



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
LABORATORIO DE QUIMICA BIOLOGICA-ISIDSA**



**Trabajo de tesis para defender el título de: MAGISTER EN CIENCIA Y
TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS**

**EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DEL ALMIDON
Y LAS PROTEÍNAS EN PASTAS ELABORADAS CON
HARINA DE TRIGO SUSTITUIDA PARCIALMENTE CON
HARINA DE SOJA**



Ing. FABIOLA PATRICIA GONZALES CORO

Año: 2015

El trabajo de investigación “Evaluación del Comportamiento del Almidón y las Proteínas en Pastas Elaboradas con Harina de Trigo Sustituida Parcialmente con Harina de Soja” se realizó en el Laboratorio de química Biológica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y en el laboratorio de cereales del Instituto de Instituto Superior de Investigación, Desarrollo y Servicios en Alimentos (ISIDSA) de la Universidad Nacional de Cordoba, el cual fue supervisado por:

Director de tesis: Dra. Cristina Martinez

Co-Director: Dr. Pablo Ribotta

Este trabajo fue evaluado por el siguiente comité:

Dedicado a mis padres y hermanos que me apoyan incondicionalmente en cada paso que decido tomar

RESUMEN

La pasta es uno de los alimentos de mayor consumo en la dieta de los argentinos, además de ser considerado un alimento saludable. En los últimos años se vio la necesidad de la elaboración de alimentos nutritivos; siendo la soja uno de los granos que presenta un alto contenido de proteínas, de relativamente bajo precio y que su consumo ayuda a reducir el riesgo de sufrir diferentes enfermedades; el agregado de harina de soja mejora significativamente las propiedades nutricionales de las pastas debido a la complementación aminoacídica que se produce. Sin embargo la incorporación de la harina de soja cambia la estructura y la calidad de la pasta, las cuales depende de sus principales componentes (proteínas y almidón), por lo cual se vio la necesidad de evaluar el efecto de la incorporación de diferentes harinas de soja (entera, desgrasada, activa e inactiva) sobre la red proteica responsable de la estructura de las pastas y sobre el comportamiento del almidón.

Para tal efecto se procedió a la elaboración de pastas secas con tres niveles de sustitución (15%, 30% y 40%) de diferentes harinas de soja (activa entera, inactiva entera, activa desgrasada, inactiva desgrasada). La sustitución de harina de trigo pan por harina de soja cambia el comportamiento de las pastas durante la elaboración y cocción; por lo cual fue necesario estudiar el efecto de la sustitución sobre la calidad tecnológica de las pastas, de esta manera se realizó la evaluación los parámetros: tiempos óptimos de cocción (TOC), residuo de cocción, absorción de agua de la pasta durante la cocción, índice de hinchamiento y la fracturabilidad de las pastas secas.

El comportamiento del almidón durante la elaboración y cocción de las pastas contribuye a la calidad de las mismas, siendo necesario saber el efecto de la sustitución sobre el comportamiento del almidón y los cambios estructurales durante el proceso de elaboración y cocción. Para lo cual se realizó la evaluación de la gelatinización del almidón en función de los diferentes tiempos de cocción mediante un microscopio con acercamiento 10X, además de la determinación de las propiedades de *pasting* (viscosidad pico, viscosidad final, *breakdown* y *setback*) por RVA tanto de las harinas como de las pastas secas.

Tanto el almidón como las proteínas contribuyen a las propiedades viscoelásticas de las masas, las cuales fueron afectadas por la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja; se realizó la evaluación de las propiedades viscoelásticas (G' , G'' , G^* y $Tang \delta$) de las masas para poder observar el efecto de dicha sustitución.

La interacción entre proteínas y almidón son fundamentales en la estructura de la pasta, entonces fue necesario evaluar el comportamiento de las proteínas y su relación con el almidón durante el proceso de elaboración y cocción de las pastas. La caracterización de las proteínas fue realizada por electroforesis con una previa extracción secuencial de las proteínas; la evaluación de la microestructura de masas y pastas cocidas se realizó mediante microscopía confocal de barrido.

Tras las evaluaciones realizadas a las pastas resultantes, una sustitución de hasta un 15 % mostró parámetros de calidad óptimos. Particularmente, las pastas elaboradas con soja activa desgrasada al 15%.

LISTADO DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

PER: protein efficiency ratio

kDa: kilodalton

LDL: *low density lipoproteins* o lipoproteínas de baja densidad.

CAA: Código Alimentario Argentino

PyMES: pequeñas y medianas empresas.

µm: micrómetro

LMW-GS: Low molecular weight glutenin subunits – subunidades de glutenina de bajo peso molecular

HMW-GS: High molecular weight glutenin subunits - subunidades de glutenina de alto peso molecular

GMP: glutenin macropolymer – macro polímero de glutenina

AACC: American Association for Clinical Chemistry

G': módulo de almacenamiento o módulo elástico

G'': el módulo de pérdida o módulo viscoso

Tan δ : tangente del ángulo de fase o tangente del ángulo de pérdida

RVA: Rapid Visco Analyzer

SDS-PAGE: *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*-electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico

CLSM: *Confocal laser scanning microscopy* - Microscopio Láser Confocal de Barrido.

ANOVA: ANalysis Of VAriance - análisis de la varianza

nm: nanómetro.

p/p: peso/peso

INDICE GENERAL

PAGINA INICIAL.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN.....	iv
LISTADO DE ABREVIATURA Y SIMBOLOS.....	v
INDICE GENERAL.....	vi
INDICE DE TABLAS.....	ix
INDICE DE FIGURAS.....	x
I INTRODUCCION	1
1.1. LA SOJA.....	2
1.1.1 HARINA DE SOJA.....	3
1.2 PASTA.....	8
1.2.1 TIPOS DE PASTAS SECAS.....	9
1.2.2 HARINA DE TRIGO.....	11
1.2.3 COMPORTAMIENTO DEL ALMIDON Y LAS PROTEINAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE PASTAS.....	21
1.2.4 COMPORTAMIENTO DEL ALMIDON Y LAS PROTEINAS EN LA COCCIÓN DE LA PASTA.....	24
1.3 PASTAS FORTIFICADAS CON SOJA.....	25
1.4 HIPOTESIS	28
1.5 OBJETIVOS.....	28
1.5.1 OBJETIVO GENERAL.....	28
1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	28
II MATERIALES Y METODOS.....	29

2.1	MATERIALES	30
2.2	FORMULACIÓN.....	30
2.3	ELABORACIÓN.....	30
2.4	COCCION.....	32
2.5	EVALUACIÓN TECNOLÓGICA DE LAS PASTAS.....	33
2.5.1	HUMEDAD DE LOS FIDEOS SECOS.....	33
2.5.2	TIEMPO ÓPTIMO DE COCCION (TOC)	33
2.5.3	RESIDUO DE COCCIÓN.....	34
2.5.4	ABSORCIÓN DE AGUA	34
2.5.5	INDICE DE HINCHAMIENTO (<i>Swelling Index</i>).....	35
2.5.6	FRACTURABILIDAD DE LAS PASTAS SECAS.....	35
2.6	EVALUACIÓN DE LA GELATINIZACIÓN DEL ALMIDÓN A DIFERENTES TIEMPOS DE COCCION.....	35
2.7	EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE LAS MASAS	35
2.8	DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES DE PASTING (RVA).....	37
2.9	CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS.....	40
2.9.1	ELECTROFORESIS EN SDS PAGE	40
2.9.2	PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS.....	41
2.10	MICROSCOPIA CONFOCAL DE BARRIDO (CLSM)	43
2.11	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	45
III	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
3.1	Primera Sección: Evaluación de los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre los parámetros de calidad tecnológica de las pastas.....	47
3.1.1	ELABORACIÓN DE LAS PASTAS	48

3.1.2	EVALUACIÓN TECNOLÓGICA DE LAS PASTAS	49
3.2	Segunda Sección: Análisis de los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre el comportamiento del almidón y sus cambios estructurales durante el proceso de elaboración y cocción.	
	54	
3.2.1	EVALUACIÓN DE LA GELATINIZACIÓN DEL ALMIDÓN EN FUNCIÓN DE LOS DIFERENTES TIEMPOS DE COCCIÓN	55
3.2.2	DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES DE PASTING (RVA).....	57
3.3	Tercera Sección: Evaluación de los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre las propiedades viscoelásticas y los cambios estructurales en las masas de las pastas. .	63
3.3.1	EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE LAS MASAS	64
3.4	Cuarta Sección: Evaluación del comportamiento de las proteínas y su relación con el almidón durante el proceso de elaboración y cocción de las pastas.....	71
3.4.1	CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS	72
3.4.2	EVALUACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA DE MASAS Y PASTAS COCIDAS.....	78
IV	CONCLUSIONES	84
V	BIBLIOGRAFÍA	88

INDICE DE TABLAS

Tabla I.1 Composición de la Soja y de sus partes, en base seca (g/100g constituyente de la semilla)	2
Tabla I.2 Composición promedio harina de soja sin desgrasar y desgrasada, en base seca (g/100g de harina).....	3
Tabla I.3 Características de las proteínas de la soja.....	4
Tabla I.4 Composición química del grano del trigo % (p/p)	12
Tabla II.1 Buffer de Muestra x 3 ¹	42
Tabla II.2 Composición de los geles de SDS-PAGE	43
Tabla III.1 Composición centesimal de las harinas (g/100g de harina)	48
Tabla III.2 Cantidad de agua incorporada para elaborar las pastas	49
Tabla III.3 Propiedades tecnológicas de las pastas	51
Tabla III.4 Propiedades de pasting de la harina de trigo, la harina de soja y de las mezclas usadas para elaborar las pastas.....	58

INDICE DE FIGURAS

Figura I.1 Estructura del trimero de la globulina 7S de soja (β -conglucina).....	5
Figura I.2 Estructura del homohexámero de la globulina 11S: glicina A3B4. ..	6
Figura I.3 Estructura del grano del Trigo	11
Figura I.4 Estructura de la glutenina.....	15
Figura I.5 Modelo de estructura predicha de gliadina.....	16
Figura I.6 Gránulos de almidón de trigo	19
Figura II.1 Elaboración de pastas secas	32
Figura II.2 Cocción de las pastas	32
Figura II.3 Determinación de humedad	33
Figura II.4 Determinación del tiempo óptimo de cocción	33
Figura II.5 Determinación de residuos de cocción.....	34
Figura II.6 Determinación de absorción de agua.....	34
Figura II.7 Curva típica de <i>pasting</i> del almidón	38
Figura II.8 Partes de un gel de SDS-PAGE.....	41
Figura II.9 Secciones ópticas de diferentes planos focales de una muestra que ofrece la imagen en tres dimensiones del objeto	44
Figura II.10 Elementos del microscopio confocal.	45
Figura III.1 Fracturabilidad de las pastas secas.	53
Figura III.2 Imágenes de las pastas tomadas a diferentes tiempos de cocción.	56
Figura III.3 Perfiles de RVA de las diferentes mezclas de harinas.	60
Figura III.4 Perfiles de RVA de pastas secas (PS) y harinas.....	61
Figura III.5 Módulo elástico, G' , para las diferentes masas (M).....	65
Figura III.6 Variación del módulo elástico (G'), viscoso (G''), la tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$) y el módulo complejo (G^*) de las masas con la incorporación de los derivados de soja ($f=1,26$ Hz).	66
Figura III.7 Módulo viscoso G'' , para las diferentes masas (M).....	67
Figura III.8 $\tan \delta$ de las diferentes masas (M).	69
Figura III.9 Perfil electroforético de las proteínas de la harina de trigo (HT) y de las mezclas con las harinas de soja al 40% de sustitución.	73
Figura III.10 Perfil electroforético de las proteínas provenientes de las pastas cocidas (PC).....	75

Figura III.11 Perfil electroforético de las proteínas recuperadas del agua de cocción (AC) de las pastas.....	77
Figura III.12 Microscopia de masas (M).	79
Figura III.13 Microscopia de pastas cocidas (PC).	80
Figura III.14 Microscopia del centro y borde de pastas cocidas (PC).....	81

I INTRODUCCION

1.1 LA SOJA

La soja, es una legumbre de ciclo anual de nombre científico *Glycine Max (L.)*, pertenece a la familia de las leguminosas (Fabaceas) (Ridner y col., 2006). Esta planta herbácea posee vainas cortas, que contienen en su interior entre uno y cuatro granos oleaginosos, con distintas variaciones de color: amarillo, negro, etc. (Ridner y col., 2006). Una planta de soja produce entre 60 a 80 vainas. Los granos son redondos u ovalados (Singh y col., 2008).

En forma general, el grano de la soja está anatómicamente constituida por tres fracciones principales: la cascarilla, que representa aproximadamente el 8% del peso total de la semilla, el hipocótilo (2%) y el cotiledón (90%); en este último se localiza el aceite en pequeños compartimientos llamados esferosomas, que a su vez están dispersos entre los cuerpos proteínicos (aleuronas), integrados por aproximadamente un 98% de proteínas, algo de lípidos y de ácido fítico. La función de la proteína es de reserva para la germinación y el crecimiento de la planta. En la Tabla I.1 se observa la composición de las partes de la soja (Badui, 2006).

Tabla I.1 Composición de la Soja y de sus partes, en base seca (g/100g constituyente de la semilla)

	Proteína	Grasa	Hidratos de Carbono	Cenizas	Constituyente de la semilla
Grano entero	40	21	34	4,9	100
Cotiledón	43	23	29	5,0	90
Cascarilla	9	1	86	4,4	8
Hipocótilo	41	11	43	4,3	2

Fuente: Badui, 2006

La soja es la leguminosa más importante en relación con la producción total y mundial de granos; de los más utilizados debido a su alto contenido en proteínas y relativamente bajo precio (Ribotta y col., 2005). Esta leguminosa es originaria de Asia del Este y es un importante cultivo global (Nikolic y Lazic, 2011). En la Argentina, la década del '60 marcó el arraigo del cultivo (Cuniberti y col., 2004). La previsión de la campaña 2013/2014 es de 54 millones de toneladas. Estados Unidos, Brasil, Argentina y China son los países líderes de la producción de soja en el mundo (He y Chen, 2013).

La Argentina es el primer país en la utilización de semilla de soja modificada genéticamente y en la producción de aceite y harina, provenientes de la misma planta (Ridner y col., 2006; Cuniberti y col., 2004).

1.1.1 HARINA DE SOJA

Las harinas son la forma menos refinada de la soja; se pueden fabricar con toda su grasa, y parcial o totalmente desgrasadas, ya sea como hojuelas, gránulos o polvo. Estas contienen un mínimo de 40% de proteínas, y durante su manufactura, se someten a un calentamiento con vapor para eliminar el residuo del disolvente usado para la extracción de aceite, y un tostado (115°C durante 15 a 25 minutos) para inactivar la lipoxigenasa, los inhibidores de tripsina y otros factores anti-fisiológicos (Badui, 2006).

La harina de soja es harina producida a partir de semillas de soja sin cáscara, al menos el 97 % del producto debe pasar a través de 100 mesh de malla estándar (0,14 mm) (Jideani, 2011). Después del proceso de desgrasado de la harina, el producto resultante tiene un mejor valor nutritivo, que se observa por el aumento de la relación de eficiencia proteica PER (PER, Protein Efficiency Ratio) que aumenta de 1,45 a 2,45 al tratarse con calor húmedo (vapor) (Badui, 2006).

1.1.1.1 COMPONENTES DE LA SOJA

La variación en el contenido de proteína y aceite en la soja se debe a la localidad donde se cultivan los granos y la forma de cultivar el grano (Salunkhe y col., 1992).

En la Tabla I.2 se observa la composición de harina desgrasada y sin desgrasar (Badui, 2006).

Tabla I.2 Composición promedio harina de soja sin desgrasar y desgrasada, en base seca (g/100g de harina)

	Harina Sin desgrasar	Harina Desgrasada
Proteína	41,5	53,0
Grasa	21,0	1,0
Humedad	5,0	5,0
Fibra Cruda	2,1	2,9
Ceniza	5,2	6,0

Fuente: Badui, 2006

Los principales componentes son las proteínas y los lípidos.

