolecules*, 109, 152-159.
- Lorenz, K. (1981). *Amarantus hypochondriacus*—Characteristics of the starch and baking potential of the flour. *Starch-Stärke*, 33(5), 149-153.
- Lorenz, K., & Coulter, L. (1991). Quinoa flour in baked products. *Plant Foods for Human Nutrition*, 41(3), 213-223.
- Luo, Y. W., & Xie, W. H. (2013). Effect of germination conditions on phytic acid and polyphenols of faba bean sprouts (*Vicia faba* L.). *Legume Research-An International Journal*, 36(6), 489-495.
- Maloney, D.H., & Foy J.J. (2003). Yeast Fermentations. Capítulo 3 en *Handbook of Dough Fermentations* editado por Kulp, K. y Lorenz, K. Marcel dekker, inc. Nueva York, Estados Unidos.
- Marcone, M. F. (1999). Possible nutritional implications of varietal influence on the 7S/11S seed globulin ratios in amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition*, 54(4), 375-380.
- Marcone, M. F. (2001). Starch properties of *Amaranthus pumilus* (seabeach amaranth): a threatened plant species with potential benefits for the breeding/amelioration of present *Amaranthus* cultivars. *Food chemistry*, 73(1), 61-66.
- Martinez, C. S., Ribotta, P. D., Añón, M. C., & León, A. E. (2014). Effect of amaranth flour (*Amaranthus mantegazzianus*) on the technological and sensory quality of bread wheat pasta. *Food Science and Technology International*, 20(2), 127-135.

- Martínez, E. N., & Añón, M. C. (1996). Composition and structural characterization of amaranth protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2523-2530.
- Melgarejo, L. M., Hernández, S., Barrera, J., Solarte, M. E., Suárez, D., Pérez, L. V., ... & Pérez, W. (2010). Experimentos en fisiología vegetal. Departamento de Biología. *Biología y germinación de semillas*, 13-25.
- Menegassi, B., Pilosof, A. M., & Arêas, J. A. (2011). Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L.–BRS Alegria) flour. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1915-1921.
- Michael, J. G. (2009). The wheat crop. En: Shewry, P. and Kahn, C. (eds) *Wheat: Chemistry and Technology* (4th edn). St Paul, MN: AACC International, Inc., 19–49.
- Millar, K. A., Barry-Ryan, C., Burke, R., McCarthy, S., & Gallagher, E. (2019). Dough properties and baking characteristics of white bread, as affected by addition of raw, germinated and toasted pea flour. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 56, 102189.
- Miller, R.A., Graf, E., & Hosney, C. (1994). Leavened Dough pH Determination by an Improved Method. *Journal of Food Science*, 58 (5): 1086-1087.
- Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T. O. R. S. T. E. N., Bourlieu, C., ... & Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, 5(6), 1113-1124.
- Miranda-Ramos, K. C., Sanz-Ponce, N., & Haros, C. M. (2019). Evaluation of technological and nutritional quality of bread enriched with amaranth flour. *LWT*, 114, 108418.
- Miś, A., Grundas, S., Dziki, D., & Laskowski, J. (2012). Use of farinograph measurements for predicting extensograph traits of bread dough enriched with carob fibre and oat wholemeal. *Journal of Food Engineering*, 108(1), 1-12.
- Mohammed, I., Ahmed, A. R., & Senge, B. (2012). Dough rheology and bread quality of wheat–chickpea flour blends. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 196–202.
- Monroy, Y., Rivero, S., & García, M. A. (2018). Microstructural and techno-functional properties of cassava starch modified by ultrasound. *Ultrasonics sonochemistry*, 42, 795-804.

- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63.
- Mota, C., Santos, M., Mauro, R., Samman, N., Matos, A. S., Torres, D., & Castanheira, I. (2016a). Protein content and amino acids profile of pseudocereals. *Food chemistry*, 193, 55-61.
