



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Centro de Investigación y Desarrollo en

Ciencia y Tecnología de los Alimentos

(CIDCA-UNLP)

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE  
LAS DISTINTAS FRACCIONES DE MOLIENDA  
DE TRIGO MEZCLA**

Tesis de Maestría

**Calderón Idrobo Alberto Paul**

Directora

Dra. Cristina Ferrero

Codirectora

Dra. María Cecilia Puppo

**Año 2024**

---

El presente trabajo de tesis **“CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE LAS DISTINTAS FRACCIONES DE MOLIENDA DE TRIGO MEZCLA”** se realizó para optar por el título de Magister en Tecnología e Higiene de los Alimentos de la Universidad Nacional de la Plata. Fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de los Alimentos de la Universidad Nacional de La Plata (CIDCA-UNLP-CONICET) bajo la dirección de la Dra. Cristina Ferrero y la codirección de la Dra. María Cecilia Puppo.

---

## **Agradecimientos**

Quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. Cristina Ferrero quien aportó en forma significativa con sus conocimientos, experiencia, dedicación, compromiso, comprensión y voluntad inquebrantable cualidades que permitieron alcanzar el correcto desarrollo del presente trabajo. Por lo cual quiero expresar mi gratitud por su inmenso apoyo durante este viaje. Mi más profundo agradecimiento a la Dra. Cecilia Pupo codirectora del presente trabajo por su apoyo.

Un reconocimiento y agradecimiento al Molino Campodónico por facilitarme las fracciones de molienda que permitieron el desarrollo de la parte experimental de esta tesis así como la utilización de sus instalaciones en donde se desarrollaron algunas determinaciones analíticas; un profundo agradecimiento al Lic. Miguel Cardós y la Ing. Leda Campaña quienes colaboraron en el desarrollo y análisis de la parte experimental del presente trabajo.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos CIDCA, a sus autoridades y profesionales quienes me acogieron y ayudaron con sus conocimientos y camaradería, un especial agradecimiento a Aldo Campana quien colaboró activamente en las mediciones de HPLC de las fracciones y a Leonardo Sechi por toda su ayuda en la parte administrativa.

Un agradecimiento con el corazón a mi esposa Ximena a mis hijos Daniela y Sebastián quienes me apoyaron en cada etapa con cariño amor y aliento convirtiéndose en un motor para el desarrollo de esta tesis. A mis papas Carlos y Gioconda por su apoyo y ejemplo de superación y dedicación que impulsaron a seguir en los momentos difíciles y a mi hermano David por siempre estar.

Un agradecimiento a la República Argentina por acogernos en este viaje con el cariño de su gente.

---

## Resumen

El pan es un alimento básico elaborado generalmente con harina de trigo, amasado con agua. El agua puede llegar a representar hasta un 30% (p/p) del producto final y la materia grasa, de origen animal y/o vegetal, del 0 al 4,5 % (p/p). La harina de trigo está presente entre un 55 al 90% (p/p) según los distintos panificados, esta harina es rica en proteínas (gliadinas y gluteninas), que cuando se hidratan y se someten a trabajo mecánico, son capaces de formar una red viscoelástica, el gluten. Esta propiedad resulta muy importante para obtener una textura esponjosa del pan.

En el grano de trigo se puede diferenciar las siguientes partes en base seca: 82% (p/p) de endospermo, mayoritariamente compuesto de almidón y proteínas, 15% (p/p) de pericarpio (principal constituyente del salvado), mayormente compuesto por fibra insoluble, y 3% (p/p) de germen, con gran contenido de aceite y enzimas.

El proceso de molienda de trigo es un proceso complejo que implica diferentes pasajes. Estos pasajes están diseñados para optimizar la calidad del producto final, normalmente harinas refinadas, tipo 000 (H3) o 0000 (H4). El conocimiento de las características fisicoquímicas de cada fracción de molienda permite optimizar el proceso para mejorar el rendimiento y calidad de las mismas.

El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar las propiedades físicas, químicas y funcionales de las distintas fracciones del proceso de molienda del trigo, para lo cual se utilizaron 22 fracciones correspondientes a los pasajes por cilindros acanalados -Roturas (R)-, Sasores (S) y cilindros lisos -Primeros Lisos (PL), Últimos Lisos (UL) y 4 productos (harinas H3 y H4, sémola y semolín). Estas fracciones fueron obtenidas de un proceso de molienda de trigo de rutina realizado por el Molino Campodónico (La Plata).

A cada una de las fracciones mencionadas anteriormente se le determinó: porcentaje de humedad, contenido proteico, contenido de gluten (húmedo y seco), cenizas, tamaño de partícula, absorción de agua farinográfica, índice de retención de aguas alcalinas (IRAA), temperatura (T) y entalpía ( $\Delta H$ ) de gelatinización de almidón. La calidad proteica se analizó por HPLC y SDS-PAGE. La caracterización reológica se obtuvo de medidas farinográficas (tiempo de desarrollo, estabilidad, aflojamiento) y alveográficas (P, L, P/L, W).

Las muestras con mayor contenido de tegumentos (provenientes de cilindros de Roturas y de Sasores) presentaron mayor contenido de cenizas, proteínas y gluten. La fracción de harina PL, que contribuye principalmente a la obtención de H4, presentó la mayor proporción de partículas de tamaño menor a 100  $\mu\text{m}$  (60,6% p/p) con una absorción de

agua elevada (59 ml/100 g harina). Esta harina formó las masas más estables con mayor tiempo de desarrollo (23 min) y resistentes al aflojamiento (3 UB). Asimismo estas masas fueron muy tenaces, medianamente extensibles y presentan una resistencia a la extensión neumática elevada ( $W > 300$ ). La Temperatura y la entalpía de gelatinización de estas masas fue levemente mayor a la obtenida con las demás fracciones. El IRAA de esta harina fue significativamente mayor (81,3% p/p) al observado en las demás muestras. Las diferencias encontradas entre la harina 0000 (PL) y las obtenidas de los UL, R y S, se deberían a la diferente calidad de las proteínas presentes que contribuyen a la formación de una matriz almidón-gluten de características únicas. La harina de los PL tiene una mayor proporción de gluteninas de alta masa molecular (HMW-GT) y una proporción aceptable de gliadinas (GD), ambas proteínas responsables de la calidad del gluten derivando en masas medianamente extensibles y muy elásticas. Estos resultados indican que mediante el conocimiento de la composición y naturaleza de las proteínas presentes en cada fracción es posible ajustar las condiciones de molienda para aumentar el rinde y la calidad para ser utilizada en diversos alimentos a base de trigo.

## INDICE

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. Introducción general.....</b>                            | <b>1</b>  |
| <b>1.1. Importancia de la producción a nivel mundial.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>1.2. Producción de trigo argentino.....</b>                 | <b>3</b>  |
| <b>1.3. Trigo.....</b>   | <b>5</b>  |
| <b>1.3.1. Descripción general.....</b>                         | <b>5</b>  |
| <b>1.3.2. Zonas de cultivo.....</b>                            | <b>5</b>  |
| <b>1.3.3. Requerimientos edafoclimáticos.....</b>              | <b>6</b>  |
| <b>1.3.4. Ciclo vegetativo del trigo.....</b>                  | <b>7</b>  |
| <b>1.3.5. Morfología.....</b>                                  | <b>8</b>  |
| <b>1.3.6. Descripción y estructura del grano de trigo.....</b> | <b>9</b>  |
| <b>1.3.6.1. Pericarpio.....</b>                                | <b>10</b> |
| <b>1.3.6.2. Tegumentos seminales.....</b>                      | <b>11</b> |
| <b>1.3.6.3. Germen o embrión.....</b>                          | <b>11</b> |
| <b>1.3.6.4. Capa de aleurona.....</b>                          | <b>11</b> |
| <b>1.3.6.5. Endospermo almidonoso.....</b>                     | <b>11</b> |
| <b>1.3.7. Composición del grano de trigo.....</b>              | <b>13</b> |
| <b>1.3.7.1. Proteínas.....</b>                                 | <b>13</b> |
| <b>1.3.7.1.1. Proteínas de reserva.....</b>                    | <b>14</b> |
| <b>1.3.7.2. Almidón.....</b>                                   | <b>18</b> |
| <b>1.3.7.3. Polisacáridos no amiláceos (fibra).....</b>        | <b>21</b> |
| <b>1.3.7.4. Lípidos.....</b>                                   | <b>24</b> |
| <b>1.3.7.5. Enzimas.....</b>                                   | <b>24</b> |
| <b>1.3.7.6. Minerales y Vitaminas.....</b>                     | <b>24</b> |
| <b>1.4. Proceso de Molienda.....</b>                           | <b>25</b> |
| <b>1.4.1. Recepción y Control de Calidad del grano.....</b>    | <b>26</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1.4.2. Limpieza y Almacenamiento del grano</b> .....                                   | <b>27</b> |
| <b>1.4.3. Acondicionamiento del grano</b> .....   | <b>28</b> |
| <b>1.4.4. Molienda y Cribado</b> .....  | <b>30</b> |
| <b>1.4.4.1. Proceso de Trituración o Roturas</b> .....                                    | <b>32</b> |
| <b>1.4.4.2. Procesos de selección y/o purificación</b> .....                              | <b>35</b> |
| <b>1.4.4.3. Proceso de Reducción</b> .....  | <b>37</b> |
| <b>2. Hipótesis y Objetivos</b> .....   | <b>39</b> |
| <b>3. Materiales y Métodos</b> .....  | <b>40</b> |
| <b>3.1. Descripción del molino proveedor de las fracciones de molienda</b> .....          | <b>40</b> |
| <b>3.2. Características físico-químicas de las distintas fracciones de molienda</b> ..... | <b>43</b> |
| <b>3.2.1. Determinación del tamaño de partícula</b> .....                                 | <b>43</b> |
| <b>3.2.2. Determinación de humedad</b> .....  | <b>44</b> |
| <b>3.2.3. Determinación de cenizas</b> .....  | <b>44</b> |
| <b>3.2.4. Determinación de almidón dañado</b> .....                                       | <b>44</b> |
| <b>3.2.5. Determinación del contenido de proteína por el método de Kjeldahl</b> .....     | <b>45</b> |
| <b>3.3. Ensayos de calidad panadera sobre las distintas fracciones</b> .....              | <b>46</b> |
| <b>3.3.1. Determinación de gluten húmedo y gluten seco</b> .....                          | <b>46</b> |
| <b>3.3.2. Farinograma (Norma IRAM 15855)</b> .....  | <b>47</b> |
| <b>3.3.3. Alveograma (Norma IRAM 15857)</b> .....   | <b>49</b> |
| <b>3.3.4. Índice de retención de aguas alcalinas (IRAA)</b> .....                         | <b>51</b> |
| <b>3.4. Caracterización de las fracciones proteicas</b> .....                             | <b>51</b> |
| <b>3.4.1. Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)</b> .....                          | <b>51</b> |
| <b>3.4.2. Electroforesis SDS-PAGE</b> .....   | <b>53</b> |
| <b>3.5. Ensayos sobre las masas preparadas con distintas fracciones de molienda</b> ..... | <b>54</b> |
| <b>3.5.1. Calorimetría diferencial de barrido</b> .....                                   | <b>54</b> |
| <b>3.5.2. Análisis de Perfil de Textura</b> .....   | <b>56</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>3.6. Programa estadístico Minitab</b> .....   | <b>58</b> |
| <b>4. Resultados</b> .....   | <b>59</b> |
| <b>4.1. Tamaño de partícula</b> .....  | <b>59</b> |
| <b>4.2. Humedad y Cenizas</b> .....  | <b>62</b> |
| <b>4.3. Contenido de almidón dañado</b> .....  | <b>63</b> |
| <b>4.4. Contenido de Proteínas</b> .....   | <b>65</b> |
| <b>4.5. Gluten húmedo y gluten seco</b> .....  | <b>66</b> |
| <b>4.6. Análisis de las proteínas de las distintas</b><br><b>fracciones de molienda por RP-HPLC y SDS-PAGE</b> ..... | <b>69</b> |
| <b>4.7. Absorción de aguas alcalinas (IRAA)</b> .....  | <b>78</b> |
| <b>4.8 Resultados farinográficos y alveográficos de las distintas fracciones</b> .....                               | <b>79</b> |
| <b>4.9. Análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)</b><br><b>de las distintas fracciones</b> .....       | <b>83</b> |
| <b>4.10 Textura</b> .....  | <b>86</b> |
| <b>4.11. Análisis de componentes principales</b> .....   | <b>89</b> |
| <b>5. Conclusiones</b> .....   | <b>92</b> |
| <b>Referencias</b> .....   | <b>95</b> |

# 1. Introducción General

---

## 1.1. Importancia de la producción a nivel mundial

El trigo (*Triticum spp*) es un cereal que ha acompañado el desarrollo de la civilización, su cultivo va en forma paralela con la historia, esta situación se debe a su funcionalidad para la fabricación de un alimento esencial como es el pan. La definición de Trigo abarca al conjunto de cereales, cultivados o silvestres, que pertenecen al género *triticum*; se trata de plantas anuales de la familia de las gramíneas, ampliamente diseminadas en todo el mundo. En latín la palabra que designa al género significa “quebrado”, “trillado” o “triturado” y hace referencia al proceso de molienda que permite separar el grano de trigo de las cubiertas que lo recubren (<https://es.wikipedia.org/wiki/Triticum>).

Su historia data desde la Edad de Piedra (6700 A.C.) y su cultivo se produce desde aproximadamente los años 5000 A.C. El origen geográfico del trigo se localiza en Medio Oriente, más precisamente en la Mesopotamia, región localizada entre los ríos Tigris y Éufrates; de allí el cultivo se extendió a Egipto, Grecia y Roma para luego llegar al resto de Europa y Asia. La fermentación de la masa fue descubierta por los egipcios quienes fueron asimismo los primeros en hornear panes entre el 3.000 y 2.000 A.C.

En el año 150 A.C., se formaron los primeros gremios de panaderos en Roma. Las panaderías romanas producían una gran variedad de panes, los que eran distribuidos gratuitamente a los pobres en tiempos de necesidad. El tipo de pan que consumía cada individuo estaba relacionado con la clase social a la que pertenecía, es así que los campesinos y esclavos comían pan oscuro, a base de harinas menos refinadas en tanto que las personas con un mayor poder adquisitivo comían panes más claros, elaborados con harinas más finas.

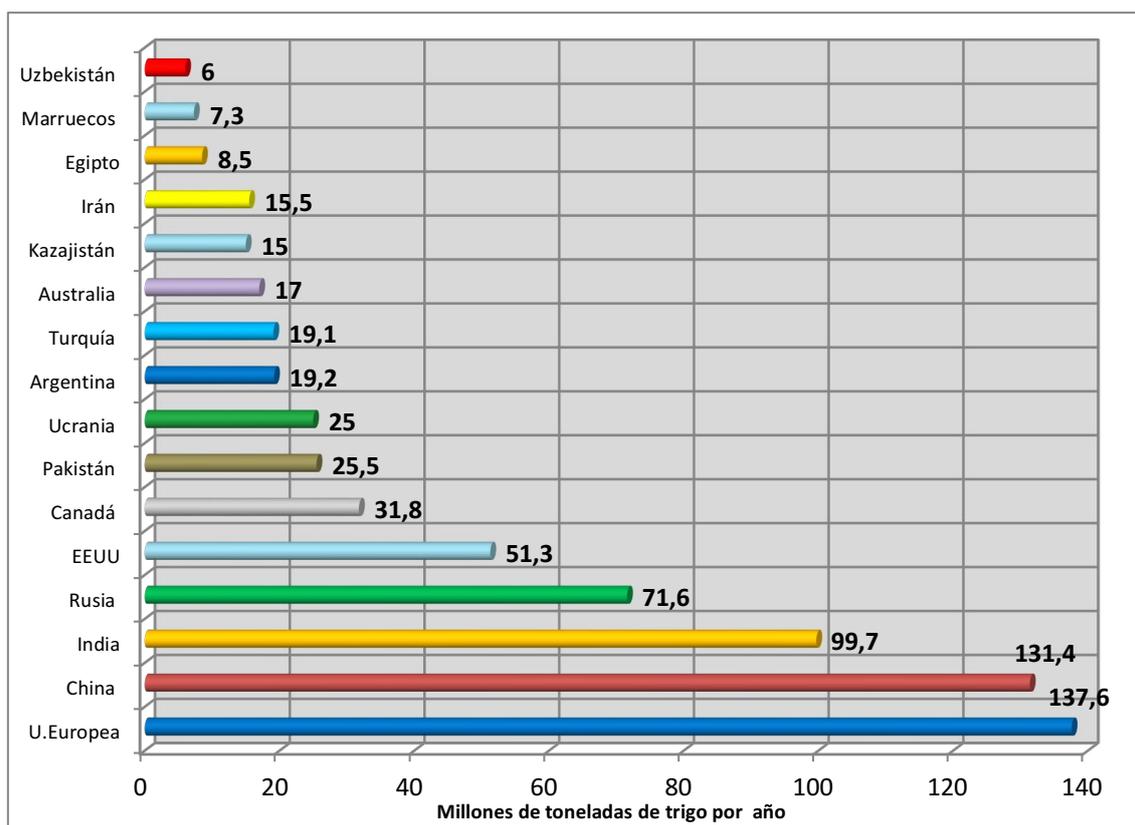
En la Edad Media (1000 – 1500 D.C.) la rotación de cultivos permitía mejores cosechas y se comenzaron a utilizar molinos con energía hidráulica y eólica. El pan se convirtió en un alimento básico para la dieta. La creciente y constante urbanización producida entre los siglos XI y XII llevó a la necesidad de aumentar la capacidad de producción del pan y al surgimiento de las panaderías. En América el trigo fue introducido por la conquista Española, en el siglo XVI.

En los años 1750 – 1850 D.C., la revolución industrial conllevó una migración masiva del campo a la ciudad y la introducción de nuevas tecnologías de producción. Se

necesitaron nuevos métodos de molienda y panificación. Los componentes de piedra para el proceso de molienda fueron remplazados por componentes de acero, permitiendo así la producción de harinas mucho más finas y panes más livianos. La utilización de la energía eléctrica dentro del proceso de molienda permitió el empleo de motores eléctricos que sustituyeron a las aspas de los molinos. Durante el siglo XX se introdujeron molinos automáticos que incrementaron la productividad. La incorporación del cernido (operación que permite separar el salvado de las partículas de la harina) permitió a su vez obtener harinas más blancas. Los molinos en la actualidad presentan una capacidad productiva muy alta, lo que permite obtener harinas en mayor cantidad y de una mayor calidad. Hay que destacar que se hacen más alimentos a base de trigo que con cualquier otro grano de cereal, contribuyendo con un porcentaje de entre 10 y 20% a los requerimientos calóricos diarios de los individuos en alrededor de 60 países. Actualmente existen alrededor de 1000 variedades de panes en el mercado (<http://www.molinosararat.com.ar/>).

En la época actual y de acuerdo al propósito, se utilizan dos especies de trigo bien diferenciadas: trigo común o trigo-pan (*Triticum aestivum*) y trigo duro o trigo-fideo (*Triticum durum*). Las mismas se han obtenido a partir del cruzamiento de tres variedades de granos ancestrales, conocidos como granos antiguos: Espelta (*T. spelta*), Farro (*T. diococcum*) y Escanda (*T. monococcum*) y por cruzamientos con trigos silvestres (Collar, 2007).

En la actualidad el cultivo de trigo está geográficamente muy extendido y en los últimos años se han registrado incrementos importantes. En el periodo comprendido entre el 2018/2019 se han producido aproximadamente 730 millones de toneladas en el mundo. En la Figura 1.1 se muestran los datos comparativos (en millones de toneladas) para los principales países productores durante esa campaña. Se puede observar que los principales productores son: Unión Europea, China, India y Rusia. En el periodo 2018/2019, la Argentina ocupaba la posición 9<sup>a</sup> dentro del listado de países productores, con una producción aproximada de 19 millones de toneladas de trigo (FAO, 2020).



**Figura 1.1.** Datos en millones de toneladas de los principales países productores de trigo, para 2018/2019. (Basado en datos estadísticos de FAO, 2020).

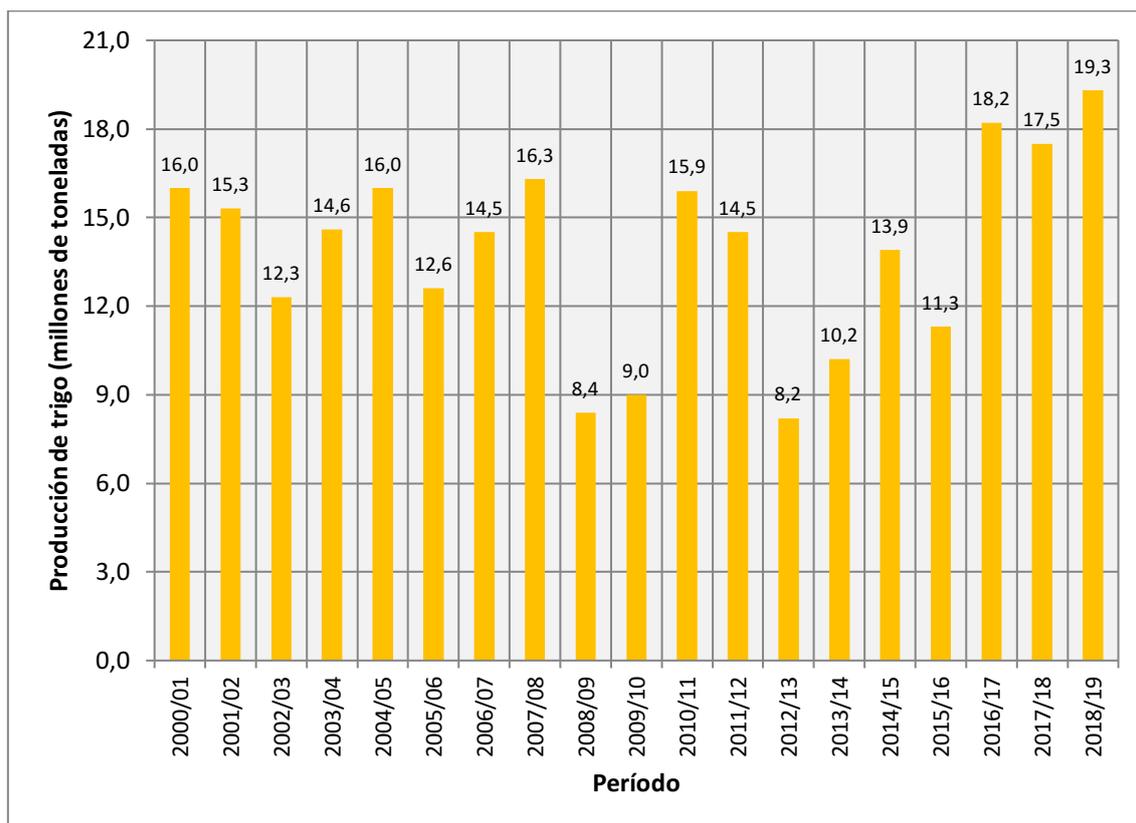
## 1.2. Producción de trigo argentino

La historia del trigo en Argentina comienza en el siglo XVI, cuando el veneciano Sebastián Gaboto llega al Río de la Plata y realiza por primera vez la siembra de trigo a nivel doméstico en el fuerte *Sancti Spiritu*, al margen del río Carcarañá y Coronda, en la provincia de Santa Fe. Sus hombres conocían los procesos de la siembra, la obtención de harina y la producción de pan.

Por muchos años en el territorio argentino se desarrolló la siembra de trigo en forma limitada, hasta que alrededor del año 1850 se produjo una transformación de la producción agropecuaria, lográndose la expansión y desarrollo del mismo. La industria del trigo en Argentina fue creciendo en forma constante, hasta que en 1878, las exportaciones de este grano superaron las importaciones y, a partir de este punto de inflexión la Argentina se convierte en un país exportador. Entre los diversos factores que contribuyeron a la expansión del trigo se cuentan las condiciones climáticas favorables para este cultivo y el constante incremento de consumo interno y externo de este cereal. En la provincia de Buenos Aires la siembra de trigo empieza a finales del siglo XIX,

generándose rápidamente el incremento de la superficie destinada a su producción. En la actualidad sigue siendo la provincia de Buenos Aires la que presenta mayor producción seguida de Córdoba y Santa Fe.

En la Figura 1.2 se puede apreciar la variación en la producción de trigo en Argentina: en el período comprendido entre la campaña 2000/01 a la actualidad, en donde se aprecia un importante aumento en la producción en los últimos años



**Figura. 1.2.** Datos en millones de toneladas de producción de trigo en Argentina (Fuente: Bolsa de Comercio de Rosario, 2010, 2012, 2020).

Del total de trigo cultivado en Argentina, según datos de la Bolsa de Comercio de Rosario en la campaña 18/19 aproximadamente el 58,5% de lo producido fue exportado en forma de grano, siendo los principales destinos: Brasil (46,1 %), Indonesia (17,1%), Argelia (3,2%), Chile (2,9%) y Nigeria (2,5%); el resto de trigo producido es utilizado en procesos de molienda para el consumo interno del país (Calzada y Ramseyer, 2020).

En el 2014 en la Argentina se encontraban instalados y en funcionamiento alrededor de 150 molinos de harina de trigo con diferente capacidad de producción en las principales provincias donde se siembra trigo, las mismas que se encuentran distribuidas de la

siguiente forma: 71 en Buenos Aires; 34 en Córdoba; 22 en Santa Fe y 10 en Entre Ríos, encontrándose los restantes molinos distribuidos en las restantes provincias productoras del país.

El proceso de molienda se realiza en forma permanente durante todo el año, pero en el período comprendido entre mayo y agosto existe un incremento de la producción en aproximadamente un 10% en relación a los meses de verano, lo que se debe a un aumento de la demanda debido a los hábitos alimenticios de la población en los meses de invierno. Los procesos de molienda generan harinas de diferentes características provenientes del endospermo del grano de trigo, que comercialmente han sido tipificadas con los calificativos: cuatro ceros (0000), tres ceros (000), dos ceros (00), cero (0), medio cero (medio 0), Harinilla de primera y Harinilla de acuerdo al Código Alimentario Argentino (Artículo 661 - (Res 167, 26.1.82)). Adicionalmente como subproductos se obtienen el afrechillo, sémola y semolín.

De acuerdo al informe de Paollili y col. (2021), en el período comprendido entre 2014-2018 la molienda promedio fue de 5,8 millones de toneladas y la producción de harina resultó de 4,4 millones de toneladas. De esta producción, más del 85% fue consumido por el mercado interno mientras que el excedente se destinó a exportación. A su vez, las industrias de panificados, artesanal e industrial, absorbieron casi el 70% de la harina destinada al mercado interno, mientras que el 30% restante se derivó a la industria de pastas, la de galletitas y bizcochos y como harina fraccionada para el consumidor final.

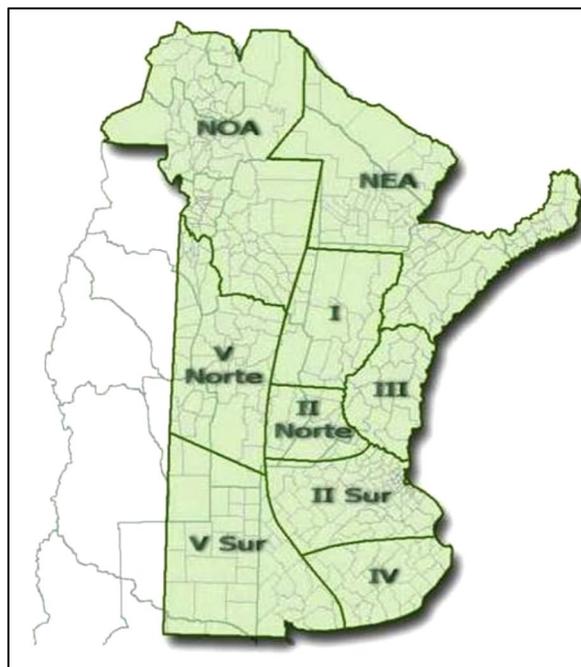
## **1.3. Trigo**

### **1.3.1. Descripción General**

El trigo es una planta gramínea, que se desarrolla en condiciones de clima y suelo bastante variadas, pero principalmente bajo climas templados. La planta presenta un crecimiento promedio de un metro de altura, con tallos muy delgados que en su parte final presentan espigas en las cuales se alojan los granos.

### **1.3.2. Zonas de cultivo**

Las zonas de cultivo de trigo en Argentina se dividen en cinco sub-regiones que se encuentran en la latitud sur entre 30-40° y la longitud oeste entre 57-68° y que se observan en la Figura 1.3. Las condiciones climáticas propias de cada zona se resumen en la Tabla 1.1.



**Figura 1.3.** Mapa donde se pueden observar las subregiones de cultivo de trigo en Argentina (Adaptado de Miralles y col., 2014)

### 1.3.3. Requerimientos edafoclimáticos

El trigo presenta una serie de requerimientos para su desarrollo vegetativo, entre los principales podemos mencionar:

- La temperatura ideal para el crecimiento y desarrollo del cultivo de trigo está entre 10 a 24 °C, dentro de este rango se debe considerar la denominada “integral térmica de la planta” que es la temperatura acumulada diaria de la planta para pasar a la siguiente fase de su desarrollo.
- La hidratación de la planta está muy relacionada con la cantidad de precipitaciones de la zona y del tipo de suelo en el que está sembrada. Así, si se encuentra en un suelo que presenta baja porosidad (con la consecuente acumulación de agua superficial), no serán necesarios periodos de lluvia constante, en tanto que si crece en suelos con alta porosidad es necesario que los periodos de lluvia sean más constantes.
- El trigo requiere suelos profundos y con buena porosidad para un buen desarrollo del sistema radicular.
- Para el cultivo de trigo es preferible disponer de suelos neutros o con ligera basicidad ya que los suelos ácidos no generan un buen desarrollo.

**Tabla 1.1:** Distribución de zonas de mayor cultivo de trigo en Argentina.

| Sub-región | Clima                           | Precipitaciones   | Temperatura media anual (°C) |
|------------|---------------------------------|---|------------------------------|
| I          | Templado cálido                 | Hay exceso de precipitaciones en los meses de octubre a noviembre; se produce frecuentemente sequía hasta el inicio de la primavera | 18,0                         |
| II (norte) | Templado húmedo                 | Las precipitaciones moderadas disminuyen de este a oeste  | 16,0                         |
| II (sur)   | Templado húmedo                 | Las precipitaciones disminuyen de noreste a sureste.  | 16,0                         |
| III        | Templado cálido húmedo          | Precipitaciones anuales abundantes pero no distribuidas totalmente sobre la subregión, lo podría producir sequías invernales.       | 20,0                         |
| IV         | Templado a frío                 | Precipitaciones moderadas   | 13,5                         |
| V (norte)  | Continental semiárido           | Precipitaciones moderadas que disminuyen de este a oeste  | 13,0                         |
| V (sur)    | Continental con inviernos fríos | Precipitación moderada que disminuye de este a oeste  | 15,0                         |

(Adaptado de Ponzio, 2011)

#### 1.3.4. Ciclo vegetativo del trigo

El ciclo del trigo tiene tres periodos: el vegetativo (desde la siembra hasta el encañado), el de reproducción (desde encañado hasta el espigado) y el de maduración (desde el espigado hasta la recolección).

Para su desarrollo, el trigo necesita condiciones adecuadas de humedad, temperatura y oxígeno. Aunque la temperatura óptima se localiza entre los 20 a 25°C, puede germinar en un rango de 4°C a 32°C. La humedad no debe sobrepasar el 11% (p/p), cuando este porcentaje es sobrepasado el periodo de conservación del grano disminuye.

El tallo del trigo crece en forma de una caña con nudos y entrenudos. En la parte inferior del tallo se produce el crecimiento en dos direcciones: hacia abajo dando lugar a raíces adventicias y hacia arriba dando nuevos tallos secundarios llamados "hijos" (se dice

entonces que el trigo "ahija" o "amacolla"). Se denomina "padre" a la planta principal salida del grano, "hijos" a las secundarias y "macolla" al conjunto.

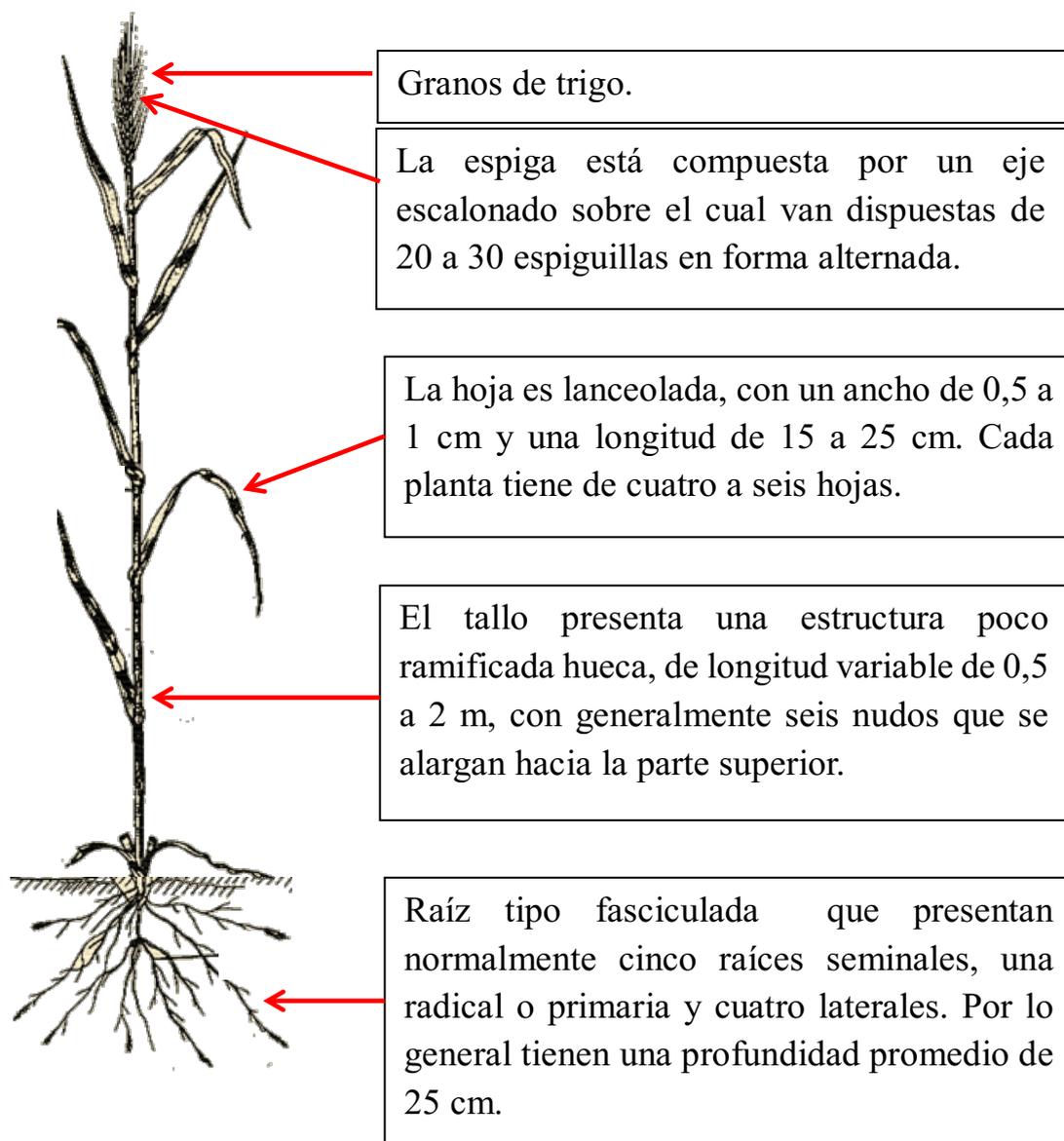
El "encañado" tiene lugar una vez que comienza a elevarse la temperatura ambiental: los nudos pierden la facultad de emitir hijos y comienza el crecimiento del tallo por alargamiento de los entrenudos. La caña sigue alargándose durante el espigado y hasta el final de su madurez, alcanzando longitudes diferentes según el tipo de variedad. Cuanto mayor es la altura, mayor la cantidad de paja generada. Esta fase de encañado produce una gran actividad fisiológica caracterizada por la extracción de elementos nutritivos del suelo, particularmente nitrógeno y agua. Otra de las etapas de crecimiento vegetativo del trigo es el espigado; que involucra la máxima actividad fisiológica, con transpiración y una muy alta extracción de humedad y nutrientes del suelo.

Finalmente la etapa de maduración, periodo que comienza con la denominada "madurez láctea" (cuando las hojas inferiores ya están secas, pero las superiores y el resto de la planta está verde), y continúa con la llamada "maduración pastosa", en la que sólo se mantiene verdes los nudos, adquiriendo el resto de la planta su color típico de trigo seco y el grano, su color definitivo.

A los tres o cuatro días del estado pastoso el trigo alcanza su "madurez completa". Por último llega la "madurez de muerte", en el que toda la paja está dura y quebradiza. La lentitud de "la muerte" del trigo es el principal factor para su buena granazón. Es imprescindible para que esto ocurra que no haya factores climáticos adversos: vientos secos o calor excesivo ya que en este caso no se llena adecuadamente el grano y madura precipitadamente (se "asura") (<https://www.infoagro.com/herbaceos/cereales/trigo.htm>).