Proteínas

La soja es una excelente fuente de proteínas (Salunkhe y col., 1992). Las proteínas de soja son una mezcla heterogénea de globulina (60 a 75% del total) y de albúminas, con pesos moleculares muy variados, solubles en disoluciones salinas y en agua, las cuales precipitan en su punto isoeléctrico, en el intervalo de 4,2 a 4,8. Su clasificación se realiza de acuerdo con el coeficiente de sedimentación en la ultracentrífuga, medido en unidades Edberg, y así se tiene las fracciones 2S, 7S, 11S y 15S (a mayor valor de “S”, mayor peso molecular); a su vez, cada una de ellas puede estar constituida por un grupo de polipéptidos (Tabla I.3) (Badui, 2006). Las dos proteínas, 7S y 11S globulinas constituyen las principales proteínas de soja (Salunkhe, 1992). La fracción 2S representa el 20% del total de proteínas, la fracción 7S (35% del total de proteínas) está constituida mayoritariamente por la subunidad β -conglucina. La fracción mayoritaria 11S (31%) es la glicina que al ponerse en una disolución con un pH de 7,6 y una fuerza iónica de 0,5 muestra su estructura cuaternaria compleja. La fracción 15S son polímeros de esta última (Añon y col., 2009; Puppo, 2007; Badui, 2006).

Tabla I.3 Características de las proteínas de la soja

Fracción	Total (%)	Punto Isoeléctrico	Peso Molecular
2S	22		
Inhibidores de Tripsina			8000, 21500
Citocromo c			12000
Globulina 2.3S		4,5	18200
Globulina 2.8S			32000
Alantoinasa			50000
7S	36		
Hemaglutinina		6,1	110000
Lipoxigenasa		5,4	108000
β -Amilasa		5,8	61700
Globulina 7S			(186-210)x10 ³
11S	31		
Globulina 11S		4,8	350000
15S	11	4,8	600000

Fuente: Badui, 2006

La globulina 7S o β -conglucina es una glicoproteína trimérica con una masa molecular de 150 ± 200 kDa, formada por tres subunidades: α , α' y β (68,

72 y 52 kDa, respectivamente) que se caracterizan por poseer determinantes antigénicos comunes (Añón y col., 2009; Fukushima, 2004). Los trímeros de β -conglucina causan asociación o disociación dependiendo del pH y la fuerza iónica de la solución (Fukushima, 2004).

La figura I.1 nos muestra la estructura del trímero de globulina 7S.

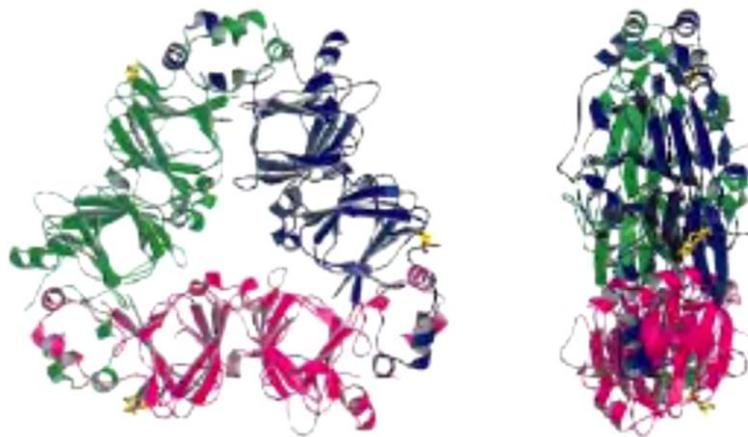


Figura I.1 Estructura del trímero de la globulina 7S de soja (β -conglucina.
Los monómeros se muestran en rosa, verde y azul. Las posiciones glicosiladas señalan en color amarillo. a) y b) son vistas de la molécula rotadas entre sí 90°

La glicinina o globulina 11S, con una masa molecular 300 ± 380 kDa, es una proteína hexamérica (AB₆), formada por cinco clases diferentes de subunidades AB (PM 58-69 kDa) (Añón y col., 2009) como se puede observar en la figura I.2. Cada subunidad se compone de (~ 20 kDa) polipéptidos ácidos y (~ 35 kDa) básicos, que están unidos entre sí por un enlace disulfuro. (Fukushima, 2004).

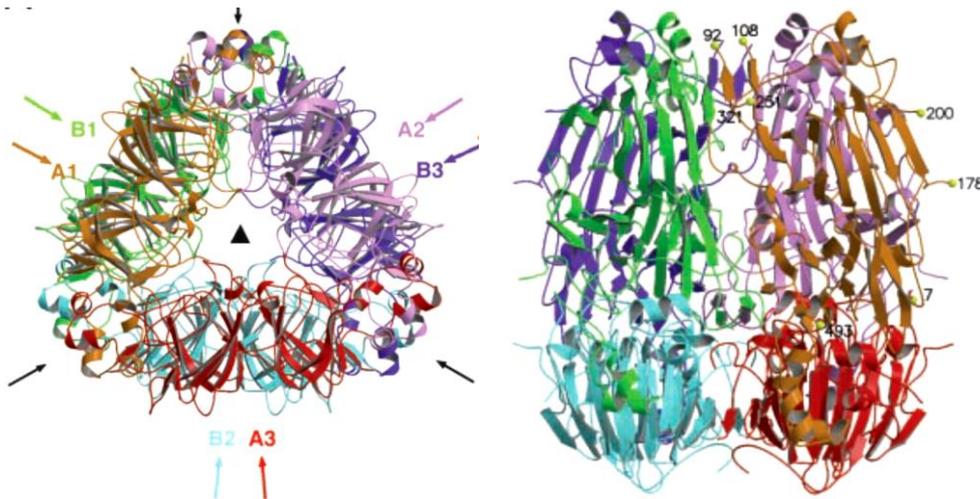


Figura I.2 Estructura del homohexámero de la globulina 11S: glicinina A3B4.

Los seis protómeros de la glicinina hexamérica se muestran en: naranja (A1), rosa (A2), rojo (A3), verde (B1), celeste (B2), azul (B3). A) y b) son vistas de la molécula rotadas entre sí 90° (Adachi y col., 2003)

Propiedades funcionales de las proteínas de soja

Las propiedades funcionales se pueden clasificar de acuerdo con el mecanismo de acción en tres grupos principales. Estos grupos son (1) las propiedades relacionadas con la hidratación (absorción de agua/aceite, la solubilidad, engrosamiento, humectabilidad) influenciada por el balance entre hidrofiliicidad/hidrofobicidad, que depende de la composición amioacídica, particularmente de la proteínas de la superficie (Moure y col., 2006); (2) las propiedades relacionadas con la estructura de la proteína y las características reológicas (viscosidad, elasticidad, adherencia, agregación y gelificación) y (3) las propiedades relacionadas con las proteínas de superficie (emulsionantes y actividades espumantes, formación de películas de lípido-proteína en el batido). Estas propiedades varían con el pH, la temperatura, la concentración de proteínas, fracción proteica, el tratamiento previo, la fuerza iónica y la constante dieléctrica del medio, así como otros tratamientos, como la interacción con otras macromoléculas en el medio, tratamientos de elaboración y modificaciones, física, química y enzimática (Jideani, 2011).

Las proteínas de soja se insolubilizan rápidamente por el calor. La solubilidad de la proteína es una medida del porcentaje de proteína total que es soluble en agua bajo condiciones controladas y es una medida del grado de tratamiento térmico al que la harina de soja ha sido sometida. La harina de soja

con enzima activa tiene una solubilidad en agua mínima de 70 % (Jideani, 2011).

La funcionalidad de las proteínas depende de la estructura de la molécula. Por ejemplo, la presencia de grupos lipófilos e hidrófilos en la misma cadena del polímero facilita la asociación de la proteína tanto con la grasa como con el agua; la asociación de la proteína con la grasa y el agua, da lugar a una solución acuosa, una proteína de soja relativamente insoluble absorbe el agua y, cuando absorbe la cantidad máxima, forma una suspensión en el exceso de agua (Endres, 2001b). La multiplicidad de grupos unidos a la cadena del polímero de proteína, tales como lipófilo, polar, no polar, y grupos negativamente y positivamente cargados, permite a las proteínas de soja asociarse con muchos tipos diferentes de compuestos (Singh y col., 2008).

Lípidos

Dentro de los cotiledones, los esferosomas se intercalan con los cuerpos proteicos, los cuales miden alrededor de 0,2 y 0,5 micras de diámetro. El contenido de lípidos en la soja oscila entre el 18 al 23% (Salunkhe y col., 1992). La fracción lipídica está integrada por triacilglicéridos, llamados comúnmente triglicéridos, que contienen aproximadamente un 12% de ácidos grasos saturados, 20% de ácido oleico, 60% de ácido linoleico y 4% de ácido linolénico, con un punto de fusión de -16 °C y un índice de yodo de 130. También se encuentran fosfolípidos, esteroides y tocoferoles. Asimismo, de la refinación del aceite se obtiene la lecitina, ampliamente utilizada por sus propiedades funcionales. La acumulación de lípidos en las oleaginosas va acompañada de un decremento de los hidratos de carbono, lo que significa que es muy probable que éstos sean los precursores en la síntesis del aceite (Badui, 2006).

Hidratos de carbono

La soja contiene ~ 35% de carbohidratos, la mayoría de los cuales son polisacáridos no amiláceos (Dixit y col., 2011).

Componentes minoritarios

La Soja contiene una amplia gama de minerales (Calcio, Hierro, Cobre, Fósforo y Zinc). Las vitaminas que componen la soja son, fundamentalmente: Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6), Niacina, Ácido Pantoténico, Biotina, Ácido Fólico, caroteno (provit- A), Inositol, Colina y Ácido ascórbico (vit- C) (Ridner y col., 2006).

Además la soja contiene isoflavonas que forman parte de una subclase de un grupo mayor de fitoquímicos, llamados flavonoides que se hallan en una gran variedad de vegetales, especialmente en la soja. Las isoflavonas se encuentran en las formas de glicósidos: genistina, daidzina, y glicitina en sus correspondientes formas agliconas, la genisteína y principalmente daidzeína son particularmente notables, porque la soja es la única fuente significativa en la dieta de estos compuestos (Fukushima, 2004). Otros componentes minoritarios son las saponinas, inhibidores de tripsina, ácido fítico y lectinas entre otros (Ridner y col., 2006).

1.2 PASTA

Las pastas alimenticias ocupan el primer lugar en el listado de las diez comidas favoritas o más populares del mundo. Esta aceptación global de las pastas tiene que ver con su bajo costo relativo, versatilidad y conveniencia (Lezcano, 2012). La pasta es fácil de cocinar, tiene un buen sabor, es saludable y se pueden preparar una extensa variedad de platos usando las diversas formas y tamaños disponibles de las pastas (Marchylo y Dexter, 2001).

Según el CAA en el Capítulo IX, Alimentos Farináceos – Cereales, Harina y Derivados, en el apartado de Productos de Fideeria, Artículo 706 (Res 866, 30.4.79): “Con la denominación genérica de Pastas alimenticias o Fideos, se entienden los productos no fermentados obtenidos por el empaste y amasado mecánico de: sémolas o semolín o harinas de trigo ricos en gluten o harinas de panificación o por sus mezclas, con agua potable, con o sin la adición de sustancias colorantes autorizadas a este fin, con o sin la adición de otros productos alimenticios de uso permitidos para esta clase de productos” (CAA/2009 10a).

El consumo de pastas en Argentina en 2013 fue de 8,27 kg/hab./año, cifra que ubica al país entre los principales consumidores de la región (IP profesional 2014). La industria de pastas alimenticias en Argentina contaba en 2011 con 28 empresas elaboradoras de pastas, con una capacidad de producción mayor a una tonelada diaria. El sector de pastas está conformado por más de 1.500 empresas, el 95% de las cuales son PyMES, que se dedican a fabricar productos frescos. El mercado de la variedad seca se concentró en los últimos años y, actualmente, participan en él unas 80 firmas (Lezcano, 2012).

La calidad de la pasta está determinada por cuatro factores principales, las materias primas, la receta, el proceso de elaboración y el comportamiento de esta durante la cocción. La pasta después de la cocción debe mantener su textura y no convertirse en una masa pegajosa y espesa. La textura mecánica se describe típicamente por una serie de términos (firmeza, masticabilidad, pegajosidad, elasticidad, y volumen) (Sisson, 2008). La pasta durante la cocción debe aumentar su volumen de manera adecuada, sin dejar mucho residuo en el agua de cocción, y conservar la firmeza al permanecer en agua caliente después de la cocción, hasta el momento de ser servida (Marchylo y Dexter, 2001).

La pasta, como la mayoría de los cereales, es esencialmente rica en hidratos de carbono y la mayor parte de su valor energético se deriva de esto y de su contenido proteínico (Kill, 2001); tiene un excelente perfil nutricional, es buena fuente de carbohidratos complejos y una fuente moderada de algunas vitaminas, tienen baja respuesta glucémica es decir las pastas al ser ingeridas retardan el vaciamiento gástrico provocando que la respuesta glucémica sea menor en comparación con otros alimentos como el pan. Un alimento con baja respuesta glucémica se considera saludable particularmente en la prevención de obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (Marchylo y Dexter, 2001).

1.2.1 TIPOS DE PASTAS SECAS

El CAA, denomina a las Pastas alimenticias o Fideos secos, a aquellos productos que han sido sometidos a un proceso de desecación con

posterioridad a su moldeo y con una acidez máxima de 0,45/g %, e expresada en ácido láctico (CAA/2009 10a). Si bien el CAA especifica un contenido en agua menor a 14% en peso, en la industria este no debe superar el 12,5%, dado que la actividad de agua a contenidos de agua superiores permitiría el crecimiento de diferentes microorganismos, lo que afectaría indefectiblemente la vida útil del producto (Calvelo, 2008).

Las pastas pueden clasificarse en: fideos de sémola (sólo sémola), fideos semolados (partes igual de sémola o semolín y harina), fideos (solo harina). Los fideos pueden ser con huevo o al huevo, los fideos con espinaca, acelga u otros vegetales verdes no admite colorantes. A su vez, de acuerdo al modo de elaboración, los hay laminados, que implica un empastado, un amasado, para finalmente ser laminados; y también los hay prensados, donde hay un empastado, un amasado y posteriormente son formados por extrusión. A su vez existen pastas cortas, que pueden ser fideos soperos o guiseros, pastas largas y nidos (Calvelo, 2008). A nivel internacional, los productos largos más conocidos son los espaguetis (de diferentes diámetros), fettuccini y linguini. Dentro de las pastas cortas se elaboran fideos con forma de codo, macarrones y muchos tipos de conchas (Marchyelo y Dexter, 2001). Las pastas secas laminadas largas y los nidos se hallan entre los productos más sofisticados que puede brindar la industria de pastas (Lezcano, 2009).

1.2.1.1 NOODLES

Dentro de las pastas se encuentran los *noodles*; estos se caracterizan por ser tiras delgadas a partir de una masa laminada elaborada a partir de *Triticum aestivum*, agua y sal. Los *noodles* también suelen consumirse en sopas (Kim y col., 2006). Los *noodles* asiáticos no están compuestos exclusivamente de trigo, muchos se hacen a partir de arroz, trigo sarraceno y almidones derivados del frijol mungo y la papa. Los *noodles* se clasifican comúnmente de acuerdo a (1) la forma de las hebras, (2) la naturaleza de las materias primas utilizadas en su fabricación, el pH y las cualidades organolépticas, (3) el método de preparación, y (4) la forma del producto disponible en el mercado (Kim y col., 2006). Existen *noodles* de harina de trigo de dos categorías a partir de la presencia o ausencia de sal o sales alcalinas

(principalmente Na_2CO_3 y/o K_2CO_3). La sal alcalina tiene un gran impacto en el color, el sabor y la textura de los *noodles* (Fu, 2008; Hatcher, 2001).