- Mota, C., Nascimento, A. C., Santos, M., Delgado, I., Coelho, I., Rego, A., ... & Castanheira, I. (2016b). The effect of cooking methods on the mineral content of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus* sp.) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 57-64.
- Mujica, A. (1992). Granos y leguminosas andinas. En *Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492*. Ed. Hernández Bermejo J. E. y León J. pp 129-146.
- Mujica, A., Jacobsen, S., Izquierdo, J., & Marathee, J. (Eds) (2001). *Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.): ancestral cultivo andino, alimento del presente y del futuro*. Santiago: FAO.
- Muntz, K. (1996). Proteases and proteolytic cleavage of storage proteins in developing and germinating dicotyledonous seeds. *Journal of Experimental Botany*, 47(298): 605-622.
- Murugkar, D. A. (2014). Effect of sprouting of soybean on the chemical composition and quality of soymilk and tofu. *Journal of food science and technology*, 51(5), 915-921.
- Nelson, K., Stojanovska, L., Vasiljevic, T., & Mathai, M. (2013). Germinated grains: a superior whole grain functional food?. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91(6), 429-441.
- Ng, S. C., Anderson, A., Coker, J., & Ondrus, M. (2007). Characterization of lipid oxidation products in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Chemistry*, 101(1), 185-192.
- Osborne, T.B. (1924). *The Vegetable Proteins*. Logmans, Green and Company. Londres.
- Ouazib, M., Dura, A., Zaidi, F., & Rosell, C. M. (2016). Effect of partial substitution of wheat flour by processed (germinated, toasted, cooked) chickpea on bread quality.
- Padmashree, A., Negi, N., Handu, S., Khan, M. A., Semwal, A. D., & Sharma, G. K. (2018). Effect of germination on nutritional, antinutritional and rheological characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Defence Life Sci. J*, 4, 55-60.

- Pagand, J., Heirbaut, P., Pierre, A., & Pareyt, B. (2017). The magic and challenges of sprouted grains. *Cereal Foods World*, 62(5), 221-226.
- Paredes-Lopez, O., & Mora-Escobedo, R. (1989). Germination of amaranth seeds: effects on nutrient composition and color. *Journal of food science*, 54(3), 761-762.
- Park, S. H., & Morita, N. (2007). Changes of bound lipids and composition of fatty acids in germination of quinoa seeds. *Food science and technology research*, 10(3), 303-306.
- Park, S. H., Maeda, T., & Morita, N. (2005). Effect of whole quinoa flours and lipase on the chemical, rheological and breadmaking characteristics of wheat flour. *Journal of Applied Glycoscience*, 52(4), 337-343.
- Pateras I. (1998). Bread Spoilage and Staling. En: *Technology of Breadmaking*. Eds S P Cauvain and L S Young, London, Blackie Academic & Professional, 240–261.
- Perales-Sánchez, J. X., Reyes-Moreno, C., Gómez-Favela, M. A., Milán-Carrillo, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Valdez-Ortiz, A., & Gutiérrez-Dorado, R. (2014). Increasing the antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents by optimizing the germination conditions of amaranth seeds. *Plant foods for human nutrition*, 69(3), 196-202.
- Pogna, N. E., Redaelli, R., Dachkevitch, T., Curioni, A., & Peruffo, A. D. B. (1994). Genetics of wheat quality and its improvement by conventional and biotechnological breeding. In *Wheat* (pp. 205-224). Springer, Boston, MA.
- Prakash, D., & Pal, M. (1998). Chenopodium: seed protein, fractionation and amino acid composition. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 49(4), 271-275.
- Prego, I., Maldonado, S., & Otegui, M. (1998). Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany*, 82(4), 481-488.
- Qazi, I. M., Wahab, S., Shad, A. A., Zeb, A., & Ayuab, M. (2003). Effect of Different Fermentation Time and Baking on Phytic Acid. *Asian journal of plant sciences*, 2(8), 597-601.