### **1.3.5. Morfología**

La planta de trigo está constituida por los siguientes componentes: raíz, tallo, hojas y espigas (Figura 1.4).



**Figura 1.4.** Resumen de la morfología de una planta de trigo (Adaptado de <https://www.canimolt.org>)

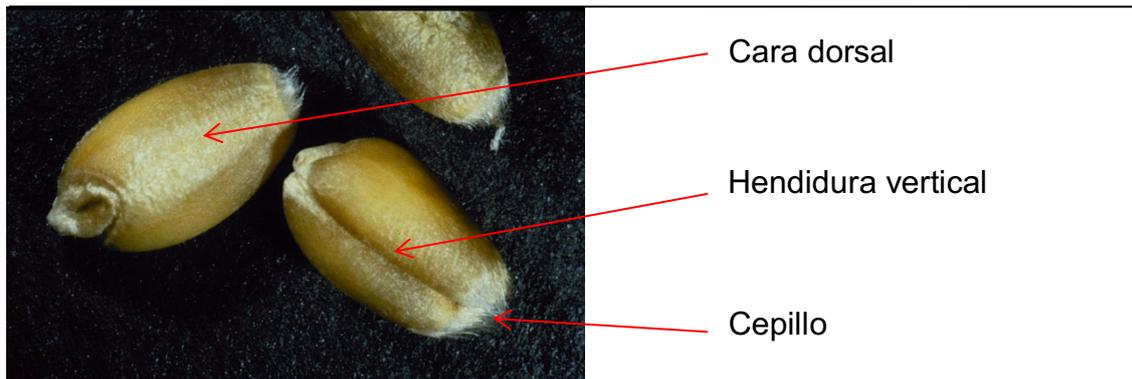
### 1.3.6. Descripción y estructura del grano de trigo

En la espigas se encuentran los granos de trigo (el fruto de la planta), los que presentan una forma redondeada en la parte dorsal, una hendidura longitudinal y un conjunto de pelos o tricomas ubicados en el extremo superior (denominado “cepillo”) (Figura 1.5).

De acuerdo a la variedad de trigo se producirá una variación de tamaño y peso del mismo, pero en promedio el tamaño y el peso son de 8 mm y 35 mg, respectivamente.

La presencia de esta hendidura central en el grano de trigo conduce a una disminución del rendimiento del proceso de molienda ya que dificulta la separación de las cubiertas y el endospermo.

El grano de trigo presenta diferentes partes, con características funcionales específicas: pericarpio, cubierta de la semilla (tegumentos), capa aleurónica, germen o embrión y endospermo.



**Figura 1.5.** Aspectos morfológicos del grano de trigo (Adaptado de <https://www.fundacionfedna.org>)

### 1.3.6.1. Pericarpio

El pericarpio representa entre el 7 al 8% del peso del grano de trigo dependiendo de la variedad. Está compuesto aproximadamente por 7% de proteínas, 3,5% de minerales, 1% de lípidos, 25% de celulosa, 60% de pentosanos. El pericarpio es la capa que cubre a todo el grano de trigo (Figura 1.6) y que lo protege contra el ataque de insectos y microorganismos, contribuye a disminuir la pérdida de humedad del interior y permite el ingreso y distribución de agua y otros nutrientes hacia el interior.

El pericarpio está constituido por tres capas principales: el epicarpio o epidermis (conocido como “*alas de abeja*”) está constituido por células aplanadas y algunas de ellas serán parte del cepillo del grano, el mesocarpio o hipodermis que está constituido por dos o tres capas de células que en una etapa inmadura de la planta contiene cloroplastos que proporcionan el color verde al grano y el endocarpio, que está conformado por dos capas: células transversales y células tubulares (Fennema, 1993).

Si durante el proceso de molienda las condiciones de humedad del grano son adecuadas, se puede separar el pericarpio conjuntamente con los tegumentos y la aleurona, obteniéndose un sub-producto denominado afrecho o salvado. En cambio, si las

condiciones de humedad no son adecuadas, el pericarpio se fraccionara en partículas pequeñas que alterarán la calidad de las harinas producidas (Hoseney, 1991).

#### **1.3.6.2. Tegumentos seminales**

Representan entre el 2 y 3 % del peso del grano y su espesor se encuentra entre los 0,5 a 0,8 mm (Tarabiono, 1979). La parte exterior de las cubiertas seminales se encuentra unida a las células tubulares del pericarpio. Se pueden diferenciar dos capas, la primera se denomina testa y proporciona el color bronce característico al grano de trigo, por la presencia de catequinas, y la segunda, más interna, es el tegmen.

#### **1.3.6.3. Germen o embrión**

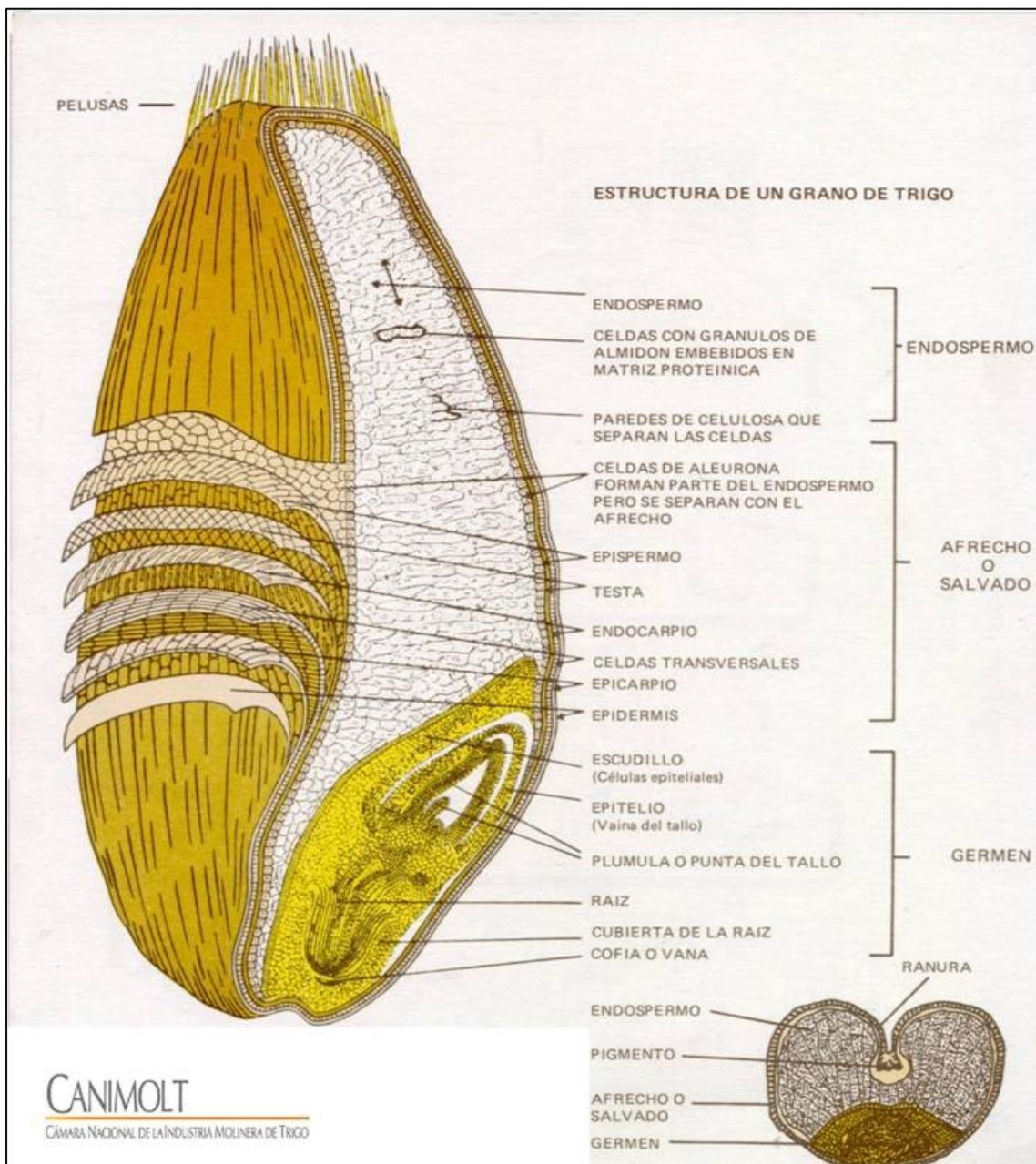
Esta parte del grano será la que dará origen a la nueva planta. Constituye aproximadamente el 3% (p/p) del grano siendo su composición aproximada: 25% de proteínas, 18% de glúcidos (sacarosa y rafinosa), 48 % de aceite y 5 % de cenizas; contiene además una importante cantidad de enzimas, vitaminas B y E, y no contiene almidón. Se pueden diferenciar dos secciones: el eje embrionario (raíz y tallo rudimentario) y el escudillo que es un tejido de almacenamiento. (Gómez Pallares y col., 2007; Pomeranz, 1988). El germen se separa por cribado en la primera etapa de la molienda.

#### **1.3.6.4. Capa de aleurona**

Esta capa de células forma parte del endospermo y representa del 3 al 4 % del peso total de grano. Rodea el endospermo almidonoso (Dupont y Altembach, 2003). Esta capa es rica en minerales y vitaminas, y posee alta actividad enzimática, está constituida por una monocapa de células de forma cúbica que presentan un citoplasma rico en lípidos en el que se encuentran pequeños gránulos formados por proteína soluble en interacción con fosfatos de calcio y magnesio. Durante el proceso de molienda esta capa es extraída en forma conjunta con el pericarpio constituyendo parte del salvado (Figura 1.6).

#### **1.3.6.5. Endospermo almidonoso**

Constituye el 82 % del peso del grano, en él se encuentra el 100% del almidón disponible, está constituido por células de paredes delgadas con diferentes características morfológicas y de composición de acuerdo a su ubicación entre la periferia y el centro. Las células que se encuentran más periféricas son de forma tendiendo a cúbica y presentan un mayor contenido proteico y un menor contenido de almidón, en tanto que las células que se encuentran hacia el centro del endospermo son poliédricas con un mayor contenido de almidón y menor cantidad de proteínas que las periféricas (Figura 1.6).



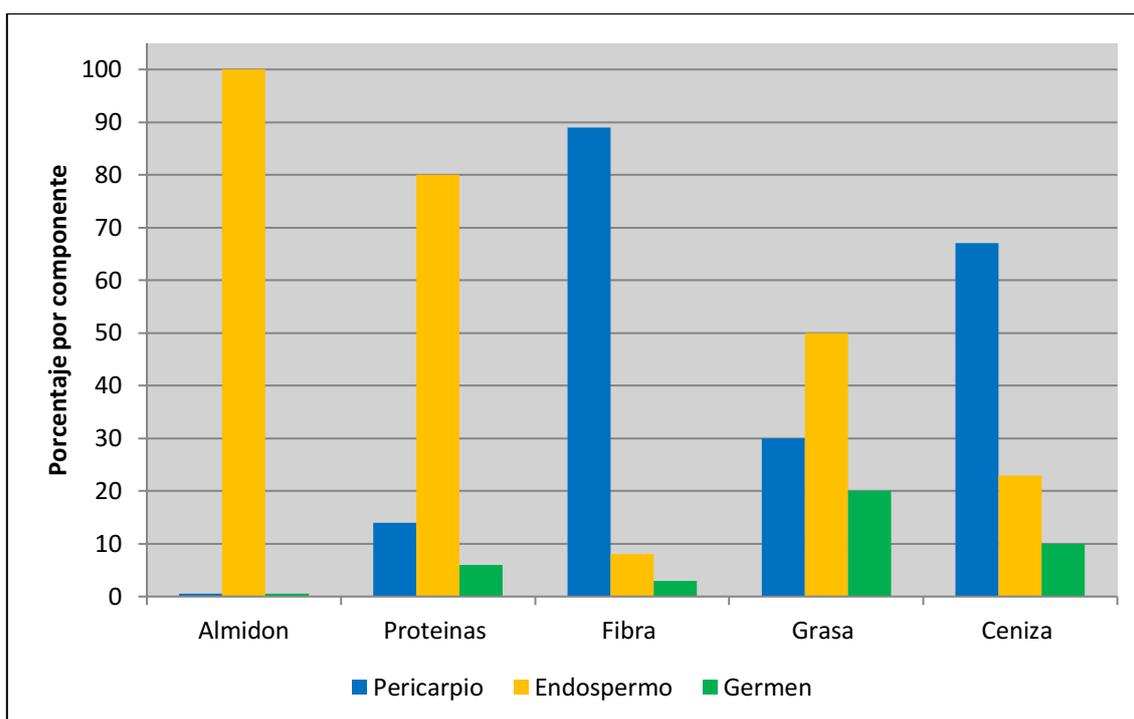
**Figura 1.6.** Estructura del trigo (Fuente: <https://www.canimolt.org>)

De acuerdo a las características de textura del endospermo se lo puede clasificar en duro o blando. Esta propiedad es muy importante ya que indica el trabajo necesario a realizar por el proceso de molienda para convertir el grano en harina; en endospermos duros la separación del pericarpio es más fácil, produciendo mayores rendimientos de molienda y menor contaminación de harinas mientras que para endospermos blandos es necesario aplicar una mayor energía durante el proceso de molienda.

El 85% de las proteínas totales del grano se encuentran en el endospermo en forma de proteínas de reserva (gliadinas y gluteninas).

### 1.3.7. Composición del grano de trigo

El trigo está compuesto por proteínas, almidón, azúcares, fibra, lípidos, minerales pigmentos, enzimas y vitaminas (Kent, 1984), en la Figura 1.7, se puede comparar la composición química de las diferentes partes del grano y su distribución relativa.



**Figura 1.7.** Composición química de los diferentes componentes del grano de trigo (Adaptado de Kent, 1984)

#### 1.3.7.1. Proteínas

Las proteínas en el grano de trigo tradicionalmente han sido clasificadas de acuerdo a su solubilidad en: 1) albúminas (solubles en agua), 2) globulinas (solubles en solución

salina), 3) prolaminas (solubles en alcohol etílico al 70% v/v) y 4) glutelinas (solubles en ácidos o bases) (Osborne, 1924).

Las proteínas pueden ser clasificadas de acuerdo a su funcionalidad en dos grandes grupos: 1) aquellas que no forman gluten (albúminas y globulinas), que se encuentran mayoritariamente en las células de aleurona, salvado y germen y en menor grado en el endospermo y 2) las que con adición agua forman gluten (gliadinas y gluteninas); estas proteínas se encuentran solamente en el endospermo y no en el pericarpio o germen (Gianibelli y col., 2001).

Nutricionalmente las albúminas y globulinas son ricas en los aminoácidos esenciales lisina, triptófano y metionina; lamentablemente al someter al grano al proceso de molienda esta fracción es separada en el salvado, por lo que la harina blanca producida pierde así parte de su calidad nutricional.

#### **1.3.7.1.1. Proteínas de reserva**

Las proteínas con una importancia relevante para la harina son las gliadinas y gluteninas por su capacidad de formar gluten, como se mencionó anteriormente. Este tipo de proteínas constituyen el 85% de las proteínas totales, y se pueden clasificar de acuerdo a la Figura 1.8.

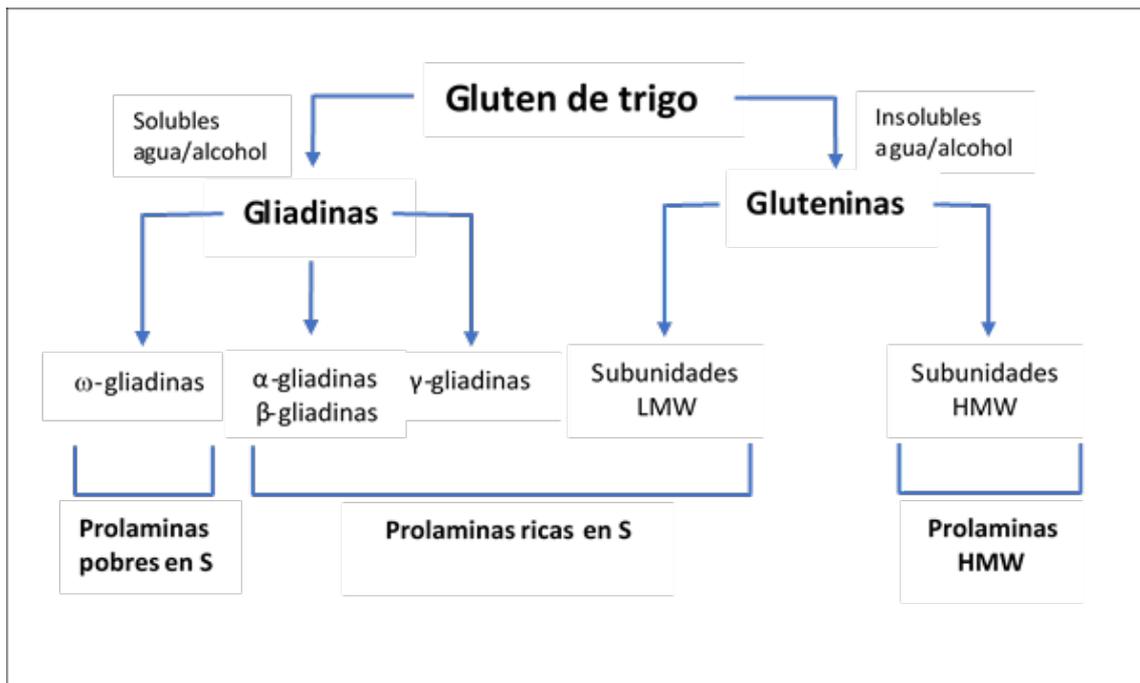
##### **Gliadinas**

Constituyen el 30 % en peso del total de proteínas. Están representadas por un conjunto de polipéptidos de cadena simple con puentes disulfuros que forman uniones intramoleculares por lo que son monoméricas. Sus pesos moleculares varían de 30 a 55 KDa. De acuerdo a su movilidad electroforética se las clasifica en cuatro grupos:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\omega$  gliadinas; se ha podido determinar que las estructuras de las  $\alpha$  y  $\beta$  son muy similares (Shewry, 2003) por lo que ambos grupos se incluyen bajo la denominación de  $\alpha/\beta$  gliadinas

Todas las gliadinas presentan baja cantidad de los aminoácidos arginina, lisina y grupos carboxílicos libres.

Las  $\alpha/\beta$  y  $\gamma$  gliadinas presentan un rango de pesos moleculares similares, que oscila entre 28 y 35 KDa, pero presentan diferencias en el contenido de fenilalanina y triptófano (Bietz y col., 1977). Las gliadinas  $\alpha/\beta$  y  $\gamma$  tienen una mayor concentración de aminoácidos ricos en azufre que las  $\omega$  gliadinas, por lo que pueden formar puentes disulfuro.

Las  $\omega$  gliadinas presentan un mayor peso molecular que los otros tipos de gliadinas, contienen un bajo contenido de aminoácidos ricos en azufre como metionina o cisteína y muy pocos aminoácidos esenciales. Siendo su contenido de azufre muy bajo, no pueden formar puentes disulfuro. Las  $\omega$  gliadinas se caracterizan por tener altas concentraciones de glutamina, prolina, y fenilalanina.



**Fig. 1.8.** Esquema de clasificación de proteínas de reserva de trigo (Adaptado de Shewry y col., 1986).

Estructuralmente las  $\alpha/\beta$  y  $\gamma$  gliadinas presentan dominios N- y C- terminal; los dominios C-terminal para estos dos grupos de gliadinas son homólogos, con secuencias no repetidas y con un menor contenido de glutamina y prolina que el dominio N-terminal. En tanto que para el dominio N- terminal se encuentran diferencias en las secuencias repetitivas entre estos dos grupos de gliadinas (Grosch y Wieser, 1999).

La estructura secundaria para los dominios N-terminal de las  $\alpha/\beta$ ,  $\gamma$  y  $\omega$  gliadinas es la de espiral  $\beta$ , en tanto que el dominio C-terminal presenta un porcentaje alto de estructuras tipo  $\alpha$ -hélice y hoja plegada  $-\beta$ .

Desde un punto de vista tecnológico las gliadinas son las responsables de la viscosidad (capacidad de fluir de la masa) y extensibilidad del gluten, atributos que contribuyen a aumentar el volumen de la hogaza (Faergestad y col., 2004).

## **Gluteninas**

Representan aproximadamente el 40% en peso de las proteínas totales. Se pueden clasificar en subunidades de gluteninas de alto peso molecular HMW-GS (80 a 160 KDa) y subunidades de bajo peso molecular LMW-GS (30 a 51 KDa) (Payne y col., 1980). Las subunidades de alto y bajo peso molecular presentan altos contenidos de azufre, lo que permite la formación de puentes disulfuro intercatenarios con otras subunidades LMW-GS o HMW-GS, generando macropolímeros de más de  $10^6$  Da (Arfvidsson y col., 2004; Wieser, 2007), insolubles en soluciones acuosas.

Las LMW-GS están muy relacionadas a las  $\alpha/\beta$  y  $\gamma$  gliadinas y presentan similitudes en sus pesos moleculares y en su composición de aminoácidos. El dominio N-terminal de las LMW-GS presenta secuencias repetitivas ricas en prolamina y glutamina, en tanto que el dominio C-terminal presenta grupos homólogos con secuencias no repetitivas y con un menor contenido de glutamina y prolina que el dominio N-terminal. De acuerdo a su movilidad electroforética se las puede clasificar en tres grupos D, C y B; las tipo D poseen una estructura muy similar a las  $\omega$ -gliadinas pero con un mayor contenido de azufre, lo que permite la formación de puentes disulfuro.

Las HMW-GS se pueden agrupar a su vez en dos subgrupos (de 3 a 5 subunidades dependiendo de la variedad de trigo): las subunidades tipo *x* (peso molecular 82 a 92 KDa) y las tipo *y* (peso molecular de 60 a 80 KDa) ( Pourmohammadi y col., 2023). La estructura de estas proteínas está conformada por tres dominios: 1) N-terminal, 2) repetitivo central y 3) C-terminal (Shewry y col., 1992). La diferencia fundamental en los grupos tipo *x* y tipo *y* radica en los dominios N-terminal y central.

La capacidad de las HMW-GS para formar puentes disulfuro está dada por la presencia de cisteína que se encuentra en los dominios terminales. El dominio central es repetitivo con configuración tipo espiral  $\beta$ , en tanto que los dominios terminales presentan estructuras globulares con predominio de  $\alpha$ -hélice.

Desde el punto de vista tecnológico, las gluteninas son las responsables de la elasticidad y cohesividad de la masa panadera.

## **Gluten**

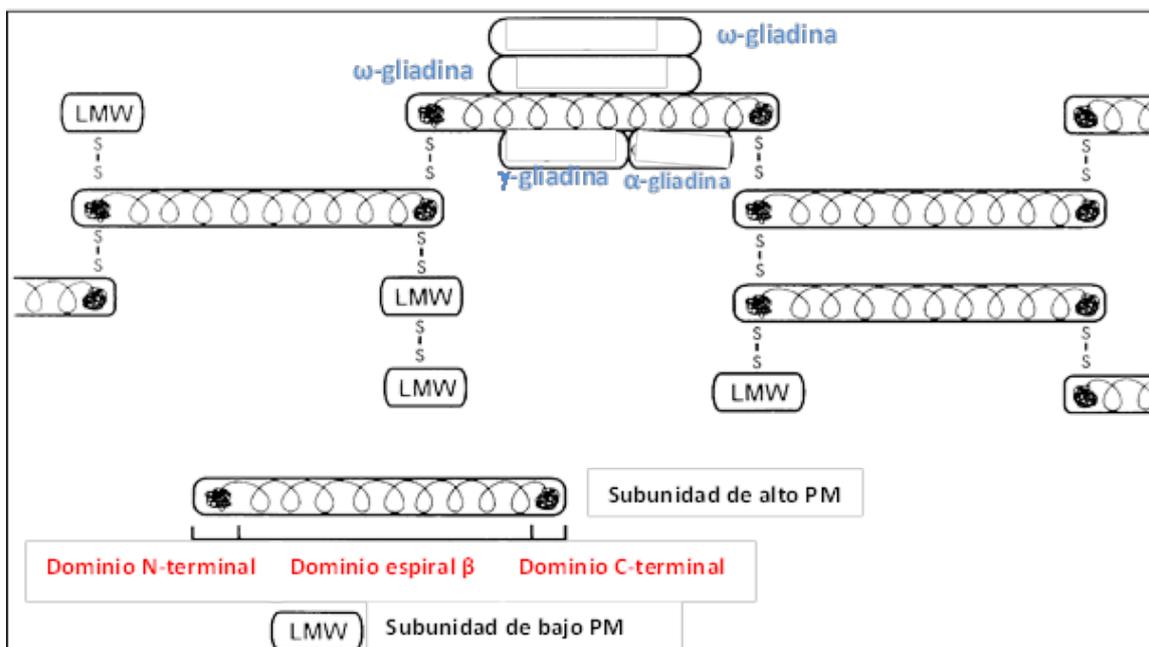
Se denomina de esta manera a la red viscoelástica que se produce durante el amasado de la harina de trigo con agua, formada por las gliadinas y gluteninas y estabilizada principalmente por puentes disulfuro y enlaces no covalentes. Las características

singulares de la masa panaria que permiten el levado durante la fermentación y el horneado y la obtención de un producto final con miga esponjosa dependerán en gran medida de la calidad y cantidad de las proteínas del gluten.

Uno de los factores más influyentes sobre las características de calidad de la masa es el peso molecular de las gluteninas que dependerá principalmente: 1) distribución de enlaces S-S (puentes disulfuro), 2) factores ambientales (deficiencias de S, stress hídrico, etc.), 3) potencial redox.

La estructura formada por el gluten es compleja, puede existir una serie de interacciones, entre las principales podemos enunciar: uniones cabeza cola para las proteínas HMW-GS, formación de polímeros lineales de LMW-GS, interacciones LMW-GS-HMW-GS.

El modelo más ampliamente utilizado para representar la estructura del gluten es el que se presenta en la Figura 1.9. Se puede apreciar en este modelo que las HMW-GS forman el esqueleto elástico del gluten, mediante uniones disulfuro, las LMW-GS constituyen las ramificaciones de ese esqueleto en tanto que las gliadinas interactúan con esta estructura a través de enlaces no covalentes (Shewry y col., 2001).

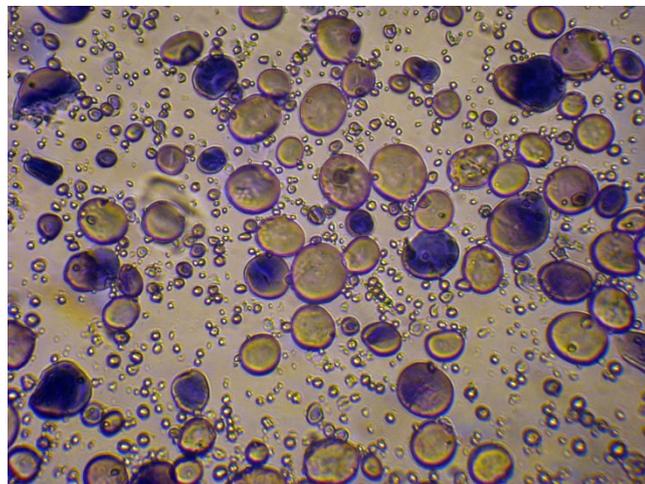


**Figura 1.9.** Esquema de la estructura de la red de gluten (Adaptado de Shewry y col., 2001).

### 1.3.7.2. Almidón

El almidón constituye porcentualmente el principal componente de la harina de trigo; se encuentra únicamente en el endospermo del grano y está constituido por dos polisacáridos de glucosa (amilosa y amilopectina) que están organizados con una disposición radial en pequeños agregados individuales llamados gránulos, cuyo tamaño varía de 2 a 100  $\mu\text{m}$  (Figura 1.10).

Los gránulos son entidades semicristalinas, es decir, presenta zonas amorfas y zonas cristalinas. Las zonas cristalinas presentan una estructura ordenada que es atribuida principalmente a la amilopectina, en tanto que en las zonas amorfas la disposición de amilosa y amilopectina es más desordenada.

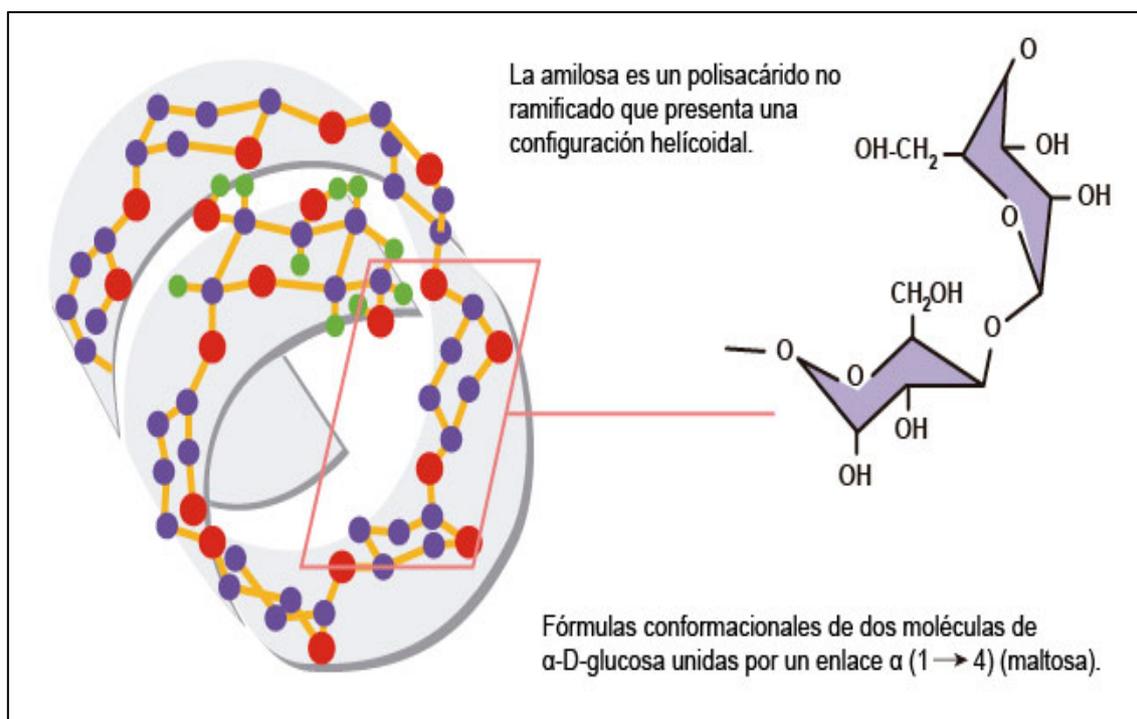


**Figura 1.10.** Gránulos de almidón de trigo teñidos con yodo, vistos con microscopio óptico. Autor: Kiselov Yuri - Own work, Public Domain, ([https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Wheat\\_starch\\_granules.JPG](https://es.m.wikipedia.org/wiki/Archivo:Wheat_starch_granules.JPG))

Los gránulos de almidón de trigo pueden ser divididos en dos grupos de acuerdo a su morfología: los de **Tipo A** que presentan una morfología alargada, lenticular, con un diámetro promedio de 20  $\mu\text{m}$  y los de **Tipo B** que presenta una morfología circular con un diámetro promedio de 5  $\mu\text{m}$  (Goesaert y col., 2005).

La proporción de amilosa y amilopectina en el gránulo de almidón dependerá de su origen botánico; por lo general el contenido de amilosa se encuentra entre 18 al 33 % (p/p) y el de amilopectina, entre 72 al 82% (p/p). El gránulo de almidón de trigo está constituido por los siguientes porcentajes aproximados: 75% para la amilopectina y 25% para la amilosa.

Los dos polímeros de glucosa que constituyen el almidón presentan diferencias estructurales importantes. La amilosa es un polímero de cadena lineal con grado de polimerización que puede variar desde 200 a 6.000 unidades de glucosa, con un peso molecular promedio entre  $10^5$  a  $10^6$  Da, presentando una estructura helicoidal  $\alpha$ -D1-4 (cada vuelta de hélice consta de seis moléculas de glucosa) la cual cuenta con un extremo reductor y el otro extremo no reductor (Wurzburg, 1986) (Figura 1.11). En el proceso de gelatinización, la amilosa se difunde hacia y a través de la superficie saliendo del gránulo.



**Figura 1.11:** Forma helicoidal de la amilosa en el gránulo de almidón (Lorenzo Corchón, 2014)

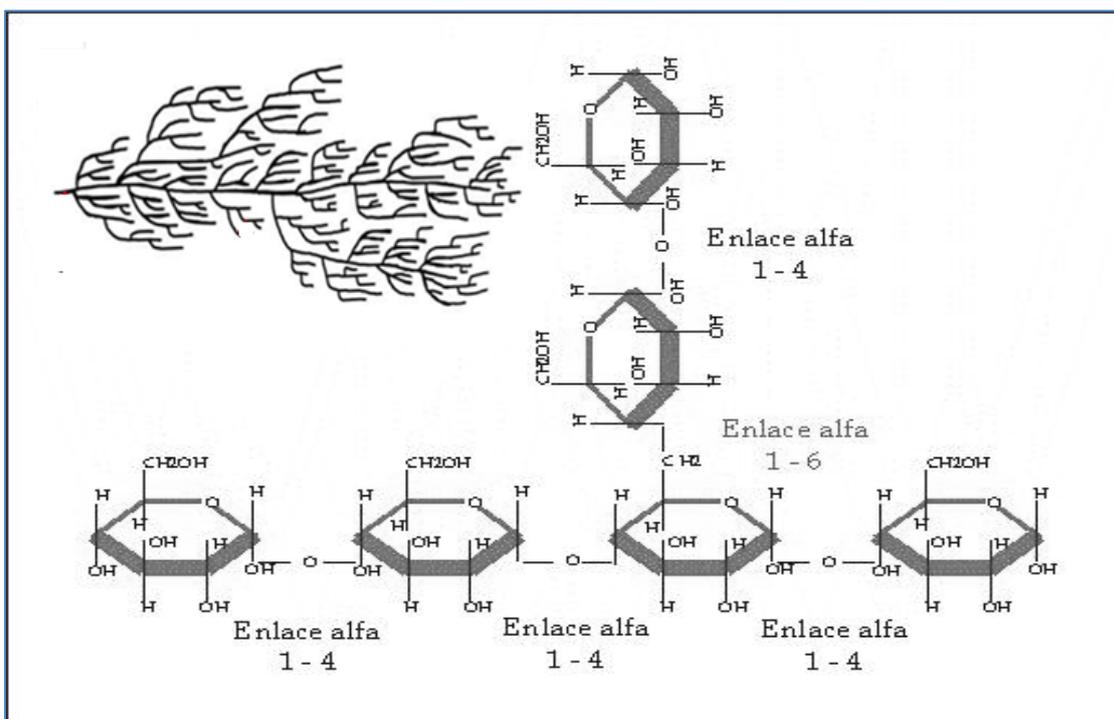
La amilopectina es un polímero de cadena ramificada; las ramificaciones se enlazan con las cadenas lineales mediante uniones  $\alpha$  1-6 y su peso molecular es superior a  $10^8$  Da (Figura 1.12). Las ramificaciones poseen una estructura de doble hélice. Posee un solo extremo reductor.

El almidón al ser sometido a procesos térmicos sufre transiciones en su estructura: gelatinización, gelación y retrogradación. La gelatinización se produce al someter a calentamiento los gránulos de almidón con una suficiente cantidad de agua. Durante este proceso se produce el hinchamiento de los gránulos conduciendo a un importante incremento de volumen de los mismos; la liberación parcial de la amilosa al exterior del

gránulo, la plastificación de las zonas amorfas y la fusión de las zonas cristalinas (Zobel, 1984).

El rango de temperaturas en la que se produce la gelatinización dependerá principalmente de la cantidad de agua disponible, del tipo de almidón y de la variedad de trigo con la que se esté trabajando (Cornell y Hoveling, 2020). De no existir la suficiente cantidad de agua durante el proceso de gelatinización puede producirse una restricción en el hinchamiento de los gránulos.

La temperatura de gelatinización está relacionada con el contenido relativo de amilosa y amilopectina en el gránulo: a mayor contenido de amilosa se observa una mayor temperatura de inicio de la gelatinización, lo que puede relacionarse con la estructura lineal de la amilosa (Lee y Osman, 1991).



**Figura 1.12:** Estructura de la amilopectina del gránulo de almidón (Adaptado parcialmente de Mendieta Lopez, 2009 y de Parker y Ring, 2001)

La gelatinización comienza con la absorción de agua dentro de los gránulos lo que conduce a la hidratación de las zonas amorfas y simultáneamente a la disrupción de los puentes de hidrógeno; después de un cierto grado de expansión granular los esfuerzos disruptivos llegan a las zonas cristalinas, lo que resulta en una fusión irreversible de los

crisales, solubilización y lixiviación del almidón y pérdida del ordenamiento molecular (Schirmer y col., 2015). Durante la gelatinización se produce la lixiviación de la amilosa. La gelatinización total se produce normalmente dentro de un intervalo más o menos amplio de temperatura, siendo los gránulos más grandes los que primero gelatinizan. La temperatura de gelatinización está relacionada con el contenido relativo de amilosa y amilopectina en el gránulo; a mayor contenido de amilosa se obtendrá una mayor temperatura de inicio para la gelatinización, lo que puede relacionarse con la estructura lineal de la amilosa (Lee y Osman, 1991).