1.2.2 HARINA DE TRIGO

Todos los trigos pertenecen al género *Triticum* de la familia de las gramíneas. La mayor parte del trigo cultivado en el mundo para la alimentación pertenece a dos especies botánicas, el trigo común o trigo pan *Triticum aestivum* L. subsp. *aestivum*, también llamado *triticum vulgare* y el trigo duro o trigo candeal (*Triticum turgidum* L. subsp. *Durum* (Desf.) Husn.). Una tercera especie, el trigo club (*Triticum aestivum* L. subsp. *compactum* (Host) Mackey), incluye los Trigos Club y es un grupo relativamente menor (Lukow, 2006). La dureza de los trigos es una característica molinera relacionada con la forma en que el endosperma se rompe; se trata de una cualidad genética relacionada con su capacidad molinera y no con su calidad panadera, aunque normalmente a mayor dureza del grano mayor será el contenido proteico (Pallares y col., 2007).

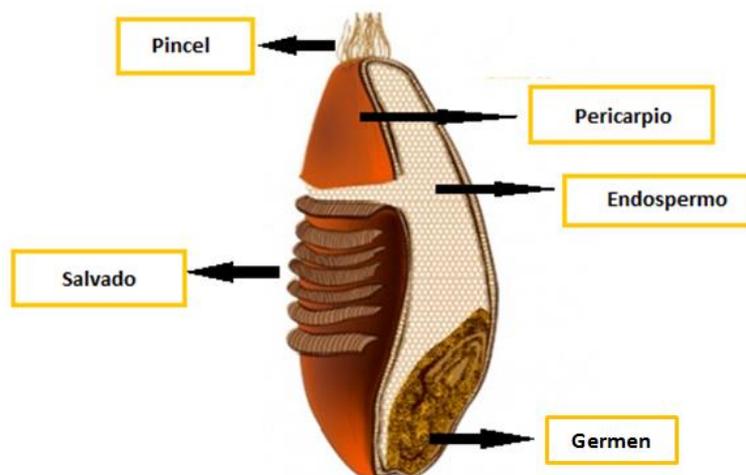


Figura I.3 Estructura del grano del Trigo

Los granos de trigo son cariósides, presentan forma ovalada con sus extremos redondeados. Están formados por cuatro partes principales: el salvado, el germen o embrión, el endosperma y el pericarpio (Figura I.3). El endosperma, es un depósito de alimentos para el embrión que representa el 82% del peso del grano está formado principalmente por almidón, proteínas y, en menor medida, celulosa, y presenta un bajo contenido de vitaminas y

minerales. La harina blanca está formada predominantemente por el endosperma (Pallares y col., 2007; Box, 2005).

En la tabla I.4 se muestra la composición química del grano del trigo (Pallares y col., 2007).

Tabla I.4 Composición química del grano del trigo % (p/p)

Componentes	Mínimo	Máximo
Humedad	8,0	18,0
Almidón	60,0	68,0
Proteína	7,0	18,0
Lípidos	1,5	2,0
Fibra cruda	2,0	2,5
Cenizas	1,5	2,0

Fuente: Pallares y col., 2007

Los tres factores principales que definen el uso final del trigo son la dureza del grano, el contenido de proteínas y la fuerza de la masa. En general, los trigos con una débil fuerza de la masa se utilizan en la fabricación de tartas, pasteles y galletas; los que tienen una mayor fuerza de la masa se utilizan para panes de molde, panes planos, *noodles* y pastas (Lukow, 2006).

1.2.2.1 CARACTERÍSTICAS DE LA HARINA DE TRIGO PARA LA ELABORACIÓN DE PASTAS

En la elección de las materias primas, la distribución del tamaño de partícula de la harina, el contenido y la calidad de las proteínas y las propiedades del almidón (nivel de almidón dañado y poder de hinchazón) son parámetros importantes que determinan la calidad de la pasta (Brunnel y col., 2010).

En la elaboración de las pastas, las propiedades de la masa, son un aspecto importante para la calidad y son, las proteínas de reserva del endosperma del trigo, las principales determinantes de las propiedades de la masa, tales como la fuerza, la extensibilidad y la estabilidad de la masa. Otros factores adicionales que también puede contribuir en las propiedades de la masa son el almidón, los polisacáridos no amiláceos y las proteínas no formadoras de gluten (Sisson, 2008).

El contenido de proteínas se correlaciona positivamente con la firmeza de las pastas y a veces negativamente con la elasticidad. Por lo tanto, un correcto rango de la cantidad de proteínas es importante para las características de textura (Fu, 2008). Un contenido mínimo de proteínas para la fabricación de las pastas es aproximadamente de 13 a 14% de la sémola en materia seca (Marchyelo y Dexter, 2001).

La calidad de las pastas también está relacionada con la granulometría, 250 μm para la sémola, es el óptimo para la absorción de agua (Guerrieri, 2004). Un tamaño de partícula de harina relativamente fina permite la hidratación durante la mezcla y el desarrollo óptimo y uniforme del gluten durante el laminado. Un tamaño de partículas de harina muy pequeñas puede ser indicativo de un alto contenido de almidón dañado, el que debe ser evitado debido a su competencia con el gluten por el agua durante el proceso de mezclado (Fu, 2008; Hatcher, 2001).

Proteínas

Generalmente, cuanto mayor sea el contenido de proteínas más fuerte será la pasta, dando una mejor textura y una menor lixiviación del almidón durante la cocción (Turnbull, 2001). Las proteínas de los granos de trigo se pueden dividir en dos grandes grupos: las proteínas formadoras de gluten y aquellas que no forman gluten. Las primeras se denominan proteínas de almacenamiento y constituyen alrededor del 75-80% del total. Entre las proteínas no formadoras de gluten, que representan el 20-25% del contenido total, se encuentran la mayoría de las enzimas (Pallares y col., 2007).

La clasificación de las proteínas de almacenamiento se basa en la extracción secuencial de Osborne (1907). Las proteínas de los cereales se han clasificado en cuatro clases: las albuminas solubles en agua, las globulinas solubles en soluciones salinas, las prolaminas solubles en mezclas de alcohol/agua y es a quienes se le atribuye el comportamiento elástico de la masa, y las gluteninas solubles en ácidos o álcalis diluidos (Guerrieri, 2004; Calvelo, 2008). Los términos gliadinas y gluteninas son usados comúnmente para designar las proteínas de almacenamiento del trigo, aunque Osborne (1907) sugirió los nombres genéricos, prolaminas y glutelinas, para las fracciones equivalentes

de otros cereales. Estas proteínas sólo se encuentran en el endosperma (Pallares y col., 2007). Desde el punto de vista de las proteínas presentes en la harina de trigo, hay 3 aminoácidos que merecen una mayor atención: el ácido glutámico con 36%, la prolina con 11% y la cistina cerca de un 2% (porcentaje de aminoácidos que componen el trigo). Las uniones que se dan entre proteínas son: uniones salinas, uniones puente de hidrogeno, fuerzas de Van der Waals y uniones disulfuro asociadas a la cistina, que permiten la formación de polímeros de proteínas con más de 180 aminoácidos.

a) Proteínas que forman el gluten

El grupo de las proteínas del trigo que ejercen mayor influencia en la resistencia y las propiedades elásticas de la masa, son las gluteninas y gliadinas. La relación Glutenina/Gliadina para unas pastas de buena calidad debe ser alta, ya que forma un gluten más tenaz y elástico (Calvelo, 2008).

✓ **Gluteninas**

La glutenina es un polímero cuya masa molecular puede superar los 100 millones de Dalton y cuando se reduce, se separa en subunidades de diferente tamaño molecular. La mayoría de las subunidades (60-80% de la glutenina) son LMW-GS, con una masa molecular entre 30.000-50.000 Da. Las LMW-GS han sido subdivididas en subunidades B y C, en función de sus puntos isoeléctricos y de sus pesos moleculares. Las otras subunidades de mayor tamaño son HMW-GS, poseen una masa molecular de 80.000-120.000 Da (Sissons, 2008).

La relación que existe entre las gluteninas de bajo y alto peso molecular en base másica es alrededor de uno. En las gluteninas HMW-GS se observan altos contenidos de glutamina, glicina y prolina y bajo contenido de lisina formando cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos que se caracterizan por tener grupos sulfhidrilos en los extremos, capaces de formar puentes disulfuro con otras proteínas y formar largas cadenas que constan de un dominio central repetitivo y dos dominios terminales no repetitivos que contiene los residuos cisteína. El dominio central es hidrofílico y los dominios C y N terminal son hidrofóbicos. Por IR se han visto dos tipos de estructuras; β -sheet y β -turn, la relación entre ambas se gobierna con el contenido de agua. Las HMW-GS son componentes minoritarios, pero son determinantes en la

elasticidad del gluten, correlacionándose positivamente con la fuerza de la masa (Guerrieri, 2004; Shewry y col., 2002). Las LMW-GS tienen los grupos sulfhidrilo en uno solo de los extremos, por lo que no son proclives a formar cadenas entre sí, suelen ser terminadores de cadenas, o cadenas laterales o unirse entre sí y formar *clusters* (Calvelo, 2008).

La figura I.4 nos muestra la estructura de la glutenina.

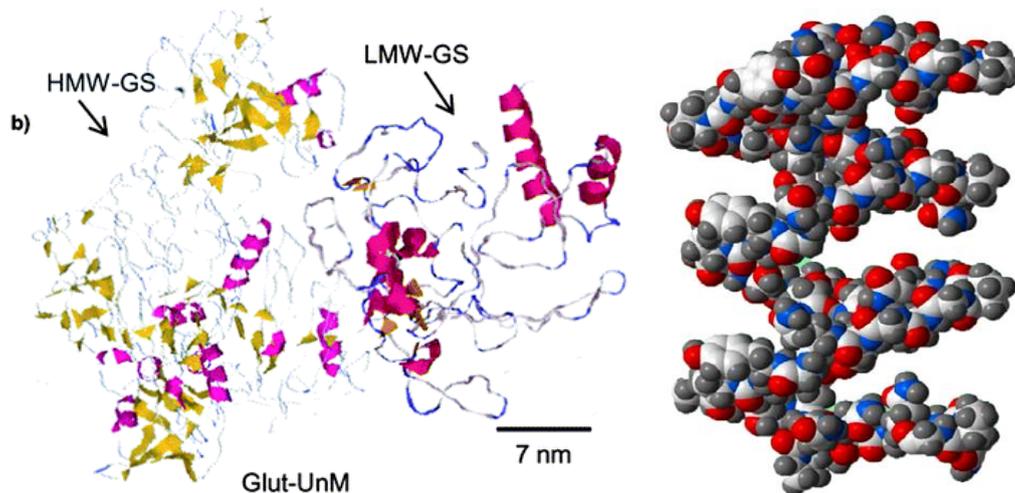


Figura I.4 Estructura de la glutenina

A: Modelo de la estructura predicha de glutenina (Rasheed y col., 2014) B: Modelo molecular desarrollado para la estructura β -espiral basada en la secuencia de aminoácidos repetitivos presentes en las subunidades de glutenina HMW. Los átomos que se muestran en blanco (carbono), azul (nitrógeno), rojo (oxígeno) y gris (hidrógeno) (Parchement y col., 2001).

Al observar una molécula de **glutenina** se pueden ver las HMW-GS con los arrollamientos β y cerca de los extremos los arrollamientos α , los grupos disulfuro que van uniendo las HMW-GS formando una estructura principal y las LMW-GS como cadenas laterales o actuando como terminadores de cadena. Las gliadinas suelen quedar atrapadas dentro de esta configuración de gluteninas (Calvelo, 2008).

✓ **Gliadinas**

El otro grupo principal de las proteínas en el gluten son las gliadinas. La figura I.6 nos muestra la estructura de la gliadina. Solo contienen enlaces disulfuro intra-molecular e interactúan con el polímero de gluten a través de fuerzas no covalentes. Hay cuatro tipos de gliadinas clasificadas sobre la base de su movilidad en la electroforesis en gel ácido de poliacrilamida: α y β que

poseen 6 SH y, forman 3 enlaces disulfuro S-S intracadena; y que poseen 8 SH y forman 4 enlaces disulfuro S-S intracadena, ω que poseen menor movilidad y carecen de SH (Sissons, 2008). Todas ellas tienen un peso molecular de 32.000-42.000, excepto las α gliadinas cuyo masa molecular es 47.000 Dalton. Las del grupo ω carecen de aminoácidos azufrados, o los poseen en una cantidad muy baja. Las demás contienen dos restos de cisteína y uno de metionina (Wong, 1994; Calvelo 2008).

Todas las gliadinas tienen contenidos excepcionalmente elevados de ácido glutámico (38-56%, en su mayoría en forma de glutamina), prolina (15-30%) y fenilalanina y bajos en aminoácidos básicos, lisina, arginina e histidina (Wong, 1994).

La estructura secundaria de las gliadinas α , β y γ tiene un contenido α -helicoidal del 30-35% y en hojas β del 10-20%. Las gliadinas ω no tienen contenido α -helicoidal o en hojas β , en cambio, tienen plegamientos β . Las β gliadinas se hallan estabilizadas por interacciones hidrofóbicas fuertes. En la estabilización del resto de las gliadinas, participan además enlaces disulfuro intramoleculares (Wong, 1994).

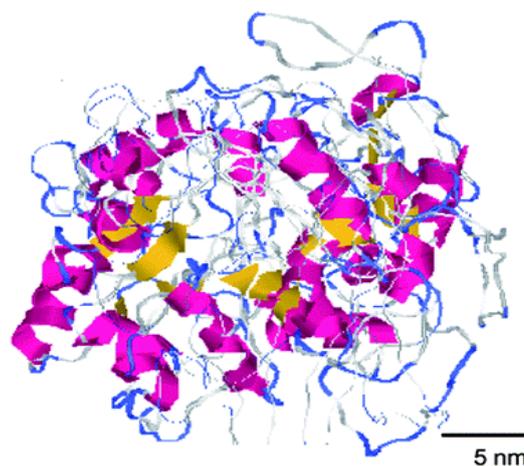


Figura I.5 Modelo de estructura predicha de gliadina

(Quester y col. 2014)

b) Gluten

Cuando la harina se mezcla con agua, la masa formada se compone de una red de moléculas muy grandes de proteínas que rodean los gránulos de almidón y otros componentes de la harina. Cuando el almidón y las proteínas solubles en agua (albuminas y globulinas) se lavan de una masa, las fracciones

de proteínas insolubles en agua (las gliadinas y gluteninas) permanecen en una masa viscoelástica llamada gluten. Cabe señalar que el gluten es un artefacto de procesamiento y no existe como tal en el grano de trigo (Cauvain y Young, 2006).

El gluten es definido como un gel formado por las proteínas de almacenamiento del grano de trigo. El gluten está formado por un 80% de proteínas y un 8% de lípidos (en base seca), con un resto de hidratos de carbono y cenizas. Las propiedades reológicas de la masa son gobernadas por la estructura del gluten y las interacciones que se establecen entre las proteínas que lo componen (Pallares y col., 2007). Las interacciones de tipo covalentes y no covalentes entre los polipéptidos más grandes que forman la masa producen una matriz elástica y extensible. Los elementos estructurales responsables de esta propiedad particular son los puentes disulfuro, las interacciones iónicas e hidrofóbicas y las secuencias ricas en glicina. Tanto los enlaces covalentes, puentes disulfuro intermoleculares, como las interacciones no covalentes son importantes en la formación y el comportamiento de la masa. Cada una de las proteínas que forman el gluten tiene una función específica (Pallares y col., 2007). Las gliadinas son algo pegajosas y contribuyen a las propiedades viscosas del complejo de gluten (Cauvain y Young, 2006). Las gluteninas se encuentran formando grandes agregados proteicos, unidos por puentes disulfuro y fuerzas no covalentes intermoleculares, que determinan la fuerza y la elasticidad del gluten. A las gluteninas, sobre todo a las de alto peso molecular, se les asigna la capacidad de conferir a la masa las propiedades viscoelásticas (Pallares y col., 2007).