- Quiroga, A. V., Martínez, E. N., & Añón, M. C. (2007). Amaranth globulin polypeptide heterogeneity. *The protein journal*, 26(5), 327-333.
- Quiroga, A., Martínez, E. N., Rogniaux, H., Geairon, A., & Añón, M. C. (2009). Globulin-p and 11S-globulin from *amaranthus Hypochondriacus*: are two isoforms of the 11S-globulin. *The protein journal*, 28(9), 457-467.

- Radosavljevic, M., Jane, J., & Johnson, L. A. (1998). Isolation of amaranth starch by diluted alkaline-protease treatment. *Cereal Chemistry*, 75(2), 212-216.
- Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., Glaser, B. K., Lorenz, K. J., & Johnson, D. L. (1993). Composition and protein nutritional quality of quinoa. *Cereal chemistry*, 70, 303-303.
- Repo-Carrasco, R., Espinoza, C., & Jacobsen, S. E. (2003). Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*). *Food reviews international*, 19(1-2), 179-189.
- Roa, D. F., Santagapita, P. R., Buera, M. P., & Tolaba, M. P. (2014). Amaranth milling strategies and fraction characterization by FT-IR. *Food and Bioprocess Technology*, 7(3), 711-718.
- Rodríguez Sandoval, E., Lascano, A., & Sandoval, G. (2012). Influencia de la sustitución parcial de la harina de trigo por harina de quinoa y papa en las propiedades termomecánicas y de panificación de masas.
- Rodriguez-Sandoval, E., Fernandez-Quintero, A., & Cuvelier, G. (2009). Stress relaxation of reconstituted cassava dough. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 202–206.
- Rojas, J. A., Rosell, C. M., De Barber, C. B., Pérez-Munuera, I., & Lluch, M. A. (2000). The baking process of wheat rolls followed by cryo scanning electron microscopy. *European Food Research and Technology*, 212(1), 57-63.
- Rojas, W. (2003). Multivariate analysis of genetic diversity of Bolivian quinoa germplasm. *Food Reviews International*, 19(1-2), 9-23.
- Rosales-Juárez, M., González-Mendoza, B., López-Guel, E. C., Lozano-Bautista, F., Chanona-Pérez, J., Gutiérrez-López, G.,... & Calderón-Domínguez, G. (2008). Changes on dough rheological characteristics and bread quality as a result of the addition of germinated and non-germinated soybean flour. *Food and Bioprocess Technology*, 1(2), 152-160.
- Rosell, C. M., Cortez, G., & Repo-Carrasco, R. (2009). Breadmaking use of andean crops quinoa, kañiwa, kiwicha, and tarwi. *Cereal chemistry*, 86(4), 386-392.
- Ruales, J., & Nair, B. M. (1992). Nutritional quality of the protein in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*, 42(1), 1-11.
- Russell, P.L. (1983). A kinetic study of bread staling by differential scanning calorimetry and compressibility measurements. The effects of added monoglyceride. *Journal of Cereal Science*, 1(4) 297–303.

- Sabanis, D., & Tzia, C. (2009). Effect of rice, corn and soy flour addition on characteristics of bread produced from different wheat cultivars. *Food and Bioprocess Technology* 2(1): 68–79.
- Sadowska, J., Błaszczak, W., Fornal, J., Vidal-Valverde, C., & Frias, J. (2003). Changes of wheat dough and bread quality and structure as a result of germinated pea flour addition. *European Food Research and Technology*, 216(1), 46-50.
- Salcedo Mendoza, J. G., Figueroa Flórez, J. A., & Hernández Ramos, E. J. (2017). *Agroindustria de productos amiláceos III. El almidón.*
- Salinas, M V, & Puppo, M. C. (2014). Rheological properties of bread dough formulated with wheat flour–organic calcium salts–FOS-enriched inulin systems. *Food and Bioprocess Technology*, 7(6), 1618–1628.