En los termogramas de masas de harina de trigo obtenidos mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), se han podido observar dos endotermas a diferentes temperaturas. Este desdoblamiento aparece cuando existe restricción de agua en el sistema; se produce primero la ruptura de los enlaces débiles (a temperaturas aproximadamente de 60°C) y luego la ruptura de enlaces más fuertes a temperaturas de 80°C aproximadamente.

Por enfriamiento de la pasta de almidón gelatinizado ocurre la formación del gel de almidón. El gel se encuentra constituido por una red de amilosa inter-penetrada por gránulos hinchados y parcialmente fragmentados, que mantienen en su interior las moléculas de amilopectina.

Una vez formado el gel, comienza a producirse el fenómeno de cristalización de la amilosa y de la amilopectina mediante la formación de puentes de hidrógeno, que es lo que se conoce como retrogradación (Pateras, 2002). A nivel macroscópico, la retrogradación de los geles de almidón conduce a expulsión de agua (sinéresis) y cambios texturales (aumento de la dureza).

El proceso de molienda genera en el almidón daños o fracturas que permiten el ingreso de agua y el ataque enzimático, esta fracción de almidón se la conoce como almidón dañado y su porcentaje sobre el total de almidón constituye un parámetro de calidad de la harina. La proporción de gránulos de almidón dañados depende de la severidad del proceso de la molienda y también de la dureza del endospermo. Si la cantidad de gránulos dañados es excesiva, la absorción de agua aumenta y la calidad del pan decrece ya que disminuye su volumen.

### **1.3.7.3. Polisacáridos no amiláceos (fibra)**

En el trigo, como en otros cereales, existen otros polisacáridos distintos del almidón, que generalmente se encuentran en las partes externas del grano; en el endospermo su

contenido es mucho menor que el del almidón. Dentro de este grupo de componentes podemos encontrar: celulosa,  $\alpha$ -glucanos, glucofructanos, hemicelulosas y pentosanos (Wang y col., 2002; Philippe y col., 2006).

- **Celulosa**

Es un polímero lineal muy poco soluble en agua, compuesto por moléculas de glucosa unidas mediante enlaces  $\beta$  1-4. En estado nativo presenta una estructura parcialmente cristalina con un alto grado de ordenamiento que permite la resistencia de este polímero a la acción de microorganismos y enzimas.

- **$\alpha$ -glucanos**

Son polisacáridos lineales de D-glucopiranososa enlazados mediante enlaces  $\beta$  1-3 y  $\beta$ 1-4; estas sustancias poseen un gran poder de espesamiento de las soluciones acuosas. En el trigo por lo general constituyen entre el 0,5 al 2% en peso del total del grano.

- **Glucofructanos**

Son polímeros conformados por D-glucosa y D-fructosa que constituyen alrededor del 1% del total de grano de trigo. Presentan bajos pesos moleculares y son muy solubles en agua.

- **Hemicelulosa**

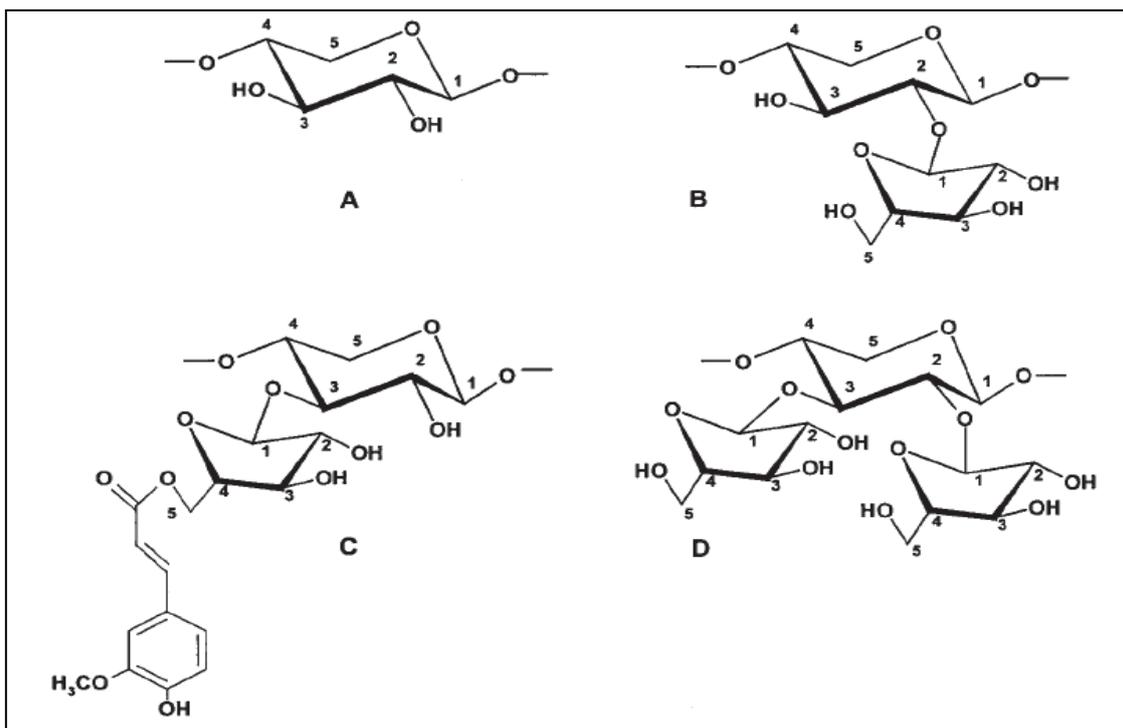
Constituye un polisacárido compuesto por los siguientes azúcares: D-xilosa, L-arabinosa, D-galactosa, D-glucosa, ácido D-glucurónico y ácido 4-O-metil D-glucurónico, que presentan diferente grado de polimerización.

- **Pentosanos**

Los pentosanos son polímeros no almidonosos presentes en las harinas, en los cuales el 80 % (p/p) de los monosacáridos constituyentes son pentosas como la D-xilosa y D-arabinosa. Son sustancias con alta complejidad estructural, que presentan un esqueleto conformado por D-xilosas unidas por enlaces  $\beta$ -1-4 (denominado xilano), el que se encuentra sustituido principalmente en los carbonos 2 ó 3 por residuos de D-arabinofuranosa y en menor medida de glucosa, fructosa y manosa. En tanto que los residuos de arabinosa pueden estar a su vez, sustituidos en su C5 por ácido ferúlico (Fig.1.13). Un parámetro de caracterización en los pentosanos es la relación arabinosa/xilosa cuyo valor típico se encuentra entre 0,5-0,6 (Cleemput y col., 1993).

Los arabinoxilanos insolubles disminuyen el tiempo de desarrollo y aumentan la resistencia a la extensión. Los pentosanos influyen en la formación de la masa por ende en los procesos de panificación. Durante el amasado se unen las proteínas con los residuos

de ácido ferúlico aumentando la elasticidad de la masa, en tanto que durante la fermentación se ha planteado la hipótesis que los pentosanos contribuirían a la disminución de la velocidad de difusión del dióxido de carbono (Hoseney y Rogers, 1990). Como se observa en la Tabla 1.2, los diferentes componentes de la harina presentan distintas capacidades de absorción de agua; los pentosanos son el componente que más agua absorbe en relación a su peso.



**Figura 1.13.** A) Residuo de xilosa; B) residuo de xilosa sustituido en el C2 con D-arabinosa; C) residuo de xilosa sustituido en el C3 con-arabinosa, la cual esta sustituida en el C5 por ácido ferúlico; D) residuo de xilosa sustituido en los carbonos 2 y 3 con un residuo de D-arabinofuranosa. (Courtin y Delcour, 2002).

**Tabla 1.2:** Absorción de agua de diferentes componentes de la harina de trigo

| Componente      | g de componente/ 100 g de harina | g de agua/ g de componente | Absorción por 100 g de harina |
|-----------------|----------------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| Proteína        | 12                               | 1,3                        | 15,6                          |
| Almidón intacto | 57                               | 0,4                        | 22,8                          |
| Almidón dañado  | 8                                | 2,0                        | 16,0                          |
| Pentosanos      | 2                                | 7,0                        | 14,0                          |

(Adaptado de Stauffer, 1998)

#### **1.3.7.4. Lípidos**

El contenido de lípidos en la harina de trigo se encuentra entre el 1 y el 2,5% (p/p), siendo los principales tipos: triglicéridos, glicolípidos y fosfolípidos. El 25% de los lípidos está ligado al almidón (principalmente fosfolípidos) mientras que el 75 % de los que no están ligados al almidón está compuesto principalmente por lípidos no polares. En el proceso de amasado de la harina, los glicolípidos se unen en un 100% al gluten, en tanto que los otros tipos de lípidos lo hacen en porcentajes menores.

En el proceso de molienda se separa el germen de la harina, ya que éste contiene un alto porcentaje de lípidos que podrían generar procesos enzimáticos (hidrólisis u oxidación) que producirían un deterioro de la calidad de la harina.

#### **1.3.7.5. Enzimas**

Las principales enzimas encontradas en los cereales son las amilasas, proteasas, lipasas y fitasas. Las de mayor relevancia en el proceso de panificación son las amilasas que pueden clasificarse en dos grupos, las  $\alpha$ -amilasas y las  $\beta$ -amilasas. Las  $\alpha$ -amilasas producen la ruptura de enlaces en el almidón generando extremos reductores. Esta ruptura permite la acción de las  $\beta$ -amilasas. La acción en forma conjunta de estos dos tipos de enzimas genera una degradación muy rápida del almidón, conduciendo a productos de menor masa molecular. El pH óptimo para la  $\alpha$ -amilasa es de 4,5 y el de la  $\beta$ -amilasa es ligeramente superior.

El nivel de las  $\alpha$ -amilasas en el grano seco es bastante bajo, al hidratarse bajo condiciones de temperatura que permitan la germinación se produce un aumento en el contenido de estas enzimas (Kamal y col., 2009). Las enzimas  $\beta$ -amilasa por su parte, están presentes en los granos sanos y enteros y su nivel no cambia sensiblemente con la germinación.

#### **1.3.7.6. Minerales y Vitaminas**

Las vitaminas y minerales se encuentran principalmente localizados en el pericarpio del grano. Los minerales están constituidos principalmente por fosfatos, calcio, hierro, manganeso, sulfatos y potasio (Liu y col., 2006).

Los granos de trigo son muy ricos en vitaminas del grupo B, la más importante es la niacina que se encuentra en el salvado, aunque lamentablemente la mayor parte de ella es no asimilable. Además de la niacina, se encuentran en el grano de trigo los siguientes componentes del complejo B: ácido pantoténico o vitamina B3 que se encuentra en el

endospermo y capa de aleurona, piroxina o vitamina B6 situada en la capa de aleurona fundamentalmente, tiamina o vitamina B1 concentrada en el escutelo y riboflavina o vitamina B2 que se distribuye uniformemente por todo el grano (Tabla 1.3).

Además de vitaminas del grupo B, los granos de trigo también son ricos en vitamina E (tocoferol) la cual se distribuye con bastante uniformidad destacándose en el germen. Los tratamientos tecnológicos a los que sea sometido el trigo y sus derivados pueden producir variaciones en cuanto al contenido vitamínico de partida.

**Tabla 1.3.** Reparto porcentual de minerales y vitaminas en las fracciones del grano de trigo.

| Fracción   | Minerales | Tiamina | Rivoflavina | Niacina | Fosfato de piridoxal | Ac Pantoténico |
|------------|-----------|---------|-------------|---------|----------------------|----------------|
| Cubiertas  | 7         | 1       | 5           | 4       | 12                   | 9              |
| Germen     | 12        | 64      | 26          | 2       | 21                   | 7              |
| Aleurona   | 61        | 32      | 37          | 82      | 61                   | 41             |
| Endospermo | 20        | 3       | 32          | 12      | 6                    | 43             |

(Adaptado de Hosney, 1991)

#### 1.4. Proceso de Molienda

La molienda es un proceso gradual que permite la separación del endospermo del grano para producir harina. Según el Código Alimentario Argentino (artículo 661, capítulo IX) se pueden tipificar comercialmente los siguientes tipos de harinas “*cuatro ceros (0000), tres ceros (000), dos ceros (00), cero (0), medio cero (medio 0), Harinilla de primera y Harinilla segunda*”. Estas harinas para su comercialización deben cumplir con las siguientes características especificadas en la Tabla 1.4.

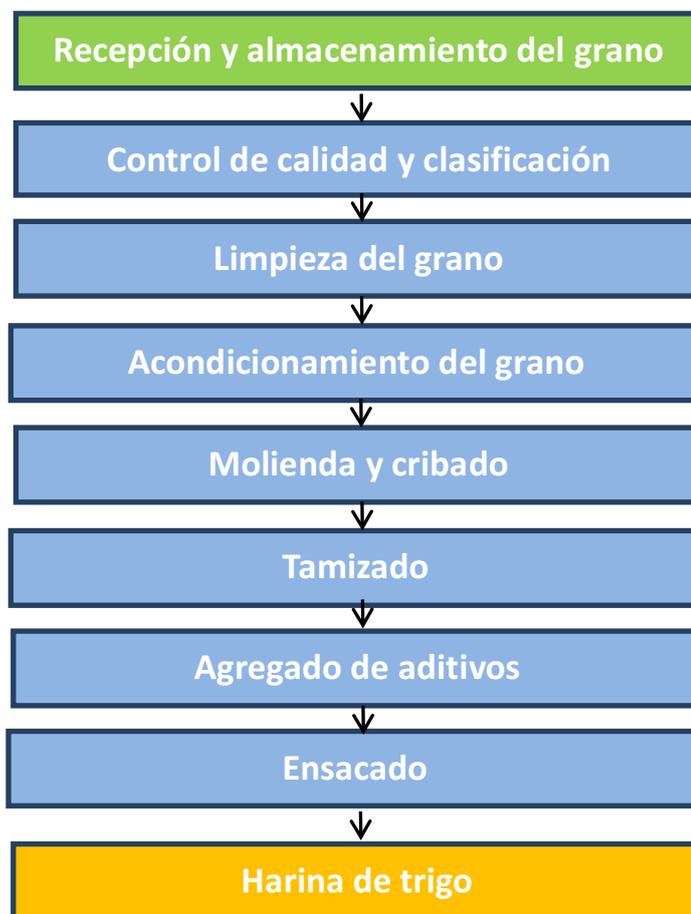
**Tabla 1.4** Especificaciones de calidad para diferentes tipos de harina según el CAA

| Harina | Máximo de Humedad | Máximo de Cenizas | Absorción | Mínimo de Volumen Pan |
|--------|-------------------|-------------------|-----------|-----------------------|
|        | g/100g            | g/100g            | ml/100g   | cc                    |
| 0000   | 15                | 0,492             | 56-62     | 550                   |
| 000    | 15,0              | 0,65              | 57-63     | 520                   |
| 00     | 14,7              | 0,678             | 58-65     | 500                   |
| 0      | 14,7              | 0,873             | 60-67     | 475                   |
| ½0     | 14,5              | 1,35              | -         | -                     |

### 1.4.1. Recepción y Control de Calidad del grano

El trigo es transportado a granel hacia el molino mediante camiones o trenes. Antes de ser aceptado y almacenado, el grano es sometido a un proceso de control de calidad en donde principalmente se determinan características fisicoquímicas como el porcentaje de humedad, el peso hectolítrico y el contenido de proteínas. Se realizan además ensayos para determinar la aptitud de la harina para lo cual se muele una muestra del trigo recibido mediante un molino experimental y se determina contenido de cenizas, porcentaje de gluten húmedo, Falling Number y fuerza alveográfica, entre otros ensayos (Ponzio, 2011).

El proceso de molienda es un proceso complejo. En la Figura 1.14 se resumen los pasos del mismo, que se describen a continuación.



**Figura 1.14.** Esquema general del proceso de molienda.

### **1.4.2. Limpieza y Almacenamiento del grano**

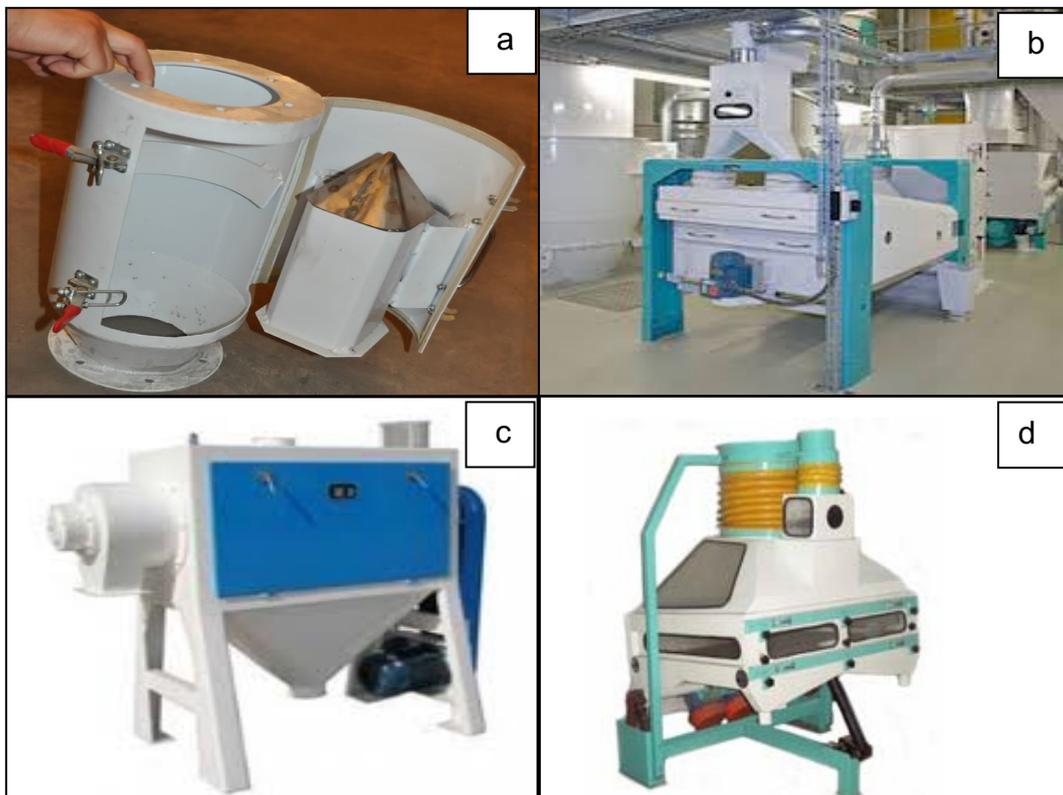
El grado de impurezas del grano de trigo varía entre el 1 al 3% dependiendo de muchos factores, las principales fuentes de estas impurezas son: 1) materia vegetal: constituida por mala hierba, semillas de otros granos, residuos de plantas, ramas y briznas, 2) material animal como excremento y pelo de roedores, insectos, fracciones de insectos, etc., 3) material mineral: lodos, piedras, polvo, objetos metálicos, etc. y 4) otras impurezas: cuerdas, materiales plásticos etc. Estas impurezas generalmente provienen del campo, almacenamiento, transporte, etc.

Las impurezas del trigo deben ser removidas antes de su molienda ya que pueden generar una disminución de la calidad de la harina producida, como por ejemplo coloraciones no deseadas debido a la presencia de taninos. Además, las piezas metálicas pueden producir daños en la maquinaria y la presencia de otras semillas reduce el poder nutritivo del trigo. Una vez que el grano ha sufrido el proceso de limpieza es almacenado en silos para su posterior procesamiento.

Para la limpieza se utilizan diferentes equipos que permiten eliminar contaminantes de acuerdo a sus propiedades físicas, entre los principales tenemos los siguientes (Owens, 2001):

- Trampas magnéticas que permite la separación de partículas metálicas; la permanencia de las mismas en el proceso producirían efectos negativos sobre la harina y podrían generar además daños en la maquinaria instalada (Figura 1.15 a).
- Tamices o cribas que permiten la separación de impurezas por diferencia de tamaño (se eliminan las partículas más grandes y más pequeñas que el grano de trigo). Estos tamices tienen movimiento mecánico y un diámetro muy similar al del grano de trigo (Figura 1.15 b).
- Despuntadoras, en las que se somete a los granos de trigo a un rozamiento o fricción entre ellos permitiendo que las partículas adheridas al grano sean separadas; posteriormente se somete al grano a una separación por diferencia de tamaño con las partículas removidas mediante una camisa perforada (Figura 1.15 c).
- Deschinadoras, que permiten separar aquellas impurezas que no han sido separadas mediante procesos de cribado por diferencias de su peso específico respecto al grano de trigo, para lo cual se utilizan corrientes de aires que levantan

a las partículas con menor densidad que el grano de trigo y las separa (Figura 1.15 d).



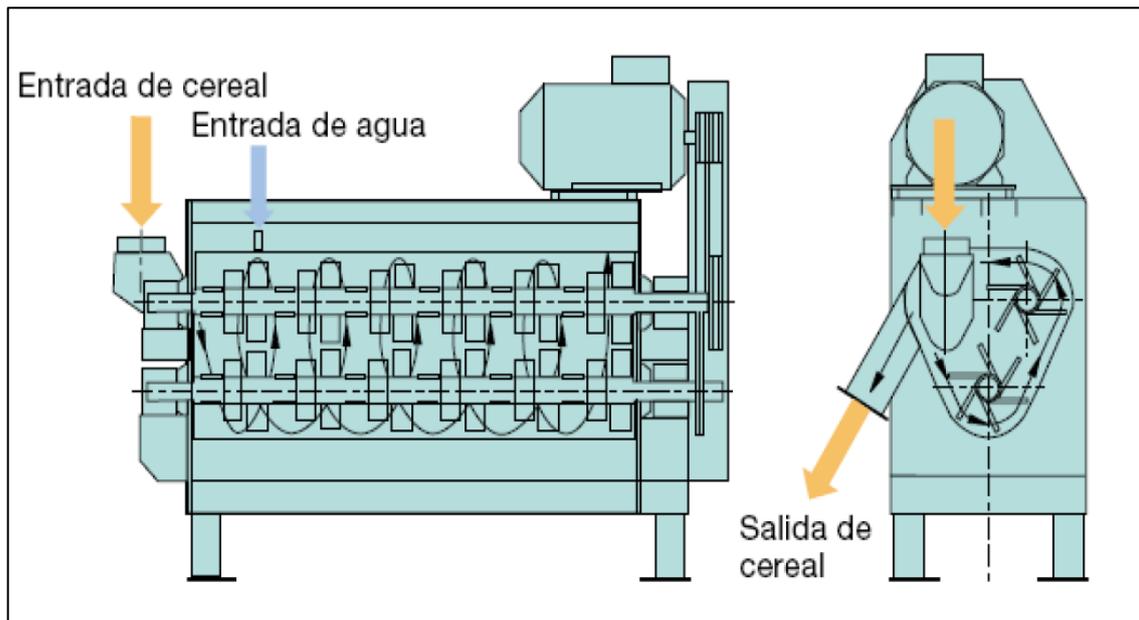
**Figura 1.15:** Esquemas de equipos utilizados en el proceso de limpieza del grano del trigo. a) trampa magnética; b) tamices; c) despuntadora; d) deschinadora (Fuentes: a) [www.pl-flourmill.com](http://www.pl-flourmill.com); b) [www.buhlergroup.com](http://www.buhlergroup.com); c) y d) [www.molinoharinero.com](http://www.molinoharinero.com))

### 1.4.3. Acondicionamiento del grano

El proceso de acondicionamiento del grano de trigo consiste generalmente en hidratar el grano y someterlo a un periodo de reposo (Figura 1.16), aumentando así de manera uniforme la humedad del grano, lo que facilita en gran medida al proceso de molienda por las siguientes razones:

- Flexibiliza y aumenta la resistencia de las capas exteriores del grano, lo que genera una menor posibilidad de la formación de polvillo de salvado, y por ende una disminución del contenido de cenizas de las harinas (Evers, 1993).

- Al hidratarse el grano se hincha, aumentando su volumen y provocando diferencia de presiones en las células del endospermo, generando un resquebrajamiento de las células. Esta característica permite que el endospermo se desmenuce con mayor facilidad aumentando el rendimiento de molienda y reduciendo el consumo energético (Owens, 2001).



**Figura 1.16:** Esquemas de equipos utilizados en el proceso de acondicionamiento del grano del trigo (www.buhlergroup.com)

A medida que el contenido de humedad del grano aumenta, el proceso de separación de partículas mediante tamizado se dificulta durante el proceso de molienda; el contenido de humedad de los granos recomendado se encuentra alrededor del 15% (p/p) (Kent, 1984). La adición de agua al grano debe ser constante, no es recomendable el agregado de un contenido mayor al 3% (p/p) de agua, ya que esto generaría poca uniformidad en el contenido de humedad del grano conduciendo a diferentes calidades de harina. Si se desea suministrar un mayor porcentaje de agua es recomendable hacerlo por lotes (batch).

El período de reposo de grano va a depender en gran medida de la dureza del mismo; para granos blandos (8 a 10% p/p de proteínas totales) el tiempo es de alrededor de 6 horas, en tanto que para granos duros (porcentaje de proteína entre el 11 y el 15% p/p) el período de reposo es de alrededor de 24 horas (Turnbull y Rahman, 2002; Owens, 2001).

Para reducir el tiempo de acondicionamiento es posible hidratar los granos de trigo con agua tibia (alrededor de los 46 °C); esta variante del proceso requiere un tiempo de

enfriamiento antes de seguir con la molienda. También se lo puede realizar con agua caliente (alrededor de los 60 °C) con cortos tiempos de exposición, ya que bajo estas condiciones se corre el riesgo de disminuir la calidad panadera de la harina (Kent, 1984). Una medida más drástica para la disminución del tiempo de acondicionamiento es la utilización de vapor.

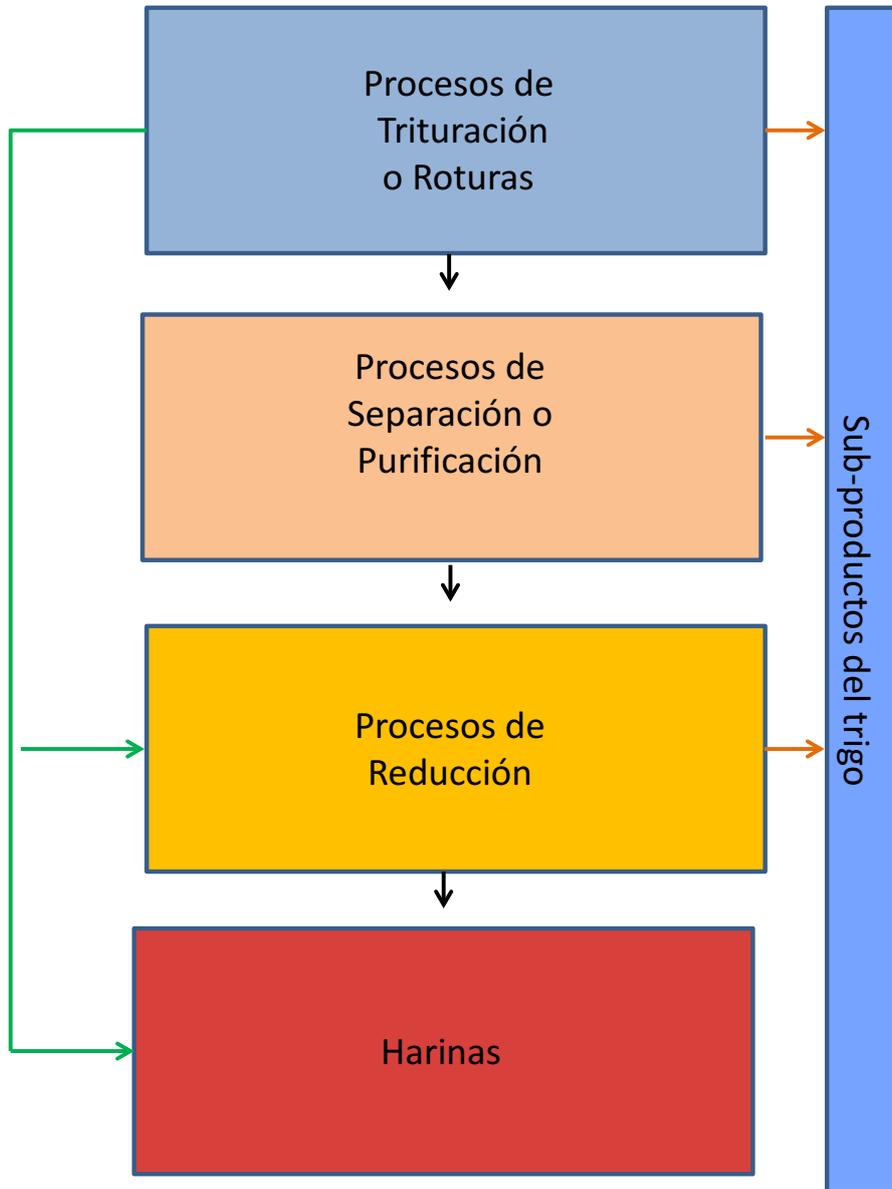
#### 1.4.4. Molienda y Cribado

La molienda del grano de trigo constituye un proceso físico en el que se produce la ruptura del grano provocando la separación del endospermo de las capas superficiales. El endospermo separado sufrirá procesos de reducción sucesiva para aumentar su pureza. El grano de trigo presenta una hendidura vertical (Figura 1.5), debido a lo cual su molienda debe realizarse a partir de una combinación de fuerzas de corte, raspado y trituración. Por lo tanto, en la molienda del trigo se pueden distinguir los siguientes procesos unitarios: trituración, clasificación, limpieza, compresión y desagregación. De acuerdo a la granulometría, las fracciones de molienda de trigo pueden clasificarse según la Tabla 1.5. El objetivo principal del proceso es la obtención de harinas que cumplan las propiedades descritas en la Tabla 1.1. La harina de mayor calidad es la denominada 0000 que presenta un menor contenido de salvado reflejado por un contenido de cenizas menor al resto de harinas; para la obtención de este tipo de harina es necesario someter al endospermo a repetidos procesos de rasgado, compresión y tamizado.

**Tabla 1.5** Granulometría de las diferentes fracciones del proceso de molienda

| Fracción        | Granulometría (µm)     |
|-----------------|------------------------|
| Salvado (Fibra) | Partículas más gruesas |
| Sémola          | 290 – 1150             |
| Semolín         | 150 – 290              |
| Harinas         | < 150                  |

El proceso puede ser dividido en tres grandes etapas: trituración, separación (rasgado) y reducción, los que se analizarán con mayor detalle a continuación (Figura 1.17).



**Figura 1.17:** Esquemas del proceso general de molienda (Adaptado de Kent, 1984)

### 1.4.4.1. Proceso de Trituración o Roturas

Este proceso permite la ruptura del grano generando la separación del endospermo de las capas superficiales mediante compresión y cizallamiento. Se realiza mediante pasajes por cuatro o cinco rodillos, siendo cada pasaje seguido por una etapa de tamizado.

La trituración empieza en el primer rodillo de las denominadas “roturas”, el cual rompe el grano que ingresa proveniente del acondicionamiento, produciendo partículas de diferentes tamaños como: sémolas gruesas, sémolas finas, el semolín (290 a 150  $\mu\text{m}$ ) y harinas (<150  $\mu\text{m}$ ).

Las sémolas gruesas son enviadas al siguiente rodillo de rotura para continuar separando la cáscara del endospermo o a un sador que permitirá la clasificación por tamaños de partícula. La cáscara será parte del afrecho (salvado). A su vez las sémolas finas serán clasificadas mediante un sador, en tanto que el semolín, que presenta un menor tamaño de partícula, es llevado a un tamizado para la obtención de harinas.

La definición de sémola (sin otro calificativo) de acuerdo al Código Alimentario Argentino CAA (art. 668, capítulo IX) es: “*el producto más o menos granuloso que se obtiene por la ruptura industrial del endospermo del *Triticum durum* Desf., libre de substancias extrañas e impurezas*”. Las sémolas comercialmente pueden clasificarse como se indica en la Tabla 1.6.

En tanto que el semolín (sin otro calificativo) de acuerdo al CAA (art.668 bis, capítulo IX), es el “producto granuloso de tamaño intermedio entre la sémola fina y la harina obtenido por la rotura industrial del *Triticum durum* Desf libre de substancias extrañas e impurezas”

**Tabla 1.6** Especificaciones de calidad para diferentes tipos de sémola.

| Producto          | Granulometría         |                   |                   |                   |
|-------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                   | Porcentaje de residuo |                   |                   |                   |
|                   | 20GG*                 | 40GG              | 66/64GG           | 12XX              |
|                   | 1000 $\mu\text{m}$    | 475 $\mu\text{m}$ | 250 $\mu\text{m}$ | 100 $\mu\text{m}$ |
| Sémola Gruesa     | 0                     | 80                | ---               | ---               |
| Sémola Fina       | ---                   | 0                 | 80                | ---               |
| Mezcla de sémolas | ---                   | ---               | ---               | 90                |
| Semolín           | ---                   | ---               | 0                 | 90                |

\*especificación de malla

(Adaptado del CAA)

Para el proceso de molienda se utilizan cilindros distribuidos en pares que giran en direcciones opuestas, permitiendo que la superficies de ambos rodillos entren en la línea de contacto en la misma dirección; la distancia entre los mismos es ajustable lo que permite regular el tamaño de las partículas; adicionalmente estos cilindros presentan un espiral que permite la separación de los mismos en caso de existir objetos grandes o pedazos de metal.

La trituración utiliza rodillos con canales ondulados (estrías) sobre toda la superficie, estas ondulaciones se disponen longitudinalmente con un ligero ángulo entre sus ejes, estas estrías permiten una acción de corte; uno de los rodillos gira a una velocidad mayor que el otro, el diferencial de velocidad entre los dos es generalmente  $2 \frac{1}{2}$  a 1. (Figura 1.18). La sección de cada acanaladura se asemeja a un *V* cursiva, con una cara más corta y más inclinada que la otra. Las acanaladuras de los dos rodillos que forman un par de trabajo están dispuestas de modo que en el estrechamiento de las acanaladuras se cruzan entre sí formando un ángulo doble.

El rodillo que presenta mayor velocidad se encuentra en una disposición de aguja por lo cual el lado de la *V* que presenta mayor pendiente entra en la línea de contacto antes que al lado con disposición opuesta. Por la acción de la diferencia de velocidad y la acanaladura espiral que presenta el rodillo rápido para moverse sobre el lento, en el punto de contacto realizan una acción similar a las tijeras.

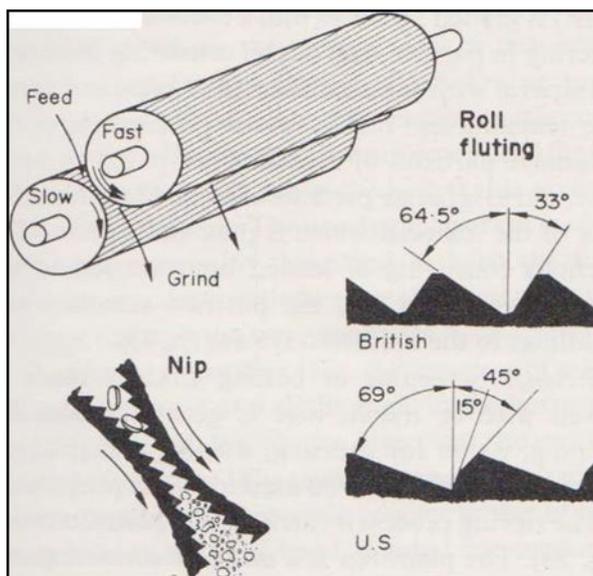


Figura 1.18. Esquemas de rodillos de trituración (Kent, 1984)

La pareja de cilindros puede adoptar cuatro disposiciones en función de las posiciones relativas de las estrías del rápido con relación a las del lento. En función de estas posiciones se consiguen diferentes efectos en la molienda, tal como se expone en la Tabla 1.7.

Como se mencionó anteriormente en la primera rotura mediante el cizallamiento de las acanaladuras se produce la apertura del grano, por lo general a lo largo del pliegue, provocando una liberación de las capas de salvado de manera que cada uno de los componentes forma una capa relativamente gruesa e irregular de endospermo mezclado con salvado. Producto de esta primera rotura se obtiene una mezcla de partículas que difieren en tamaño y composición. Las capas de mayor tamaño son de salvado, las mismas se encuentran todavía cubiertas con abundante endospermo, las partículas de tamaño intermedio son sémola y afrechillo, las fracciones de menor tamaño son las harinas.