✓ *Importancia de las proteínas formadoras de gluten en las pastas*

El gluten fuerte es universalmente reconocido como un importante requisito previo para la buena calidad de las pastas; la masa debe tener la fuerza suficiente para ser laminada repetidas veces sin que se rompa, pero manteniendo la elasticidad para evitar una contracción excesiva después del laminado (Hatcher, 2001). En comparación con las variedades de gluten débil de semejante contenido de proteínas, las variedades de gluten fuerte exhiben una masa menos pegajosa, con mejores propiedades de extrusión y de textura

en las pastas cocidas. Evidencia científica (Ames y col., 1998) indica que la continuidad y la fuerza de la red de proteínas están directamente relacionadas con las características de textura de las pastas cocidas. Estas características están influenciadas por el contenido total de proteínas, ya que al aumentar este también lo hace la medida de la red de gluten. Se ha demostrado que ciertas proteínas del gluten, en particular, algunas subunidades de glutenina de bajo peso molecular, juegan un papel directo en la formación de la red de gluten. Ciertas subunidades son más eficaces que otras en la formación de una buena red e influyen en la plasticidad, en la elasticidad de la masa resultante y en la extensión de la red de proteínas alrededor de los gránulos de almidón (Marchyelo y Dexter, 2001).

Las propiedades del gluten son fundamentales para su función de una matriz continua que atrapa, encapsula e interactúa con el almidón en la pasta y mantiene la forma del producto durante la fabricación y la cocción. El calentamiento del gluten hidratado conduce a la formación irreversible de reticulaciones proteína-proteína que, cuando se controla adecuadamente, estabilizan la estructura y dan la textura de la pasta final (Jhonston, 2001).

Almidón

Los granos de cereales almacenan energía en forma de almidón. El almidón es el hidrato de carbono mayoritario en el grano de trigo maduro, representando entre el 65-70% de la harina de trigo (suponiendo una tasa de extracción del 80% y una humedad del 14%). El almidón se acumula en forma de gránulos que se forman dentro de los amiloplastos (Pallares y col., 2007).

Los gránulos de almidón de la harina de trigo y de otros cereales muestran una distribución de tamaño bimodal, los gránulos más pequeños (tipo-B) son esféricos y presentan un diámetro $< 9,9 \mu\text{m}$, en tanto que los grandes (tipo-A) son lenticulares y tienen un diámetro $> 9,9 \mu\text{m}$ como se puede observar en la figura I.6. El interior de los gránulos está formado por regiones cristalinas y amorfas alternas, por lo que el almidón es descrito como un polímero semicristalino o parcialmente cristalino (Pallares y col., 2007). Sin embargo, algunas moléculas de agua se mantienen como parte de las cadenas, debido a los enlaces de hidrógeno que forman. No es sorprendente

que las harinas secas contengan entre 10 y 15 % de humedad dependiendo de la fuente (Chiech, 2006).

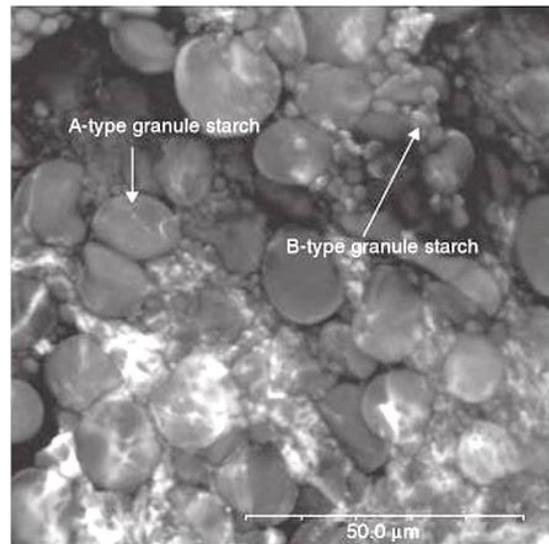


Figura I.6 Gránulos de almidón de trigo

Grande (tipo-A) y gránulos pequeños (tipo-B) (Arendt y Zannini, 2013)

Las propiedades funcionales del almidón se deben esencialmente a los dos hidratos de carbono de mayor masa molecular, amilosa y amilopectina. La amilosa (~1000 KDa) es una molécula lineal compuesta de α -D-glucopiranosas unidas por enlaces glicosídicos α - (1-4), aunque se ha establecido que algunas moléculas son ramificadas a través de enlaces α -(1-6). La amilopectina, por el contrario, es un polímero altamente ramificado con masas moleculares superiores a 10^8 Da. La cadena principal está formada por α -D-glucopiranosas unidas por enlaces α -(1-4) y eslabonadas con cientos de pequeñas cadenas mediante enlaces α -(1-6) en los puntos de ramificación. El enlace α -1,4 imparte a la molécula un giro natural, con lo que la conformación de las cadenas es helicoidal (Pallares y col., 2007).

Cuando el almidón se calienta con agua los gránulos insolubles se interrumpen por la energía suministrada, resultando en una pérdida de la organización molecular responsable de la cristalinidad por la penetración de agua (Cornell, 2004). Las moléculas de agua polares buscan moléculas o iones hidrófilos, especialmente aquellos que tienen la capacidad de formar enlaces de hidrógeno. El almidón está formado por tales moléculas, cuyas

características propias atraen a las moléculas de agua (Chiech, 2006). El hinchamiento de los gránulos resulta en un aumento en la viscosidad y una completa pérdida de cristalinidad y con ello de la birrefringencia, que se produce al continuar el calentamiento. La temperatura en la que se pierde la birrefringencia se llama temperatura de gelatinización. En cuanto al trigo, el rango de temperaturas en la que esto ocurre es 53-64°C. El aumento de la viscosidad continúa hasta un máximo cuando la mayoría de los gránulos se rompen y forman una red de cadenas entrelazadas. Tras el enfriamiento, las cadenas de amilosa, forman un gel. Este proceso se conoce como gelificación (Cornell, 2004). Durante el enfriamiento ocurre la retrogradación del almidón gelatinizado, que implica cambios tales como la re-asociación molecular del almidón, la cristalización y la gelificación. Una de las propiedades más importantes del almidón es su capacidad para formar geles (Sasaki y col., 2008).

✓ *Importancia de las propiedades del almidón en las pastas*

La funcionalidad del almidón en la pasta es menos estudiada que la de las proteínas (Maningat y col., 2009). Si bien el almidón (por debajo de aproximadamente 55 °C), se comporta, como una carga inerte que tiene una capacidad muy limitada para absorber agua, tras el calentamiento, el almidón pierde la integridad de su estructura rígida y puede absorber una cantidad casi ilimitada de agua. La absorción de agua va acompañada de un aumento de la viscosidad causada por la hinchazón de los gránulos y por una liberación de material soluble a partir de los gránulos (Jhonston, 2001). Las propiedades del gel y / o su capacidad de romper la red de gluten durante la cocción son importantes para la calidad de las pastas. Aunque el gluten, es un agente de formación de la ultraestructura, y es un factor muy importante para la calidad de las pastas; en esta década, los cambios en el almidón durante el secado de las pastas han ganado más atención en cuanto a sus efectos sobre la comportamiento durante la cocción de las pastas, ya que contribuyen a su calidad (Sung y Stone, 2003; 2005).

Se especula que tanto el estado del almidón y la estructura de la superficie contribuyen al desarrollo de la textura elástica y a la pegajosidad de la pasta. Al medir la capacidad de hinchamiento del almidón de la harina de trigo, se

encontró que la textura deseada de las pastas cocidas se correlaciona positivamente con el poder de hinchamiento (Maningat y col., 2009).

Las interacciones entre el almidón y la matriz proteica que lo rodea, son evidentes en la capa exterior y en la intermedia; en el centro de la pasta cocida, los gránulos de almidón de trigo conservan su forma debido a la difusión limitada del agua, y la red de proteínas sigue siendo compacta (Maningat y col, 2009).

1.2.3 COMPORTAMIENTO DEL ALMIDON Y LAS PROTEINAS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE PASTAS

A pesar de la gran variación de la formulación, el tamaño, y la forma de las pastas, el proceso para formar las hebras de pasta es notablemente constante para los diferentes tipos de pasta. Típicamente comprende la mezcla, la formación de las láminas de masa, los dobleces de la lámina de masa, la reducción del espesor por laminación y la formación de la hebra de pasta, haciendo pasar la lámina de masa a través de un par de rodillos de corte (Fu, 2008).

Mezcla

La mezcla es la primera etapa en el procesamiento de las pastas. La harina de trigo se pesa, se coloca en un mezclador y se añade la cantidad correcta de agua a la mezcla. En la fabricación de las pastas, el principal objetivo de la mezcla es distribuir los ingredientes de manera uniforme e hidratar las partículas de harina y evitar que exista diferencia de humedad entre las partículas (Fu, 2008).

No hay grandes cambios a un nivel microscópico, es decir los gránulos de almidón son todavía claramente visibles y están sujetos firmemente dentro de la matriz de proteínas. Como la absorción de agua se lleva a cabo por debajo de 50°C, los gránulos de almidón no muestran importantes cambios estructurales, y no hay evidencia de la formación de la red de gluten, debido al nivel de hidratación limitado y la baja entrada de energía. En una escala menor, un ligero aumento (~3 %) de proteínas solubles en Dodecil Sulfato de Sodio (el SDS interrumpe interacciones electrostáticas, hidrófobas e hidrófilas) se

observa durante el mezclado, afectando principalmente a las proteínas del gluten (Petitot y col., 2009).

El proceso de mezclado es generalmente seguido por un tiempo de reposo de la masa. Este tiempo de descanso permite acelerar la hidratación de las partículas de la harina y favorece la redistribución del agua en el sistema de la masa lo que produce una relajación de la estructura del gluten, y resulta en una masa suave y lisa después del laminado. La etapa de descanso también mejora las propiedades de la masa durante el procesamiento y facilita la formación del gluten durante el laminado (Fu, 2008; Twonbly y Manthey, 2006). En síntesis, son cuatro las funciones del reposo en la masa: (1) ayuda a distribuir la humedad de una manera más uniforme, (2) mejora la formación de enlaces disulfuro, (3) posibilita que se formen enlaces entre el gluten y los lípidos, y (4) el gluten se relaja facilitando la reducción en los laminados subsiguientes (Twonbly y Manthey, 2006).

Laminado

Después de descansar, la lámina compuesta se reduce en espesor al hacer pasar la lámina de masa a través de una serie de rodillos que tienen un espacio gradualmente menor entre ellos. La matriz de gluten en la masa queda alineada a lo largo de la dirección de la laminadora (Fu, 2008; Petitot y col., 2009). Las láminas de masa recién comprimidas, por lo general tienen una superficie con una textura no uniforme, pero al plegarse las láminas o al juntar dos hojas de masa, a medida que se suceden las diferentes instancias de reducción, se logra el desarrollo de una lámina de masa lisa con una matriz de gluten uniforme (Fu, 2008).

Aunque las partículas de harina se hidratan lo suficiente después del mezclado y el reposo, el desarrollo de la matriz de gluten está lejos de ser completa y se encuentra sin continuidad. El proceso de laminado tiene el propósito de lograr una lámina de masa suave, con el espesor deseado y una matriz de gluten continua y uniforme (Fu, 2008).

Corte

Una vez que la lámina de masa se reduce al espesor deseado, la hoja se corta en hebras de pasta a lo largo de la dirección del laminado. El ancho y la forma de las hebras de pasta se determinan por los rodillos de corte. El dispositivo de corte se compone de un par de rodillos ranurados con surcos de idéntico ancho (Fu, 2008).

Secado

El objetivo del secado es reducir el contenido de humedad de la pasta a menos del 13 %, sin crear tensiones indebidas en el complejo de la estructura proteína - almidón. El secado se produce mediante la regulación del flujo de aire, la temperatura del aire; y la humedad relativa. La pasta es un producto muy difícil de secar; tiene una superficie relativamente lisa; lo que limita los capilares disponibles para transmitir la humedad a la superficie del producto, y tiene una difusividad muy baja (Twonbly y Manthey, 2006).

La humedad de las pastas puede ser eliminada por secado al aire, por fritura, o por secado al vacío. El secado al aire puede ser clasificado como secado por aire caliente ($> 70\text{ }^{\circ}\text{C}$) y secado por aire no caliente ($< 50\text{ }^{\circ}\text{C}$), basado en la temperatura máxima utilizada en el proceso de secado de las pastas.

La superficie de la pasta seca presenta numerosos gránulos de almidón de diferentes tamaños, los que además, parecen estar asociados a una película de proteína. La estructura interna de la pasta seca se caracteriza por presentar los gránulos de almidón profundamente embebidos en una matriz de proteínas (Petitot y col., 2009).

El retículo proteico se consolida durante la etapa de secado. Las transformaciones que ocurren durante este proceso son una cierta desnaturalización de las proteínas, una polimerización y una agregación, producto de esa misma desnaturalización (Calvelo, 2008).

1.2.4 COMPORTAMIENTO DEL ALMIDON Y LAS PROTEINAS EN LA COCCIÓN DE LA PASTA

Para que la pasta cocida sea aceptada por el consumidor esta debe ser firme, elástica y no pegajosa (Urgacic- Hardi y col., 2007).

La cocción es un proceso simple, pero muy crítico en términos de calidad del producto terminado. Hay una serie de factores asociados con el comportamiento durante la cocción, incluyendo la masticabilidad, la pegajosidad, la resistencia a la sobre cocción, la apariencia, el sabor y los residuos en el agua de cocción (Hatcher, 2001). Los factores claves para la cocción son la relación de las pastas con el agua, el tiempo de ebullición y la calidad del agua de cocción (Fu, 2008).

En la pasta seca los gránulos de almidón se encuentran envueltos por una capa de proteínas; de esta manera al ponerse en contacto con el agua de cocción, esta red de proteínas protege la entrada de agua a los gránulos de almidón, limitando así su gelatinización. De modo que primero se hidrata el retículo proteico formando enlaces proteína-proteína y al mismo tiempo evita la libre difusión del agua. A medida que la hebra de pasta absorbe agua y se expande en volumen, se generan tensiones sobre ese film proteico superficial generando roturas adicionales, aún a tiempos tan cortos como tres minutos de cocción (Calvelo, 2008). La red de proteínas constituye la columna vertebral de la estructura de la pasta y atrapa los gránulos de almidón gelatinizados y en parte hinchados (Fardet y col., 1998b).

El grado de hinchamiento de los gránulos de almidón depende de la ubicación de estos en la pasta (Fardet y col., 1998a). En la zona superficial (gelatinizada) se observa una estructura filamentosa con poros que se van achicando al acercarse a la zona central sin cocción; a mayores tiempos de cocción, la red filamentosa cercana a la superficie se vuelve aún más abierta (efecto del hinchamiento y el pasaje del almidón al agua de cocción). Esto muestra que la estructura de la zona gelatinizada cambia radial y temporalmente. Se ha observado que aún a tiempos mayores de cocción que “al dente”, la hebra de pasta presenta una pequeña zona central sin gelatinizar (Calvelo, 2008).

Paralelamente con la absorción de agua, existe una transferencia de masa, desde la pasta al agua de cocción, llamado lixiviación (*leaching*). Para tiempos normales de cocción este proceso difusivo se limita a una estrecha zona cercana a la superficie del fideo. Es un fenómeno superficial en donde parte de la amilosa y de la amilopectina que están en la superficie migran al agua de cocción, aportando al denominado residuo de cocción (Calvelo, 2008). Las transformaciones estructurales en el almidón y las proteínas se suceden en el mismo rango de temperatura y humedad; aunque las proteínas parecen reaccionar a un nivel de humedad ligeramente inferior. Ambas transformaciones son competitivas (compiten por el agua) y antagonistas (la hinchazón de los gránulos de almidón se opone a la formación de la red de proteínas) (Petitot y col., 2009).

1.3 PASTAS FORTIFICADAS CON SOJA

El agregado de harina de soja a productos elaborados a base de cereales mejora significativamente sus propiedades nutricionales (Pylar, 1988). La soja es una buena fuente de proteína y la única fuente de isoflavonas en la dieta junto con otras legumbres, además de poseer niveles de calcio y fósforo considerablemente más elevados que el de los cereales. Su composición aminoacídica balanceada la convierte en un ingrediente potencial para complementar proteínas de carne o de productos lácteos (Rekema, 2001). La soja es rica en proteínas de alta calidad, contiene aminoácidos esenciales, similares a los encontrados en la carne, pero también tiene componentes menores, indeseables, tales como inhibidores de tripsina y quimotripsina, y uniones lecitina-azúcar. Los inhibidores y lecitinas se inactivan generalmente por tratamiento térmico (Nikolic y Lazic, 2011). La disminución o eliminación de inhibidores de tripsina conducen a una mejor calidad nutricional (Perić y col., 2009).