- Salinas, M. V., Carbas, B., Brites, C., & Puppo, M. C. (2015). Influence of different carob fruit flours (*Ceratonia siliqua* L.) on wheat dough performance and bread quality. *Food and Bioprocess Technology*, 8(7), 1561–1570.
- Salinas, M. V., Zuleta, A., Ronayne, P., & Puppo, M. C. (2012). Wheat flour enriched with calcium and inulin: a study of hydration and rheological properties of dough. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 3129–3141.
- Sandoval, E. R., Quintero, A. F., & Aponte, A. A. (2005). Reología y textura de masas: Aplicaciones en trigo y maíz. *Ingeniería e Investigación*, 25(1), 72-78.
- Sandoval-Sicairos, E. S., Domínguez-Rodríguez, M., Montoya-Rodríguez, A., Milán-Noris, A. K., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2020). Phytochemical compounds and antioxidant activity modified by germination and hydrolysis in Mexican amaranth. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(2), 192-199.
- Sandoval-Sicairos, E. S., Milán-Noris, A. K., Luna-Vital, D. A., Milán-Carrillo, J., & Montoya-Rodríguez, A. (2021). Anti-inflammatory and antioxidant effects of peptides released from germinated amaranth during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 343, 128394.
- Sanz-Penella, J. M., Wronkowska, M., Soral-Smietana, M., & Haros, M. (2013). Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value. *LWT-Food science and technology*, 50(2), 679-685.
- Saunders, R. M., & Becker, R. (1983). *Amaranthus: a potential food and feed resource.* *Amaranthus: a potential food and feed resource.* En: Pomeranz, Y. (editor), *Advances*

- in *Cereal Science y Technology*, Vol VI. American Association of Cereal Chemists, Inc., St Paul, pág. 357-396.
- Schlick, G., & Bubenheim, D. L. (1996). Quinoa: candidate crop for NASA's controlled ecological life support systems. *Progress in new crops*, 632-640.
- Scilingo, A. A., Ortiz, S. E. M., Martínez, E. N., & Añón, M. C. (2002). Amaranth protein isolates modified by hydrolytic and thermal treatments. Relationship between structure and solubility. *Food Research International*, 35(9), 855-862.
- Segura-Nieto, M., Vazquez-Sanchez, N., Rubio-Velazquez, H., Olguin-Martinez, L. E., Rodriguez-Nester, C. E., & Herrera-Estrella, L. (1992). Characterization of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) seed proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9), 1553-1558.
- Shewry, P. (2019). What is gluten—Why is it special? *Frontiers in nutrition*, 6, 101.
- Shewry, P. R. (2009). Wheat. *Journal of experimental botany*, 60(6), 1537-1553.
- Shewry, P.R., Popineau, Y., Lafiandra, D., Belton, P. (2001). Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the Eurowheat Project. *Trend in Food Science and Technology*, 11: 433-441.
- Shittu, T. A., Dixon, A., Awonorin, S. O., Sanni, L. O., & Maziya-Dixon, B. (2008). Bread from composite cassava–wheat flour. II: Effect of cassava genotype and nitrogen fertilizer on bread quality. *Food Research International*, 41(6), 569-578.
- Shittu, T.A., Raji, A.O., & Sanni, L.O. (2007). Bread from composite cassava-wheat flour. I. Effect of baking time and temperature in some physical properties of bread loaf. *Food Research International*, 40: 280-290.
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56(8), 365-379.
- Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (1988). Composition of the seeds of some *Amaranthus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 42(4), 325-331.
- Sokrab, A. M., Ahmed, I. A. M., & Babiker, E. E. (2012). Effect of germination on antinutritional factors, total, and extractable minerals of high and low phytate corn (*Zea mays* L.) genotypes. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(2), 123-128.