**Tabla 1.7:** Disposición de cilindros de trituración en función de sus posiciones

| Posición de cilindro | Efecto  |
|----------------------|---|
| Corte/ Corte         | Salvado más fino<br>Sémola más gruesa pero contaminada (sucia)    |
| Dorso/Dorso          | Salvado más grueso<br>Sémola más fina<br>Mayor cantidad de harina |
| Corte/Dorso          | Producto intermedio, menos agresivo que C/C                       |
| Dorso/Corte          | Producto intermedio, menos agresivo que D/D                       |

(Adaptado de Hosenev, 1991)

De la primera rotura se obtiene una pequeña cantidad de endospermo que es separado del salvado, en forma de partículas con un tamaño de 1 mm<sup>3</sup> que representan la sémola. Las capas de salvado de esta rotura son sometidas a los procesos de tamizado y posteriormente alimentan a la segunda rotura en la cual el proceso de molienda es similar con la diferencia que las acanaladuras en la superficie de los rodillos son ligeramente más finas y hay una menor distancia de trabajo entre los dos rodillos.

Las siguientes etapas de roturas consisten en procesos similares al descrito; en cada una de las etapas se separa el endospermo de las capas de salvado, obteniéndose

progresivamente partículas más finas y limpias. La fracción gruesa separada de la última rotura es molida; si ya no dispone de endospermo es separada y forma parte del salvado. El producto de la rotura final es sometido a un proceso de tamizado para obtener la harina (harina de rotura); la misma es separada del proceso de molienda y forma parte del producto final. Las partículas gruesas obtenidas de las roturas (sémola y afrechillo) se clasifican por tamaño mediante tamizado, las mismas tienen como componente principal el endospermo y cantidades variables de salvado y germen. De la sémola y el afrechillo son eliminadas las partículas de epidermis del pericarpio y del salvado, las fracciones de salvado obtenidas son derivadas al sistema de rasgado (sistema que permite raspar el endospermo del salvado), en tanto que las fracciones de sémola y afrechillo se envían al sistema de reducción para su purificación.

#### **1.4.4.2. Procesos de selección y/o purificación**

El proceso de purificación de los productos de la molienda se realiza a través de dos tipos de dispositivos en forma secuencial: los tamices y los purificadores o sasores.

##### **Tamizado**

Este proceso produce un efecto de cribado o cernido sobre los productos obtenidos en la molienda; se lo puede realizar mediante dos mecanismos: por centrifugación y por vibración. El primero se realiza mediante el uso de máquinas cribadoras centrífugas las cuales se componen de un cilindro cuya superficie está cubierta de malla y gira alrededor de su eje con una velocidad de aproximadamente 30 rpm, alrededor del mismo eje gira también un juego de aletas con mayor velocidad (200 rpm) que lanza el material contra las paredes del cilindro. Por esta razón, la acción de esta máquina cribadora es bastante fuerte.

El proceso mediante vibración se realiza con máquinas denominadas “plansichter” o “plansifter” (Figura 1.19), constituidas por un conjunto de cribas colocadas en serie (de mayor a menor tamaño de malla) que presentan un movimiento vibratorio en el plano horizontal lo que permite la separación de las diferentes fracciones por su tamaño.

La mezcla a tamizar se alimenta en la parte superior y cae por gravedad. En un solo plansifter se pueden incorporar de cuatro o cinco tamaños de malla diferentes, produciendo de esta forma cinco o seis fracciones de diferente tamaño de partícula.

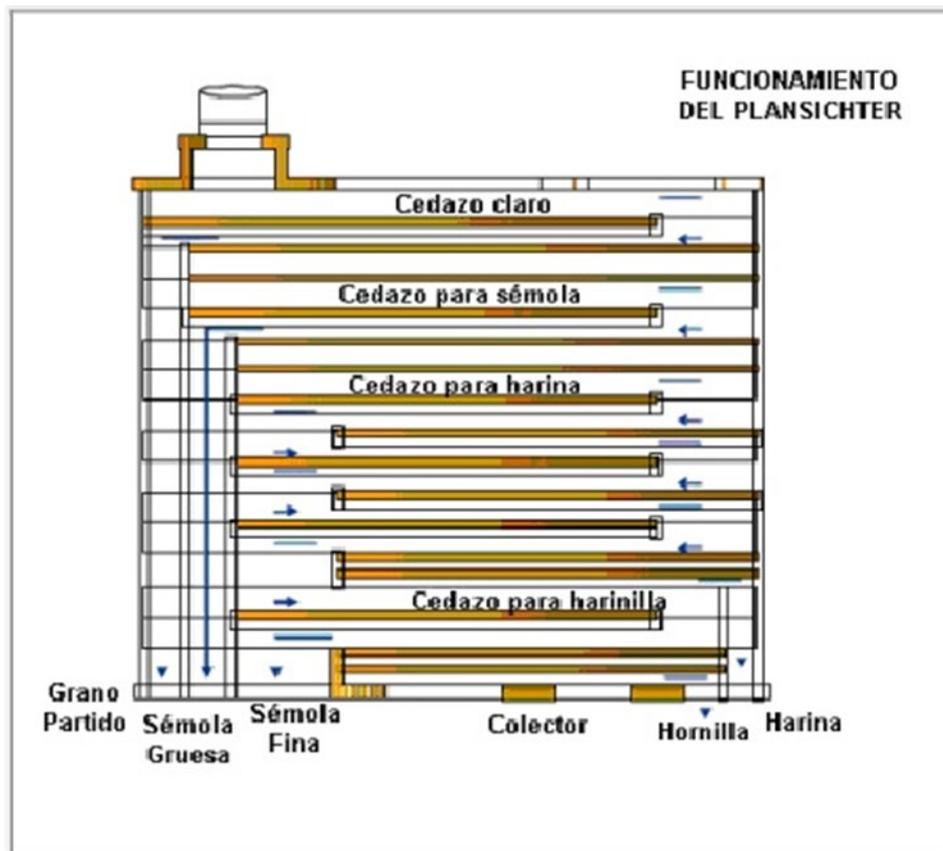


Figura 1.19: Esquema del Plansichter ([www.tecnologiaslimpias.org](http://www.tecnologiaslimpias.org))

### Purificación

Los purificadores separan las partículas en función de su diferente tamaño y peso específico; están compuestos por un tamiz oscilante colocado con inclinación sobre tolvas receptoras cuyo tamaño de poro se incrementa en forma gradual y a través del cual pasa una corriente de aire. Las partículas de endospermo por tener un mayor peso permanecen en el tamiz hasta que encuentran un tamaño de poro que permita su paso y caen a la tolva que se encuentra debajo, mientras que las partículas de salvado al ser más livianas son arrastradas por el flujo de aire.

Los purificadores consisten en un largo y estrecho tamiz fijado con un reducido ángulo respecto a la horizontal, que oscila en la dirección longitudinal, y cerrado por una cubierta o tapa. El tamiz se compone de cuatro secciones cuyos poros progresivamente se hacen más gruesos de la cabeza a la cola. En el interior de los purificadores existe una campana que permite la división de secciones del tamiz permitiendo la aspiración del ventilador. El material a ser purificado se alimenta sobre el extremo de la cabeza de la criba y se mueve por el movimiento oscilante hacia abajo, hacia la cola o a la sección de tamiz grueso.

Las partículas de endospermo decrecen en pureza de la cabeza a la cola, caen a través de los tamices respectivos, en contra de la dirección de la corriente de aire (que es relativamente densa y presenta una alta velocidad terminal), y se recogen en tolvas. Partículas livianas de salvado libre y “alas de abeja” se levantan por la corriente de aire y se recogen en bandejas suspendidas por encima de los tamices. Las partículas intermedias en densidad y velocidad terminal, que consisten en salvado con endospermo, no se levantan, ni se caen a través de los tamices, sino que permanecen flotando en el tamiz, y eventualmente se descargan como residuo.

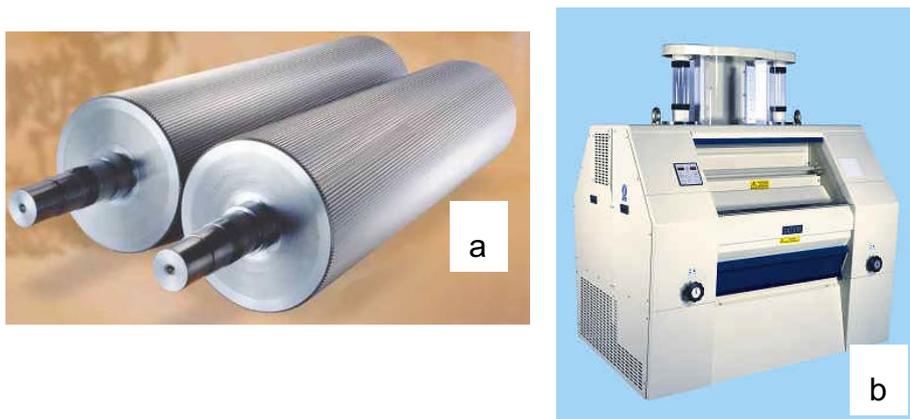
Para la purificación de la sémola se utilizan los sasores (también llamados purificadores), los que permiten limpiarla eliminando las cubiertas externas y al mismo tiempo clasificarla según su tamaño y pureza, preparándola para la molienda en los cilindros de compresión.

Los sasores están constituidos por tamices oscilantes a través de los cuales circula una corriente de aire, de abajo hacia arriba. El producto que llega a los sasores es de tipo sémola de diferentes tamaños, incluyendo semolinas, el cual viene contaminado en menor grado de salvado o afrecho. Por lo tanto estas máquinas clasifican las sémolas según su tamaño y pureza, eliminándose el material contaminante.

#### **1.4.4.3. Proceso de Reducción**

La compresión es otro paso que permite la reducción de tamaño de las fracciones obtenidas en los procesos previos hasta tener una granulometría adecuada para que el producto pueda ser considerado “harina”; en tanto que la desagregación permite la separación y liberación de las partículas de endospermo que se encuentran adheridas al salvado.

El objetivo de este sistema es convertir la mayor parte de sémolas, semolinas y fracciones gruesas obtenidas en los procesos anteriores en harinas y eliminar las colas de molienda. En resumen, estos sistemas generalmente están compuestos de ocho a dieciséis pasajes de molienda, el número de etapas depende del tipo de trigo que se está moliendo, el contenido de humedad, la calidad de la harina a obtener y la tasa de extracción requerida. Los rodillos utilizados en esta etapa de la molienda, denominados “lisos” (Figura 1.20) actúan por compresión; en esta etapa se debe evitar el daño del almidón y del gluten, así como la pulverización de partículas de salvado, que daría un color oscuro a la harina.



**Figura 1.20:** a) Pareja de rodillos b) Molino de rodillos comercial (García Román, 2009)

Los rodillos de molienda o lisos presentan las siguientes características:

- Presentan un diámetro aproximado de 25 cm y una longitud de 100 cm
- Su superficie presenta muy pocas hendiduras o canales, con escasa rugosidad
- Los rodillos giran a velocidades diferentes que guardan una relación entre sí de  $1\frac{1}{2}$  a 1
- Presentan un pequeño abombamiento, del orden de 20-40  $\mu\text{m}$ , producido en el montaje de los ejes por lo cual estos cilindros tienden a calentarse más en los extremos que el centro, lo que provoca una mayor dilatación de esa zona y un efecto de bombeado que puede afectar negativamente a la molienda, por lo que se les da un bombeado contrario para compensar ese efecto. Gracias a ello, se consigue que al alcanzar la temperatura de trabajo las caras de los dos cilindros sean paralelas

En la Tabla 1.8 se muestra la relación entre el tipo de cilindro y su efecto en la calidad de la harina.

**Tabla 1.8:** Cilindros de reducción en función de sus posiciones

| Tipo de cilindro     | Efecto  |
|----------------------|---|
| Cilindro pulido      | Poca harina y bajo contenido de cenizas               |
| Cilindro mate        | Más harina y contenido normal de cenizas              |
| Cilindro áspero      | Mayor cantidad de harina y mayor contenido de cenizas |
| Cilindro estría fina | Mucha harina y un alto contenido de cenizas.          |

(Adaptado de Kent, 1984)

## 2. Hipótesis y Objetivos

---

### **Hipótesis**

Las distintas fracciones que se pueden separar a lo largo del proceso de molienda comercial del trigo tendrán características físico químicas diferenciadas debido al proceso particular de rotura del grano y los numerosos pasos posteriores que involucran la clasificación y reducción de tamaño de partícula hasta llegar a la harina comercial. El conocimiento de estas características podría ser aplicado tanto en la mejora del proceso de molienda como en usos alternativos de los productos intermedios de acuerdo a su composición y tecno-funcionalidad particular.

### **Objetivo general**

Contribuir a la caracterización de las distintas fracciones de molienda de una mezcla comercial de trigos argentinos desde un punto de vista fisicoquímico y funcional

### **Objetivos particulares**

1. Analizar las características fisicoquímicas de las distintas fracciones de molienda
2. Relacionar las características fisicoquímicas con la funcionalidad de las fracciones obtenidas

## 3. Materiales y Métodos

---

### 3.1. Descripción del molino proveedor de las fracciones de molienda (Molino Campodónico)

El Molino Campodónico fue re-instalado en el año de 1930 en la ciudad de La Plata, sobre la calle 58 entre la avenida 1 y calle 2. Este molino cuenta con tecnología totalmente importada, de origen inglés en su mayor parte (Robinson, de Rochdale); también se han incorporado molinos de rodillos y plansifters Buhler (Suiza). La fuerza motriz de los molinos, plansifters, y otros equipos se toma o bien de ejes de fuerza movidos por motores eléctricos, o por motores directamente conectados a los equipos, muchos de ellos transmitiendo la fuerza motriz por correas planas, con poleas de distinto tamaño que reducen la velocidad angular original del motor. Su capacidad productiva original era de 150 toneladas/día de molienda de trigo; en la década de los 70 su capacidad se amplió hasta el valor actual de 300 toneladas/día.

El proceso de molienda se inicia con el ingreso de los camiones que traen el trigo, los mismos que son pesados y luego inclinados en una plataforma para descargar los granos a un pozo de noria, desde donde los granos son elevados y distribuidos a los silos de trigo, con una capacidad nominal de almacenamiento de 4500 toneladas posteriormente pasan el proceso de control de calidad de los granos, limpieza, acondicionamiento, molienda, tamizado y ensacado.

Para el desarrollo de la parte experimental del presente trabajo se utilizaron distintas fracciones del proceso de molienda proporcionadas por el Molino Campodónico. Estas fracciones se pueden agrupar en las siguientes cuatro secciones, de acuerdo a la secuencia seguida en la molienda y clasificación: Roturas, Primeros Lisos, Últimos Lisos y Productos y Subproductos. Se muestra este agrupamiento de fracciones en la Tabla 3.1. En la Figura 3.1 se puede observar un esquema donde se muestra la obtención de las mismas.

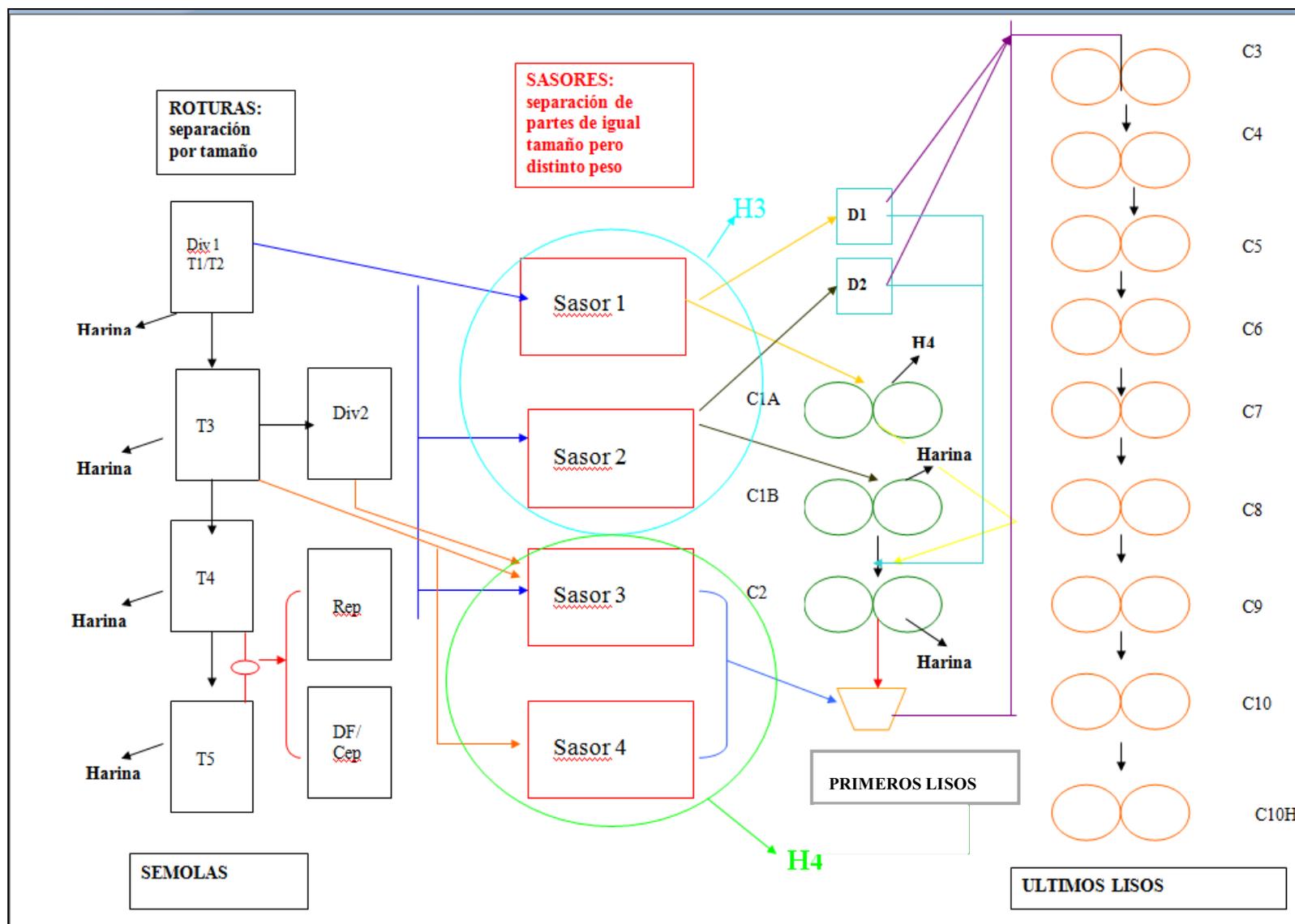


Figura. 3.1 Esquema de molienda del Molino Campodónico (Adaptado de información proporcionada por el molino)

Las distintas fracciones del Molino Campodónico son utilizadas para la obtención de los siguientes productos y sub-productos:

- De las Roturas T1/T2 y T3: se producen las sémolas que van a continuar con el proceso de molienda.
- De las Roturas T4 y T5: son productos que tienen mucha cáscara y afrecho ya que son los procesos terminales de las roturas.
- Las harinas se obtienen bajo el siguiente esquema:
  - 26% salen de las Roturas
  - 57% salen de los Primeros Lisos
  - 17% salen de los Últimos Lisos

**Tabla 3.1:** Fracciones utilizadas para el desarrollo experimental (denominadas de acuerdo a la nomenclatura del propio Molino)

| Roturas           | Primeros Lisos | Últimos Lisos | Productos y Subproductos |
|-------------------|----------------|---------------|--------------------------|
| Divisor 1 (Div 1) | CA-a           | C3            | Harina 0000 (H4)         |
| T3                | CB-a           | C4a           | Harina 000 (H3)          |
| Divisor 2 (Div2)  | CA-b           | C4b           | Sémola                   |
| T4                | CB-b           | C5            | Semolín                  |
| T5                | C2-1(ab)       | C6            |                          |
| D1 – D2           | C2-2(ab)       | C7            |                          |
| Separador         | C2-c(1-2)      | C8            |                          |
| DICEP             |                | C9            |                          |

La harina 000 es obtenida de la mezcla de todas las harinas provenientes del proceso de molienda, en tanto que la harina 0000 es un producto obtenido principalmente de los Primeros lisos.

## 3.2. Características físico-químicas de las distintas fracciones de molienda

### 3.2.1. Determinación del tamaño de partícula

Se determinó la distribución de tamaño de partículas para cada fracción de molienda utilizando tamices redondos superpuestos, fijados mediante tornillos de sujeción a un disco de rotación excéntrica accionado por un motor eléctrico a razón de 160 rpm (tamizadora de laboratorio MLU-300). En la Tabla 3.2., se muestra la denominación de cada tamiz y su abertura de malla correspondiente. Para la determinación del tamaño de partícula se pesó aproximadamente 100 gramos de cada una de las fracciones, se las colocó en el primer tamiz (mayor tamaño) y fueron sometidas a un proceso de agitación por un tiempo de cinco minutos, luego del cual se pesó la cantidad de cada fracción retenida en cada uno de los tamices y se determinó el porcentaje correspondiente.

**Tabla 3.2.** Tamaño de poro de los diferentes tamices utilizados para determinar tamaño de partícula de las fracciones

| Denominación del tamiz | Mínimo tamaño de partícula que es retenido ( $\mu\text{m}$ ) |
|------------------------|--|
| 14GG                   | 1600   |
| 20GG                   | 1120   |
| 22GG                   | 950  |
| 30GG                   | 710  |
| 42GG                   | 450  |
| 44GG                   | 425  |
| 50GG                   | 360  |
| 58GG                   | 350  |
| 60GG                   | 280  |
| 7XX                    | 200  |
| 8XX                    | 180  |
| 10XX                   | 132  |
| 13XX                   | 100  |
| 110T                   | 54   |
| 140T                   | 35   |

### 3.2.2. Determinación de humedad

El contenido de humedad fue determinado por diferencia de peso mediante el Método AACC 44-19 (2000), para lo cual se pesan aproximadamente 2 gramos de cada fracción ( $\pm 0,001$ ) y se seca en una estufa de convección forzada a 135 °C por un período de dos horas.

### 3.2.3. Determinación de cenizas

El contenido mineral (cenizas) de las fracciones es el residuo de las mismas luego de realizar una combustión completa; este parámetro se encuentra directamente relacionado con el grado de molienda de las fracciones. Para su determinación se utilizó el método AACC 08-01 (2000). Se pesan aproximadamente 4 gramos de cada fracción ( $\pm 0,001$ ) y se carbonizan mediante la utilización de un mechero y un triángulo de pipas para luego llevarlos a la mufla a 550 °C hasta obtención de peso constante y color gris o blanco.

### 3.2.4. Determinación de almidón dañado

El porcentaje de almidón dañado se define como los gránulos de almidón que son susceptibles a la hidrólisis de la  $\alpha$ -amilasa por cada 100 gramos de cada fracción. Para su determinación se utilizó el método AACC 76-30A (2000).

Se determina el porcentaje de almidón dañado para 100 gramos cada fracción con un 14% (p/p) de humedad. Para ello se coloca 1 g de harina en 45 ml de buffer acetato (pH= 4,5) a 30°C junto con 0,05 g de enzima (amilasa fúngica) y se incuba por 15 minutos. Se incorporan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3,68 N (3ml) y tungstato de sodio en solución 12% (2ml). Se agita y se filtra por papel Whatman N°4. Sobre el filtrado se determinan azúcares reductores.

Para determinar azúcares reductores, se toman 5 ml del filtrado, se colocan en tubo de ensayo junto con 10 ml exactamente medidos de solución de ferricianuro alcalina 0,1 N, se somete a ebullición en baño de agua durante 20 minutos, se lava con solución de KCl /ZnSO<sub>4</sub> y acético glacial, se agrega solución KI-almidón soluble y se titula con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 N hasta desaparición completa del color azul.

Se determinan los mg de maltosa tanto para la muestra como para el blanco (en el que se omitió la adición de muestra) según Tabla del método AACC 80-60 (2000) y se multiplica por 5 para obtener los mg de maltosa por 10 gramos de muestra. El porcentaje de almidón dañado se calcula según:

$$\% \text{ Almidon} = \frac{0,082 \times \text{mg Maltosa}}{10 \text{ g muestra}} \quad (\text{Ecuación 3.1})$$

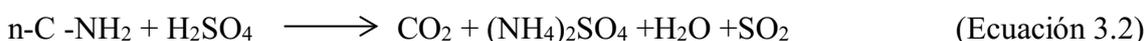
Los ensayos se realizaron por duplicado.

### 3.2.5. Determinación del contenido de proteína por el método de Kjeldahl

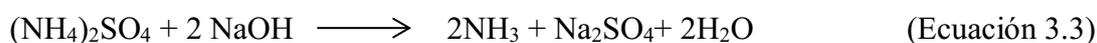
Mediante el método de Kjeldahl se determina el contenido de nitrógeno de una muestra. El contenido de proteína se puede calcular seguidamente, presuponiendo una proporción entre la proteína y el nitrógeno que para la harina de trigo tiene un factor de 5,7. Se utilizó el método oficial AOAC 920.87 con ligeras modificaciones.

En este método se tienen tres etapas operativas: digestión o mineralización, destilación y valoración, que se describen a continuación.

**Etapas de digestión:** en esta etapa, el nitrógeno proteico es transformado en sulfato de amonio por acción del ácido sulfúrico en caliente (ecuación 3.2)



**Etapas de destilación:** se alcaliniza la muestra digerida y el nitrógeno se desprende en forma de amoníaco (Ecuación 2.3). El amoníaco destilado se recoge sobre un exceso de ácido bórico (Ecuación 2.4).



**Etapas de valoración:** La cuantificación del nitrógeno amoniacal se realiza por medio de una valoración ácido-base utilizando ácido clorhídrico y un indicador. Los equivalentes de ácido consumidos corresponden a los equivalentes de amoníaco destilados (Ecuación 3.5)



Para la realización de esta determinación se coloca en el tubo para digestión una cantidad exactamente pesada de aproximadamente 1 gramo ( $\pm 0,001$ ) de cada fracción y se adicionan 12 ml de ácido sulfúrico concentrado, utilizando un catalizador para acelerar la reacción (3,5 g de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  y 0,175 g  $\text{HgO}$ ). La digestión se realiza a  $420^\circ\text{C}$  hasta que la solución queda transparente. Una vez concluida la digestión, se deja enfriar y se diluye

con agua destilada. Para la destilación se utiliza NaOH 40% que es añadido automáticamente en el equipo de destilación para neutralizar el medio ácido, generando amoníaco (NH<sub>3</sub>) que se recoge en H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4% (25 ml). Una vez finalizada la destilación se titula con HCl 0,1 N hasta viraje del indicador (Mortimer: mezcla de rojo de metilo y verde bromocresol). Paralelamente se realiza un blanco. La cantidad de proteína se calcula según:

$$\% \text{proteína} = \frac{(A - B) \times N \times 14,007 \times F \times 100}{\text{mg de muestra}} \quad (\text{Ecuación 3.6})$$

**A**= ml de ácido gastado al titular la muestra

**B**= ml de ácidos gastados al titular el blanco

**N**= normalidad de ácido usado en la titulación

**F**= factor de conversión de g de N total a g de proteína (5,7 para trigo)

Los ensayos de esta prueba se realizaron por duplicado.

### **3.3. Ensayos de calidad panadera sobre las distintas fracciones**

#### **3.3.1. Determinación de gluten húmedo y gluten seco**

La determinación de gluten húmedo (GH) y seco (GS) se realizó utilizando el equipo Glutomatic 2200 (Perten Instruments, Estados Unidos) (Figura 2.2) bajo la Norma IRAM 15864. A partir de ellos se calcularon otros parámetros (agua ligada al gluten y relación GH/GS).

Se prepara una masa a partir de cada fracción (10 g) y 4,9 ml de agua (T= 22-25°C). Se obtiene el gluten húmedo por lavado de esta masa con agua (8 min y 430 ml de agua). Se separa el agua adherida por centrifugado y se pesa el gluten obtenido y con este valor se calcula el gluten húmedo de acuerdo a la Ecuación 2.7:

$$GH = \frac{m_1}{m} \times 100 \frac{86,5}{100 - H} \quad (\text{Ecuación 3.7})$$

**GH**= contenido de gluten húmedo, en gramos por cien gramos, referido a harina de 13,5% de humedad

**m<sub>1</sub>**= masa de gluten húmedo

**m**= masa de muestra en gramos

**H**= la humedad de la harina, determinada según la norma IRAM 15850

Una vez determinado el gluten húmedo se lo seca mediante el equipo Glutork a 150°C durante 5 min, se deja enfriar la masa hasta temperatura ambiente y se la pesa. Se calcula el contenido de gluten seco de acuerdo a la ecuación 2.8:

$$GS = \frac{m_2}{m} \times 100 \frac{86,5}{100 - H} \quad (\text{Ecuación 3.8})$$

**GS** = contenido de gluten seco, en gramos por cien gramos, referido a harina de 13,5% de humedad

**m<sub>2</sub>**= la masa de gluten seco

**m**= masa de muestra en gramos

**H**= la humedad de la harina, determinada según la norma IRAM 15850



**Figura 3.2:** Glutomatic 2200 (Perten Instruments)

### **3.3.2. Farinograma (Norma IRAM 15855)**

Para las determinaciones farinográficas se utilizó un farinógrafo de Brabender (Brabender OHG, Duisburg, Alemania) (Figura 3.3) en el cual una cantidad exactamente pesada de cada fracción es sometida a un amasado, registrándose la curva normal o farinograma (Figura 3.4). Previamente a la obtención de la curva normal se realiza un pre-ensayo, donde se determina la cantidad de agua necesaria para obtener una masa de una consistencia de  $500 \pm 20$  UF (unidad farinográfica arbitraria) y se expresa este parámetro (Absorción de agua farinográfica) en porcentaje (ml de agua/100 gramos de harina).

Los parámetros determinados fueron: absorción de agua (%), tiempo de desarrollo, estabilidad y aflojamiento, que se explican a continuación:



**Figura 3.3:** Farinógrafo de Brabender

**Absorción de agua:** cantidad de agua agregada para obtener una masa de consistencia de 500 (UF) calculada según la siguiente ecuación (para amasadora con capacidad de 300 g):

$$V_c = V + 0,096 (C - 500) \quad (\text{Ecuación 3.9})$$

Dónde:

**V:** volumen de agua agregada en ml.

**V<sub>c</sub>:** volumen de absorción de agua para obtener una consistencia de 500 UF

**C:** consistencia máxima, en UF dada por:

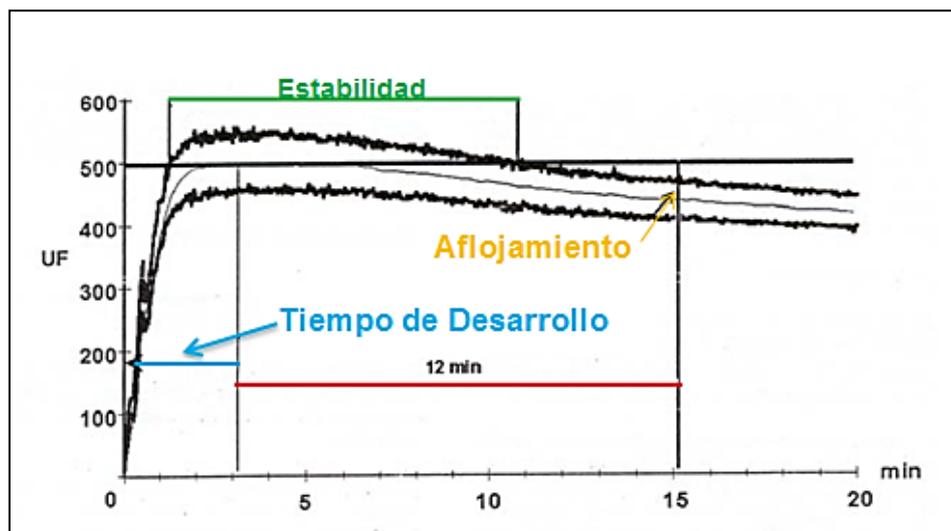
$$C = \frac{C_1 + C_2}{2} \quad (\text{Ecuación 3.10})$$

Dónde:

**C<sub>1</sub>:** altura máxima del contorno superior de la curva, en UF

**C<sub>2</sub>:** altura máxima del contorno inferior de la curva, en UF

Para el cálculo se usa el valor medio de las determinaciones efectuadas por duplicado de V<sub>c</sub>, teniendo en cuenta que la diferencia no exceda de 2,5 ml (para una amasadora de 300 g). El valor de V<sub>c</sub> se corrige según tablas incluidas en la norma (IRAM 15855) para referirlo a una harina de 14 % de humedad (ml/100 g de harina de 14g/100g de contenido de humedad).



**Figura 3.4:** Curva típica farinográfica (Adaptado de Norma IRAM 15855, 2000).

**Tiempo de desarrollo de la masa:** es el tiempo que transcurre desde el comienzo del agregado de agua hasta el punto superior o máximo de la curva, que es inmediatamente anterior a los primeros signos de disminución de la consistencia.

**Estabilidad:** se define como la diferencia, en tiempo y con aproximación de 0,5 min entre el punto en el cual el borde superior de la curva alcanza, por primera vez, la línea de 500 UF y el punto donde dicho borde deja la línea de 500 UF. Este valor está relacionado con la tolerancia de la harina al amasado.

**Aflojamiento:** es la diferencia en altura entre el centro de la curva al final del tiempo de desarrollo de la masa y el centro de la curva, 12 min después de este punto.

### 3.3.3. Alveograma (Norma IRAM 15857)

Este procedimiento se realizó en un alveógrafo de Chopin (Figura 3.5) que involucra el uso de aire a presión para inflar una burbuja a partir de un disco de masa hecho con harina, agua y sal en la amasadora del equipo, esta prueba permite simular el proceso de fermentación ya que evalúa la resistencia a una masa a ser expandida.

Para la realización de este ensayo es necesario utilizar una masa húmeda compuesta por 250 gramos de cada fracción con la adición de cloruro de sodio, la masa es cortada en discos de espesor pre-determinado que son sometidos a una presión de aire permitiendo la formación de una burbuja que es expandida hasta su punto de ruptura, mientras que un manómetro operado hidráulicamente registra la curva.



Figura 3.5: Alveógrafo de Chopin

Por lo general se realizan 5 replicados de los cuales se obtienen los siguientes parámetros promedio (Figura 3.6): distancia (mm) que la masa se estira antes de su ruptura ( $L$ ), resistencia al estiramiento medida como altura de pico ( $P$ ) y el área de la curva, que se utiliza para calcular el trabajo de deformación ( $W$ ). La resistencia al estiramiento ( $P$ ) expresa la máxima tenacidad de la masa a ser deformada y está asociada a su estabilidad.

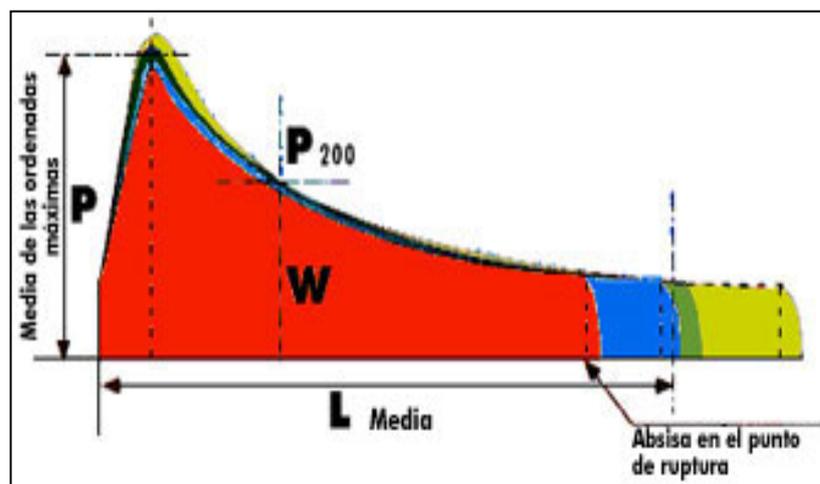


Figura 3.6: Curva típica de un alveograma (Fuente: [www.grupomolinero.com.ar](http://www.grupomolinero.com.ar))

La extensibilidad ( $L$ ) corresponde al momento en el que se rompe la masa produciéndose un descenso en la presión que se evidencia en la curva. El trabajo de deformación ( $W$ ) expresa la energía que fue necesaria para inflar la masa hasta su ruptura y se relaciona

con el potencial panadero; W es sustancialmente más alto en las harinas fuertes que en las débiles (Pomeranz, 1988).

### **3.3.4. Índice de retención de aguas alcalinas (IRAA)**

Este parámetro está relacionado directamente con la calidad panadera de las distintas fracciones. Se ha establecido que a mayor % IRAA es mejor la aptitud panadera (Ram y col., 2005). La determinación de este parámetro se realizó mediante el método AACC 56-10 (2000). Se utilizan tubos plásticos de centrifuga de 50 c.c. en los cuales se agrega 1 g de cada fracción ( $\pm 0.0001$  g) exactamente pesado y 5 ml. de solución de  $\text{NaHCO}_3$  0,1 N, se agita los tubos mediante vortex durante 5 segundos cada 5 minutos por un periodo de 20 minutos y se centrifuga a 1000 G por 20 minutos. Una vez descartado el sobrenadante, se escurre la muestra con ángulo de  $45^\circ$  durante 5 minutos. Se pesa la muestra hidratada.