Desde la década de 1960, los productos de proteína de soja se han utilizado como ingredientes nutricionales y funcionales de los alimentos (Endres, 2001b). A diferencia de otras proteínas, los beneficios para la salud de la proteína de soja van mucho más allá de limitarse a proporcionar aminoácidos. Se han realizado numerosos estudios sobre este tema en las últimas décadas; concluyendo que el consumo de proteína de soja en lugar de

la proteína animal disminuyó significativamente las concentraciones séricas de colesterol LDL y de los triglicéridos. Su mecanismo está bajo estudio extenso. También se estableció la vinculación directa de las isoflavonas de la soja y la reducción del colesterol total y del LDL colesterol (He y Chen, 2013)

El consumo de cereales y leguminosas en un solo alimento aumenta la calidad de la proteína consumida gracias a la complementación aminoacídica que se produce. Si bien las proteínas de soja poseen una alta proporción de lisina, son deficientes en aminoácidos azufrados (cisteínas y metionina). Por el contrario, las proteínas del trigo son pobres en lisina pero ricas en cisteínas (la cual puede convertirse en metionina en el organismo). Por ello, la combinación de las dos fuentes de proteínas genera un mejor balance de estos dos aminoácidos esenciales, los cuales deben ser incorporados en la dieta (Stauffer, 2004, Endres, 2001a; Nawab, 2010); esta complementación no solo ocurre a nivel de las proteínas, sino también de las vitaminas y los minerales (Granito y col., 2003).

La soja desgrasada, rica en lisina e isoflavonas (antioxidantes), se ha utilizado en la formulación de diversos alimentos y, recientemente, en productos como las pastas, esta harina puede ser un ingrediente valioso para la producción de pastas como fuente de proteína (Ansari y col., 2013). La harina de soja desgrasada o harina de soja entera son las más utilizadas en la elaboración de pastas; alimentos de este tipo han sido aceptados por los militares de EEUU, en los programas de alimentación del gobierno, y en el programa Nacional de Almuerzos Escolares (Endres, 2001b).

De acuerdo a las investigaciones se sabe que el contenido de proteínas afecta las propiedades de cocción y la firmeza del gluten. Todos los productos elaborados con proteína de soja aumentan la absorción de agua de la pasta y afectan sus condiciones de procesamiento (Endres, 2001b). La harina de soja desgrasada mejora la capacidad de retención de agua y las propiedades de laminado. La fuerza durante el laminado produce una mejor estratificación durante el proceso de despliegue, logrando un mejor producto terminado. Estas propiedades dependen principalmente del grado de desnaturalización de las proteínas de soja y del tamaño de partícula. Los productos con proteínas de

soja promueven la firmeza; ventaja que resulta importante para las pasta que se someten a largos tiempos de cocción (Singh y col., 2008).

Las proteínas de soja al mezclarse con la harina de trigo diluyen las proteínas del gluten y el almidón, al tiempo que exhiben un fuerte poder de retención de agua y, proporciona una cierta resistencia a la expansión de la masa; efecto que resulta proporcional a la cantidad de harina de soja empleada (Jideani, 2011).

La fortificación de las pastas con diferentes fuentes de proteína es una herramienta importante para mejorar la calidad y el valor nutritivo de la pasta. Las características de las proteínas del gluten y del almidón son determinantes en la estructura que definirá el comportamiento de la pasta durante la elaboración y cocción.

1.4 HIPOTESIS

La sustitución de la harina de trigo por harina de soja en la elaboración de pastas modifica la estructura de la red proteica y el comportamiento del almidón, afectando la calidad del producto final.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la sustitución de la harina de trigo por harina de soja sobre la red proteica responsable de la estructura de las pastas, el comportamiento del almidón y la calidad tecnológica de las pastas resultantes.

1.5.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre los parámetros de calidad tecnológica de las pastas.
- Analizar los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre el comportamiento del almidón y sus cambios estructurales durante el proceso de elaboración y cocción.
- Evaluar los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre las propiedades viscoelásticas y los cambios estructurales en las masas de las pastas.
- Evaluar el comportamiento de las proteínas y su relación con el almidón durante el proceso de elaboración y cocción de las pastas.

II MATERIALES Y METODOS

2.1 MATERIALES

Las harinas utilizadas fueron harina de trigo pan (*Triticum aestivum* L.) (HT), Molino Tiranti, Argentina, y harina de soja (*Glycine max* L.), micronizada (100 μ m), (Argensoja, Bahía Blanca, Argentina), activa (A) e inactiva (I), las que fueron usadas como tal, enteras (E) y también desgrasadas (D), de manera que resultaron cuatro harinas de soja diferentes: harina de soja activa entera (AE), harina de soja activa desgrasada (AD), harina de soja inactiva entera (IE) y harina de soja inactiva desgrasada (ID).

El desgrasado de las harinas se realizó por el método Soxhlet, utilizando como solvente de extracción hexano (Sigma Aldrich), durante 15 horas. Para eliminar el solvente residual las harinas fueron colocadas en una estufa Memmert Modelo 600 D060602 (Alemania) a 45°C durante 45 min (Ribotta y col., 2005).

2.2 FORMULACIÓN

Para la elaboración de las pastas, se reemplazó la harina de trigo pan con las harinas de soja a tres niveles de sustitución: 15, 30 y 40 g/100 g harina, (AE-15, AE-30, AE-40; AD-15, AD-30, AD-40; IE-15, IE-30, IE-40; ID-15, ID-30, ID-40). Además se preparó una muestra control solo con harina de trigo pan (HT). Se elaboraron dos lotes diferentes a partir de 50 g de la mezcla de las harinas, una cantidad de agua óptima determinada experimentalmente y 500 mg de NaCl. Las hebras de 2 mm de ancho fueron secadas hasta $10 \pm 1\%$ p/p de humedad determinada de acuerdo a AOAC 926.07 B (AOAC 2000).

2.3 ELABORACIÓN

Se prepararon las mezclas de las harinas de acuerdo al nivel de sustitución (harina de trigo más harina de soja) (Figura II.1.A), posteriormente se procedió a tamizar dichas mezclas, se agregó el agua donde previamente se disolvió la sal (Figura II.1.B), e inmediatamente se amasó con una amasadora manual Liliana® (Argentina), a máxima velocidad durante 3 min (Figura II.1.C). Luego, por medio de un amasado manual, se terminó de conformar el bollo de masa, el cual se dejó reposar por el lapso de 16 min en una bolsa cerrada para evitar la pérdida de humedad (Figura II.1.D). Pasado el tiempo de descanso, el bollo fue estirado con un palote (Figura II.1.E), para posteriormente ser laminado en una laminadora Pastalinda® (Argentina), de 20 cm de ancho de

lámina, con apertura regulable de los rodillos del 1 al 9, de mayor a menor grado. La masa se laminó primero con la máxima apertura de rodillos (Nº1) (Figura II.1F), se realizó luego un dobléz por la mitad y se volvió a pasar de manera que el dobléz quedara perpendicular a los rodillos. Esta operación se repitió seis veces en esta apertura (Figura II.1G) y luego se laminó una sola vez en aberturas progresivamente menores, Nº2, Nº3, Nº4, Nº5, Nº6, Nº7 y Nº8, con el objetivo de reducir el espesor de la lámina, finalizando con una última pasada más por la apertura Nº 8 sin hacer ningún dobléz previo (Figura II. H). Para realizar el corte, se pasó la lámina de masa por la Pastalinda®, en posición de corte en apertura Nº4, por lo que se obtuvieron fideos de ≈ 2 mm de ancho (Figura II.1.I). Finalmente éstos se colgaron en un soporte diseñado para tal fin, evitando su superposición, de manera de favorecer el secado parejo de las hebras (Figura II.1.J).

Secado

Las pastas fueron secadas hasta $10\pm 1\%$ (p/p) de humedad, por medio de dos ciclos de secado; un pre-secado, en una estufa corriente de aire, Memmert Modelo 600 D060602 (Alemania) a 30°C , durante 30 min, con una humedad relativa ambiente, HR, entre 30 y 40% (Figura II.1.K), seguido de un secado en una estufa, sin corriente de aire, FAC (Argentina), a 40°C con una HR de 65-75% durante 17 h (Figura II.1.L). Una vez secos, los fideos se conservaron en bolsas plásticas selladas herméticamente hasta su uso.

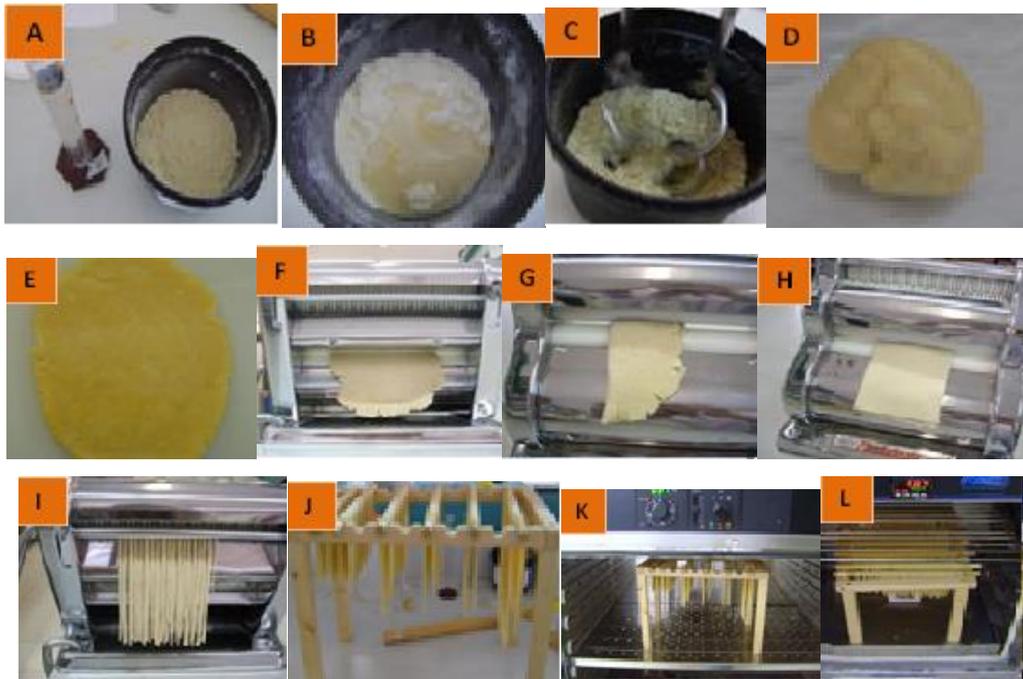


Figura II.1 Elaboración de pastas secas

A) Preparación de los ingredientes, B) incorporación del agua a la mezcla de harinas o harina, C) Amasado, D) conformación del bollo y reposo del bollo, E) estirado con el palote, F) paso de la masa por la apertura N°1, G) dobl ez de la masa y paso nuevamente por la laminadora, H) último laminado, I) cortado de la masa, J) acomodado de los fideos en el soporte, K) primer ciclo de secado (pre-secado), L) segundo ciclo de secado.

2.4 COCCION

Para la cocción de las pastas se utilizó agua destilada en ebullición, en una relación de una parte de pasta en diez partes de agua (1:10). Las pastas se cocinaron hasta alcanzar los tiempos óptimos de cocción (TOC) específicos de cada muestra, luego se retiraron, y se enjuagaron con 50 ml de agua destilada y dejaron escurrir en un colador inclinado hacia un lado durante 20 s y otro tiempo igual, hacia el lado contrario.



Figura II.2 Cocción de las pastas

2.5 EVALUACIÓN TECNOLÓGICA DE LAS PASTAS

2.5.1 HUMEDAD DE LOS FIDEOS SECOS

El contenido de humedad de los fideos secos se determinó de acuerdo a AOAC 926.07 B (AOAC, 1998); 2-3g de fideos secos, en trozos de aproximadamente 1 cm, se colocaron en una cápsula de Petri, previamente secada y tarada, a 130°C durante 2 h.

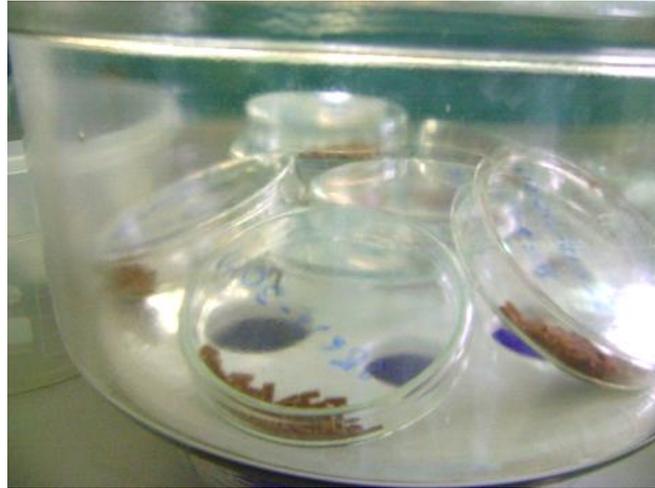


Figura II.3 Determinación de humedad

2.5.2 TIEMPO ÓPTIMO DE COCCIÓN (TOC)

El tiempo óptimo de cocción (TOC) se determinó de acuerdo a AACC 66-50 *Cooking Time* (AACC, 2000). Una vez colocada la pasta en el agua destilada a ebullición, tiempo cero, se tomaron sucesivas porciones de muestra, cada 30 s, a las cuales se las presionaba suavemente entre dos porta objetos hasta la desaparición del centro blanco que presentaba inicialmente el fideo, momento que se tomó como el tiempo óptimo de cocción.



Figura II.4 Determinación del tiempo óptimo de cocción

2.5.3 RESIDUO DE COCCIÓN

El residuo de cocción se determinó de acuerdo a AACC 66-50 *Cooking Loss* (AACC, 2000). Se pesó ≈ 4 g de muestra, la que se colocó en 150 ml de agua destilada a ebullición. Una vez alcanzado el TOC de la muestra, esta se retiró y el agua de cocción resultante se evaporó a 100°C hasta peso constante. El peso de los sólidos obtenidos se expresó como residuo de cocción % (p/p) de muestra.



Figura II.5 Determinación de residuos de cocción

2.5.4 ABSORCIÓN DE AGUA

La absorción de agua se determinó de acuerdo a Tudorica y col. (2002). Cinco gramos de muestra, cortada en segmentos de 5 cm de longitud, se cocinaron hasta su TOC en 200 ml de agua destilada a ebullición, se enjuagaron con 50 ml de agua destilada, se escurrieron durante 20 s por lado, y se colocaron en un envase de cierre hermético previamente tarado hasta alcanzar temperatura ambiente. Se tomó entonces el peso de la pasta escurrida y se calculó la absorción de agua como $[(\text{Peso de la muestra cocida} - \text{peso de la muestra cruda}) / (\text{peso de muestra cruda})] \times 100$.



Figura II.6 Determinación de absorción de agua

2.5.5 INDICE DE HINCHAMIENTO (*Swelling Index*)

El índice de hinchamiento fue determinado de acuerdo a Tudorica y col. (2002), de manera semejante a la absorción de agua, pero calculado como: $[(\text{Peso de la pasta cocida} - \text{Peso de la muestra cocida secada}) / (\text{Peso de muestra cocida secada})] \times 100$.

2.5.6 FRACTURABILIDAD DE LAS PASTAS SECAS

La fracturabilidad fue determinada por medio de un Texturómetro INSTRON (Universal Testing Machine, EUA), con una celda de compresión de 50 N y una velocidad de desplazamiento del cabezal de 0,5 mm/s. A un segmento de pasta de 5 cm de largo se aplicó una compresión de 50 N, y se midió la fuerza necesaria para fracturar la pasta.