- Spehar, C. R. (2006). Adaptação da quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) para incrementar a diversidade agrícola e alimentar no Brasil. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, 23(1), 41-62.
- Statista (2021). Principales productores de trigo en el mundo. <https://es.statista.com/estadisticas/634805/principales-paises-productores-de-trigo-en-el-mundo/>. Consultado en Agosto de 2021.
- Steffe, J.F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Segunda edición. East Lansing: Freeman Press.
- Steffolani, M. E., León, A. E., & Pérez, G. T. (2013). Study of the physicochemical and functional characterization of quinoa and kañiwa starches. *Starch-Stärke*, 65(11-12), 976-983.
- Stikic, R., Glamoclija, D., Demin, M., Vucelic-Radovic, B., Jovanovic, Z., Milojkovic-Opsenica, D., ... & Milovanovic, M. (2012). Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of cereal science*, 55(2), 132-138.
- Suárez-Estrella, D., Cardone, G., Buratti, S., Pagani, M. A., & Marti, A. (2020). Sprouting as a pre-processing for producing quinoa-enriched bread. *Journal of Cereal Science*, 96, 103111.
- Suresh, S., Karthikeyan, S., & Jayamoorthy, K. (2016). FTIR and multivariate analysis to study the effect of bulk and nano copper oxide on peanut plant leaves. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 1(3), 343-350.
- Tatham, A. (1995). The structures of wheat protein. En: *Wheat Structure. Biochemistry and Funcctionality*. Editado por Schofield, J. Royal society of Chemistry, England. pp. 53-63.
- Tatham, A.S., Mifflin, B.J., Shewry, P.R. (1985). The beta-turn conformation in wheat gluten proteins: Relationship to gluten elasticity. *Cereal Chemistry*, 62: 405-412.
- Teutonico, R. A., & Knorr, D. (1985). Amaranth: Composition, properties, and applications of a rediscovered food crop. *Food technology (Chicago)*, 39(4), 49-61.
- Theodoulou, F. L., & Eastmond, P. J. (2012). Seed storage oil catabolism: a story of give and take. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(3): 322-328.
- Tömösközi, S., GyeNGe, L., PeLCéder, Á., AboNyi, T., & Lásztity, R. (2011). The effects of flour and protein preparations from amaranth and quinoa seeds on the rheological



- properties of wheat-flour dough and bread crumb. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 109-116.
- Tosi, E. A., Ré, E., Lucero, H., & Masciarelli, R. (2001). Dietary fiber obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain by differential milling. *Food Chemistry*, 73(4), 441-443.
- Uriyapongson, J., & Rayas-Duarte, P. (1994). Comparison of yield and properties of amaranth starches using wet and dry-wet milling processes. *Cereal Chemistry*, 71(6), 571-577.
- Valencia, Ulf Svanberg, Ann-Sofie Sandberg, Jenny Ruales, S. (1999). Processing of quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd): effects on *in vitro* iron availability and phytate hydrolysis. *International journal of food sciences and nutrition*, 50(3), 203-211.
- Vasquez-Lara, F., Verdú Amat, S., Islas, A. R., Barat Baviera, J. M., & Grau Meló, R. (2016). Efecto de la sustitución de harina de trigo con harina de quinoa (*Chenopodium quinoa*) sobre las propiedades reológicas de la masa y texturales del pan. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 17(2), 307-317.
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martínez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), an ancient Andean grain: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2541-2547.
- Venskutonis, P. R., & Kraujalis, P. (2013). Nutritional components of amaranth seeds and vegetables: a review on composition, properties, and uses. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(4), 381-412.
- Verbruggen, N., & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. *Amino acids*, 35(4), 753-759.
- Webb C., & Owens G.W. (2003). Milling and flour quality. Capítulo 10. En *Breadmaking improving Quality*. Editado por Stanley P. Cauvain. Ed. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra.