Se calcula el Índice de retención de aguas alcalinas (IRAA), referido a un porcentaje de humedad de 14%, de acuerdo a la ecuación 3.11:

$$\%IRAA = \left[ \left( \frac{Mh}{M} \times \frac{86}{(100 - \%H)} \right) - 1 \right] \times 100 \quad (\text{Ecuación 3.11})$$

donde:

**Mh:** Peso de muestra hidratada.

**M:** masa de muestra

**% H:** Porcentaje de humedad

## **3.4. Caracterización de las fracciones proteicas**

### **3.4.1. Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)**

Esta técnica cromatográfica se basa en la separación selectiva de las proteínas una vez extraídas. La fase móvil es un eluyente que es inyectado en la columna a alta presión. El fundamento de la separación puede ser la distinta afinidad de las proteínas entre las fases sólidas y líquidas determinadas por interacciones.

La condición necesaria para aplicar la técnica es una adecuada extracción de los compuestos a separar, en este caso, las proteínas. Se efectuaron las extracciones según la siguiente metodología:

**a) Gliadinas**

Se colocan 100 mg de muestra con 1 ml de 1-propanol al 50% (v/v) en un vial para microcentrífuga de 2 ml y se somete a la acción del vortex por 5 minutos y luego a centrifugación a 14000 G por 5 minutos. Luego de la centrifugación se extrae el sobrenadante y se centrifuga por 30 minutos, una vez centrifugado se deja en cámara de 0°C por toda la noche, y al día siguiente se filtra y se coloca en viales para las mediciones de HPLC.

**b) Gluteninas**

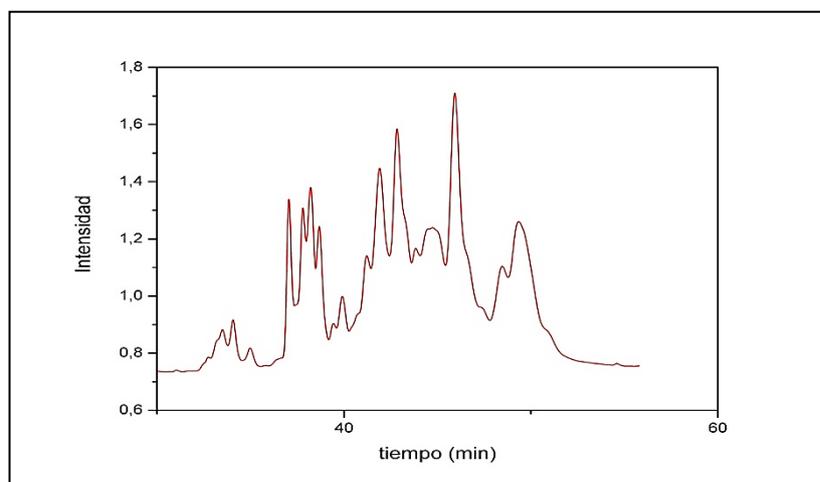
Sobre el precipitado de la extracción de gliadinas explicada en el ítem a) se realizó una nueva extracción con 1 ml de 1-propanol con 1% de DTT y se sometió luego a agitador vortex por 5 minutos y posteriormente a centrifugación a 14.000 G por 5 minutos. Luego de la centrifugación se extrajo el sobrenadante y se centrifugó por 30 minutos. Una vez centrifugado se dejó en cámara de 0°C por toda la noche y al día siguiente se filtró y colocó en viales para las mediciones de HPLC.

Una vez obtenidos los extractos de gliadinas y gluteninas se inyectaron 50 µL de cada uno en forma automática en un equipo Waters 1525 (Waters Corporation, Massachusetts, United States), utilizándose una Columna Shepasil Peptide C8 12 µm ST 4.6/250 (Pharmacia Biotech) sin pre-columna. Esta columna está diseñada para cromatografías preparativas en fase reversa, de péptidos, proteínas, oligonucleótidos y otras biomoléculas. El tamaño de poro de la sílica es estrecho (100 Å) lográndose también un efecto de tamiz molecular. Como fases móviles se usaron dos soluciones (A: acetonitrilo-agua 2:98 y B: acetonitrilo-agua 65:35, ambas con 650 µl/L de ác. trifluoroacético) que se mezclaron de acuerdo al esquema mostrado en la Tabla 3.3. El flujo fue de 1.1 ml/min y la presión de 600-800 Psi. El tiempo de corrida fue de 100 minutos. El detector utilizado fue UV a dos longitudes de onda, 210 y 280 nm.

**Tabla 3.3:** Cantidad de soluciones utilizada en la fase móvil para distintos tiempos.

| Tiempo (min) | A   | B   |
|--------------|-----|-----|
| 0            | 100 | 0   |
| 3            | 100 | 0   |
| 55           | 0   | 100 |
| 75           | 0   | 100 |
| 83           | 100 | 0   |
| 100          | 100 | 0   |

El equipo permite la obtención de las áreas relativas. En la Figura 3.7 se muestra un cromatograma típico obtenido.



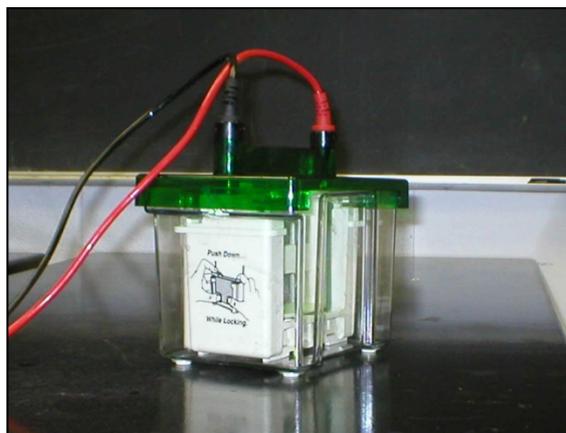
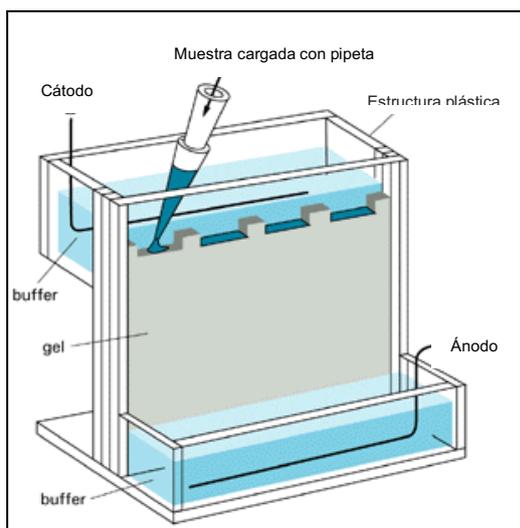
**Figura 3.7:** Ejemplo de cromatograma de fracciones proteicas HPLC

### **3.4.2. Electroforesis SDS-PAGE**

Este método tiene como objetivo separar macromoléculas según su tamaño y carga por medio de una matriz polimérica (gel) a través de la cual se hace pasar, en forma controlada, una corriente eléctrica. Entre los geles utilizados se destacan los de poliacrilamida, obtenidos por polimerización de acrilamida por acción de un agente de entrecruzamiento o crosslinkeante. Estos geles presentan la ventaja de ser químicamente inertes y mecánicamente estables, poseer uniformidad en sus propiedades y además pueden prepararse en forma rápida y reproducible. Los geles son transparentes, insolubles en agua, relativamente no iónicos. Las bandas de proteína ya teñidas se pueden visualizar durante un tiempo prolongado. Las condiciones de corrida pueden ser tanto nativas como desnaturalizantes.

En la primera condición no se utiliza agentes que puedan afectar la conformación de las proteínas. En el segundo caso se utilizan agentes disociantes (SDS-PAGE) o no disociantes, lo que determina los diferentes tipos de electroforesis (ALK-PAGE o ACID-PAGE). La técnica de SDS-PAGE involucra la utilización de dodecil-sulfato de sodio, un detergente que carga negativamente la superficie de la proteína por lo que el mayor o menor desplazamiento hacia el polo positivo dependerá exclusivamente de su tamaño. Este se puede calcular a partir de patrones de peso molecular conocido que se siembran en una calle de la misma placa.

En el presente trabajo, se utilizaron geles de poliacrilamida (10% continuo y 4% stacking). Como buffer de corrida se utilizó la siguiente solución: Glicina: (0,192M), Tris base (0,025 M), SDS (0,1%) en agua destilada. Se llevó a pH=8.3 con HCl concentrado. El buffer de muestra utilizado consistió en la dilución 1:2 del buffer de stacking con glicerol y el agregado de una pequeña cantidad (punta de espátula) de azul de bromofenol. Las condiciones de corrida fueron: voltaje 180 v, amperaje 30 amperios y tiempo de corrida de 40 a 60 minutos. El equipo utilizado se muestra en la Figura 3.8.



**Figura 3.8:** Equipo de electroforesis (Bio-Rad)

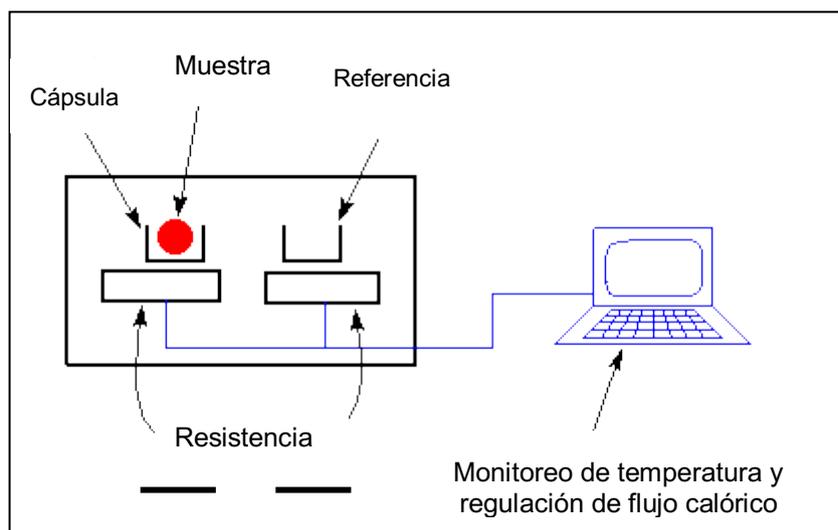
Para colorear los geles se utilizó una solución de Coomassie R (1,92 g en una solución de alcohol metílico: agua: acético (400:400:160)). Los geles se dejaron en colorante durante 12 horas y fueron luego decolorados con una solución de etanol: acético: agua (250:100:650). Se tomaron las imágenes de los geles con un equipo BioRad. Posteriormente los geles fueron colocados con solución de nitrato de plata lo que permitió visualizar bandas correspondientes a una menor concentración de proteína.

### **3.5. Ensayos sobre las masas preparadas con distintas fracciones de molienda**

#### **3.5.1. Calorimetría diferencial de barrido**

Mediante estos ensayos se evaluaron las transiciones térmicas sufridas por el almidón, es decir, la gelatinización y la retrogradación durante el almacenamiento.

Esta técnica consiste en someter a un calentamiento controlado a una muestra y una referencia (material inerte que no sufra ningún cambio físico o químico a las temperaturas de la prueba) registrándose el flujo calórico necesario para mantenerlas a una misma temperatura; dicho calentamiento se realiza en una celda especial adquiriéndose los datos mediante un software (Figura 3.9)



**Figura 3.9:** Esquema del calorímetro diferencial de barrido -DSC (Adaptado de Department of Polymer Science, University of Southern Mississippi)

Un cambio físico o químico que involucre cesión o absorción de energía será detectado como un pico en el termograma. De acuerdo a la dirección de los picos del termograma se puede inferir si se trata de un proceso exotérmico o endotérmico, así como el área bajo los mismos se relaciona con la variación de entalpía sufrida por la muestra en relación a la referencia.

Para el desarrollo de esta técnica se siguieron las siguientes etapas:

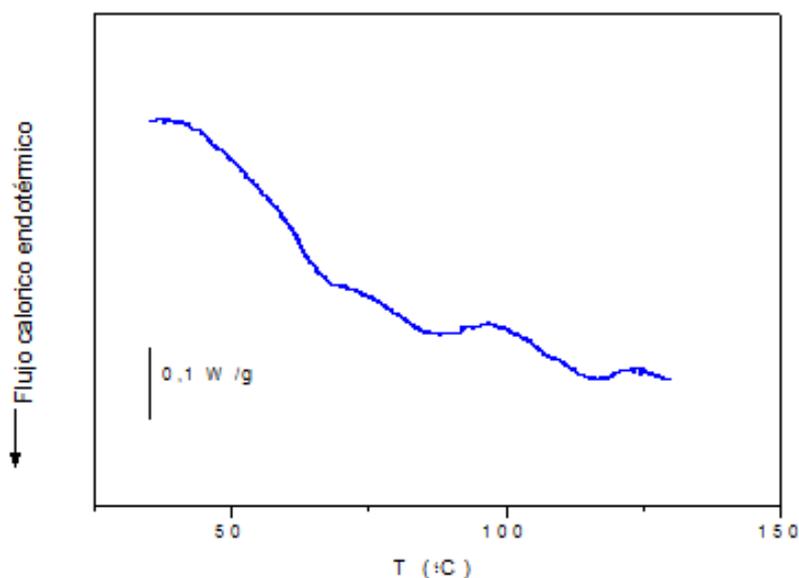
a) Preparación de las masas

Se pesaron 0,100 g de cada facción y se adicionó agua de acuerdo a la absorción farinográfica, se adicionó cloruro de sodio al 2% y en un micro-farinógrafo (Brabender, Duisburg, Alemania) se realizó la mezcla de acuerdo al tiempo de desarrollo establecido previamente en el farinograma.

b) Gelatinización del almidón

Se pesó la cápsula de aluminio vacía y se agregaron entre 7 – 15 mg de masa de cada fracción. Esta porción de masa fue sometida a calentamiento en el calorímetro diferencial de barrido (Q100 TA Instruments, Estados Unidos), aplicando un rango de temperatura de 10°C a 130°C y una velocidad de 10°C /min. Como referencia se utilizó una cápsula de aluminio vacía.

Durante este ensayo se evaluó la gelatinización del almidón, una de cuyas curvas típicas se muestra en la Figura 3.10. Considerando las temperaturas de inicio, de pico y final de cada uno de los cambios de entalpia. Los ensayos fueron realizados por duplicado.



**Figura 3.10:** Curva de DSC correspondiente a la fracción C3

### **3.5.2. Análisis de Perfil de Textura (Texture Profile Analysis-TPA)**

Para la realización del análisis de textura se utilizaron discos de masas preparadas con cada fracción, de 2 cm de diámetro y 1 cm de espesor. Se ensayaron 20 muestras por cada una de las fracciones analizadas. Las mismas permanecieron cubiertas y refrigeradas hasta la realización del ensayo, previo a lo cual se llevaron hasta temperatura ambiente. Para el análisis se utilizó el texturómetro TA-TX21i (Stable Micro Systems, Godalming U.K.). El equipo consta de una celda de 5 kg, acoplado al software Texture Expert para Windows, versión 1.2. (Figura 3.11).

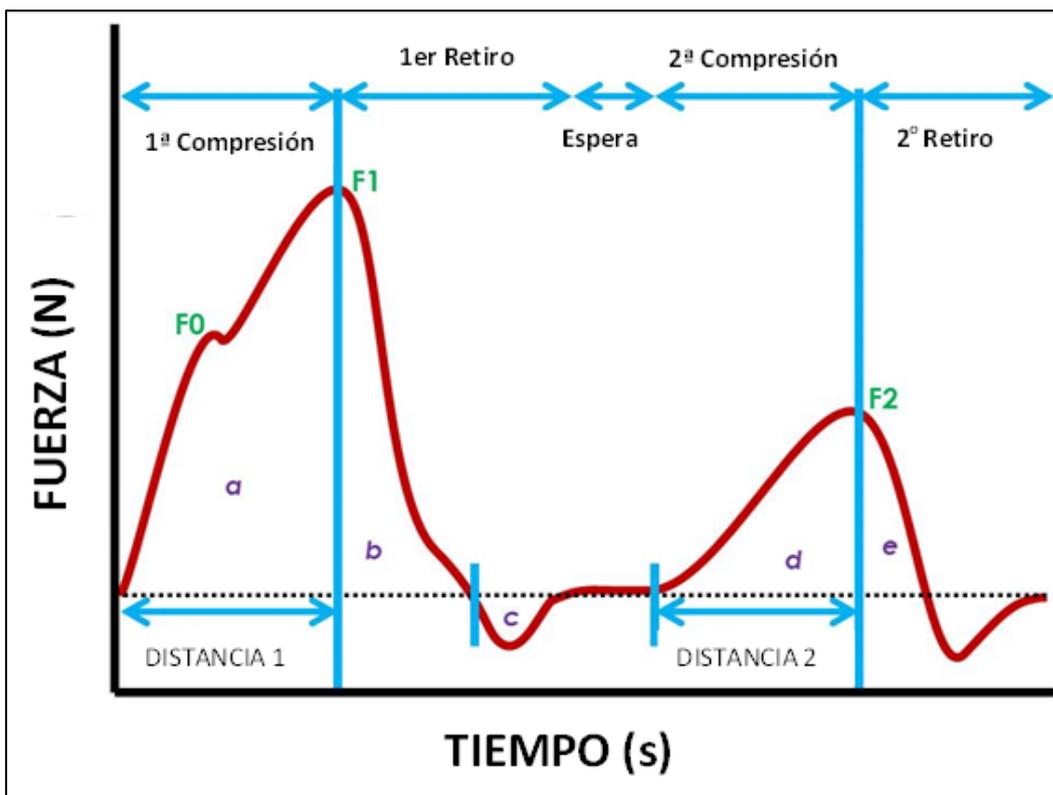
Se realizaron ensayos de compresión con una sonda cilíndrica de sección plana cuyo diámetro es de 7,5 cm. El análisis del perfil de textura (T.P.A.) fue efectuado aplicando un 70% de compresión, con una velocidad de desplazamiento de la sonda de 0,5.

En la Figura 3.12 se muestra un perfil de textura típico de un alimento, indicando cómo se calculan los diferentes parámetros.



**Figura 3.11:** Analizador de textura TA-TX21i. Stable Micro Systems

La dureza se define como la fuerza máxima durante el primer ciclo de compresión ( $F_1$  en el gráfico). La adhesividad es el área negativa que se encuentra posterior al primer ciclo de compresión (Área c). La cohesividad se encuentra expresada por el cociente entre el área positiva del segundo ciclo de compresión (Área d+e) y el área positiva del primer ciclo (Área a+b) siendo adimensional. Este parámetro se relaciona con las interacciones que mantienen unidos los componentes del sistema. La elasticidad, relacionada con la capacidad de recuperación de la masa después de aplicar una compresión se define como el cociente entre la distancia entre el inicio del segundo ciclo y el máximo (DISTANCIA 2) respecto a la distancia entre el inicio del primer ciclo y el máximo respectivo (DISTANCIA 1). Como en el caso anterior también es adimensional.



**Figura 3.12:** Esquema básico de un TPA con dos ciclos de compresión (Adaptado de <https://www.rheologylab.com/services/texture-analysis/>)

### 3.6. Programa estadístico Minitab

Minitab 17 es un software estadístico que permite el procesamiento de datos y su respectivo análisis estadístico. Dentro de las principales funcionalidades de este software se encuentran: realización de gráficos, diseño experimental, análisis de parámetros estadísticos, generación de informes. Para el presente trabajo se lo utilizó para la determinación del análisis de varianza (ANOVA), usando el test LSD de Fisher con un nivel de 95% de confianza para la determinación de diferencias significativas entre medias (prueba post hoc). Para el análisis de componentes principales se utilizó el mismo software.

## 4. Resultados

### 4.1. Tamaño de partícula

Las diferentes etapas del proceso de molienda, van generando fracciones de granulometría y composición diferente, de acuerdo al nivel de procesamiento al que hayan sido sometidas. En la Tabla 4.1 se muestran los porcentajes de retención en diferentes tamices de las fracciones de molienda analizadas. Las mismas que han sido divididas en Roturas (R), Primeros Lisos (PL) y Últimos Lisos (UL), de acuerdo a la etapa del proceso correspondiente.

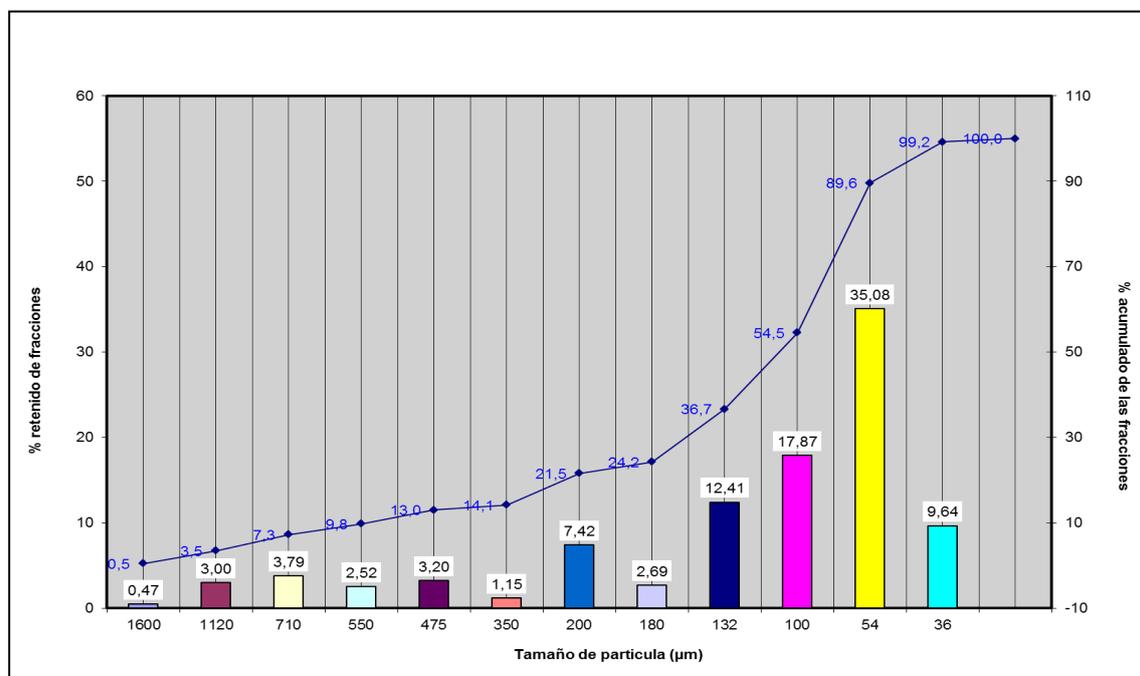
**Tabla 4.1** Granulometría de las fracciones de molienda correspondiente a R, PL y UL (Fuente: Molinos Campodónico) (expresada como % p/p)

| ROTURAS    |       |           |           |         |         |
|------------|-------|-----------|-----------|---------|---------|
| Fracciones | > 180 | 179 a 132 | 131 a 100 | 99 a 54 | 53 a 36 |
|            | μm    |           |           |         |         |
| Div 1      | 12,3  | 14,7      | 17,4      | 44,3    | 10,9    |
| T3         | 12,3  | 14,7      | 17,4      | 44,3    | 10,9    |
| Div 2      | 11,0  | 25,4      | 17,6      | 35,7    | 9,5     |
| T4         | 0,8   | 7,6       | 19,5      | 61,6    | 9,7     |
| T5         | 2,2   | 5,8       | 14,7      | 70,5    | 5,0     |
| D1/D2      | 4,5   | 10,1      | 16,0      | 58,2    | 9,2     |
| REP        | 2,2   | 16,4      | 29,0      | 40,9    | 10,4    |
| DF/CEP     | 2,0   | 4,5       | 10,8      | 64,8    | 17,2    |

| PRIMEROS LISOS |       |           |           |         |         |
|----------------|-------|-----------|-----------|---------|---------|
| Fracciones     | > 180 | 179 a 132 | 131 a 100 | 99 a 54 | 53 a 36 |
|                | μm    |           |           |         |         |
| C1(A-a)        | 0,5   | 0,9       | 12,4      | 55,8    | 28,1    |
| C1(A-b)        | 8,1   | 34,0      | 34,7      | 18,1    | 4,3     |
| C1(A-b)        | 0,6   | 2,1       | 17,6      | 56,7    | 21,9    |
| C1(B-b)        | 0,4   | 10,7      | 60,3      | 22,7    | 4,6     |
| C2-1 (a-b)     | 0,3   | 3,0       | 24,7      | 54,2    | 15,9    |
| C2-2 ( ab)     | 0,4   | 1,2       | 15,3      | 58,7    | 22,1    |
| C2c (1-2)      | 0,1   | 18,9      | 63,1      | 14,6    | 1,4     |

| ULTIMOS LISOS |               |           |           |         |         |
|---------------|---------------|-----------|-----------|---------|---------|
| Fracciones    | > 180         | 179 a 132 | 131 a 100 | 99 a 54 | 53 a 36 |
|               | $\mu\text{m}$ |           |           |         |         |
| C3            | 4,3           | 18,0      | 23,9      | 37,6    | 13,6    |
| C4a           | 1,2           | 15,7      | 29,8      | 40,2    | 11,6    |
| C4b           | 7,3           | 71,4      | 17,8      | 1,7     | 0,6     |
| C5            | 2,7           | 12,6      | 20,3      | 48,3    | 15,5    |
| C6            | 2,6           | 9,9       | 23,2      | 49,8    | 14,0    |
| C7            | 1,0           | 7,0       | 20,8      | 56,4    | 14,1    |
| C9            | 2,8           | 6,0       | 22,2      | 56,5    | 11,9    |

En la Figura 4.1 se muestran los resultados en porcentaje retenido (en peso) en los distintos tamices para la totalidad de las fracciones de molienda. Los valores en el eje de las abscisas indican el tamaño de abertura del tamiz (en micrones), indicándose sobre cada columna el porcentaje parcial retenido para ese tamaño de poro (eje de la izquierda) y el porcentaje acumulado (eje de la derecha). Del gráfico se desprende que un 75 % del total en peso del producto de molienda tiene un tamaño de partícula superior a 36 e inferior a 180 micrones.

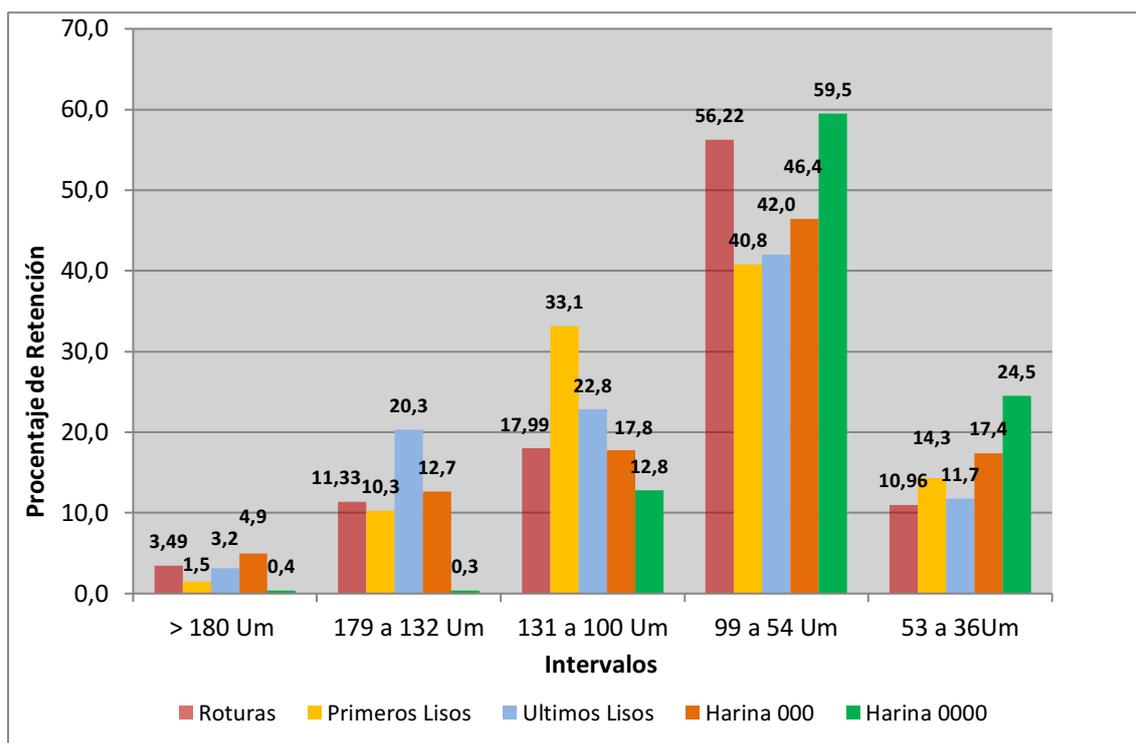


**Figura 4.1.** Distribución de tamaño de partícula de las fracciones de molienda

En la Figura 4.2 se analizan el porcentaje de retención en cinco rangos de tamaño, agrupando las fracciones en Roturas, Primeros Lisos y Ultimos Lisos.

Se observa que alrededor del 70% del peso retenido de las diferentes fracciones se encuentra entre un tamaño de partícula de 36 y 132 micrones. La harina 000 presenta características granulométricas muy similares a los Ultimos Lisos, aproximadamente el 80% en peso de las partículas se encuentran entre 36 y 131  $\mu\text{m}$ . La harina 0000 presenta una granulometría más fina (menor tamaño de partícula) es más blanca y de menor contenido de cenizas que la harina 000 (Barrera y col., 2012).

Respecto a la influencia del tamaño de partícula en la calidad de masas y panes, Sakhare y col. (2014) informaron que fracciones de harina de granulometría más fina exhibían un gluten más fuerte y la masa presentaba un mayor balance de elasticidad y extensibilidad en comparación con fracciones más gruesas. Las fracciones más finas producían panes con textura más suave y mejores características sensoriales.



**Figura 4.2.** Distribución de tamaño de partícula para las fracciones R, PL, UL y harinas

## 4.2. Humedad y cenizas

En la Tabla 4.2 se muestran los datos de humedad y cenizas proporcionados por el Molino Campodónico para cada fracción. La humedad para todas las fracciones osciló entre 13,72% (que corresponde a una de las fracciones de los Últimos Lisos) y 15,45% (correspondiente a una fracción de las Roturas). El promedio de humedad del conjunto de las R fue 14,89% ( $\pm 0,18$ ) mientras que el promedio de los PL fue 14,64% ( $\pm 0,07$ ) y el de los UL, 14,22% ( $\pm 0,12$ ).

Al agrupar los valores según las fracciones (Roturas, Primeros Lisos, Últimos Lisos) se observa una ligera disminución del contenido de humedad a medida que se avanza en el proceso de molienda (de R a UL), debido a que el calentamiento de las harinas debido a la fricción de los rodillos conduce a una mayor evaporación de agua.

**Tabla 4.2** Porcentaje de Humedad de las fracción de molienda correspondientes a R, PL, UL y productos (Datos proporcionados por el Molino Campodónico).

| CONTENIDO DE HUMEDAD |              |                |              |              |              |           |       |
|----------------------|--------------|----------------|--------------|--------------|--------------|-----------|-------|
| ROTURAS              |              | PRIMEROS LISOS |              | ÚLTIMOS LISO |              | PRODUCTOS |       |
| Fracción             | Valor<br>%   | Fracción       | Valor<br>%   | Fracción     | Valor<br>%   | Fracción  | Valor |
| Div 1                | 15,32        | C1A-a          | 14,59        | C3           | 14,69        | H3        | 14,59 |
| T3                   | 15,45        | C1A-b          | 15,01        | C4a          | 14,32        | H4        | 14,70 |
| Div 2                | 15,41        | C1B-a          | 14,63        | C4b          | 14,17        |           |       |
| T4                   | 14,43        | C1B-b          | 14,43        | C5           | 14,03        |           |       |
| T5                   | 14,54        | C2-1(a-b)      | 14,6         | C6           | 14,62        |           |       |
| Rep                  | 14,48        | C2-2(a-b)      | 14,55        | C7           | 13,72        |           |       |
| DF/Dcep              | 14,57        | C2-c(1-2)      | 14,03        | C8           | 13,97        |           |       |
|                      |              |                |              | C9           | 14,42        |           |       |
| <b>Promedio</b>      | <b>14,90</b> |                | <b>14,64</b> |              | <b>14,22</b> |           |       |

Por otra parte, el contenido de cenizas de las distintas fracciones presenta un rango que va desde 2,10 para la fracción T5 a 0,37 % para la fracción C1A-b (Tabla 4.3). Al agrupar las fracciones en R, PL y UL, se puede observar que para las R el promedio de 1,21% ( $\pm 0,19$ ), que es superior a los valores presentados por el resto de fracciones, esto se debe a la mayor presencia de salvado en esta fracción, los PL presentan un promedio de 0,42% ( $\pm 0,02$ ) y 0,81% ( $\pm 0,10$ ) para UL.

En concordancia con el valor establecido por el Código Alimentario Argentino (CAA - 1995), los primeros lisos y harina 0000 presentaron valores inferiores a 0,492, valor estipulado por este código para el contenido de cenizas, mientras que las harinas 000 y UL presentaron valores ligeramente superiores al máximo establecido por el CAA (0,650), indicando probablemente un cierto grado de contaminación con salvado.

**Tabla 4.3:** Porcentaje de cenizas de las fracciones de molienda correspondientes a R, PL, UL y producto. (Datos proporcionados por el Molino Campodónico).

| CONTENIDO DE CENIZA |       |                |       |               |       |           |       |
|---------------------|-------|----------------|-------|---------------|-------|-----------|-------|
| ROTURAS             |       | PRIMEROS LISOS |       | ÚLTIMOS LISOS |       | PRODUCTOS |       |
| Fracción            | Valor | Fracción       | Valor | Fracción      | Valor | Fracción  | Valor |
|                     | %     |                | %     |               | %     |           | %     |
| Div 1               | 0,73  | C1A-a          | 0,45  | C3            | 0,58  | H3        | 0,75  |
| T3                  | 0,83  | C1A-b          | 0,37  | C4a           | 0,53  | H4        | 0,43  |
| Div 2               | 0,81  | C1B-a          | 0,41  | C4b           | 0,75  |           |       |
| T4                  | 1,67  | C1B-b          | 0,39  | C5            | 0,90  |           |       |
| T5                  | 2,10  | C2-1(a-b)      | 0,41  | C6            | 0,68  |           |       |
| Rep                 | 1,18  | C2-2(a-b)      | 0,48  | C7            | 0,88  |           |       |
| DF/Dcep             | 1,13  | C2-c(1-2)      | 0,42  | C8            | 1,35  |           |       |
|                     |       |                |       | C9            | 0,74  |           |       |

### 4.3. Contenido de almidón dañado

El porcentaje de almidón dañado (AD) contenido en una harina es un parámetro de calidad de la misma ya que la cantidad de agua absorbida por la harina dependerá no solo de la cantidad de proteínas de gluten sino de la cantidad de AD (a mayor porcentaje de almidón dañado, mayor absorción de agua) y esto a su vez influirá sobre las características de la masa.

Durante el proceso de molienda se produce el daño mecánico de parte de los gránulos de almidón, los que son capaces de absorber agua en mayor proporción y son susceptibles al ataque de enzimas amilolíticas contenidas en el propio grano. Durante la preparación de la masa, la  $\alpha$ -amilasa comienza a fraccionar las largas cadenas de amilosa y amilopectina, estas enzimas liberan así glucosa y maltosa que serán el sustrato de la levadura durante el

proceso de fermentación, lo cual incrementa la cantidad de gas formado y por lo tanto el volumen de pan.

Una proporción normal y adecuada es de un 5 a 10 % de AD. Un mayor contenido de AD, producirá una mayor absorción de agua por parte de la masa formada generando un efecto negativo sobre las propiedades reológicas de la masa. La cantidad de AD está relacionada directamente con el Índice de Retención de Aguas Alcalina y no presenta una correlación con la cantidad de gluten húmedo (Barrera y col., 2007).

Se observa que los niveles de almidón dañado fueron mayores a medida que se avanza en el proceso de molienda; debido a la mayor exposición a la acción mecánica, por lo tanto se obtuvieron valores más altos para las fracciones obtenidas de los UL. Los valores promedio fueron: 7,25 ( $\pm 0,68$ ); 7,98 ( $\pm 0,52$ ) y 9,05 ( $\pm 0,37$ ) para roturas, primeros y últimos lisos respectivamente. (Tabla 4.4).

Dentro de las roturas, las fracciones T3/T4 y DIV 1 y 2 presentaron el menor contenido de AD, mientras que T5 y DF/CEP y REP exhibieron el mayor contenido, con valores mayores al 8% (Tabla 4.4). Las muestras con mayor contenido de AD en los PL fueron C1Aa, C2-2(a-b) y C2-1(a-b), lo que está directamente relacionado con la posición de estos rodillos en el tren de molienda.