2.6 EVALUACIÓN DE LA GELATINIZACIÓN DEL ALMIDÓN A DIFERENTES TIEMPOS DE COCCIÓN

Con el propósito de estudiar el progreso de la gelatinización del almidón a los diferentes tiempos de cocción, se evaluó la estructura de las pastas mediante un microscopio óptico como se describe a continuación: La evaluación se realizó sobre las pastas cocidas a seis diferentes tiempos de cocción 50%, 75%, 100%, 125%, 150% y 200% de sus TOC (tomando como 100% el TOC determinado para cada muestra). Una vez retirada la pasta del agua de cocción, estas fueron colocadas entre dos portaobjetos para su posterior visualización. Las observaciones se realizaron en un microscopio de polarización Leica DM EP 4X (USA), con iluminación externa 12/100 W; utilizando un ocular estándar 10X.

La captura de las imágenes se realizaron con una cámara Cannon Powershot S70, y el software utilizado fue Cannon Utilitier zoom Browser EX 5.0, versión 5.00142.

2.7 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES VISCOÉLASTICAS DE LAS MASAS

Principio

La reología es la ciencia de la deformación y el flujo de la materia. Las propiedades reológicas de un material proporcionan información relevante sobre su estructura, su comportamiento durante un proceso, y sus propiedades para el uso final (Vergnes, 2003).

La formación de una masa abarca varias fases, que en la práctica suceden una tras otra. La primera fase es la humectación donde la adsorción de agua de las partículas de harina induce a altas fuerzas de adhesión. Entonces ocurre la solubilización y la hinchazón de las albúminas, globulinas, arabinosanos y gránulos de almidón dañados, seguido por la reestructuración de una red de gliadinas y gluteninas. Este último paso implica un continuo solapamiento y desglose molecular, que ocurre de manera simultánea durante el mezclado. Por lo tanto, la consistencia aumenta hasta un máximo y luego cae (Vergnes, 2003).

Numerosos alimentos, entre ellos las masas, se denominan visco-elásticos por su carácter combinado de viscosidad con un alto nivel de elasticidad, y son muy sensibles a la temperatura, al contenido de agua, y la composición (el origen del almidón, la presencia de lípidos, etc.) (Rodríguez, y col., 2005; Vergnes, 2003). Las propiedades de los materiales visco-elásticos se pueden determinar utilizando experimentos que involucran la aplicación de esfuerzos en estado no estacionario. Las medidas fuerza de cizalla o corte en estado no estacionario suministran resultados dinámicos que se utilizan para evaluar la visco-elasticidad de los materiales (Rodríguez, y col., 2005).

Cuando se aplica una pequeña deformación (o esfuerzo) sinusoidal, y se mide el esfuerzo (o deformación) resultante, se hace referencia a una prueba dinámica oscilatoria. Estas pruebas se utilizan para determinar las propiedades reológicas de los alimentos visco-elásticos. Los módulos resultantes de las medidas dinámicas oscilatorias se denominan: módulo de almacenamiento (G'), el cual mide la energía almacenada por ciclo y relaciona los eventos moleculares de naturaleza elástica, y el módulo de pérdida (G''), mide la energía disipada como calor por ciclo y relaciona los eventos moleculares de naturaleza viscosa. La razón de G'' sobre G' se ha definido como la tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$) también conocida como tangente de pérdida, y describe los efectos de los componentes viscosos y elásticos en el comportamiento visco-elástico (Rodríguez, y col., 2005; Costas, 2009). Esta relación es un indicador más sensible que G' y G'' a los cambios en el carácter viscoelástico de una estructura de red polimérica; una baja tangente de pérdida

significa que el material se comporta más como un sólido que como un líquido (Costas, 2009).

Ensayo

Los perfiles reológicos de las pastas cocidas fueron obtenidos usando un reómetro (Anton Paar, Physica MCR 301, Austria) y una geometría plato/plato de 25 mm de diámetro. Inicialmente se determinó el rango de visco-elasticidad lineal. Los barridos de deformación mostraron que este rango se encontró para deformaciones menores al 1%. Las determinaciones se realizaron sobre piezas de masas laminadas; una vez colocada sobre la base del reómetro y alcanzada la distancia entre plato (1,3 mm para las muestras elaboradas con IE, ID y HT y 1,5 mm para AE y AD), se cortó el exceso de masa copiando la forma de los platos y se cubrió la superficie expuesta de la muestra con aceite mineral para evitar su deshidratación durante el ensayo. Se realizaron barridos de frecuencia entre 0,5 y 10 Hz para una deformación de 0,05%. Finalizado los barridos de frecuencia, se calcularon los datos de G' , G'' y $\tan \delta$ mediante el programa Rheoplus/32 V3.10.

2.8 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES DE PASTING (RVA)

Principio

El Rapid Visco Analyzer (RVA) es un viscosímetro de rotación capaz de grabar de forma continua la viscosidad de las muestras bajo condiciones de temperatura y velocidad de cizallamiento controladas. El RVA ha sido empleado como un método estándar en la industria de cereales, incluyendo un método para medir las propiedades de *pasting* de harinas (Gamel y col., 2012).

La combinación de cizallamiento, calefacción y refrigeración, aplicada a través del tiempo, crea una curva de viscosidad para el material. Durante un análisis estándar de almidón, este es calentado en un entorno acuoso. El gránulo de almidón absorbe agua y se hincha, se funde la estructura cristalina interna (gelatinización), el propio gránulo se rompe y se forma un gel continuo. Los cambios de viscosidad producidos por el calentamiento y enfriamiento del almidón en agua generalmente proporcionan una curva de las características de *pasting* (Perten Instrument, 2012). Las curvas de *pasting* muestran puntos

que son generalmente reconocidos y utilizados para comparar las muestras (Costas, 2009) (Figura II.7).

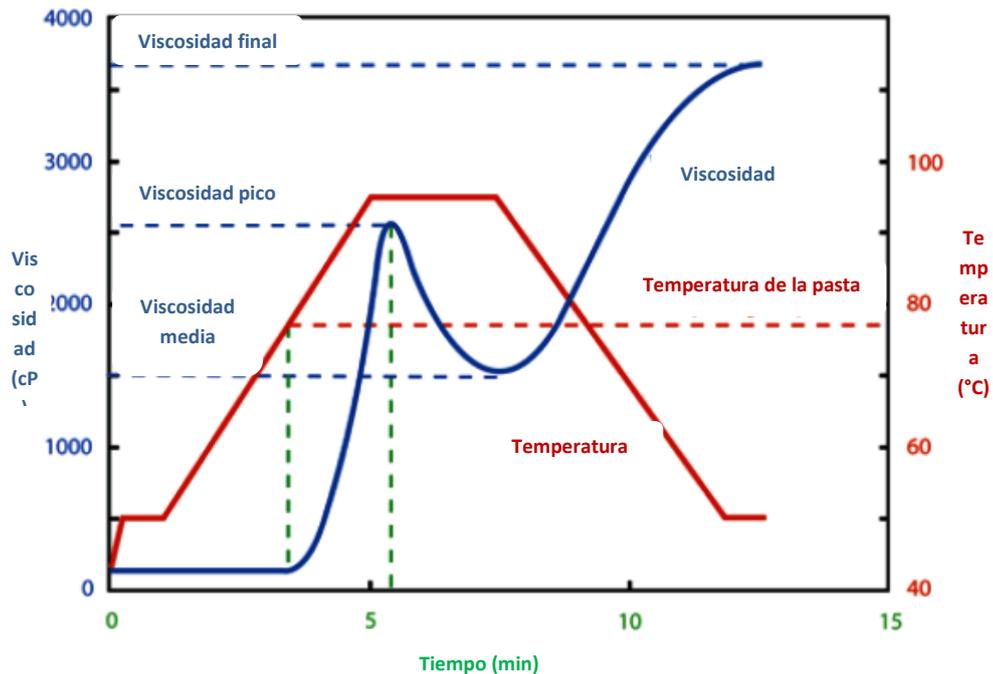


Figura II.7 Curva típica de *pasting* del almidón

(Pertten Instrument, 2012)

- Temperatura de empaste (*Pasting temperature*): inicio de la formación de la pasta; proporciona una indicación de la temperatura mínima requerida para cocinar una muestra dada (Pertten Instrument, 2012). Esta temperatura es generalmente más alta que la temperatura de gelatinización medida por la pérdida en la birrefringencia (Costas, 2009).
- Viscosidad máxima (*peak viscosity*): la viscosidad aparente más alta obtenida. Indica la capacidad de retención de agua del almidón o de la mezcla; a menudo se correlaciona con la calidad del producto final, además de proporcionar una indicación de la carga viscosa probable que se encuentra en una mezcla durante la cocción (Pertten Instrument, 2012; Costas, 2009).
- *Breakdown* (*peak viscosity – holding strength*): depende de la temperatura, a la velocidad a la cual se realiza la mezcla o a la tensión de cizallamiento aplicada a la mezcla y de la naturaleza del propio material. La capacidad de una muestra para soportar el calentamiento y

la tensión de corte es un factor importante para muchos procesos (Perten Instrument, 2012).

- *Setback (final viscosity – peak viscosity)*: la re-asociación entre moléculas de almidón durante el enfriamiento se conoce comúnmente como *setback*; se trata de la retrogradación o reordenación de las moléculas de almidón, y se correlaciona con la textura de diversos productos (Perten Instrument, 2012).
- La viscosidad final (*final viscosity*): es el parámetro más comúnmente utilizado para definir la calidad de una muestra particular, ya que indica la capacidad del material para formar una pasta o gel viscoso después de la cocción y del enfriamiento (estabilidad de la pasta cocida) (Perten Instrument, 2012; Costas, 2009).

Ensayo

Las propiedades de *pasting* se evaluaron en la harina de trigo (HT), en las mezclas de harina (AE-15, AE-30, AE-40, AD-15, AD-30, AD-40, IE-15, IE-30, IE-40, ID-15, ID-30, ID40) y en las pastas secas previamente molidas (PS-AE-15, PS-AE-30, PS-AE-40, PS-AD-15, PS-AD-30, PS-AD-40, PS-IE-15, PS-IE-30, PS-IE-40, PS-ID-15, PS-ID-30, PS-ID40).

Para su determinación se utilizó un Rapid Visco Analyser (RVA 4500, Perten Instrument, Suecia). A una muestra de 3 g se le agregó 25 ml de agua y se colocó en la torre del equipo previa agitación de la suspensión. Las propiedades de *pasting* fueron determinadas de acuerdo al método estándar Newport Scientific, para lo cual se realizó un ciclo de calentamiento a 50°C durante 1 min, luego se calentó hasta 95°C en un tiempo de 5 min, se mantuvo a 95°C durante 2,5 min y finalmente se enfrió hasta 50°C en 5 min. Por medio del software TCW3.11.298, se obtuvieron a partir de la curva de *pasting* los valores de viscosidad de pico, viscosidad media, viscosidad final, *breakdown* y *setback*.

2.9 CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEINAS

2.9.1 ELECTROFORESIS EN SDS PAGE

Principio

Los geles de poliacrilamida constituyen un excelente medio de soporte para separaciones electroforéticas, dado que reúnen una serie de propiedades idóneas: transparencia, elasticidad, porosidad controlable y compatibilidad con una gran variedad de compuestos químicos. La poliacrilamida se forma por copolimerización de dos compuestos, la acrilamida y la bis-acrilamida (N,N'-metilén-bis-acrilamida), en una reacción iniciada por la tetra-metil-etilén-diamina (TEMED) y el persulfato de amonio. El radical persulfato activa al TEMED, el cual a su vez activa al monómero de acrilamida para que polimerice. Las cadenas de poliacrilamida son entrecruzadas al azar por la bisacrilamida, formándose así una red de porosidad bastante uniforme, que puede ser regulada variando las condiciones de la reacción y las concentraciones de los monómeros (Lomonte y Rojas, 1996).

En esta técnica de SDS-PAGE, se mezclan las proteínas con el detergente aniónico SDS (*Sodium dodecyl sulfate*) para formar complejos desnaturalizados, cargados negativamente. La cantidad de SDS unido a las proteínas es proporcional a su tamaño: el SDS se une en una proporción aproximada de 1,4 g SDS/g proteína. Los complejos proteína/SDS poseen una estructura elipsoide o de bastón, donde la cadena proteica es distendida y solubilizada por el detergente. Dado que la relación final carga/masa queda constante para las distintas proteínas (se anula su carga intrínseca), estas van a ser separadas en el gel poroso fundamentalmente con base en sus diferencias de peso molecular (PM): a menor tamaño, mayor movilidad de la proteína, y viceversa (Lomonte y Rojas 1996).

El SDS-PAGE posee un alto poder de resolución debido al uso de un sistema electroforético discontinuo, formado de dos geles de distinta porosidad y pH, que primero compactan las muestras (en el gel superior o compactador "stacking") y luego las separan (en el gel inferior o separador; Figural.8).

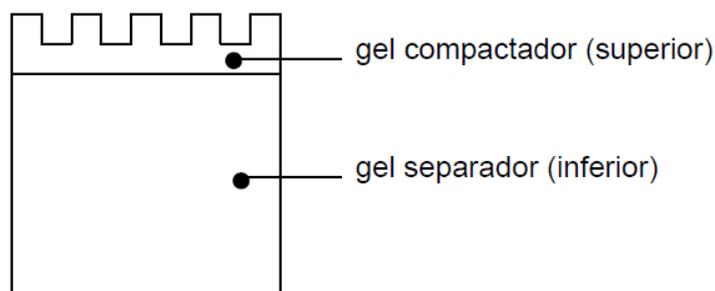


Figura II.8 Partes de un gel de SDS-PAGE

(Lomonte y Rojas, 1996).

En el gel separador, la movilidad es restringida por el tamaño del poro, el cual depende de la concentración de monómeros del gel (Lomonte y Rojas, 1996).

2.9.2 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

A partir de las diferentes harinas (harina de trigo, y las mezclas de las distintas harinas de soja con la harina de trigo), de las pastas secas previamente molidas, de las pastas cocidas y de las aguas de cocción; se realizó una extracción secuencial sobre la base de la afinidad de las diferentes fracciones proteicas por los distintos solvente de extracción. A partir de 100 mg de muestra se realizaron tres extracciones de manera secuencial de acuerdo a Ribotta (2005), con algunas modificaciones. A 100 mg de muestra se le agregó 1 mL de buffer fosfato pH 7,6 y se agitó por 2 h mediante un agitador orbital (Agitador, Vicking, M23). Posteriormente se centrifugó a 18000 x g durante 10 min $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Centrifuga, Cavour, VT 3216, Argentina). Luego de recuperar el primer sobrenadante (PB), correspondiente a la primera fracción (principalmente albuminas y globulinas), se le agregó al precipitado 1mL de buffer fosfato + dodecil sulfato de sodio (SDS) y se agitó por medio de un agitador orbital durante 2 h para posteriormente ser centrifugados a 18000 x g por 10 min a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Después de extraer el segundo sobrenadante (PB+SDS); se le agregó al precipitado PB + SDS + β mercapto-etanol (BME), se sometió a agitación en un agitador orbital por 2 h, se centrifugó a 18000 x g por 10 min a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ y se obtuvo el tercer sobrenadante (PB+BME). Todas las fracciones extraídas, incluyendo el precipitado final donde quedaron las proteínas insolubles, fueron colocadas en agua en ebullición durante 5 min.

A una alícuota de cada extracto se le agregaron 3 mL de acetona y se colocaron en un congelador a -20°C por al menos 12 h. Luego, se centrifugaron a $2000 \times g$ por 10 min a 20°C y se secaron en estufa a 45°C . A los residuos resultantes se le agregaron 500 μL de buffer muestra (Tabla II.1), se agitaron por 2h y luego de ser trasvasados a tubos tipo ependorfs®, se colocaron en agua en ebullición por 5 min. Finalmente se almacenaron en freezer a -20°C .