- Wegerle, N., & Zeller, F. J. (1995). Grain amaranth (*Amaranthus* spp.): cultivation, breeding and properties of an Old Indian plant. *Journal of Agronomy and Crop Science (Germany)*, 174(1), 63-72.
- Wheat Marketing Center. (2004). *Wheat and Flour testing methods: A guide to understanding wheat and flour quality*. Portland, Oregon. Estados Unidos.

- Wieser H. (1996). Relation between gliadin structure and coeliac toxicity. *Acta Paediatrica*, 412: 3-9.
- Wieser H. (2003). The use of redox agent. En: *Bread Making: Improving Quality*. Editado por Cauvain SP. Woodhead Publishing, Cambridge, U.K, 20: 213-240.
- Wieser, H. (2000). Comparative investigations of gluten proteins from different wheat species. I. Qualitative and quantitative composition of gluten protein types. *European Food Research and Technology*, 211(4), 262-268.
- Wieser, H. (2007). Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food microbiology*, 24(2), 115-119.
- Wright, K. H., Pike, O. A., Fairbanks, D. J., & Huber, C. S. (2002). Composition of Atriplex hortensis, sweet and bitter Chenopodium quinoa seeds. *Journal of food science*, 67(4), 1383-1385.
- Wrigley, C., Andrews, J., Bekes, F., Gras, P., Gupta, R., MacRitchie, F., & Skerritt, J. (1998). Protein-protein interactions-essential to dough rheology. En: *Interactions: The Keys to Cereal Quality*. Editado por Hamer R, Hosney R. American Association of Cereal Chemists, USA. pp. 18-20.
- Xing, B., Teng, C., Sun, M., Zhang, Q., Zhou, B., Cui, H., ... & Qin, P. (2021). Effect of germination treatment on the structural and physicochemical properties of quinoa starch. *Food Hydrocolloids*, 115, 106604.
- Xiong, Q., Hu, T., Zhao, S., & Huang, Q. (2015). Texture and flavor characteristics of rice cake fermented by *Brettanomyces custersii* ZSM-001. *Journal of Food Science and Technology*, 52(11), 7113-7122.
- Xu, J., Zhang, H., Guo, X., & Qian, H. (2012). The impact of germination on the characteristics of brown rice flour and starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(2), 380-387.
- Xu, Y. L., Xiong, S. B., & Zhao, S. M. (2007). Effect of cooking technology and chemical components on stress-relaxation property of cooked rice. *Trans CSAE*, 23, 235-240.
- Yadav, N., Roopa, B. S., & Bhattacharya, S. (2006). Viscoelasticity of a simulated polymer and comparison with chickpea flour doughs. *Journal of food process engineering*, 29(3), 234-252.

- Yáñez, E., Zacarías, I., Granger, D., Vásquez, M., & Estevez, A. M. (1994). Chemical and nutritional characterization of amaranthus (*Amaranthus cruentus*). *Archivos latinoamericanos de nutricion*, 44(1), 57-62.
- Yanez, G. A., Messinger, J. K., Walker, C. E., & Rupnow, J. H. (1986). *Amaranthus hypochondriacus*: Starch isolation and partial characterization. *Cereal Chemistry*, 63(3), 273-276.
- Yang, Y., Guan, E., Zhang, T., Li, M., & Bian, K. (2019). Influence of water addition methods on water mobility characterization and rheological properties of wheat flour dough. *Journal of cereal science*, 89, 102791.
- Yaqoob, S., Baba, W. N., Masoodi, F. A., Shafi, M., & Bazaz, R. (2018). Effect of sprouting on cake quality from wheat–barley flour blends. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 1253-1265.
- Yust, M. A. M., Pedroche, J., Girón-Calle, J., Vioque, J., Millán, F., & Alaiz, M. (2004). Determination of tryptophan by high-performance liquid chromatography of alkaline hydrolysates with spectrophotometric detection. *Food Chemistry*, 85, 317-320.