**Tabla 4.4.** Porcentajes de almidón dañado de R, PL, UL y productos. (Dentro de cada grupo, las letras iguales dentro de una misma columna representan valores que no son significativamente diferentes entre sí,  $P > 0.05$ )

| CONTENIDO DE ALMIDÓN DAÑADO |   |                |   |               |   |           |                     |
|-----------------------------|---|----------------|---|---------------|---|-----------|---------------------|
| ROTURAS                     |   | PRIMEROS LISOS |   | ÚLTIMOS LISOS |   | PRODUCTOS |                     |
| Fracción                    | Valor<br>%                                  | Fracción       | Valor<br>%                                  | Fracción      | Valor<br>%                                  | Fracción  | Valor<br>%          |
| Div 1                       | 5,30<br>$\pm 0,20$ c                        | C1A-a          | 9,10<br>$\pm 0,10$ a                        | C3            | 9,10<br>$\pm 0,13$ ab                       | H4        | 12,69<br>$\pm 0,08$ |
| T3                          | 5,80<br>$\pm 0,04$ c                        | C1A-b          | 6,20<br>$\pm 0,06$ c                        | C4a           | 9,50<br>$\pm 0,05$ ab                       | H3        | 10,45<br>$\pm 0,06$ |
| Div 2                       | 5,80<br>$\pm 0,10$ c                        | C1B-b          | 7,00<br>$\pm 0,10$ bc                       | C4b           | 8,70<br>$\pm 0,25$ ab                       | Sémola    | 10,25<br>$\pm 0,05$ |
| T4                          | 6,60<br>$\pm 0,10$ bc                       | C2-1(a-b)      | 9,10<br>$\pm 0,10$ a                        | C5            | 9,50<br>$\pm 0,16$ a                        |           |                     |
| T5                          | 9,50<br>$\pm 0,13$ a                        | C2-2(a-b)      | 9,10<br>$\pm 0,01$ a                        | C6            | 7,9<br>$\pm 0,03$ b                         |           |                     |
| Rep                         | 8,30<br>$\pm 0,12$ ab                       | C2-c(1-2)      | 7,40<br>$\pm 0,30$ b                        | C7            | 10,7<br>$\pm 0,01$ ab                       |           |                     |
| DF/Dcep                     | 9,50<br>$\pm 0,01$ a                        |                |   | C9            | 7,9<br>$\pm 0,09$ b                         |           |                     |
| <b>Promedio</b>             | <b>7,25</b><br><b><math>\pm 0,68</math></b> |                | <b>7,98</b><br><b><math>\pm 0,52</math></b> |               | <b>9,05</b><br><b><math>\pm 0,37</math></b> |           |                     |

Los Últimos Lisos procesan la harina proveniente de los primeros lisos, por lo que el contenido de AD es elevado, llegando C7 a tener casi un 11%. Este hecho indica que en esta etapa de molienda, estas fracciones ya cuentan con un elevado grado de rotura. La harinas 0000 tienen un mayor contenido de almidón dañado que la harina 000, debido a que es una harina con menor contenido de impurezas (menor contenido de cenizas).

#### **4.4. Contenido de Proteínas**

Como se mencionó anteriormente las proteínas de trigo se pueden clasificar en albúminas, globulinas y proteínas de reserva, gliadinas y gluteninas, siendo estas últimas las que forman en presencia de suficiente agua y bajo acción mecánica la red de gluten (Schofield y Booth, 1983; Gianibelli y col., 2001; Wieser, 2007). Gliadinas y gluteninas corresponden aproximadamente al 80% del contenido proteico total.

En la Tabla 4.5 se muestran los resultados para las distintas fracciones. Se observa un contenido promedio de proteínas más alto en las fracciones correspondientes a las R, mientras que en los PL y en los UL el contenido fue similar entre sí pero con una tendencia a valores un poco más elevados para los UL.

Las fracciones correspondientes a UL presentaron un mayor contenido de proteínas debido a que reciben aportes directos desde las Roturas sin pasar por los PL, como se puede apreciar en la Figura 3.1 del capítulo 3 del presente trabajo.

El contenido de proteína del grano se va perdiendo a medida que se produce la molienda, de las roturas a los últimos lisos, aunque esta pérdida es menor que la de otros componentes (lípidos, minerales, fibra) (Ronayne y col., 2009). Sin embargo la pérdida de proteína no es uniforme para todas las fracciones sino que el grano queda enriquecido en proteínas de gluten (gliadinas y gluteninas) que son las que incidirán en la calidad panadera del producto final.

Una harina 000 es aquella que proviene principalmente de los UL y se utiliza para panificación, tiene mayor contenido de ceniza y proteína que una harina 0000; la harina 0000 es una harina más fina que sirve para tipos de panificados específicos, como el pan tipo viena, de fermentación corta. La sémola y la semolina, que se usan para pastas, poseen menor contenido de proteína (< 10,5%).

**Tabla 4.5.** Porcentajes de proteínas de R, PL, UL y productos. (Las letras iguales representan valores que no son significativamente diferentes dentro de cada grupo con  $P>0,05$ )

| PORCENTAJE PROTEÍNAS |                               |                |                               |               |                               |           |               |
|----------------------|-------------------------------|----------------|-------------------------------|---------------|-------------------------------|-----------|---------------|
| ROTURAS              |                               | PRIMEROS LISOS |                               | ÚLTIMOS LISOS |                               | PRODUCTOS |               |
| Fracción             | Valor                         | Fracción       | Valor                         | Fracción      | Valor                         | Fracción  | Valor         |
| Div 1                | 10,96<br>±0,06 f              | C1A-a          | 9,78<br>±0,01 e               | C3            | 10,55<br>±0,04 c              | H4        | 10,7<br>±0,05 |
| T3                   | 13,57<br>±0,06 c              | C1A-b          | 9,88<br>±0,11 e               | C4a           | 10,19<br>±0,01 d              | H3        | 7,9<br>±0,03  |
| Div 2                | 11,82<br>±0,06 e              | C1B-b          | 10,13<br>±0,02 d              | C4b           | 10,13<br>±0,04 d              | Sémola    | 2,5<br>±0,05  |
| T4                   | 14,55<br>±0,04 b              | C2-1(a-b)      | 10,32<br>±0,07 c              | C5            | 11,52<br>±0,04 a              |           |               |
| T5                   | 15,26<br>±0,01 a              | C2-2(a-b)      | 10,57<br>±0,01 b              | C6            | 11,08<br>±0,08 b              |           |               |
| Rep                  | 12,57<br>±0,07 d              | C2-c(1-2)      | 11,29<br>±0,03 a              | C7            | 11,16<br>±0,08 b              |           |               |
| DF/Dcep              | 13,56<br>±0,12 c              |                |                               | C9            | 11,19<br>±0,03 b              |           |               |
| <b>Promedio</b>      | <b>13,18</b><br><b>± 0,57</b> |                | <b>10,32</b><br><b>± 0,22</b> |               | <b>10,83</b><br><b>± 0,20</b> |           |               |

Por lo general las muestras R, presentaron en promedio mayor porcentaje de proteína total (13,18) en comparación con lo obtenido para PL y UL (10,32 y 10,83, respectivamente). Estas fracciones al no estar exentas aun de restos de capas externas del grano contienen más proteínas y cenizas

#### 4.5. Gluten húmedo y gluten seco

Cuando se analizan los valores de gluten húmedo y seco se observa que para las Roturas, tres de las fracciones no forman gluten (“no arman gluten”) cuando son sometidas al ensayo en el Glutomatic, esto quiere decir que no serán panificables. Estas fracciones son T4, T5 y REP, que de acuerdo al esquema de molienda (Figura 2.1) no continúan en el proceso de molienda. El resto de las fracciones si arman gluten y el valor promedio de gluten seco GS es 10,8 (±0.53) mientras que la relación GH/GS=2,7. (Tabla 4.6)

Para las fracciones de los PL, se observa un promedio de GS es 9,10 ( $\pm 0,08$ ) y la relación GH/GS es 2,8; todas las fracciones correspondientes a este grupo son capaces de formar una red de gluten en el ensayo (“arman gluten”). De las fracciones obtenidas de los UL, dos no arman gluten; de las fracciones que si lo hacen, el promedio de GS es 9,4 ( $\pm 0,09$ ) y la relación GH/GS es 2,6. Las harinas H3 y H4 tienen GS= 10,4 y 8,9 respectivamente. La relación GH/GS en ambos casos es 2,7 y 2,8, respectivamente.

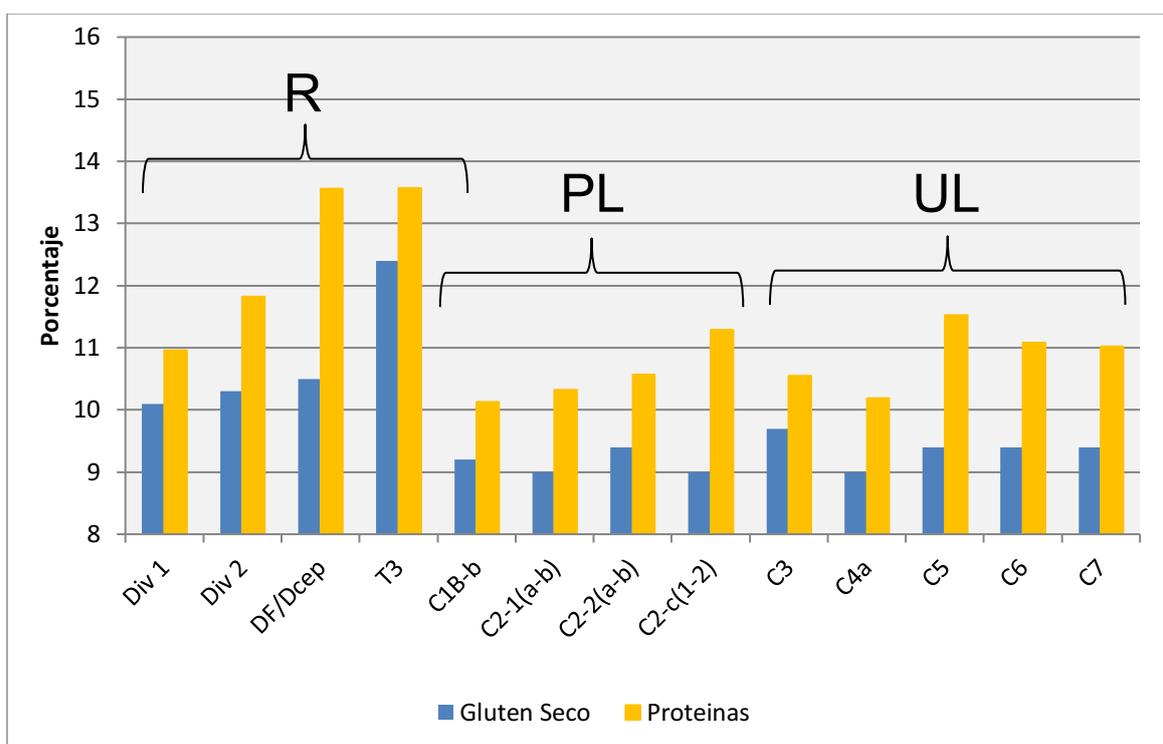
**Tabla 4.6.** Contenido de Gluten húmedo y seco para Roturas, Primeros Lisos y Últimos Lisos y productos.

| GLUTEN HÚMEDO Y GLUTEN SECO |               |             |            |                |               |             |            |
|-----------------------------|---------------|-------------|------------|----------------|---------------|-------------|------------|
| ROTURAS                     |               |             |            | PRIMEROS LISOS |               |             |            |
| Fracción                    | Gluten Húmedo | Gluten Seco | GH/GS      | Fracción       | Gluten Húmedo | Gluten Seco | GH/GS      |
| Div 1                       | 27,0          | 10,1        | 2,7        | C1A-a          | 24,9          | 9,2         | 2,7        |
| T3                          | 33,0          | 12,4        | 2,7        | C1A-b          | 24,3          | 8,7         | 2,8        |
| Div 2                       | 28,2          | 10,3        | 2,7        | C1B-b          | 25,2          | 9,2         | 2,7        |
| T4                          | NO ARMA       |             |            | C2-1(a-b)      | 25,4          | 9,0         | 2,8        |
| T5                          | NO ARMA       |             |            | C2-2(a-b)      | 26,1          | 9,4         | 2,8        |
| Rep                         | NO ARMA       |             |            | C2-c(1-2)      | 25,6          | 9,0         | 2,8        |
| DF/Dcep                     | 28,4          | 10,5        | 2,7        |                |               |             |            |
| <b>Promedio</b>             | <b>29,2</b>   | <b>10,8</b> | <b>2,7</b> |                | <b>25,3</b>   | <b>9,1</b>  | <b>2,8</b> |

| GLUTEN HÚMEDO Y GLUTEN SECO |               |             |            |           |               |             |       |
|-----------------------------|---------------|-------------|------------|-----------|---------------|-------------|-------|
| ÚLTIMOS LISOS               |               |             |            | PRODUCTOS |               |             |       |
| Fracción                    | Gluten Húmedo | Gluten Seco | GH/GS      | Fracción  | Gluten Húmedo | Gluten Seco | GH/GS |
| C3                          | 24,8          | 9,7         | 2,6        | H4        | 25,2          | 8,9         | 2,83  |
| C4a                         | 25,1          | 9,0         | 2,8        | H3        | 28,4          | 10,4        | 2,73  |
| C4b                         | NO ARMA       |             |            | Sémola    | NO ARMA       |             |       |
| C5                          | 24,5          | 9,4         | 2,6        |           |               |             |       |
| C6                          | 24,6          | 9,4         | 2,6        |           |               |             |       |
| C7                          | 24,5          | 9,4         | 2,6        |           |               |             |       |
| C9                          | NO ARMA       |             |            |           |               |             |       |
| <b>Promedio</b>             | <b>24,7</b>   | <b>9,4</b>  | <b>2,6</b> |           |               |             |       |

Se observa que la cantidad de GS disminuye ligeramente a lo largo del proceso de molienda. También se observan ligeras variaciones en la relación GH/GS. La tendencia a valores de GH/GS de las fracciones correspondientes a PL indicaría una mejor hidratación de las proteínas de gluten en estas fracciones, lo que es deseable ya que se relaciona con una mejor calidad panadera.

En general las harinas con mayor contenido de proteínas suelen presentar mayor cantidad de gluten seco (Pomeranz, 1988). En concordancia, en el presente trabajo se pudo observar una correlación positiva ( $R^2 = 0,90$ ) entre los promedios obtenidos de proteína total y de gluten seco para cada uno de los grupos de las distintas fracciones (R, PL y UL). En la Figura 4.3 se muestran en forma comparativa los resultados de proteína total y gluten seco para las distintas fracciones donde se pudo observar una correlación positiva ( $R^2 = 0,90$ ).



**Figura 4.3.** Contenido de Gluten Seco y Proteínas para las fracciones de roturas (R), primeros lisos (PL) y (últimos lisos) UL.

#### **4.6. Análisis de las proteínas de las distintas fracciones de molienda por RP-HPLC y SDS-PAGE**

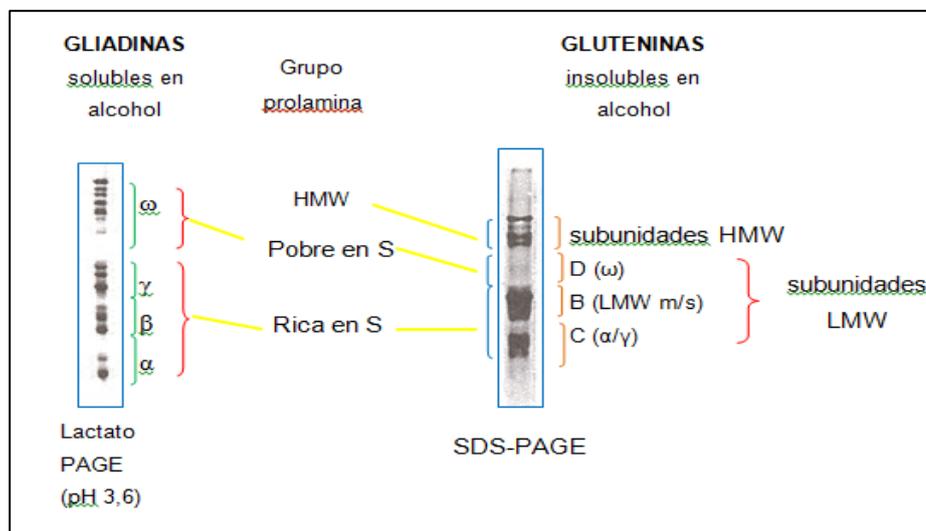
La cromatografía líquida de alta performance (HPLC) permite la separación de las proteínas de gluten utilizando fase reversa (RP-HPLC) o columnas de intercambio iónico. Las de fase reversa son las más ampliamente usadas. La separación en estas condiciones se basa tanto en el tamaño como en la hidrofobicidad de la proteína. Un mayor tiempo de retención indica una mayor hidrofobicidad de la muestra. También hay un efecto de tamiz molecular, las de menor tamaño tienen mayores tiempos de retención. O sea que el tiempo de retención resultará de un compromiso entre ambas características de la muestra: hidrofobicidad y tamaño.

En el presente trabajo, las gliadinas se separaron de cada fracción de molienda por extracción con 1-propanol 50%, y posteriormente, con dicho solvente más DTT 1%, se extrajeron las gluteninas. Los extractos se analizaron por RP-HPLC, para analizar la naturaleza de las proteínas presentes en cada fracción. Las diferentes fracciones colectadas en distintos rangos de tiempo de retención fueron analizadas por SDS-PAGE. Esta técnica permite separar y determinar las masas moleculares de las distintas proteínas disueltas en un extracto, considerando su movilidad sobre un gel de poliacrilamida al ser sometidas a un campo eléctrico.

Para el desarrollo de electroforesis SDS-PAGE se utiliza el dodecil sulfato de sodio (SDS) es un detergente aniónico que proporciona una densidad de carga uniforme a las proteínas, lo que permite separación por diferencia de masa. El SDS desnatura por completo las proteínas, rompiendo las uniones no covalentes que permiten la estructura terciaria y cuaternaria de las mismas. Los grupos sulfatos del dodecil sulfato de sodio se orientan hacia la superficie, generando complejos SDS-proteína con carga neta negativa y los grupos alifáticos dodecil sulfato de sodio, se orientan hacia el interior. Por otro lado el  $\beta$ -mercaptoetanol ( $\beta$ -ME) o el ditioneitol (DTT) son agentes que reducen los puentes disulfuro, produciendo la desnaturación de las proteínas por disociación en subunidades o polipéptidos de menor tamaño molecular.

De esta forma la gliadinas y gluteninas de las diferentes fracciones de molienda fueron desnaturadas y reducidas previamente con SDS y DTT antes del análisis electroforético.

En el Capítulo 1 del presente trabajo se describió que las proteínas formadoras de gluten se pueden ser clasificadas en distintas sub-fracciones que presentan diferente movilidad electroforética. En la Figura 4.4 se presenta un esquema de la ubicación relativa de las distintas subunidades en geles de lactato (SDS-PAGE).

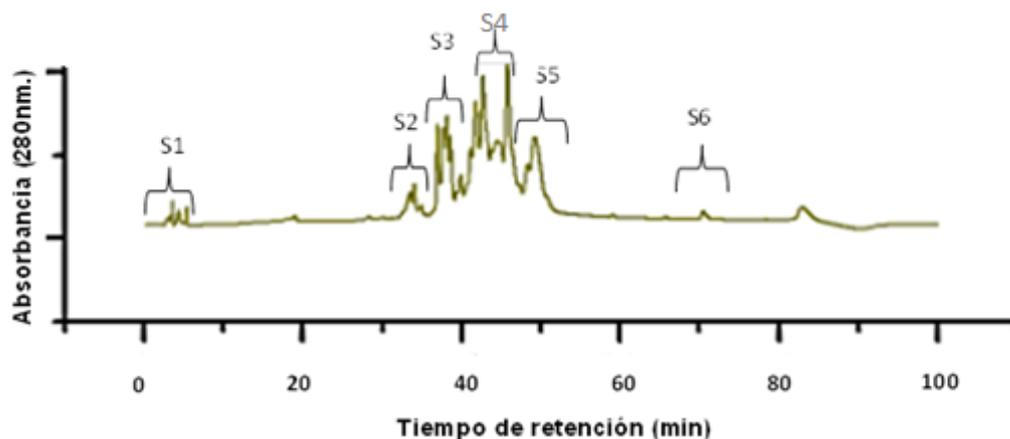


**Figura 4.4:** Clasificación de las proteínas de gluten de trigo separadas por electroforesis SDS-PAGE y a pH ácido. Reproducido de Linlaud (2014).

### Gliadinas

Como ya se mencionó en el Capítulo 1 (sección 1.3.7.1.1) del presente trabajo, existe una diferencia importante entre el peso molecular de la gliadinas y de las gluteninas. La **SDS-PAGE** permite la separación de subunidades de estas proteínas mediante movilidad electroforética, permitiendo evidenciar las subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\omega$  gliadinas (Shewry, 2003).

Cada uno de los cromatogramas obtenidos fue dividido en subsecciones (S1 a S6) según el tiempo de retención ( $t_r$ ) (Fig. 4.5) para permitir una mejor comparación entre productos (sémola, harinas) y las fracciones de molienda seleccionadas. Cada subsección S corresponde a un determinado intervalo de tiempos de retención. Dentro de cada subsección se calcularon los porcentajes de área los picos presentes, refiriéndolos al área total del cromatograma.

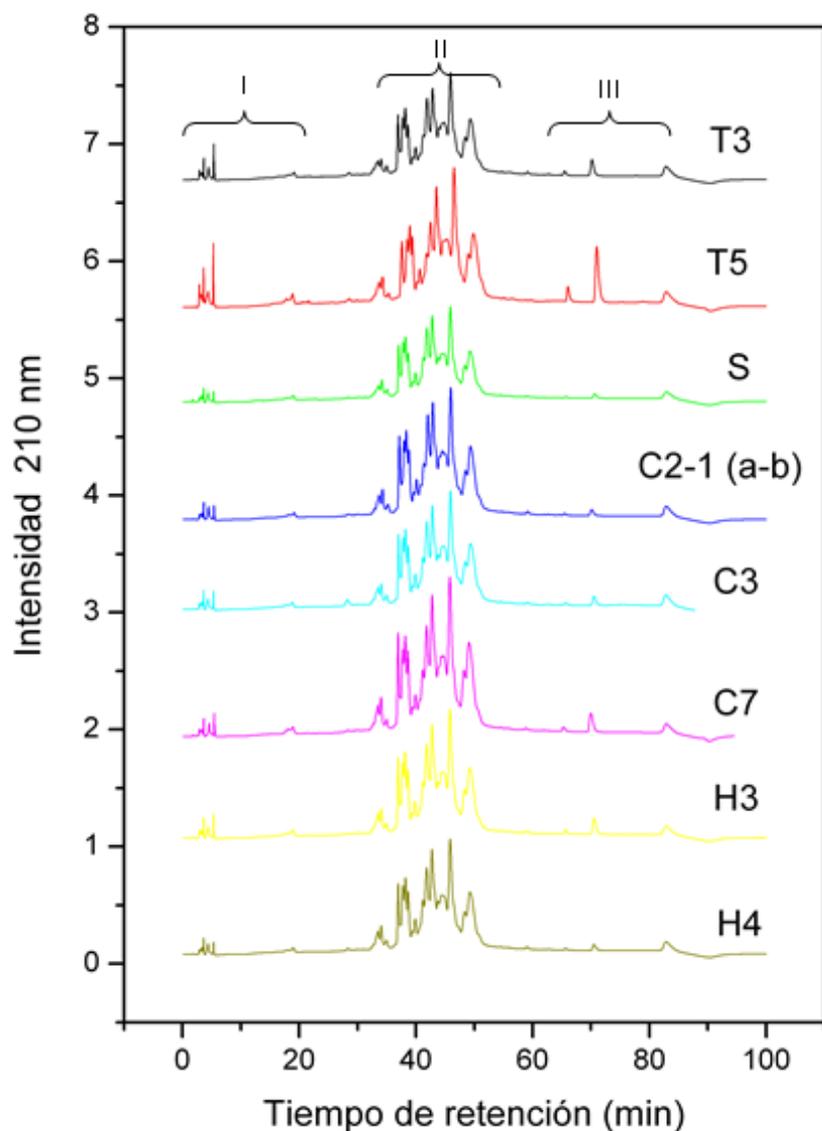


**Figura 4.5.** División de subsecciones según el tiempo de retención

La Figura 4.6 muestra los resultados obtenidos para las gliadinas de las distintas fracciones seleccionadas del proceso de molienda. En la Tabla 4.7 se informan los porcentajes del área total de las subfracciones (S1-S6) de los cromatogramas. Se observa que las fracciones recogidas representan sumadas, no menos de un 94 % del total del área de cada cromatograma.

La fracción T5 tiene mayor proporción de ambas, gliadinas hidrofóbicas pequeñas (III) e hidrofílicas de mayor tamaño (I). T3 presentó un comportamiento intermedio entre T5 y sémola (S). Se observan también los cromatogramas de una fracción de los PL (C2-1(a-b) y dos de los UL (C3 y C7), no apreciándose diferencia sustancial entre los perfiles obtenidos

En la Figura 4.7, al pie de cada cromatograma, se muestran las electroforesis efectuadas con las diferentes fracciones separadas por HPLC. Como era de esperar, se observa una mayor proporción de proteínas en las calles correspondientes a las subsecciones S3, S4 y S5, que comprenden el 80% de las proteínas extraídas. No se observaron bandas en la subsección S1 para ninguna de las muestras posiblemente porque al ser la primera colectada, contiene proteínas de alta masa molecular que no entran al gel. En la subfracción S6 no se identificaron bandas probablemente porque las proteínas resultaron muy hidrofóbicas y no se disolvieron en el buffer de extracción o bien estaban agregadas. Se puede observar que la fracción T5 presentó perfiles relativamente diferentes a los de C2-1(a-b) y C7, los cuales a su vez resultaron similares entre sí. Las subfracción S2 de T5 presentó 3 bandas, la más intensa de 60 kDa; en el caso de C2-1 (a-b) y C7 se observaron bandas tenues, la más intensa de 60 kDa y agregados solubles de alta masa molecular, especialmente en C7.

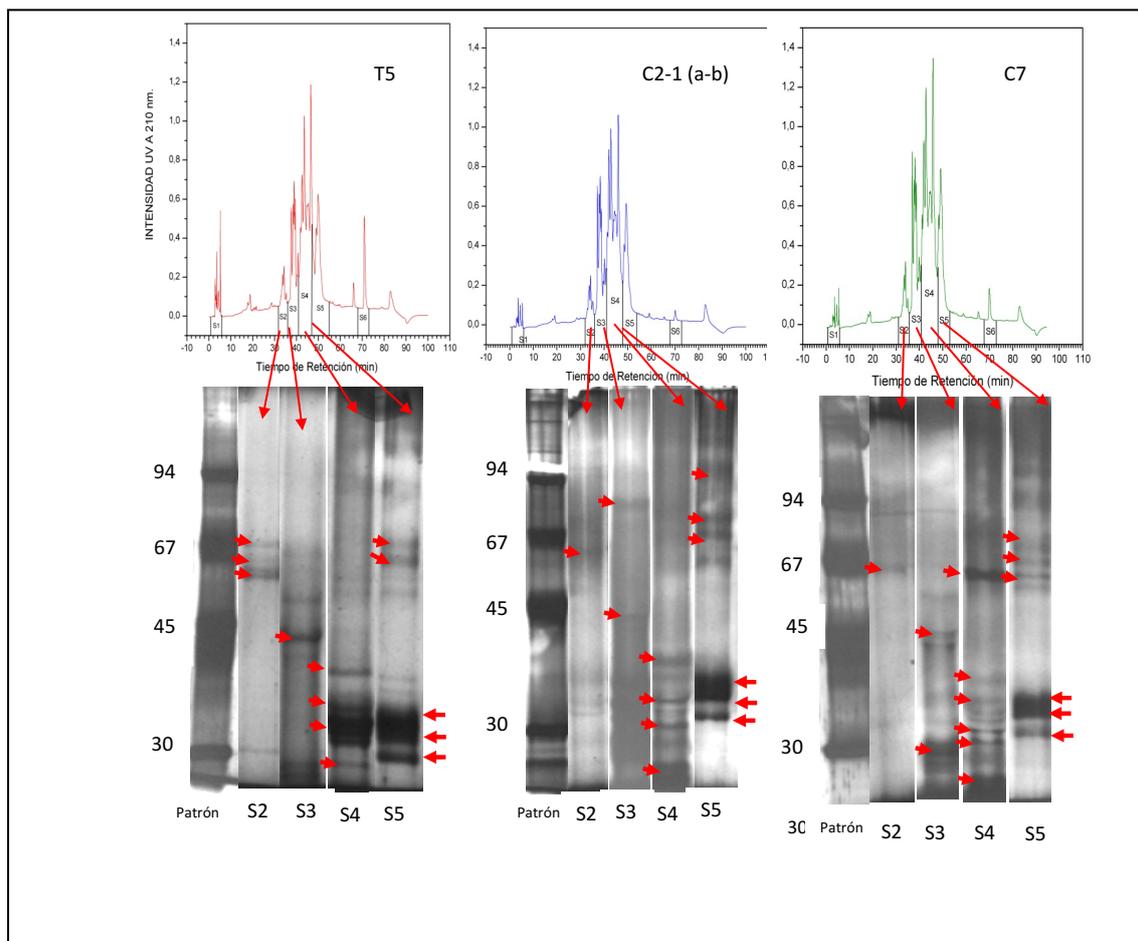


**Figura 4.6.** Cromatograma RP-HPLC de gliadinas extraídas de distintas fracciones de molienda y productos: T3, T5 (Roturas), S (sémola), C2 -1 (a-b) (Primeros Lisos), C7 (Últimos Lisos), H3 (harina 000) y H4 (harina 0000). Los cromatogramas de cada muestra se encuentran desplazados en el sentido del eje Y.

Estos agregados solubles de alta masa molecular serían de naturaleza más hidrofílica y podría tratarse de las  $\gamma$ -gliadinas cuya masa molecular ronda los 65 kDa (Sciammaro, 2010). Para el caso de T5, en S3 se solubilizó principalmente una proteína de 43 kDa que se corresponde con la masa molecular de las  $\omega$ -gliadinas (30-45 kDa). Esta proteína también se identificó en C2-1 (A-b) y C7, pero en mucha menor proporción.

**Tabla 4.7.** Porcentajes del área total de las subfracciones de los cromatogramas RP-HPLC para gliadinas.

| Fracción  | S1   | S2    | S3    | S4    | S5    | S6    | S3+S4+S5 | Total |
|-----------|------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|
|           | 1-6  | 31-35 | 36-40 | 41-47 | 48-55 | 68-73 |          |       |
| Minutos   |      |       |       |       |       |       |          |       |
| T3        | 1,46 | 4,9   | 18,61 | 50,98 | 19,26 | 1,38  | 88,85    | 96,59 |
| T5        | 3,42 | 4,06  | 17,09 | 49,61 | 18,05 | 4,35  | 84,75    | 96,58 |
| SEMOLA    | 1,6  | 4,95  | 19,17 | 54,05 | 17,86 | 0,44  | 91,08    | 98,97 |
| C2-1(a-b) | 1,34 | 4,84  | 17,36 | 52,49 | 18,12 | 0,43  | 87,97    | 94,58 |
| C3        | 1,57 | 4,87  | 18,58 | 53,56 | 18,7  | 0,66  | 90,84    | 97,94 |
| C7        | 2,18 | 4,47  | 18,45 | 51,36 | 18,07 | 1,46  | 87,88    | 95,99 |
| H3        | 1,66 | 5,09  | 18,97 | 53,05 | 18,01 | 1,28  | 90,03    | 98,06 |
| H4        | 1,38 | 5,26  | 19,22 | 54,15 | 17,74 | 0,48  | 91,11    | 98,23 |



**Figura 4.7.** Cromatograma RP-HPLC y SDS-PAGE de las gliadinas extraídas de las siguientes fracciones de molienda T5 (Roturas), C2 -1 (a-b) (Primeros Lisos), C7 (Últimos Lisos). Las flechas rojas destacan las bandas comentadas en el texto.

la misma intensidad ni en C7 ni en T5. En S3 de C7 a su vez se observaron bandas de masa molecular de 30 kDa probablemente correspondientes a la  $\alpha$ -gliadinas, que se hallaron en muy baja proporción en C2-1 (A-b) y en T5.

La mayor diferencia en el perfil de gliadinas se observó en la subfracción S4, la mayoritaria en HPLC, en la que para T5 se detectaron proteínas de 37 kDa y en gran proporción las de 35 y 32 kDa. En cambio en S4 de C2-1(A-b) y C7 estas proteínas se encuentran en menor proporción. Estas masas moleculares corresponden a las  $\gamma$ -gliadinas (Sciammaro, 2010). Además la fracción C7 presentó una banda marcada a 65 kDa ausente en C2 y T5, cuya masa molecular se encuentra en el rango de las  $\omega$ -gliadinas. Globalmente, estas diferencias sugieren que de la fracción T5, se pudieron extraer más proteínas de diferente relación masa/hidrofobicidad que de las C2 y C7.

La subfracción S5 fue similar en las 3 fracciones ya analizadas, con una predominancia de las proteínas de 35 y 32 kDa correspondientes a las  $\gamma$ -gliadinas y en menor proporción las  $\omega$ -gliadinas. Esta similitud sugiere que este grupo de  $\gamma$ -gliadinas son más hidrofóbicas que las  $\omega$ -gliadinas que salen en S2.

### **Gluteninas**

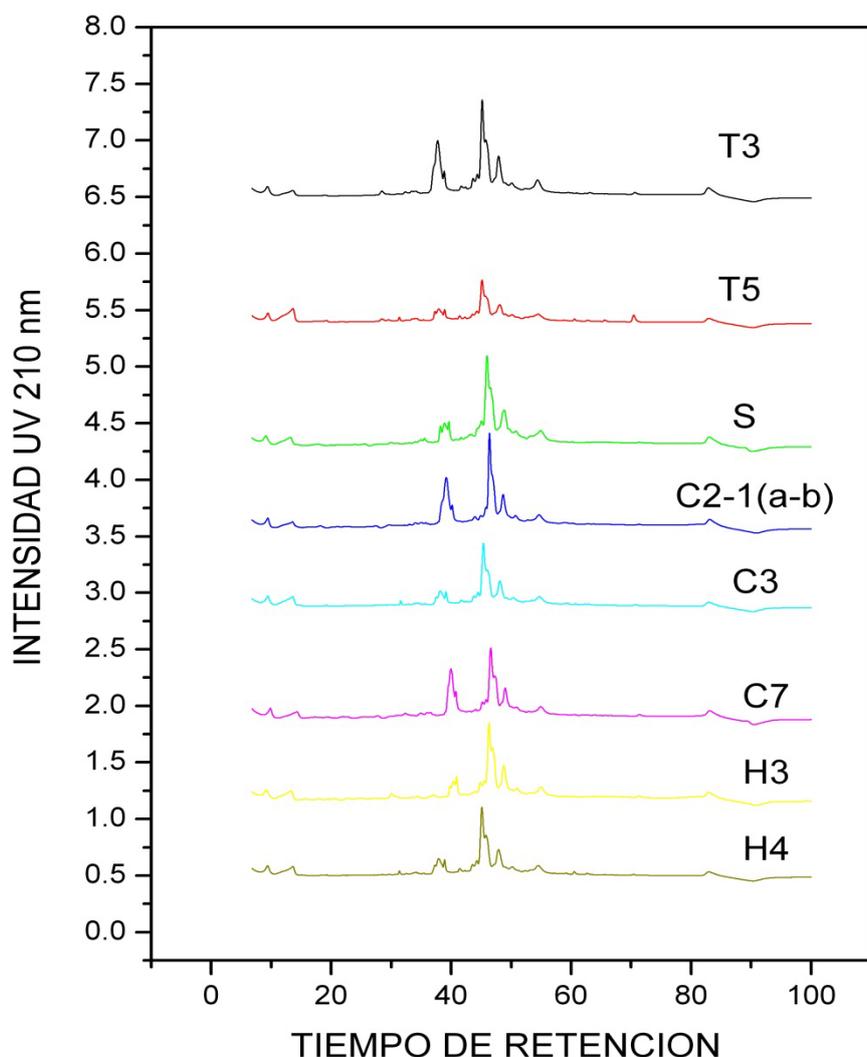
Las gluteninas están compuestas por una combinación de proteínas de altos y bajos peso moleculares (HMW-GS y LMW-GS, respectivamente). De acuerdo a los resultados obtenidos por SDS-PAGE para estas proteínas, las subunidades HMW-GS presentan un peso molecular que va desde 80 a 160 kDa en tanto que las LMW-GS tienen pesos moleculares que fluctúan entre 30 y 51 kDa (Payne y col, 1980).

Si se comparan los resultados de gliadinas (Figura 4.7) con los de gluteninas para un mismo paso de molienda (Roturas por ejemplo), se observa que las gluteninas presentaron mayores tiempos de retención que las gliadinas. Esto puede atribuirse a su estructura molecular y fundamentalmente su mayor peso molecular.

La Fig. 4.8 muestra los cromatogramas de RP-HPLC de los extractos de gluteninas para las muestras más representativas de las R, PL y UL, incluyendo los productos, sémola, harinas 000 (H3) y 0000 (H4). Se observan para todas las muestras perfiles con 2 grupos de picos, el primero a tiempos de retención de 40 min que comprendería el grupo de gluteninas solubles de mayor masa molecular pero más hidrofílicas (HMW-GS) mientras que a tiempos de 45-50 min el grupo comprende 2 picos, uno de mayor altura, asignable

a las gluteninas LMW-GS, de menor masa molecular y más hidrofóbicas que las HMW-GS (Sciammaro, 2010).