El agua proveniente de la cocción de las pastas se sometió a un secado previo en una estufa a 45°C con el propósito de reducir su volumen, para ser luego llevada a un volumen final de 35 mL. De cada muestra obtenida, se tomó una alícuota de 2 mL, a los que se le agregó 6 mL de acetona y se llevó a un a -20°C por 12 h. Las muestras se centrifugaron a $200 \times g$ por 10 min a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, y se secaron en estufa a 34°C a fin de eliminar la acetona. A los residuos resultantes se les agregaron 500 μL de buffer de muestra (Tabla II.1), luego fueron agitados durante 2 h por medio de un agitador oscilatorio horizontal (FBR, Decalab SRL, Argentina) y una vez trasvasados a tubos tipo ependorf®, se colocaron en agua en ebullición por 5 min. Finalmente, las muestras fueron centrifugadas a $18000 \times g$ por 10 min a $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, y una vez recuperado los sobrenadante así obtenidos en sendos tubos tipo ependorf®, se conservaron a -20°C para su posterior análisis.

Previo a ser sembradas en el gel de electroforesis, las muestras fueron colocadas en agua en ebullición por 5 min y una vez que estas se enfriaron hasta temperatura ambiente, se colocaron entre 2 a 20 μL en cada carril del gel concentrador.

Tabla II.1 Buffer de Muestra x 3¹

Componente	Cantidad para 100 ml
Buffer de gel compactador	37,5 ml
Glicerol	30 ml
Solución de SDS 20% p/v	22,5 ml
β -mercapto-etanol	9 ml
Azul de bromo fenol	0,01 g/ μl

¹ X3: 3 veces concentrada.

Ensayo

Las electroforesis en placa (70x80 mm) sobre geles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE), se realizaron de acuerdo al sistema de buffer discontinuo de Laemmli (1970). En este ensayo la concentración de acrilamida/bisacrilamida utilizada fue 4% y 12% p/v y los pHs 6,8 y 8,8 para el gel compactador y separador respectivamente. Los componentes de cada gel se detallan en la Tabla II.2

Tabla II.2 Composición de los geles de SDS-PAGE

Componente	Gel compactador 4% (p/v)	Gel separador 12%(p/v)
Agua destilada	6,1 ml	3,5 ml
1,5 M Tris-HCL pH 8,8	2,5 ml	2,5 ml
SDS	100 µl	100 µl
Acrilamida	1,3 ml	4 ml
Persulfato de amonio	100 µl	75 µl
TEMED	25 µl	15 µl
Volumen total	10,125 ml	10,19 ml

Fuente: Elaboración propia

La cámara electroforética utilizada fue Mini Protean II Dual SlabCell (Bio-Rad Laboratories, Estados Unidos). Las corridas se hicieron con voltaje constante (150 V), hasta que el marcador del frente de corrida alcanzó el final del gel (aproximadamente 90 min).

Como marcador de peso molecular se utilizó una mezcla constituida por Miosina (200,00 kDa), β -galactosidasa (116,25 kDa), fosforilasa b (97,40 kDa), albumina sérica (66,20 kDa), ovoalbúmina (45,00 kDa), Anhidrasa carbónica (31,00 kDa), Inhibidor de tripsina (21,50 kDa), Lizosima (14,40 kDa), Aprotinina (5,50 kDa) (Bio-Rad Laboratories, 161-0317, Estados Unidos).

Los geles fueron teñidos con Comassei Brillant R 0,25%, usando como solvente metanol/agua/ácido acético (4:5:1 v/v), y luego desteñidos con el mismo solvente.

2.10 MICROSCOPIA CONFOCAL DE BARRIDO (CLSM)

Principio

Las investigaciones de los cambios microestructurales en los alimentos son cada vez más comunes, especialmente con la creciente disponibilidad de nuevas técnicas microscópicas, tales como la microscopía de barrido láser

confocal (CLSM) que puede sondear cambios *in situ* en la microestructura sin perturbar la muestra (Rincon y col., 2013). La microscopía confocal de barrido láser (CLSM) es una herramienta óptica relativamente nueva que se aplica cada vez más en los alimentos. El aporte primario de la CLSM a la investigación es su capacidad para producir secciones ópticas a través de una muestra tridimensional (3-D) (Figura II.9). Una sección óptica contiene información a partir de un solo plano focal. Por lo tanto, moviendo el plano focal del instrumento por pasos de distancia definida (rango- μm) a través de la profundidad de la muestra, se puede grabar una variedad de secciones ópticas. Para imágenes en el CLSM, generalmente se utiliza la epifluorescencia o el modo de epi-reflexión (Durrenberguer, 2001). En este instrumento, la formación de la imagen no depende de la transmisión de luz a través de la muestra, y no requiere la fijación o deshidratación de la muestra (Rincon y col., 2013).

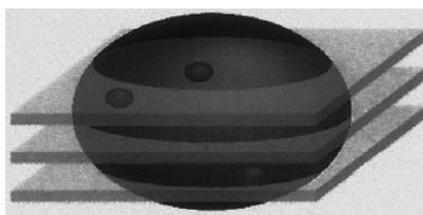


Figura II.9 Secciones ópticas de diferentes planos focales de una muestra que ofrece la imagen en tres dimensiones del objeto

Las muestras deben ser teñidas con tintes fluorescentes. Un detector sensible a la luz, tal como se presenta en la Figura II.10, colocado detrás de la abertura confocal, registra la información de enfoque de cada punto de la muestra, y la señal de salida analógica es digitalizada y se introduce en un ordenador para generar una imagen en un monitor (Durrenberguer, 2001).

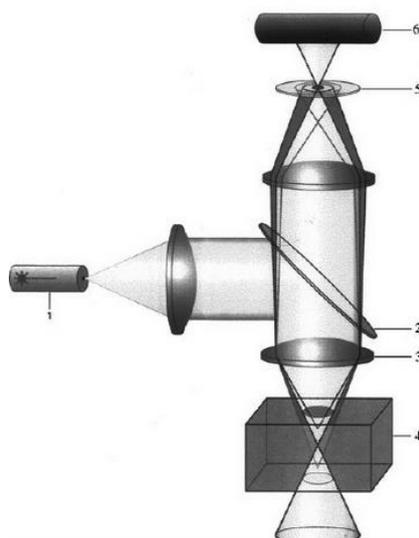


Figura II.10 Elementos del microscopio confocal.

El número de elementos son: 1) laser, 2) espejo dicroico, 3) lente objetivo 4) la muestra, 5) confocal *pinhole*, 6) fotomultiplicador

Ensayo

Las muestras fueron preparadas de acuerdo a Kim y col. (2008), usando dos colorantes fluorescentes: Fluoresceína de sodio (Sigma-Aldrich, CAS: 518-47-8) para la observación del almidón de color verde y Rhodamina B (Sigma-Aldrich, CAS: 509-34-2) para la identificación de las proteínas de color rojo. Ambos compuestos fueron evaluados simultáneamente a través de un microscopio Nikon ECLIPSE Ti (Estados Unidos). La longitud de onda usada para la excitación de la fluoresceína fue 488 nm y para la rodamina 543 nm. La visualización de las imágenes se realizó por medio del software EZ-C1 para microscopio confocal Nikon.

2.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los ensayos fueron realizados al menos por duplicado sobre los lotes obtenidos y los resultados se expresaron como la media de los replicados \pm desviación estándar. El análisis estadístico se efectuó mediante el software InfoStat (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Las herramientas estadísticas empleadas fueron ANOVA y test de comparación múltiple DGC, todos a un nivel de significancia del 5%.

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Primera Sección: Evaluación de los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre los parámetros de calidad tecnológica de las pastas.

Para evaluar los efectos de la sustitución de la harina de trigo pan por harina de soja sobre los parámetros de calidad tecnológica de las pastas, se estudiaron las propiedades de cocción de las pastas. Además se evaluaron la resistencia a la manipulación y transporte de las pastas secas obtenidas, por medio de un ensayo de fracturabilidad.

3.1.1 ELABORACION DE LAS PASTAS

Las harinas utilizadas para la elaboración de pastas presentaron la siguiente composición centesimal.

Tabla III.1 Composición centesimal de las harinas (g/100g de harina)

Componente	Harina de soja Activa	Harina de soja Inactiva
Proteínas	36,4	36,7
Cenizas	4,7	4,5
Lípidos	19,8	22,1
Fibra cruda	2,8	2,3
Humedad	5,95	4,5
Carbohidratos	30,3	29,9

Fuente: Elaboración propia

En la tabla se puede observar que tanto la harina de soja inactiva como la activa presentan, como era esperable, un contenido de proteínas mucho mayor al de la harina de trigo, estas harinas presentan alrededor de 36% p/p en cambio la harina de trigo presentó sólo 9,7% p/p.

Inicialmente se ensayó el nivel de agua adecuado para elaborar las pastas con las diferentes mezclas de harina de trigo y harina de soja. El contenido de agua óptimo que fue necesario agregar a 50 g de harina o mezcla de harinas para elaborar cada una de las muestras se presenta en la Tabla III.2.

Tabla III.2 Cantidad de agua incorporada para elaborar las pastas

Harina o Mezcla de Harinas/50 g	Agua (mL)
HT	20
AE-15	20
AE-30	18
AE-40	18
AD-15	20
AD-30	20
AD-40	20
IE-15	20
IE-30	24
IE-40	26
ID-15	22
ID-30	26
ID-40	28

AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera e ID: harina de soja inactiva desgrasada. 15, 30 y 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas.

Se puede observar que las masas elaboradas con soja inactiva absorbieron mayor cantidad de agua que las muestras preparadas con soja activa. Además cuando los niveles de sustitución estuvieron entre 30 y 40 %, las harinas desgrasadas necesitaron mayor contenido de agua que sus pares enteras, tanto para la harina activa como para la inactiva.

3.1.2 EVALUACIÓN TECNOLÓGICA DE LAS PASTAS

En la Tabla III.1 se presentan los resultados encontrados para las propiedades tecnológicas de las pastas. Las pastas elaboradas con harina de soja Activa Desgrasada presentaron mayores **tiempos de cocción**, TOC, que las preparadas con harina de soja Activa Entera, las cuales resultaron con TOC igual a la pasta control. Para aquellas preparadas con harina de soja inactiva, tanto entera como desgrasada, se observaron TOC decrecientes conforme aumentaba el nivel de sustitución.

El **residuo de cocción** es un parámetro usado comúnmente como indicador de la calidad de la pasta cocida, tanto por los consumidores como por las industrias (Tudorica y col., 2002). De acuerdo a Dick y Youngs (1988) y Wu (2001), si se pretende un producto final de buena calidad, los valores de pérdida por cocción deberían ser próximos a 7% y no deben superar los 8% cuando se trata de pastas preparadas con sémola de trigo candeal. Más allá de diferencias de comportamiento que puede presentar las harinas de trigo pan

respecto a la sémola de trigo candeal, los valores de residuo de cocción medido en la muestra control HT fue inferior a los límites sugeridos. Sin embargo las muestras elaboradas con harina de soja presentaron mayores residuos de cocción que la muestra control (HT). En general, se observaron valores más altos a medida que la incorporación de harina de soja fue mayor, especialmente para aquellas pastas elaboradas con 30 y 40% de IE e ID.

Asimismo, las muestras elaboradas con 15% de harina de soja, también resultaron con residuos de cocción aceptables, a excepción de aquellas elaboradas con ID, la que mostró un valor ligeramente superior a 8%. Sin embargo, cuando el nivel de sustitución con harina de soja fue 30 y 40%, todas las muestras presentaron valores mayores a 8,6%. Esto indica que la harina de soja generó una mayor pérdida de sólidos al agua de cocción, que puede ser atribuido a un debilitamiento de la estructura de la pasta por efecto de la sustitución. Si bien una matriz de proteína coagulada y un almidón gelatinizado limita la lixiviación de material soluble en el agua de cocción (Sung y Stone, 2003), a partir de los resultados obtenidos, el mayor contenido de proteínas aportado por la harina de soja, no mejoró la matriz proteica. Según Ammar (2011), la adición de proteínas que no forman gluten provocó un efecto de dilución y por lo consiguiente un debilitamiento de la masa de trigo. Sung y Stone (2003), mencionan varios factores que causan este efecto, como la competencia entre las proteínas de soja y el gluten por las moléculas de agua, la disrupción del complejo proteína-almidón y la alteración del intercambio -S-S- entre las proteínas.

En este trabajo se encontró que las pérdidas por cocción fueron mayores para harinas inactiva que activas a niveles de sustitución entre 30 y 40%. Wang y col. (2001), mostró que el tratamiento térmico que se aplica durante la inactivación de compuestos anti nutrientes de la soja insolubiliza rápidamente sus proteínas. Sin embargo, en otro estudio se observó que las proteínas desnaturalizadas pueden presentar altas solubilidades (Arrese, 1991). Shen (1976) y Hermansson (1986), indican que no es factible correlacionar la baja solubilidad con la desnaturalización de la proteína en la soja.

Además, se observó que la presencia de materia grasa en las harinas enteras no modificó los valores de residuos de cocción respecto a sus pares elaboradas con harina de soja desgrasada.

Tabla III.3 Propiedades tecnológicas de las pastas

Pastas	TOC (min)	Residuo de cocción (g/100g) ¹	Absorción de agua (g/100g) ¹	Índice de hinchamiento
PS-HT	8 ± 0 d	5,8 ± 0,4 a	148 ± 1 c	2,0 ± 0,0 b
PS-AE-15	8 ± 0 d	7,1 ± 0,2 b	133 ± 4 b	1,8 ± 0,1 a
PS-AE-30	8 ± 0 d	8,2 ± 0,2 c	124 ± 1 a	1,7 ± 0,0 a
PS-AE-40	8 ± 0 d	8,6 ± 0,5 c	127 ± 0 a	1,8 ± 0,0 a
PS-AD-15	11 ± 0 g	7,1 ± 0,5 b	143 ± 5 b	2,0 ± 0,0 b
PS-AD-30	10 ± 0 f	8,4 ± 0,5 c	124 ± 2 a	1,8 ± 0,0 a
PS-AD-40	10 ± 0 f	9,3 ± 0,7 d	120 ± 3 a	1,8 ± 0,1 a
PS-IE-15	8 ± 0 d	7,7 ± 0,0 b	138 ± 2 b	1,9 ± 0,0 b
PS-IE-30	5,5 ± 0 b	10,2 ± 0,5 e	147 ± 2 c	2,1 ± 0,0 c
PS-IE-40	4 ± 0 a	10,5 ± 0,0 e	138 ± 1 b	2,0 ± 0,0 b
PS-ID-15	9 ± 0 e	8,3 ± 0,0 c	138 ± 1 b	1,9 ± 0,0 b
PS-ID-30	6,5 ± 0 c	10,1 ± 0,2 e	140 ± 1 b	1,9 ± 0,0 b
PS-ID-40	5,5 ± 0 b	11,8 ± 0,3 f	139 ± 8 b	2,0 ± 0,1 b

PS: Pasta Seca, AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera e ID: harina de soja inactiva desgrasada. 15, 30 y 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas. ¹ Valores con la misma letra dentro de una misma columna no presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$), de acuerdo a DGC.

Un valor adecuado de **absorción de agua** para pastas de trigo candeal debe ser tres veces mayor al de su peso seco (Dick y Youngs, 1988; Wu, 2001), mientras que en investigaciones previas realizadas con pastas elaboradas con trigo pan (Martinez y col., 2013), se encontraron valores de absorción de agua ligeramente superior a 1,5 veces en relación al peso de la pasta seca. En este estudio, la muestra control también mostró un valor de absorción de agua cercano a 1,5 veces en relación al peso de la pasta seca, en tanto que las muestras elaboradas con las diferentes harinas de soja presentaron, en general, valores más bajos que HT. La absorción de agua en la pasta depende de la cantidad de proteínas y de almidón, del contenido de almidón dañado y de la difusividad del agua al centro de la pasta. Las proteínas de soja tienen la capacidad de absorber agua (Wang y col., 2001), sin embargo la variación de la absorción puede deberse a la dilución del almidón y las proteínas de gluten en las muestras. De acuerdo a Ryan y Brewer (2007), las

proteínas de soja, ejercen un efecto perjudicial al competir con las proteínas de trigo y el almidón por el agua, disminuyendo la hidratación de estos últimos.