Para comprobar la naturaleza de las gluteninas extraídas en cada zona del cromatograma se procedió de la misma manera que con las gliadinas. Las fracciones se colectaron en 5 subfracciones de acuerdo a sus tiempos de retención (S1 a S5).



**Figura 4.8:** Cromatograma RP-HPLC de gluteninas extraídos de distintas fracciones de molienda y productos: T3, T5 (Roturas), S (sémola), C2 -1 (a-b) (Primeros Lisos), C7 (Últimos Lisos), H3 (harina 000) y H4 (harina 0000). Los cromatogramas de cada muestra se encuentran desplazados en el sentido del eje Y.

La Tabla 4.8 muestra los valores porcentuales de las áreas de picos de cada subfracción, evidenciándose en casi todas las muestras una fracción total no menor al 85%. La fracción S1 correspondería a las HMW-GS y el resto, siendo la S2 la mayoritaria, a las LMW-GS. Se pueden observar diferencias entre las muestras. Las harinas con menor grado de

molienda (T5, S y C3) presentaron los picos de HMW-GS ( $tr < 40$  min) más bajos y de menor área y picos de LMW-GS ( $tr > 40$  min) más altos (mayor área); mientras que las que fueron sometidas a mayor proceso de molienda y por ende tienen menor tamaño de partícula (C2-1(a-b), C7) presentaron una mayor relación S1/S2. Sin embargo, una harina más refinada como H4 presentó un comportamiento diferente al de la fracción C2-1 (a-b), con una menor extracción de HMW-GS. No obstante, no hubo una tendencia clara en cuanto a la proporción extraída de cada tipo de proteína en relación al tipo de fracción.

**Tabla 4.8.** Porcentajes del área total de las subfracciones de los cromatogramas RP-HPLC para gluteninas.

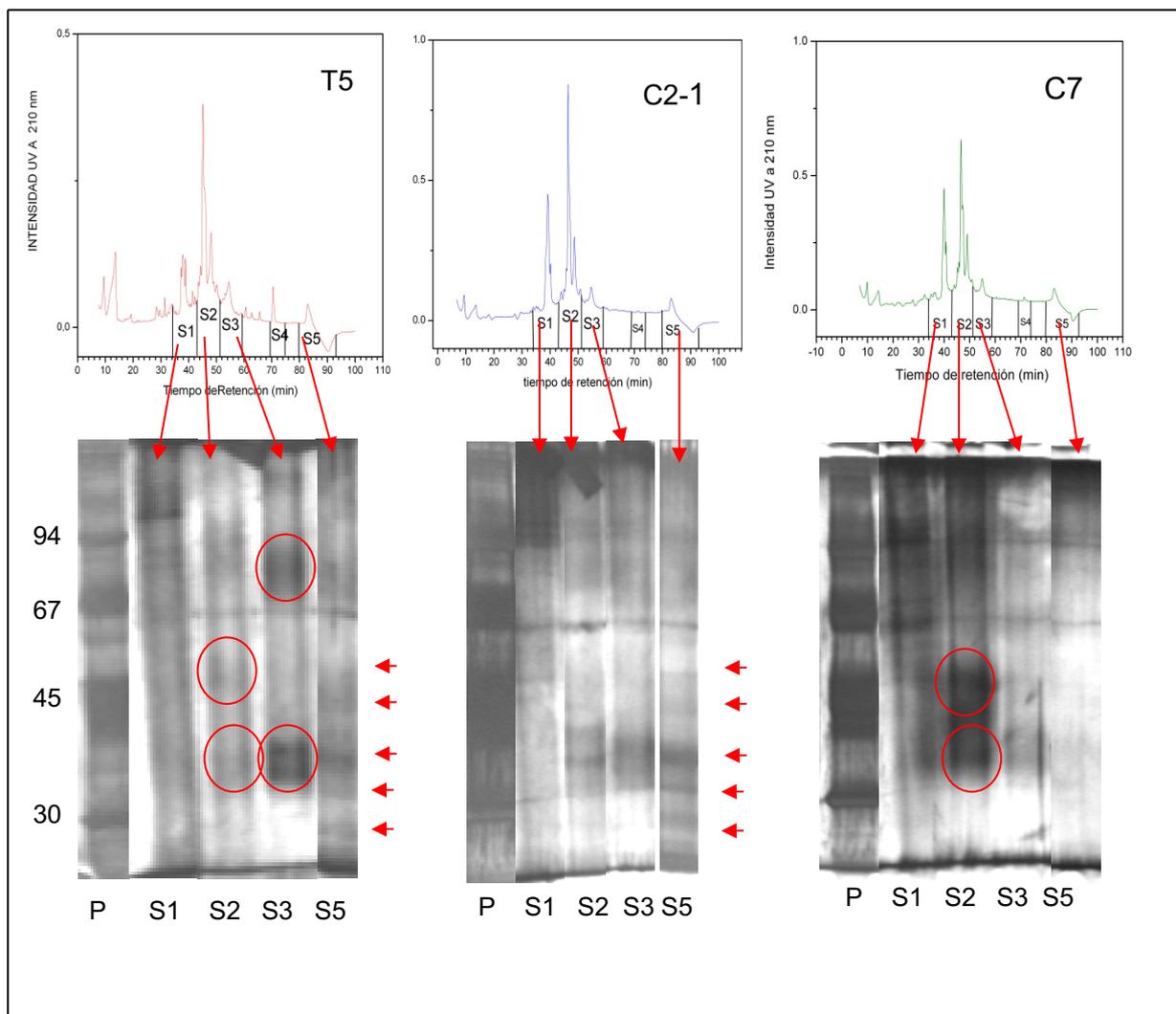
| Fracción  | S1<br>34-43 | S2<br>43-51,6 | S3<br>51,6-59 | S4<br>69-74 | S5<br>80-93 | total |
|-----------|-------------|---------------|---------------|-------------|-------------|-------|
|           | Minutos     |               |               |             |             |       |
| T3        | 20,73       | 55,74         | 5,67          | 7,09        | Nd          | 89,23 |
| T5        | 19,98       | 57,24         | 9,33          | 2,39        | Nd          | 88,94 |
| SEMOLA    | 15,26       | 66,97         | 8,65          | Nd          | Nd          | 90,88 |
| C2-1(a-b) | 30,07       | 56,02         | 4,75          | Nd          | Nd          | 90,84 |
| C3        | 25,10       | 56,92         | 8,36          | Nd          | Nd          | 90,38 |
| C7        | 28,72       | 55,02         | 5,55          | 0,28        | Nd          | 89,57 |
| H3        | 12,29       | 65,12         | 6,89          | 0,43        | Nd          | 84,73 |
| H4        | 18,28       | 65,20         | 8,53          | 0,45        | Nd          | 92,46 |

Las subfracciones S (S1 a S5) se analizaron por SDS-PAGE (Fig. 4.9) para determinar el tipo de gluteninas que se solubilizan en cada fracción. Los geles obtenidos no tuvieron la nitidez esperada y pudieron ser analizados sólo en términos generales, enfocando el análisis únicamente en las bandas más importantes.

Como se mencionó anteriormente, S1 contiene gluteninas de alta masa molecular con valores entre 67 y 94 kDa. Sciammaro (2010) encontró para trigos puros que estas HMW-gluteninas tenían masas entre 75 y 120 kDa. En nuestro caso, también se detectaron agregados solubles de masa molecular mayor a 100 kDa en la parte superior del perfil electroforético. En el caso de C7 debido quizá a una mayor rotura facilitó la solubilización de estas proteínas como puede deducirse de la mayor intensidad y proporción de estas bandas coincidente con el porcentaje de área de la Tabla 4.8.

En cuanto al pico mayoritario (S2), T5 y C7 presentaron características semejantes y un poco diferentes al de C2-1(a-b), hecho que es esperable si se tiene en cuenta el diagrama de flujo del molino (Figura 3.1) en el que se puede ver que C7 deriva de T5; con una mayor proporción de proteínas de masa molecular entre 30 y 45 kDa (LMW-GSs). Para

la subfracción S3 de T5 se observaron 2 bandas intensas de 37 y 75 kDa, la primera correspondiente a las LMW-GS y la segunda a las HMW-GS; estas bandas fueron mucho más tenues en las otras subfracciones. Los perfiles observados para la subfracción S5 en T5 y C2-1(a-b) fueron similares, no pudiéndose detectar las mismas bandas para C7. Las proteínas que se obtienen en (S5) serían las más pequeñas e hidrofóbicas.



**Figura 4.9:** Cromatograma RP-HPLC y electroforesis de gluteninas extraídos las siguientes fracciones de molienda T5 (Roturas), C2 -1 (a-b) (Primeros Lisos), C7 (Últimos Lisos).

Se puede deducir de las electroforesis que en general las HMW-GS solubles estarían prácticamente en la subfracción (S1), mientras que los demás picos (S2 a S5) contendrían mayoritariamente LMW-GS. Asimismo y basándonos en los valores de la Tabla 4.8, C7 que es la fracción con mayor grado de molienda entre las analizadas, presentó mayor área

(S1) y menor área (S2), confirmando lo observado en las electroforesis, es decir, mayor extracción de HMW-GS respecto a las otras fracciones de molienda analizadas. Por otro lado, la sémola (S) y los productos (H3 y H4) fueron las que presentaron menor proporción (S1) y mayor (S2). Este es un hecho interesante, ya que a pesar de la diferente granulometría y de que la sémola tiene mayor proporción de restos de cubierta, la proporción de extracción proteica fue similar, quizá no así la relación HMW / LMW en cada una, lo que debería ser corroborado.

A pesar de que los productos H3 y H4 se pueden relacionar con las fracciones de molienda C7 y C2-1 (a-b) respectivamente, por la zona del tren de molienda en la que se obtiene cada una, hay diferencias entre los productos finales y las fracciones intermedias; tanto en la cantidad como en la calidad de las proteínas presentes.

#### **4.7. Absorción de aguas alcalinas (IRAA)**

La capacidad de retención de aguas alcalinas es un parámetro que se relaciona con la calidad panadera de las harinas. Se considera que harinas con valores altos de este parámetro son aptas para ser usadas en panificación (Ram y col., 2005). Este índice es de importancia también para evaluar la capacidad de una cierta harina para ser aplicada en la fabricación de ciertos productos como galletitas (a mayor IRAA menor aptitud para la fabricación de galletitas). Otros autores (Torri y col., 2003) han informado que el IRAA se correlaciona positivamente con el contenido de almidón dañado. En la Tabla 4.9 se observan los valores obtenidos de IRAA y se aprecia que existe una marcada dispersión entre los datos de cada fracción, que es significativa en muchos casos. Sin embargo, analizando los rangos encontramos que para R varía entre 69,57 y 79,45 %, mientras que PL y UL presentan rangos que se extienden hasta valores mayores, PL entre 68,67 y 85,53 % y UL entre 68,95 y 83,85 %. Las medias de rango respectivas fueron 74,96; 81,25 y 77,60.

**Tabla 4.9.** Valores de IRAA para las distintas subfracciones de R, PL, UL (letras iguales indican valores que no son significativamente diferentes dentro de cada grupo con  $P > 0,05$ )

| Roturas  |               | Primeros Lisos |                 | Últimos Lisos |               | Productos |            |
|----------|---------------|----------------|-----------------|---------------|---------------|-----------|------------|
| Fracción | IRAA (%)      | Fracción       | IRAA (%)        | Fracción      | IRAA (%)      | Fracción  | IRAA (%)   |
| Div 1    | 73,69 ±0,45 c | C1A-a          | 83,20± 0,78 b   | C3            | 77,75 ±0,60 d | H4        | 81,31±0,61 |
| T3       | 71,82± 0,01 d | C1A-b          | 68,67 ±0,30 c   | C4a           | 79,46 ±0,07 c | H3        | 74,48±0,51 |
| Div 2    | 69,57 ±0,04 e | C1B-b          | 82,03 ±0,54 b   | C4b           | 82,32 ±0,06 b | Sémola    | 58,96±1,31 |
| T4       | 79,45 ±0,10 a | C2-1(a-b)      | 84,03 ± 0,51 ab | C5            | 83,85 ±0,08 a |           |            |
| T5       | 78,71 ±0,26 a | C2-2(a-b)      | 85,53 ±1,13 a   | C6            | 68,05±0,44 f  |           |            |
| DF/Dcep  | 76,58± 0,37 b | C2-c(1-2)      | 84,08 ±0,14 ab  | C7            | 81,47 ±0,15 b |           |            |
|          |               |                |                 | C9            | 70,33 ±0,67 e |           |            |

En el presente trabajo se encontró un resultado deficiente ( $R^2=0,33$ ) cuando se correlacionaron todos los resultados de almidón dañado con los de IRAA. No obstante, las Roturas de conjunto presentaron una tendencia a valores menores tanto de IRAA como de almidón dañado (ver Tabla 4.4).

#### 4.8. Resultados farinográficos y alveográficos de las distintas fracciones

Los datos alveográficos y farinográficos se muestran en la Tabla 4.10.

Los parámetros alveográficos permiten predecir la calidad panadera dado que los valores de P se relacionan con la elasticidad de la masa y los de L con la extensibilidad. A su vez, la elasticidad está dada por la fracción de las gluteninas mientras que la extensibilidad se relaciona con las gliadinas. Los datos alveográficos muestran que el P de las fracciones correspondientes a R varió en el rango entre 59 y 98 mm, con una media de 78,9 mientras que L varió entre 69 y 140 con una media en 103,6. Esta variabilidad se refleja en la relación P/L con una variación entre 0,47 (para T4) hasta 1,42 (Rep) con una media de 0,95 y una diferencia entre máximo y mínimo de 0,95. Estos resultados permiten concluir que en esta etapa de la molienda se observa una gran variabilidad de este parámetro alveográfico entre las distintas fracciones. Un P/L mucho menor que 1 como el caso de T4 está indicando una excesiva extensibilidad mientras que un P/L mucho mayor que 1

indica una elasticidad elevada. La relación óptima P/L para panificar es cercana a 1. Harinas que dan masas muy extensibles, con  $P/L < 1$  podrían ser usadas en galletería mientras que las excesivamente tenaces ( $P/L > 1$ ) pueden usarse en pastas o bien ser aplicadas como harinas correctoras. Respecto al valor de trabajo alveográfico (W), el promedio para Roturas es 269,9 en este grupo de fracciones, oscilando entre 163 y 373, lo que está en concordancia con la acentuada variación de P/L encontrada.

En el caso de los PL, P varía 77,0 y 121,0 (media =112,3) y L entre 56,0 y 77,0 con una media de 66,3 siendo P/L por lo tanto también variable, entre 1,2 hasta 2,1 (media=1,65) siendo la diferencia entre máximo y mínimo de 0,9. Si bien hay variabilidad entre las fracciones, los resultados están indicando un predominio de la elasticidad sobre la extensibilidad, ya que todos los valores son superiores a 1. El valor de W para los PL varía entre 270 y 365 (media= 305,2), es decir hay más uniformidad que entre las Roturas. En el caso de los UL, los valores de P varían entre 70 y 161, con una media de 103,0, mientras que L toma valores entre 16 y 110 (media=74,5). Comparando con los valores respectivos obtenidos para PL se observa una mayor variabilidad de ambos parámetros entre las distintas fracciones. En cuanto a P/L, varió entre 0,63 y 1,10 (media= 1,6) con una diferencia entre máximo y mínimo de 0,47 y W en este caso tiene una variación entre 202 y 314, con un promedio de 265,3.

Si se compara respecto a las fracciones correspondientes a R, este cambio en la relación P/L podría indicar un cambio en la relación gluteninas / gliadinas de la fracción proteica. De acuerdo a Cardós y col. (2000) las fracciones correspondientes a R muestran un contenido de gliadinas de 40,03 % y de gluteninas de alto PM de 7,21%, las de los PL tienen valores similares (38,66 % y 7,28%, respectivamente) y los UL presentan menores valores de gliadinas 31,84% y un valor de 5.11 % para gluteninas. Observando los resultados del presente trabajo y aun en el marco de una gran variabilidad entre fracciones dentro de un mismo grupo, se observa una tendencia a la disminución del contenido de gliadinas de R hasta UL, lo que explicaría la tendencia a aumentar del valor P/L.

El índice de hinchamiento (raíz cuadrada del volumen de aire necesario para expandir la burbuja de masa hasta la rotura) tomó en general valores mayores para las R (18,5-26,2) que para PL (16,6-19,4) presentando, en concordancia con los resultados de los otros parámetros una mayor variabilidad en los UL (8,9-23,3).

Las harinas H3 y H4 tienen valores de  $P/L = 0,98$  y  $1,24$  respectivamente. Los W en estos casos son similares, con valores de 314 y 325 respectivamente. Esta diferencia

probablemente se origine en que la H4 recibe distinta contribución de las fracciones provenientes de R que la H3 (Figura 3.1). Como se vio, las fracciones de R tienen en promedio menores valores de P/L.

Respecto al farinograma (Tabla 4.10), el tiempo de desarrollo (B) varió para las R entre 8 y 19 min, para los PL varió entre 14,5 y 34 min, con un valor medio de 23,8 y los UL tuvieron un B que varió entre 7,5 a 14,5.

La estabilidad farinográfica (D) varió entre 5 y 28 min para R (con un valor medio de 15,8) para los PL varió entre 25 y 45 min (con valor medio de 34,5min) y los valores para los UL fueron entre 13 y 26 min (con un valor medio de 18,6 min). El decaimiento farinográfico arrojó medias de 40,7; 7,5 y 32,5 UB o sea que el comportamiento es inverso a la estabilidad, como es de esperar.

Se observa que las R y los UL son fracciones de menores tiempos de desarrollo y estabilidad en comparación con los primeros lisos. Esto se condice con el mayor trabajo alveográfico encontrado y con la mejor calidad de gluten de las fracciones de PL, reflejada por una mejor relación de hidratación (GH/GS)

**Tabla 4.10.** Datos alveográficos y farinográficos de las fracciones correspondientes a R, PL y UL. Las letras iguales representan valores que no son significativamente diferentes dentro de cada grupo con  $P > 0.95$ ) (Datos provistos por el Molino Campodónico)

| ROTURAS  |            |           |      |                     |             |            |           |           |
|----------|------------|-----------|------|---------------------|-------------|------------|-----------|-----------|
| Fracción | Alveógrafo |           |      |                     | Farinógrafo |            |           |           |
|          | P<br>(mm)  | L<br>(mm) | P/L  | W<br>( $J10^{-4}$ ) | A<br>(%)    | B<br>(min) | D<br>(UB) | E<br>(UB) |
| Div 1    | 82,0       | 95,0      | 0,86 | 291                 | 55,7        | 15,5       | 28,0      | 20,0      |
| T3       | 73,0       | 140,0     | 0,52 | 373                 | 57,7        | 19,0       | 24,0      | 30,0      |
| Div 2    | 82,0       | 113,0     | 0,73 | 332                 | 56,8        | 16,5       | 23,0      | 35,0      |
| T4       | 59,0       | 125,0     | 0,47 | 188                 | 60,5        | 8,0        | 6,0       | 60,0      |
| T5       | 69,0       | 81,0      | 0,85 | 163                 | 62,3        | 8,0        | 5,0       | 70,0      |
| Rep      | 98,0       | 69,0      | 1,42 | 236                 | 61,9        | 8,0        | 9,0       | 40,0      |
| DF/Dcep  | 89,0       | 102,0     | 0,87 | 306                 | 61,2        | 11,5       | 17,5      | 30,0      |

| PRIMEROS LISOS |            |           |      |                           |             |            |           |           |
|----------------|------------|-----------|------|---------------------------|-------------|------------|-----------|-----------|
| Fracción       | Alveógrafo |           |      |                           | Farinógrafo |            |           |           |
|                | P<br>(mm)  | L<br>(mm) | P/L  | W<br>(J10 <sup>-4</sup> ) | A<br>(%)    | B<br>(min) | D<br>(UB) | E<br>(UB) |
| D1             | 77,0       | 130,0     | 0,59 | 347                       | 55,6        | 13,5       | 23,0      | 25,0      |
| C1A-a          | 112,0      | 62,0      | 1,81 | 293                       | 59,7        | 14,5       | 45,0      | 0,0       |
| C1A-b          | 91,0       | 74,0      | 1,23 | 270                       | 60,0        | 26,0       | 28,0      | 10,0      |
| C1B-a          | 121,0      | 66,0      | 1,83 | 327                       | 60,0        | 23,0       | 25,0      | 5,0       |
| C1B-b          | 120        | 60,0      | 2,00 | 300                       | 59,4        | 22,0       | 25,0      | 20,0      |
| C2-1(a-b)      | 117,0      | 56,0      | 2,09 | 280                       | 60,0        | 26,0       | 32,0      | 0,0       |
| C2-2(a-b)      | 119,0      | 77,0      | 1,55 | 367                       | 59,5        | 20,0       | 42,0      | 0,0       |
| C2-c(1-2)      | 115,0      | 69,0      | 1,67 | 321                       | 59,7        | 34,0       | 35,0      | 15,0      |

| ULTIMOS LISOS |            |           |       |                           |             |            |           |           |
|---------------|------------|-----------|-------|---------------------------|-------------|------------|-----------|-----------|
| Fracción      | Alveógrafo |           |       |                           | Farinógrafo |            |           |           |
|               | P<br>(mm)  | L<br>(mm) | P/L   | W<br>(J10 <sup>-4</sup> ) | A<br>(%)    | B<br>(min) | D<br>(UB) | E<br>(UB) |
| C3            | 106,0      | 77,0      | 1,38  | 314                       | 58,3        | 12,5       | 22,5      | 30,0      |
| C4a           | 125,0      | 62,0      | 2,02  | 313                       | 59,8        | 14,5       | 26,0      | 20,0      |
| C4b           | 142,0      | 43,0      | 3,30  | 254                       | 61,0        | 9,0        | 20,0      | 25,0      |
| C5            | 111,0      | 60,0      | 1,85  | 246                       | 62,4        | 7,5        | 13,0      | 50,0      |
| C6            | 70,0       | 111,0     | 0,63  | 265                       | 57,6        | 12,5       | 20,0      | 25,0      |
| C7            | 134        | 48,0      | 2,79  | 252                       | 64,0        | 8,0        | 16,0      | 40,0      |
| C8            | 161,0      | 16,0      | 10,06 | 121                       | nd          | nd         | nd        | nd        |
| C9            | 72,0       | 89,0      | 0,81  | 202                       | 61,0        | 12,0       | 14,0      | 30,0      |

| PRODUCTOS |            |           |      |                           |             |            |           |           |
|-----------|------------|-----------|------|---------------------------|-------------|------------|-----------|-----------|
| Fracción  | Alveógrafo |           |      |                           | Farinógrafo |            |           |           |
|           | P<br>(mm)  | L<br>(mm) | P/L  | W<br>(J10 <sup>-4</sup> ) | A<br>(%)    | B<br>(min) | D<br>(UB) | E<br>(UB) |
| H3        | 92,0       | 94,0      | 0,98 | 314                       | 58,6        | 12,5       | 20,0      | 35,0      |
| H4        | 120,0      | 97,0      | 1,24 | 325                       | 59,2        | 26         | 26,0      | 20,0      |

nd= no determinado

#### **4.9. Análisis por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) de las distintas fracciones**

En la Tabla 4.11 se muestran los datos obtenidos a partir de los termogramas de las distintas fracciones de molienda. Los valores de temperatura inicial ( $T_i$ ) para R variaron entre 55,69 y 59,78°C; para los PL entre 54,80 y 57,28°C y para los UL entre 56,30 y 59,28°C. Estos datos indican que la mayor variación entre temperaturas iniciales se registró en las R. Hubo escasa variación entre las temperaturas de pico ( $T_{pI}$  y  $T_{pII}$ ) de las fracciones y la temperatura final registró también una diferencia en el caso de las roturas. De hecho, las temperaturas correspondientes a Roturas variaron entre 93,99 y 97,85°C; las de los Primeros Lisos entre 96,05 y 101,35°C y en los UL entre 96,70 y 98,96°C, siendo los UL los que presentaron menores variaciones entre temperaturas finales de las distintas fracciones.

La comparación de medias mostró que no hay una tendencia definida en las temperaturas. La temperatura de gelatinización del almidón depende de diversos factores, como se explicó en la Introducción. En este caso, las R al presentar mayor variación de composición (% de proteínas y minerales, Tabla 4.5) y la mayor variación en tamaño de partícula (Figura 4.2) entre las fracciones son las que presentan también mayores diferencias entre las temperaturas de gelatinización. Asimismo se observó también una gran variabilidad en la entalpía de gelatinización, aunque globalmente las entalpías estuvieron dentro del rango esperado para una harina de trigo (Correa y Ferrero, 2015), entre 5.05 y 8.16 J/g pero con una tendencia a valores más altos en el caso de lo Primeros Lisos.

La comparación de medias mostró que no hay una tendencia definida en las temperaturas. La temperatura de gelatinización del almidón depende de diversos factores, como se explicó en la Introducción. Las diferentes fracciones analizadas presentan tamaños de partículas diferentes lo que genera superficies expuesta al efecto de la temperatura provocando termogramas diferentes. En este caso, las R al presentar mayor variación de composición (% de proteínas y minerales, Tabla 4.5) y la mayor variación en tamaño de partícula (Figura 4.2) entre las fracciones son las que presentan también mayores diferencias entre las temperaturas de gelatinización.

**Tabla 4.11.** Datos de Temperaturas inicial (Ti), de picos (TpI y TpII) y final (Tf) y entalpias de Gelatinización correspondientes a fracciones de R, PL y UL

| ROTURAS      |                      |                      |                      |                      |                    |
|--------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|
| Fracciones   | Ti (°C)              | TpI (°C)             | TpII (°C)            | Tf (°C)              | Entalpía (J/g)     |
| Div1         | 59,75±0,46 a         | 66,79±0,51cd         | 89,30±0,32 a         | 97,85±0,78 a         | 6,27±0,75 ab       |
| T3           | 56,95 c              | 67,04 cd             | 86,59 abc            | 93,99 b              | 6,42±0,31 a        |
| Div2         | 58,15±0,55 abc       | 66,58±0,41 d         | 88,68±1,03ab         | 97,25±1,25 a         | 6,42±0,03 a        |
| T4           | 59,37±0,36 ab        | 69,24±0,25ab         | 85,40±1,02 c         | 94,45±0,15 b         | 5,88±0,26 b        |
| T5           | 58,29±0,31 abc       | 70,17±0,41 a         | 86,06±1,47bc         | 94,15±0,09 b         | 5,34±0,05 b        |
| Rep          | 59,20±0,19 ab        | 67,95±0,41bc         | 86,08±0,45bc         | 94,18±0,97 b         | 5,88±0,01 b        |
| DFCEF        | 57,91±0,91 bc        | 66,44±0,06 d         | 85,11±0,23 c         | 94,03±0,37 b         | 5,99±0,05 ab       |
| <b>rango</b> | <b>56,95 a 59,75</b> | <b>66,58 a 70,17</b> | <b>85,40 a 89,30</b> | <b>93,99 a 97,85</b> | <b>5,99 a 6,42</b> |

| PRIMEROS LISOS |                      |                      |                      |                       |                    |
|----------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|--------------------|
| Fracciones     | Ti (°C)              | TpI (°C)             | TpII (°C)            | Tf (°C)               | Entalpía (J/g)     |
| 1(A-a)         | 55,86±0,86 ab        | 67,14±0,31 a         | 86,70±0,24 b         | 96,05±0,26 c          | 6,47±0,21 e        |
| C1(A-b)        | 57,11±0,82 ab        | 66,12±0,24ab         | 90,69±0,64 a         | 101,35±0,30a          | 5,61±0,06 f        |
| C1(B-b)        | 57,28±0,99 a         | 65,39±0,16 b         | 87,12±0,23 b         | 97,02±0,98bc          | 6,67±0,17 d        |
| C2-1(a-b)      | 54,45±0,45 b         | 66,18±0,44ab         | 86,92±0,38 b         | 96,55±0,56bc          | 7,40±0,02 b        |
| C2-2(a-b)      | 56,56±0,61 ab        | 67,11±0,83 a         | 87,28±0,09 b         | 97,05±0,39bc          | 6,84±0,20 c        |
| C2c(1-2)       | 55,25±0,90 ab        | 66,90±0,38ab         | 86,65±0,30 b         | 98,07±0,29 b          | 8,16±0,46 a        |
| <b>rango</b>   | <b>54,45 a 57,28</b> | <b>65,39 a 67,14</b> | <b>86,65 a 90,69</b> | <b>96,05 a 101,35</b> | <b>5,61 a 8,16</b> |

| ULTIMOS LISOS |                      |                      |                      |                      |                    |
|---------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|
| Fracciones    | Ti (°C)              | TpI (°C)             | TpII (°C)            | Tf (°C)              | Entalpía (J/g)     |
| C3            | 59,05±0,70ab         | 66,52±0,08 a         | 87,00±2,18 a         | 98,82±0,88 a         | 6,51±0,34 b        |
| C4a           | 57,64±0,05bcd        | 67,04±0,56 a         | 86,73±0,47 a         | 96,99±0,15 a         | 7,26±0,29 a        |
| C4b           | 57,52±0,47 cd        | 67,58±1,12 a         | 88,45±0,90 a         | 96,70±1,30 a         | 6,70±0,06 b        |
| C5            | 58,14±0,66 bc        | 66,94±1,52 a         | 88,07±0,80 a         | 96,87±0,57 a         | 7,57±0,11 a        |
| C6            | 58,21±0,29 bc        | 67,95±1,61 a         | 85,98±0,85 a         | 98,74±0,60 a         | 5,59±0,68 c        |
| C7            | 56,30±0,23 d         | 67,47±0,01 a         | 86,94±1,14 a         | 98,96±0,68 a         | 5,05±0,25 d        |
| C9            | 59,68±0,07 a         | 67,06±0,62 a         | 85,48±0,66 a         | 97,65±0,30 a         | 6,00±0,33 c        |
| <b>rango</b>  | <b>56,30 a 59,68</b> | <b>66,52 a 67,95</b> | <b>85,98 a 87,00</b> | <b>96,70 a 98,96</b> | <b>5,05 a 7,57</b> |

Se analizó también la variación de temperaturas correspondientes al complejo amilosa-lípido no hallándose diferencias significativas dentro de los grupos y entre grupos (Tabla 4.12).

**Tabla 4.12.** Datos de Temperaturas del Complejo Amilosa –Lípido de Roturas, Primeros Lisos y Últimos Lisos y productos.

| ROTURAS   |                |                 |                 |
|-----------|----------------|-----------------|-----------------|
| Fraciones | Ti (°C)        | Tp (°C)         | Tf(°C)          |
| Div1      | 101,27±0,15 ab | 116,31±0,40 a   | 122,92±0,28 a   |
| T3        | 98,48 bc       | 113,56 b        | 120,52 bc       |
| Div2      | 102,45±0,63 a  | 116,65±0,44 a   | 122,20±0,93 ab  |
| T4        | 99,13±0,56 c   | 112,51±0,56 bc  | 119,51±0,28 cd  |
| T5        | 97,66±0,76 c   | 110,98±0,66 c   | 117,87±0,38 de  |
| Rep       | 100,40±1,27 bc | 113,52±0,20 b   | 120,41±0,52 c   |
| DFCEP     | 101,44±0,40 a  | 113,75±0,35 b   | 117,62±0,38 e   |
| Rango     | 97.66 a 101.44 | 110.98 a 116.31 | 117.62 a 122.92 |

| PRIMEROS LISOS |                |                 |                 |
|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| Fraciones      | Ti (°C)        | Tp (°C)         | Tf(°C)          |
| C1(A-a)        | 100,63±0,33 cd | 115,56±0,31 b   | 122,94±0,14 ab  |
| CI(A-b)        | 107,08±0,27 a  | 118,93±0,36 a   | 124,43±1,01 a   |
| C1(B-b)        | 102,41±0,06 b  | 116,47±0,25 b   | 122,25±0,05 b   |
| C2-1(a-b)      | 100,44±0,45 d  | 115,65±0,71 b   | 121,54±1,20 b   |
| C2-2(a-b)      | 101,84±0,27 bc | 116,06±0,76 b   | 122,49±0,92 b   |
| C2c(1-2)       | 99,33±0,69 d   | 115,36±0,09 b   | 122,36±0,08 b   |
| Rango          | 99.33 a 107.08 | 115.36 a 118.93 | 121.54 a 124.43 |

| ÚLTIMOS LISOS |                 |                 |                 |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Fraciones     | Ti (°C)         | Tp (°C)         | Tf(°C)          |
| C3            | 101,90±1,82 a   | 116,88±0,64 a   | 123,77±0,55 a   |
| C4a           | 101,92±0,18 a   | 115,83±0,19 a   | 122,91±0,77 a   |
| C4b           | 103,50±0,13 a   | 116,52±0,28 a   | 123,81±0,31 a   |
| C5            | 102,74±1,63 a   | 116,88±0,16 a   | 123,28±0,87 a   |
| C6            | 102,21±0,52 a   | 116,21±0,08 a   | 123,10±0,24 a   |
| C7            | 103,31±1,43 a   | 115,13±0,46 a   | 122,95±0,68 a   |
| C9            | 100,67±1,28 a   | 115,52±0,72 a   | 122,89±0,33 a   |
| Rango         | 100.67 a 103.31 | 115.13 a 116.88 | 122.89 a 123.77 |

| PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS |             |             |             |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Fracciones               | Ti (°C)     | Tp (°C)     | Tf(°C)      |
| H3                       | 102,34±1,76 | 115,58±0,85 | 122,07±1,48 |
| H4                       | 100,84±0,42 | 115,65±0,51 | 123,71±1,00 |
| Sémola                   | 108,04±1,81 | 118,22±0,84 | 126,47±1,62 |

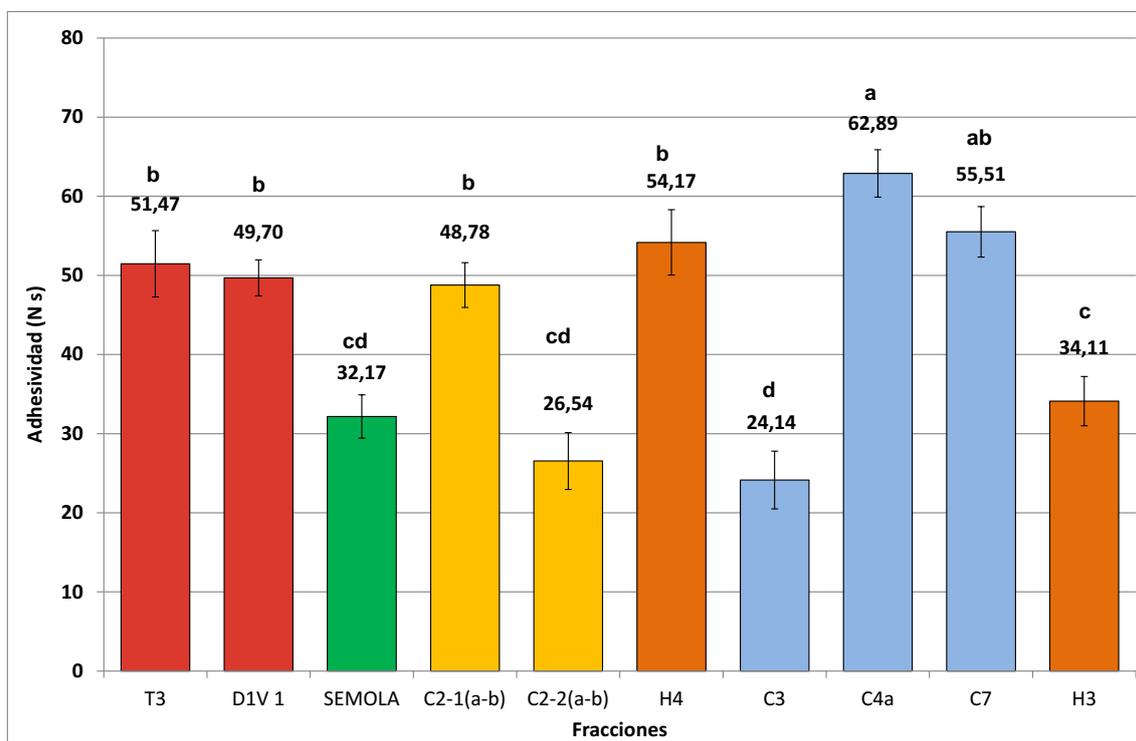
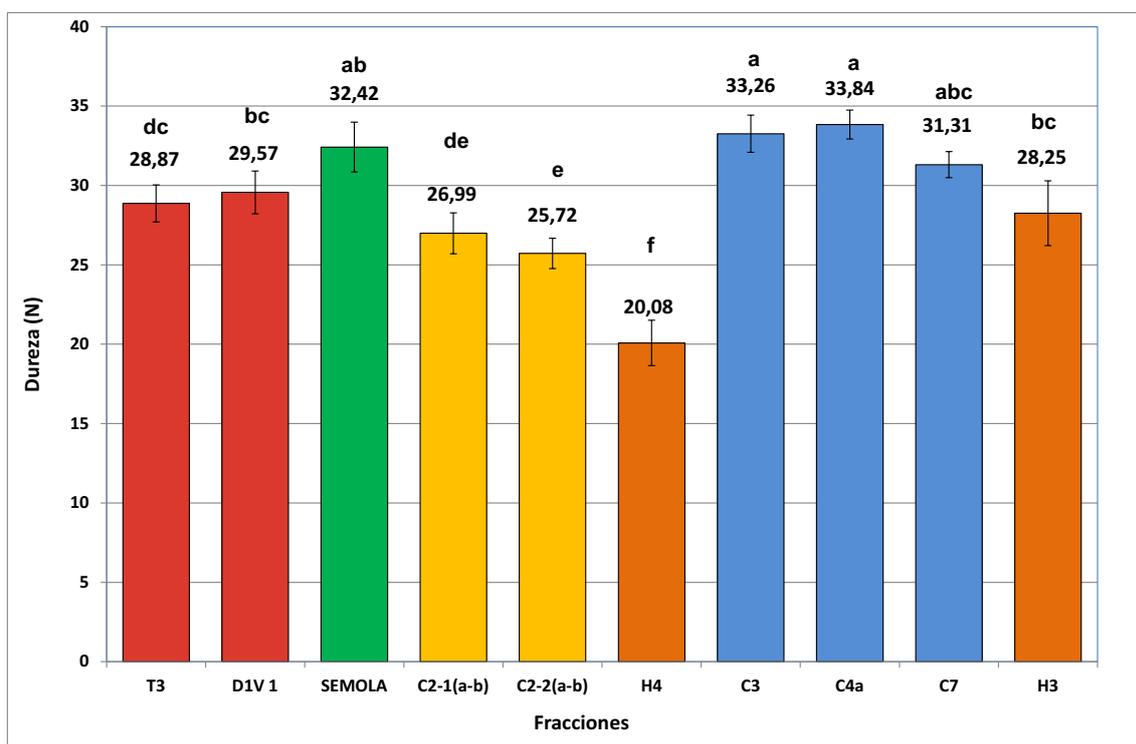
#### 4.10. Textura

En las Figuras 4.10 y 4.11 se muestran los resultados del atributo textural Dureza obtenidos para las distintas subfracciones seleccionadas. Se observan en general mayores valores de Dureza para R y UL que para las subfracciones de PL.

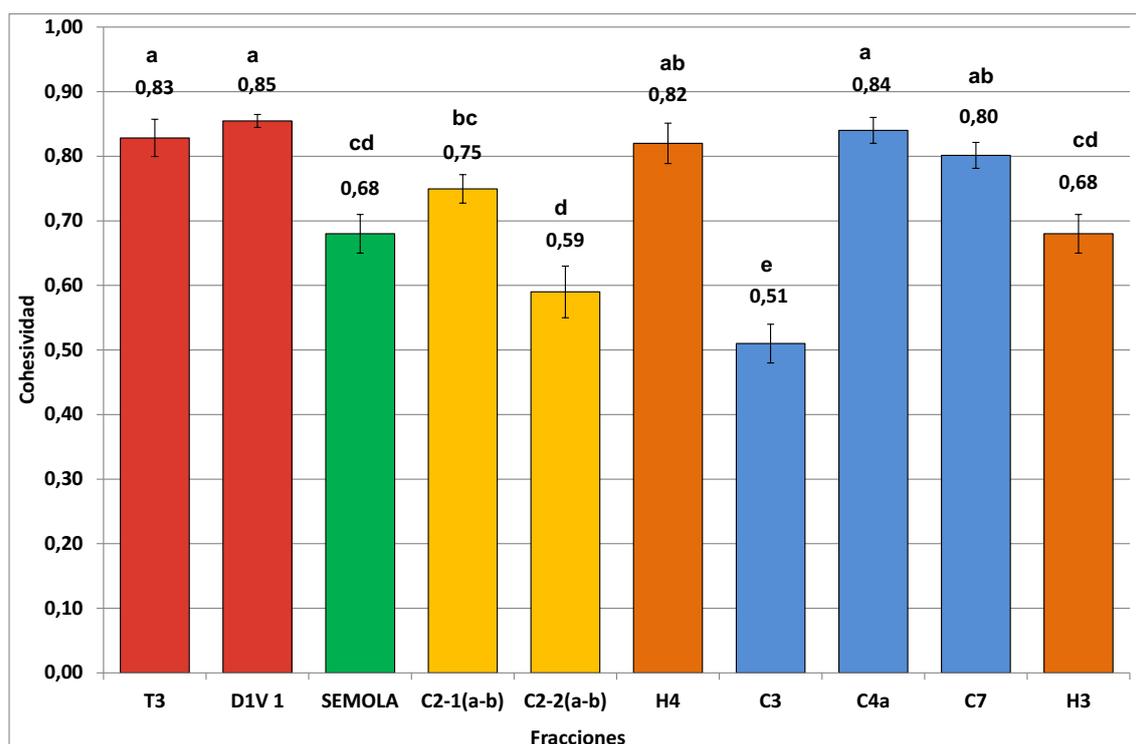
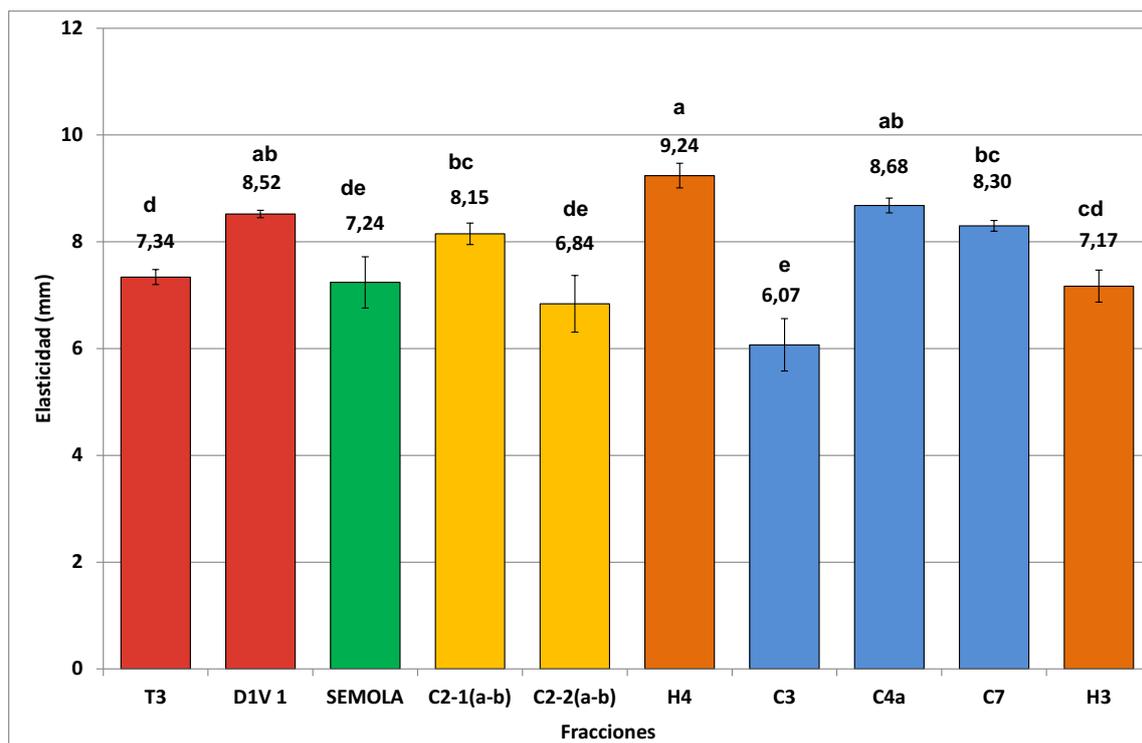
Entre las fracciones de R analizadas, no se aprecian diferencias significativas entre sí salvo en el caso de la elasticidad. Se observó que en general las R fueron más cohesivas que la mayoría de las restantes fracciones. Entre las dos fracciones analizadas de los PL se observó una menor elasticidad, cohesividad y adhesividad para C2-2 (a-b) pero la Dureza no fue significativamente diferente a C2-1(a-b). Hay que tener en cuenta que esta diferenciación también fue evidenciada en el comportamiento alveográfico y farinográfico; ambas poseen un P alveográfico similar pero la C2-2(a-B) es más extensible (mayor L) y por ende la relación P/L es mayor para la primera fracción. Respecto a la estabilidad (D) farinográfica C2-1(ab) resultó menos estable que C2-2(a-b). Respecto a los UL, el comportamiento de C3 en cuanto a elasticidad, cohesividad y adhesividad fue significativamente distinto al de las otras fracciones analizadas. C3 dio masas menos elásticas, menos cohesivas y menos adhesivas. En Dureza no hubo diferencias significativas entre estas fracciones. Si se relaciona con los datos alveográficos y farinográficos se aprecia que el P de C3 (106) es el más bajo de las tres fracciones y su L (77) es el más elevado por lo que el P/L es el más bajo de las tres fracciones. La estabilidad farinográfica es similar entre C3 y C4a y ambas fracciones arrojaron un valor mayor de estabilidad que C7.

De los productos, la masa más blanda correspondió a H4 y la más dura a la de Sémola, siendo H3 de dureza intermedia. H4 fue el producto que dio masa más elástica, más cohesiva y más adhesiva, atributos que estarían relacionados con una mejor calidad panadera. En concordancia, H4 presentó mayor estabilidad farinográfica y mayor relación

P/L (1,24) respecto a H3.



**Figura 4.10.** Dureza y Adhesividad correspondientes a distintas fracciones de molienda y productos. (Las letras iguales representan valores que no son significativamente diferentes dentro de cada grupo con  $P > 0.95$ ). Rojo: roturas (R), amarillo: primeros lisos (PL), celeste: Ultimos lisos (UL) y anaranjado productos.



**Figura 4.11** Cohesividad y Elasticidad correspondientes a distintas fracciones de molienda y productos. (Las letras iguales representan valores que no son significativamente diferentes dentro de cada grupo con  $P > 0,95$ ). Rojo: roturas (R), amarillo: primeros lisos (PL), celeste: Ultimos lisos (UL) y anaranjado: productos)

#### 4.11 Análisis de componentes principales

Dada la variabilidad de resultados entre fracciones, se realizó un Análisis de Componentes Principales para determinar similitudes entre muestras provenientes de las diferentes etapas de molienda.

Se agruparon las variables en dos factores, que en conjunto permitieron explicar el 72,9% de la varianza. EL Componente Principal 1 correlacionó positivamente con el tiempo desarrollo (B) y estabilidad farinográficos (D), el trabajo de deformación alveográfico (W), y entalpía de gelatinización (H) y negativamente con decaimiento farinográfico (E), proteínas (prot) y cenizas (cen). El Componente Principal 2 correlacionó positivamente con la tenacidad alveografica (P) y negativamente con la extensibilidad (L), el almidón dañado (AD) y el IRAA. La Absorción farinográfica (A) tuvo similar carga en ambos componentes. En la Tabla 4.13 se muestran las cargas de cada componente y las comunalidades y en la Tabla 4.14 los coeficientes de puntuación de los componentes.

**Tabla 4.13:** Cargas de componentes rotados y comunalidades (Rotación Varimax)

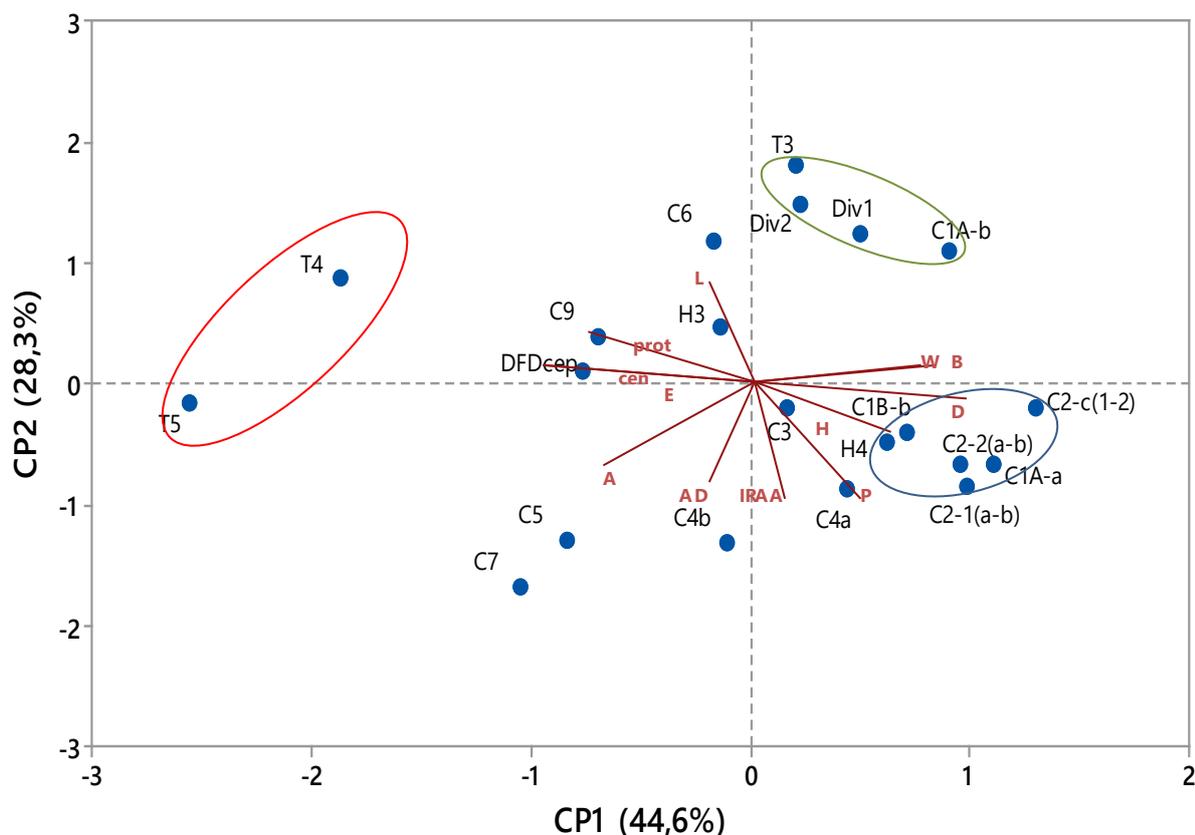
| Variable | Componente 1 | Componente 2 | Comunalidad |
|----------|--------------|--------------|-------------|
| P        | 0,461        | -0,827       | 0,896       |
| L        | -0,215       | 0,851        | 0,770       |
| W        | 0,755        | 0,133        | 0,588       |
| B        | 0,776        | 0,120        | 0,616       |
| D        | 0,908        | -0,104       | 0,834       |
| E        | -0,922       | 0,108        | 0,861       |
| AD       | -0,226       | -0,756       | 0,622       |
| IRAA     | 0,130        | -0,822       | 0,693       |
| prot     | -0,762       | 0,368        | 0,716       |
| cen      | -0,923       | 0,141        | 0,872       |
| H        | 0,574        | -0,283       | 0,409       |
| A        | -0,651       | -0,669       | 0,871       |
| Varianza | 5,3577       | 3,3927       | 8,7504      |
| % Var    | 44,6         | 28,3         | 72,9        |

**Tabla 4.14:** Coeficiente de puntuación de los componentes

| Variable | Componente 1 | Componente 2 |
|----------|--------------|--------------|
| P        | 0,058        | -0,233       |
| L        | -0,010       | 0,249        |
| W        | 0,149        | 0,067        |
| B        | 0,152        | 0,064        |
| D        | 0,170        | 0,001        |
| E        | -0,172       | -0,001       |
| AD       | -0,070       | -0,236       |
| IRAA     | -0,005       | -0,243       |
| prot     | -0,132       | 0,084        |
| cen      | -0,171       | 0,009        |
| H        | 0,099        | -0,065       |
| A        | -0,148       | -0,225       |

Los resultados se muestran como gráfico de puntuación en la Figura 4.12. Se observa que las muestras de Roturas se encuentran divididas en dos sectores bien diferenciados del gráfico. Por un lado, T3, Div1, Div2 con CP1 cercano a 0 y CP2 con valores altos (indicando una alta extensibilidad y bajos valores de Almidón dañado e IRAA) y T4 y T5 con CP1 negativo y valores más bajos de CP2 que los mostrados por T3. Este posicionamiento indica una baja calidad panadera para T4 y T5 y muestra claramente que a pesar de que T3, T4 y T5 forman parte de lo que llamamos Roturas sus características son muy distintas entre sí, siendo más panificable T3. Se observa la cercanía de C1A-b, subfracción correspondiente a los PL, al primer grupo de las Roturas.

Las fracciones correspondientes a PL (excepto C1A-b) junto con H4 se encuentran formando un cluster con valores positivos de CP1 y valores negativos para CP2. Se caracterizan por las buenas características alveográficas (mayor W) y farinográficas (mayor estabilidad). Por otro lado es evidente un menor valor de proteínas y de cenizas como es de esperar en harinas con un mayor grado de refinamiento



**Figura 4.12.** Gráfico de puntuación y vectores. Nomenclatura de muestras: ver Tabla 3.1. P: tenacidad alveográfica, L: extensibilidad alveográfica, W: trabajo de deformación alveográfica, A: absorción de agua farinográfica, B: tiempo de desarrollo farinográfico, E: estabilidad farinográfica, D: decaimiento farinográfico, IRAA: índice de retención de aguas alcalinas, prot:% proteína, cen: % cenizas, H: entalpía de gelatinización. Poner el significado de todas las abreviaturas en la leyenda de la figura

Respecto a las subfracciones de los UL, se encuentran mucho más dispersas lo que indica características diferenciadas. Las más alejadas tanto de H4 como de H3 son las C5 y C7 que están en el cuadrante con valores negativos tanto de CP1 como de CP2. Esto indica escasa extensibilidad (L), tenacidad (P) y trabajo de deformación alveográfico (W) y una baja estabilidad farinográfica (D), lo que permitiría predecir una performance panadera de menor calidad. Las subfracciones C6, C9 y C3 se ubican en una región más cercana a H3, aunque con diferencias tanto de composición (proteínas, minerales) como de comportamiento de la masa.

## 5. Conclusiones

---

1. El tamaño de partículas de las diferentes fracciones de molienda está relacionado directamente con el grado de procesamiento de las mismas (separación por tamaño y densidad), siendo mayor en el caso de las Roturas. El mayor porcentaje de peso retenido de todas las fracciones y productos se encuentra en los tamaños de partículas comprendidos entre 54 y 99  $\mu\text{m}$ . Las harinas H3 Y H4 presentan características granulométricas muy diferentes a la agrupación de fracciones realizada, debido a que estas harinas son mezclas de todos los grupos de fracciones contemplados.
2. El contenido de humedad de las distintas fracciones analizadas varía desde el 13,72 al 15,45% (p/p), notándose un decrecimiento progresivo de este parámetro a medida que se continua con el proceso de molienda, es decir el promedio del contenido de humedad de las Roturas es mayor que el promedio de los Últimos Lisos. Este hecho se puede atribuir a que el mayor procesamiento de las fracciones implica un sometimiento a mayores temperaturas, provocando una disminución del contenido de humedad.
3. El contenido de cenizas de las fracciones analizadas se encuentra en un rango de 0,37 a 2,10% (p/p); en promedio las Roturas presentan un mayor contenido de cenizas que los Últimos Lisos, lo que se relaciona con la mayor presencia de salvado en las primeras etapas de proceso de molienda.
4. El porcentaje almidón dañado va aumentando a medida que el proceso de molienda se va intensificando, así como de acuerdo a la posición de los rodillos dentro del proceso. Se obtuvieron en promedio para las Roturas un porcentaje de almidón dañado de 7,25 %, en tanto que para los Últimos Lisos fue de 9,05. La correlación entre el porcentaje de almidón dañado y el valor de A farinografico, fue superior a 0,90, indicando que mientras mayor daño sufre la estructura del almidón, mayor absorción de agua se presenta.
5. El contenido de proteínas promedio va disminuyendo a medida que avanza el proceso de molienda, por lo cual las Roturas presentan un contenido proteico del 13,18%, mayor que el contenido proteico de los Últimos Lisos (10,83% (p/p)). Se pudo observar una buena correlación positiva entre el porcentaje de proteínas y el contenido de humedad que absorbe le gluten y una correlación negativa entre el contenido de proteínas y el porcentaje de almidón dañado.

6. Se puede observar que conforme se desarrolla el proceso de molienda, va disminuyendo el contenido de gluten, lo que se relaciona con la disminución del contenido proteico total.
7. Los perfiles cromatográficos (RP-HPLC) de las gliadinas resultaron muy similares para las fracciones correspondientes a los Primeros y Ultimos Lisos, en tanto para las fracciones correspondientes a las Roturas se pudo apreciar un comportamiento diferencial, con una mayor proporción de gliadinas hidrosolubles. Los perfiles obtenidos por SDS-PAGE de subfracciones seleccionadas indican una extracción diferencial de proteínas de diferente relación masa/hidrofobicidad relacionada probablemente con la diferente granulometría.
8. Los ensayos de RP-HPLC para el análisis de las gluteninas indicaron mayores tiempos de retención que el presentado por las gliadinas, con menores tiempos de retención para las gluteninas solubles de mayor masa molecular pero más hidrofílicas. (HMW-GS), y mayores tiempos de retención para las gluteninas de menor masa molecular (LMW-GS) y más hidrofóbicas. De acuerdo a la información proporcionada por las áreas de cada fracción del cromatograma se puede apreciar que las fracciones con menor proceso de molienda (mayor tamaño) presentan picos de HMW-GS, más bajos y picos de LMW-GS más altos que las de mayor grado de molienda.
9. No se pudo correlacionar el Índice de aguas alcalinas con otros parámetros obtenidos en el presente trabajo.
10. Los ensayos alveográficos indican que, globalmente, las fracciones de los Primeros Lisos dan masas más elásticas que las Roturas, en tanto que las fracciones de las Roturas presentan una mayor extensibilidad que el resto de las fracciones. Las masas obtenidas con las fracciones de los Últimos Lisos presentan propiedades intermedias de elasticidad y extensibilidad entre las Roturas y los Primeros Lisos.
11. De acuerdo a los resultados farinográficos, los Primeros Lisos presentan mayores tiempo de desarrollo y estabilidad en comparación con las fracciones de los Ultimos Lisos y de las Roturas, lo que correlaciona con el trabajo alveográfico obtenido para las diferentes fracciones.

12. Las fracciones de la molienda agrupadas dentro de los diferentes grupos Roturas, Primeros Lisos y Últimos Lisos presentan una gran variabilidad de sus propiedades térmicas analizadas mediante DSC. Al comparar el comportamiento entre Roturas y Primeros Lisos se observa un aumento en la entalpía de gelatinización y una reducción de la temperatura inicial de gelatinización a medida que se reduce el tamaño de las partículas.
13. De acuerdo al análisis de textura realizado a las diferentes fracciones se puede apreciar que las Roturas y los Ultimos lisos presentan globalmente mayores valores de dureza que los primeros lisos. Las roturas presentan una mayor cohesividad que el resto de las fracciones.
14. Entre los productos, la fracción H4 presenta una mayor dureza y mayor estabilidad farinográfica y, mayor relación P/L que H3 y que la sémola. Así como también H4 presenta una mayor elasticidad, cohesividad y adhesividad que el resto de productos obtenidos del proceso de molienda.
15. Se realizó un análisis estadístico de componentes principales y se pueden observar que el Componente principal 1, se correlaciona positivamente con tiempo desarrollo (B) y estabilidad farinográfica (D), trabajo de deformación alveográfico (W) y entalpía de gelatinización (H) y correlaciona negativamente con el decaimiento farinográfico (E), proteínas y cenizas (cen). El Componente Principal 2 correlacionó positivamente con la tenacidad alveográfica (P) y negativamente con la extensibilidad (L) y el almidón dañado (AD). De este análisis se pudo observar que las Roturas pueden agruparse en grupo 1: T3, Div1, Div2 y grupo 2: T4 y T5. El grupo 1 presenta una alta extensibilidad y bajos valores de almidón dañado e IRAA, lo que indica que este grupo presenta una baja calidad panadera. En tanto que el grupo 2 presentan mejores características para una panificación.

# Referencias

---

- AACC International (2000) Approved Methods of Analysis, 10th edn, American Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- AOAC (2002) Official Methods of Analysis. 17th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Gaithersberg, USA
- Arfvidsson, C., Wahlund, K.G. y Eliasson, A.C. (2004). Direct molecular weight determination in the evaluation of dissolution methods for unreduced glutenin, *Journal of Cereal Science*, 39, 1–8.
- Barrera, G. N., Bassi, E., Reyes Martínez, R. J., Leon, A. E. y Ribotta, P. D. (2012). Efectos de diferentes fracciones de harinas de trigo pan obtenidas con molino industrial sobre la calidad de galletitas dulces. *Agriscientia*, 29(2), 69-79.
- Barrera, G. N., Pérez, G. T., Ribotta, P. D. y León, A. E. (2007). Influence of damaged starch on cookie and bread-making quality. *European Food Research and Technology*, 225(1), 1-7.
- Bietz, J.A., Hueber F.R., Sanderson, J.E. y Wall, J.S. (1977). Wheat gliadin homology revealed through N-terminal amino acid sequence analysis. *Cereal Chem.*, 54, 1070-1083.
- Bolsa de Comercio de Rosario. Anuarios estadísticos 2020, 2012, 2010 <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/anuario-estadistico>
- Bühler group. <https://www.buhlergroup.com>
- Cámara Nacional de la Industria Molinera de Trigo CANIMOLT México <https://www.canimolt.org/>
- Calzada, J. y Ramseyer, F. (2020). Positivo balance para las exportaciones de trigo 2018/2019. Informativo Semanal de la Bolsa de Comercio de Rosario (ISSN 2796-7824) <https://www.bcr.com.ar/es/print/pdf/node/76914>
- Cardós, M., Lupano, C. E. y Añón, M. C. (2000). Caracterización proteica y calidad panadera de diferentes pasajes de molienda de trigos argentinos. *Información Tecnológica*, 11(6), 53-58.
- Centre for Industrial Rheology. Texture Analysis. <https://www.rheologylab.com/services/texture-analysis/>
- Cleemput, G., Roels, S.P., Van Oort, M., Grobet, P. y 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.
- Código Alimentario Argentino (CAA), Capítulo IX, Harinas, Artículos 661, 668 y 668bis. [https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/CAA/capitulospdf/Capitulo\\_IX.pdf](https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/CAA/capitulospdf/Capitulo_IX.pdf)
- Collar, C. (2007). Cereales antiguos. En: “De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica”. Capítulo 7, pp. 295-318, Baez Ediciones, Argentina.

- Cornell, H.J. y Hoveling, A.W. (2020). The composition, properties, and uses of wheat starch. En: Wheat: Chemistry and Utilization, Capítulo 4, pp. 127-172, CRC Press.
- Correa, M. J. y Ferrero, C. (2015). Thermal behaviour of wheat starch and flour at different water levels: Effect of pectins, modified celluloses and NaCl. *Starch-Stärke*, 67(3-4), 338-347.
- Courtin, C.M. y Delcour J.A. (2002). Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *Journal of Cereal Science*, 35(3), 225-243.
- Department of Polymer Science, University of Southern Mississippi. Macrogalleria. Getting Polymers Talk. Differential Scanning Calorimetry. <https://www.pslc.ws/welcome/tour/macrog/dsc2.htm>
- DuPont, F.M. y Altenbach, S.B. (2003). Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. *J. of Cereal Science*, 38(2), 133-146.
- Evers, A.D. 1993. On-line quantification of bran particles in white flour. *Food Science and Technology Today*, 7(1), 23-7.
- FAO (2020). <http://www.fao.org/>
- Fargestad, E. M., Tronsmo, A., Aamodt, F., Bjerke, R., Magnus, E.M., Dingstad G. y Baardseth, P. (2004). The effect of protein size distribution and dough rheology on hearth bread characteristics baked at different processes and scales. *Journal of Food Sciences*, 69(7), 524-525.
- Fennema, O. (1993). *Química de los Alimentos*. Ed. Acribia.
- Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA) [https://fundacionfedna.org/microscopia/HTML/15cMaintext%20grano%20trigo\\_sp.html](https://fundacionfedna.org/microscopia/HTML/15cMaintext%20grano%20trigo_sp.html)
- García Román, M. (2009) 2º Curso de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Tecnología de Cereales Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, España. <https://www.ugr.es/~mgroman/archivos/TC/mat.pdf>
- Gianibelli, M. C., Larroque, O. R., MacRitchie, F. y Wrigley, C. W. (2001). Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. *Cereal Chem*, 78(6), 635-646.
- Goesaert H., Brijs H., Veraverbeke K., Courtin W.S., Gebruers C.M.K. y Delcour J.A. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science and Technology*, 16(1-3), 12-30.
- Gómez Pallares M., León A. E. y Rosell M. C. (2007). Trigo. En: “De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica”. Capítulo 1, pp. 17-72, Baez Ediciones, Argentina.
- Grosch, W. y Wieser, H. (1999). Redox reactions in wheat dough as affected by ascorbic acid. *Journal of Cereal Science*, 29(1), 1-16.
- Grupo Molinero. Test de calidad. Alveógrafo de Chopin. <https://grupomolinero.com.ar/alveografo-de-chopin/>

- Hosoney, D.C. y Rogers, D.E. (1990). The formation and properties of wheat flour doughs. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29(2), 73-93.
- Hosoney, R.C. (1991). *Principios de Ciencia y Tecnología de los Cereales*. Ed. Acribia.
- Infoagro. El cultivo de trigo. 1a parte  
<https://www.infoagro.com/herbaceos/cereales/trigo.htm>
- IRAM 15850. Método práctico para la determinación de humedad en granos, harinas y subproductos.
- IRAM 15855. Farinograma
- IRAM 15857. Alveograma
- IRAM 15864. Gluten humedo, gluten seco y gluten index
- Kamal, A.H.M., Kim K.H, Shin D. H., Seo H.S., Shin K.H., Park, C.S., Heo H.Y. y Woo S.H. (2009). Proteomics profile of pre-harvest sprouting wheat by using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Plant Omics Journal*, 2(3), 110-119.
- Kent, N.L. (1984). *Technology of Cereals*. Pergamonn Press Ltd., Headington Hill Hall, Oxford, England.
- KMEC Engineering. Molinos de harina. <https://www.molinoharinero.com>
- Lee, Y. E. y Osman, E. M. (1991). Correlation of morphological changes of rice with rheological properties during heating in excess water. *Applied Biological Chemistry*, 34(4), 379-385.
- Linlaud, N. E. (2014). Efecto de distintos hidrocoloides sobre la microestructura de la masa y su relación con la calidad de productos de panificación. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata. Disponible en <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/41172>
- Liu, Z.H., Wang, H.Y., Wang, Zhang, X.E., Chen, P.D. y Liu, D.J. (2006). Genotypic and spike positional difference in grain phytase activity, phytate, inorganic phosphorus, iron, and zinc contents in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science*, 44(2), 212-219.
- Lorenzo Corchón, A. Los polisacáridos. *asturnatura.com* [en línea] Num. 473, 21/04/2014. Disponible en <https://www.asturnatura.com>. ISSN 1887-5068
- Mendieta López, L. (2009) Participación de la Beta-glucanasa y la Alfaamilasa en la calidad culinaria del frijol. Tesis para obtener el título de Química de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Miralles, D. J., González, F. G., Abeledo, L. G., Serrago, R. A., Alzueta, I., García, G. A., ... y Lo Valvo, P. J. (2014). Manual de trigo y cebada para el cono sur procesos fisiológicos y bases de manejo. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/137280>
- Molinos ARARAT. (2015) Historia del trigo.  
<http://www.molinosararat.com.ar /spanish/historiadeltrigo.htm>
- Osborne, T. B. (1924). *The vegetable proteins*. Longmans, Green and Company.

- Owens, W. G. (2001). Wheat, corn and coarse grains milling. En: Cereals processing technology, pp. 27-52. Woodhead Publishing.
- Paollili, M.C., Cabrini, S.M., Fillat, F.A. y Pagliaricci, L.O. (2021) La cadena de trigo en Argentina. Informe Técnico N° 2. Abril 2021, pp 1-9. Disponible en:  
[https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/INTADig\\_b763130f6d885f3687b6e9ec592bef76](https://repositoriosdigitales.mincyt.gob.ar/vufind/Record/INTADig_b763130f6d885f3687b6e9ec592bef76)
- Parker, R. y Ring, S. G. (2001). Aspects of the physical chemistry of starch. *Journal of Cereal Science*, 34(1), 1-17.
- Pateras, I.M.C. (2002). Alteración y Envejecimiento del Pan. En: Fabricación de pan, pp. 283-308. Eds S.P. Cauvain y L.S. Young. Editorial Acribia.
- Payne, P. I., Harris, P. A., Law, C. N., Holt, L. M. y Blackman, J. A. (1980). The high-molecular-weight subunits of glutenin: structure, genetics and relationship to bread-making quality. En: *Annales de Technologie Agricole* 29, ( 2), 309-320.
- Philippe S., Saulnie, L. y Guillon, F. (2006). Arabinoxylan and (1/3),(1/4)-bglucan deposition in cell walls during wheat endosperm development. *Planta* 224(2), 449-461.
- Pingle. Equipos de limpieza de grano. <http://pl-flourmill.com/product-2-8-separador-magnetico/147724/>
- Pomeranz, Y. (1988). Composition and functionality of wheat flour components. En: *Wheat: Chemistry and Technology*, pp. 219-370. American Association of Cereal Chemistry, St. Paul, MN.
- Ponzio, N.T. (2011) Calidad panadera de variedades de trigo puras y sus mezclas. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/19948>
- Pourmohammadi, K., Abedi, E. y Hashemi, S. M. B. (2023). The effect of gliadin and glutenin genomes on the technological aspect of wheat-based products. *Current Research in Food Science*, 100622.
- Ram, S., Dawar, V., Singh, R. P. y Shoran, J. (2005). Application of solvent retention capacity tests for the prediction of mixing properties of wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 42(2), 261-266.
- Ronayne, P., Brites, C., Ferrero, C., Arocha, M. y León, A.E. (2009). Efecto de los tratamientos tecnológicos sobre la calidad nutricional y saludable de panes y productos de panadería. En: *Aspectos saludables y nutricionales de los productos de panificación*, pp. 124-150. Eds. M. Lutz y A.E. León. Editorial de la Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.
- Sakhare, S. D., Inamdar, A. A., Soumya, C., Indrani, D. y Rao, G. V. (2014). Effect of flour particle size on microstructural, rheological and physico-sensory characteristics of bread and south Indian parotta. *Journal of food science and technology*, 51(12), 4108-4113.

- Schirmer, M., Jekle, M. y Becker, T. (2015). Starch gelatinization and its complexity for analysis. *Starch-Stärke*, 67(1-2), 30-41.
- Schofield, J. D. y Booth, M. R. (1983). Wheat proteins and their technological significance. *Developments in food proteins* 2, 1-5.
- Sciammaro, L. (2010) “Caracterización de gliadinas y gluteninas de harinas de trigo de variedades puras y de harinas comerciales y su asociación con la calidad industrial de las mismas”. Tesis de grado Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales – UNLP. Disponible en: <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/51407>
- Shewry, P. R. (2003). Wheat gluten proteins. *Wheat gluten protein analysis*, 1-17.
- Shewry, P.R., Popineau Y., Lafiandra D. y Belton P. (2001). Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT Project. *Trends in Food Science & Technology*, 11(2), 433-441.
- Shewry, P. R., Halford, N. G. y Tatham, A. S. (1992). High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of cereal science*, 15(2), 105-120.
- Shewry, P.R., Tatham A.S, Forde J., Kreis M. y Mifflin B.J. (1986). The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *Journal of Cereal Science*, 4, 97-106.
- Stauffer C. (1998). Principles of dough formation. En: *Technology of Breadmaking*, pp. 262-292. Eds C. E. Stauffer y L. S. Young. Aspen Publishers Inc.
- Tarabiono, C. (1979). *Manuale pratico per la macinazione del grano*. Editorial CHIRIOTTI, Italia.
- Torri, C. L., Ribotta, P. D., Morcillo, M. H., Rubiolo, O. J., Pérez, G. T. y León, A. E. (2003). Influencia del contenido de almidón dañado sobre la calidad galletitera en harinas de triticale. *Agriscientia*, 20, 3-8.
- Turnbull, K.M. y Rahman S. (2002). Endosperm texture in wheat. *Journal of Cereal Science*, 36, 327-337.
- Wang, M., Van Vliet, T. y Hamer, R. J. (2002). Interaction of water extractable pentosans with gluten protein: effect on dough properties and gluten quality. *Journal of Cereal Science*, 36(1), 25-37.
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24(2), 115-119.
- Wikipedia, La enciclopedia libre. Triticum. <https://es.wikipedia.org/wiki/Triticum>
- Wurzburg, O.B. (1986). *Modified starches: properties and uses*, Chapter 1. CRC Press.
- Zobel, H.F. (1984). Gelatinization of starch and mechanical properties of starch pastes. En: *Starch Chemistry and Technology (Segunda edición)*, Capítulo IX, pp. 285-309. Ed. R.L. Whistler, J.N. BeMiller y E., Paschall. Academic Press Inc.