Las mayores diferencias en la absorción de agua de las pastas se observaron para aquellas elaboradas con harina de soja activa, tanto AE como AD, a los niveles de 30 y 40% de sustitución, con la particularidad que AD30 y AD40, dado sus mayores TOC, estuvieron en el agua de cocción por un tiempo más prolongado que el resto de las muestras. Según Ansari y col. (2013) la adición de proteínas que no forman gluten, tales como las proteínas de soja, puede romper los enlaces -S-S- durante la formación de gluten cuando se elabora la masa, lo que reduce la capacidad de la masa para retener el agua y afecta el peso de la pasta cocida.

En general las muestras con harina inactiva presentaron mayores valores de absorción de agua que las pastas con harina activa, lo que puede atribuirse a la desnaturalización parcial de las proteínas al ser inactiva la harina. González y col. (2001), observaron que los aislados proteicos con mayor contenido de proteínas desnaturalizadas mostraron escasa solubilidad pero mayor capacidad de absorción de agua.

Los valores de **índice de hinchamiento** medido en las pastas elaboradas con las distintas harinas de soja, en los diferentes niveles de sustitución, resultaron en general, similares a la muestra elaborada solo con harina de trigo. Se distinguió una ligera tendencia en aquellas muestras preparadas con harina de soja entera, tanto activa como inactiva, que presentaron valores ligeramente inferiores a HT, a excepción de AD-15 que resultó similar a la muestra control.

La fracturabilidad de las pastas secas es una forma de evaluar la resistencia a la manipulación y transporte necesarios para que el producto alcance su destino final (Martinez y col., 2013). La incorporación de harina de soja afectó la resistencia a la fractura (Figura III.1). En general la resistencia a la fractura medida en las pastas elaboradas con las harinas de soja fueron menores al de la muestra control ($p < 0,05$), particularmente para las pastas

elaboradas con IE30 y IE40. La muestra ID15 mostró el mayor valor de resistencia a la fractura.

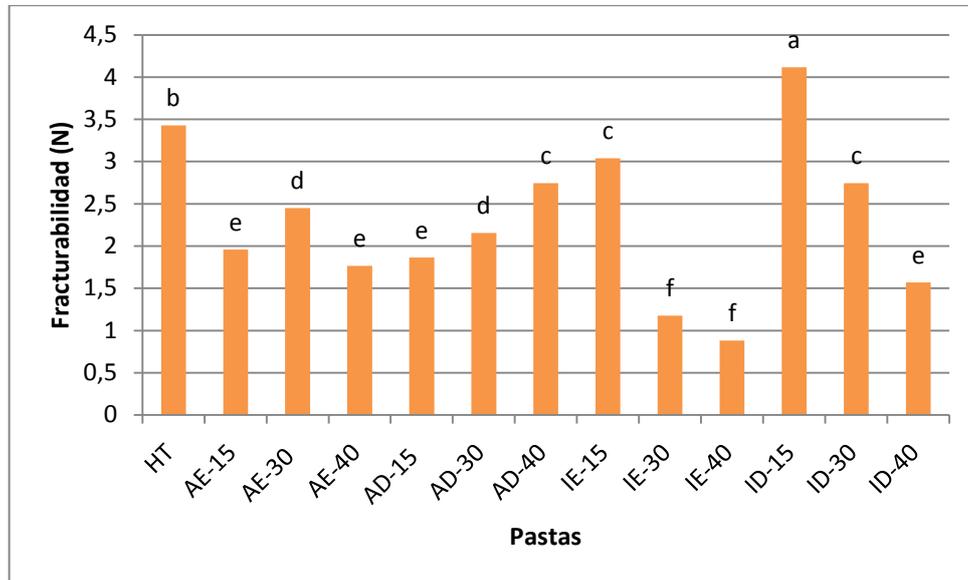


Figura III.1 Fracturabilidad de las pastas secas.

AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera e ID: harina de soja inactiva desgrasada. 15, 30 y 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas. ¹ Valores con la misma letra en las columnas no presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$), de acuerdo a DGC.

La calidad tecnológica de las pastas durante el proceso de cocción fue afectada negativamente por la incorporación de harinas de soja, siendo este cambio más notable en los altos niveles de sustitución. El detrimento de la calidad fue más pronunciado para las pastas elaboradas a partir de la sustitución con harina de soja inactiva, respecto a aquellas muestras con harinas activas de soja.

El análisis de los resultados mostró que las pastas elaboradas con harinas de soja enteras tuvieron un mejor comportamiento general que aquellas en las que se usó harinas las desgrasadas, en especial para las muestras preparadas con harina activa de soja.

3.2 Segunda Sección: Análisis de los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre el comportamiento del almidón y sus cambios estructurales durante el proceso de elaboración y cocción.

Para analizar los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre el comportamiento del almidón y sus cambios estructurales se evaluó el progreso de la gelatinización del almidón durante el proceso de cocción de las pastas. Además se estudió la viscosidad de las harinas, de las pastas secas y de las pastas cocidas por medio de un visco-analizador (RVA).

3.2.1 EVALUACIÓN DE LA GELATINIZACION DEL ALMIDON EN FUNCIÓN DE LOS DIFERENTES TIEMPOS DE COCCION

Por medio del microscopio (10x) se obtuvieron imágenes de las pastas, a diferentes tiempos de cocción, con el propósito de evaluar el progreso de la cocción y sobrecocción a través de la desaparición del centro blanquecino que se puede observar a partir de un corte transversal de éstas (Figura III.2).

El tiempo óptimo de cocción (TOC) está definido como el tiempo necesario para obtener un producto *al dente*, definiéndose este como el momento en el cual desaparece la zona blanquecina del centro de la pasta, correspondiente al almidón que aún permanece sin gelatinizar (Ansari y col., 2013).

A un tiempo de cocción correspondiente al 50% del TOC, a partir de las imágenes capturadas se puede observar que permaneció el centro blanco de almidón no gelatinizado.

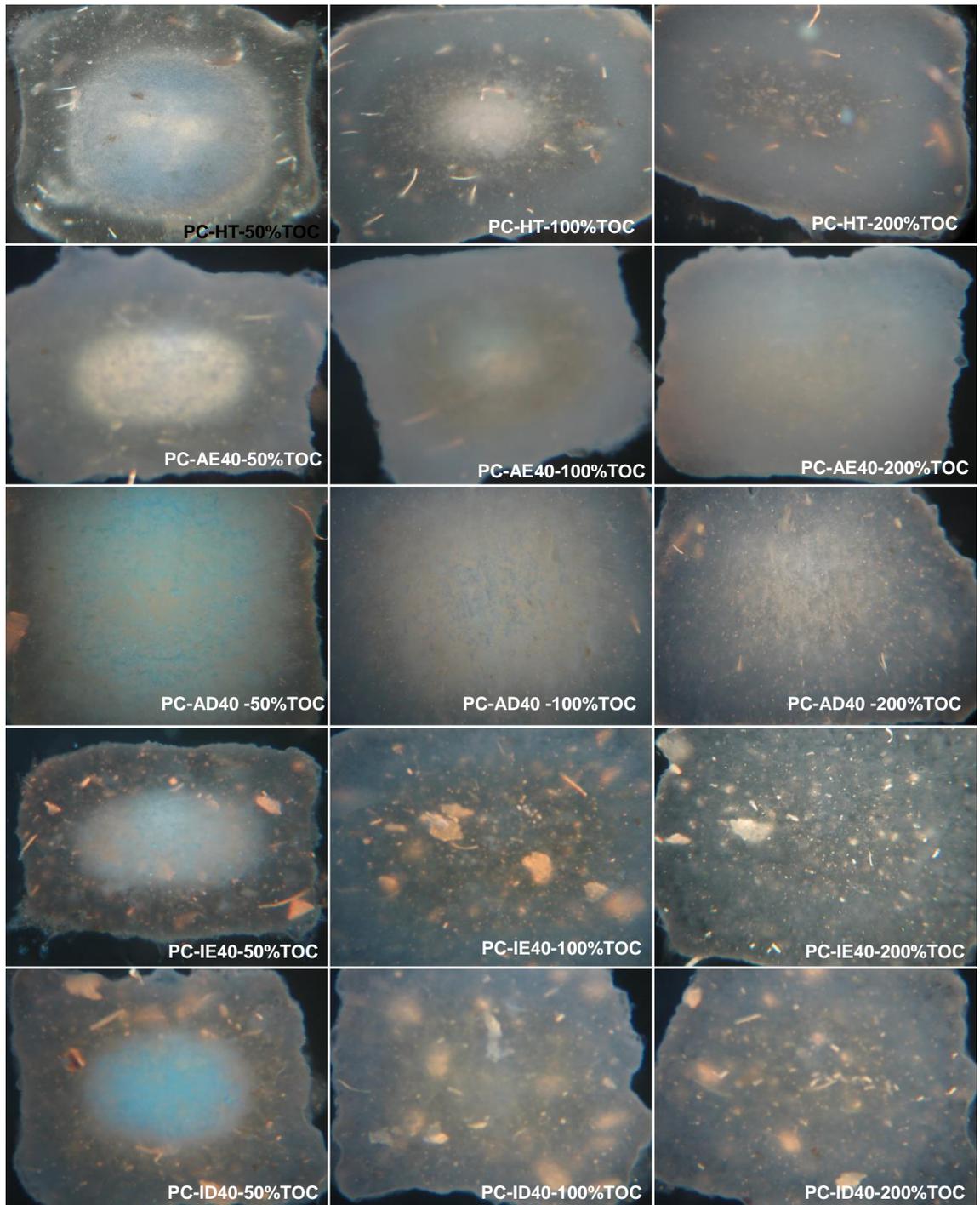


Figura III.2 Imágenes de las pastas tomadas a diferentes tiempos de cocción.

PC: Pasta Cocida, AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera e ID: harina de soja inactiva desgrasada. 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas. 50, 100 y 200% del tiempo óptimo de cocción (TOC).

Comparando con las imágenes tomadas al 100% del tiempo óptimo de cocción, se encontró que el centro blanco había disminuido considerablemente para las pastas elaboradas con HT y AD40 y desaparecido para el resto de las muestras, mostrando el progreso de la gelatinización del almidón en función del

tiempo. Al alcanzar el 200% del TOC, no se observaron mayores diferencias respecto a lo encontrado para sus TOC, para las pastas elaboradas con las diferentes harinas de soja. Solo para la muestra control se observó una desaparición total del centro blanquecino, indicando una completa gelatinización del almidón. Ansari y col. (2013) observaron que las capacidades de retención de agua del almidón y de la proteína del gluten no son iguales en todo el proceso de cocción. Las matrices débiles y discontinuas de proteínas permiten la liberación de una mayor cantidad de almidón durante la gelatinización del almidón.

Estas imágenes nos muestran que la cocción de las pastas es concéntrica, parte de los bordes externos y lentamente avanza hacia el centro. Según Fardet y col. (1998a), el grado de hinchamiento de los gránulos de almidón depende de la ubicación de estos en la pasta. La red de proteínas limita la difusión del agua a los gránulos de almidón, lo que restringe la hinchazón en la zona central de la pasta. Esto muestra que la estructura de la zona gelatinizada cambia radial y temporalmente.

3.2.2 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES DE PASTING (RVA)

El almidón es el componente responsable de las propiedades de espesamiento de las harinas. La soja se caracteriza por la escasa presencia de gránulos de almidón en la semilla madura (Stevenson y col., 2007). El contenido de almidón en estas semillas es de 0,19-0,91%; mientras que en la harina de soja; el almidón constituye sólo 0,56-0,58%, y la amilosa representa entre el 15-20%, es decir menor a 0,1% respecto de la harina de trigo (Wilson y col., 1978).

Por otro lado, las propiedades de *pasting* del almidón también dependen del contenido de amilosa y amilopectina de la harina, de la cantidad de otros componentes tales como las proteínas y grasas y de las técnicas de procesamiento. Las proteínas pueden afectar el proceso de gelatinización de diferentes maneras dependiendo de su capacidad para retener agua y su capacidad de interacción con las moléculas de almidón y la superficie de los gránulos (Sciarini y col., 2011).

Como era de esperar, se observó una disminución de todos los valores medidos, viscosidad pico, viscosidad final, *breakdown* y *setback* (Tabla III.4), proporcional a los mayores niveles de sustitución de la harina de trigo con las harinas de soja ($p < 0,05$): La disminución progresiva del contenido de almidón en las mezclas de las harinas con mayor proporción de harina de soja fue el responsable de la reducción de la viscosidad medida en las muestras. En efecto la correlación entre la reducción de la viscosidad de la pasta y el grado de sustitución fue $r \geq 0,98$.

Las harinas de soja desgrasadas presentaron mayores valores en los parámetros de RVA que las harinas ricas en grasa, lo que se relacionó con el mayor contenido proporcional de proteínas y la menor capacidad lubricante que pudo ejercer el aceite de soja en la matriz de aquellas pastas elaboradas con harina de soja entera. Además, los lípidos al formar complejos con la amilosa provoca una reducción de la viscosidad de pico (Dapcevic y col., 2011).

Por otro lado, los resultados mostraron que las mezclas preparadas con harinas inactivas, ya sea enteras y desgrasadas, presentaron mayor viscosidad de pico que sus pares activas.

Tabla III.4 Propiedades de pasting de la harina de trigo, la harina de soja y de las mezclas usadas para elaborar las pastas

Harinas	Viscosidad pico	Viscosidad final	Breakdown	Setback
HT	2721 ± 8 l	2748 ± 16 i	1136 ± 7 l	1434 ± 6 i
AE-15	1600 ± 15 h	2140 ± 61 f	613 ± 1 h	1153 ± 45 f
AE-30	736 ± 6 b	1293 ± 11 d	159 ± 3 c	716 ± 1 e
AE-40	436 ± 1 a	942 ± 23 a	50 ± 4 a	556 ± 17 c
AD-15	2050 ± 14 j	2450 ± 19 h	811 ± 6 j	1211 ± 11 g
AD-30	1322 ± 26 f	1542 ± 4 e	517 ± 23 h	737 ± 7 e
AD-40	938 ± 20 c	1055 ± 3 b	363 ± 13 e	480 ± 4 b
IE-15	1741 ± 3 i	2373 ± 1 g	644 ± 1 i	1275 ± 3 h
IE-30	1014 ± 6 d	1544 ± 59 e	231 ± 13 d	760 ± 40 e
IE-40	753 ± 1 b	1240 ± 14 d	11 ± 3 b	500 ± 12 c
ID-15	2158 ± 8 k	2495 ± 16 h	889 ± 4 k	1225 ± 11 g
ID-30	1450 ± 10 g	1601 ± 12 e	514 ± 1 g	665 ± 4 d
ID-40	1146 ± 33 e	1144 ± 1 c	431 ± 28 f	429 ± 6 a

HT: harina de trigo, AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera, ID: harina de soja inactiva desgrasada. 15, 30 y 40 g harina de soja /100 g mezcla de las harinas. ¹ Valores con la misma letra dentro de una misma columna no presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$), de acuerdo a DGC.

Los perfiles de viscosidad para cada una de las harinas y de las mezclas de ellas se muestran en la Figura III.3.

Todas las harinas de soja mostraron un perfil similar, los cuales fueron prácticamente una línea recta paralela al eje de las abscisas, desde luego, esperable por la carencia de almidón en estas harinas. Sin embargo, las harinas desgrasadas presentaron un leve aumento de la viscosidad durante el proceso de calentamiento, el que fue mayor para la harina activa. Este proceso sugiere la hidratación y gelificación de las proteínas de soja, fenómeno no observado en harinas enteras, probablemente por el menor contenido relativo de proteínas y la presencia de materia grasa

Consecuentemente, a medida que el contenido de harina de soja fue menor dentro de las mezclas, el perfil de viscosidad fue más parecido al de la harina de trigo; resultados acordes a lo observado por Dick y Youngs (1988) y por Nikolic y Laczim (2011).

La incorporación de harina de soja inactiva aumentó el perfil de RVA en comparación con las muestras con harina de soja activa. La desnaturalización de proteínas de soja es un requisito previo para la formación del gel, esta desnaturalización provoca un despliegue de las proteínas de soja, donde grupos funcionales, tales como grupos sulfhidrilo y grupos hidrófobos, quedan expuestos e inmediatamente interactúan conduciendo a la agregación de proteínas y la formación irreversible de la red (gelificación) (Renkema Vliet, 2002).

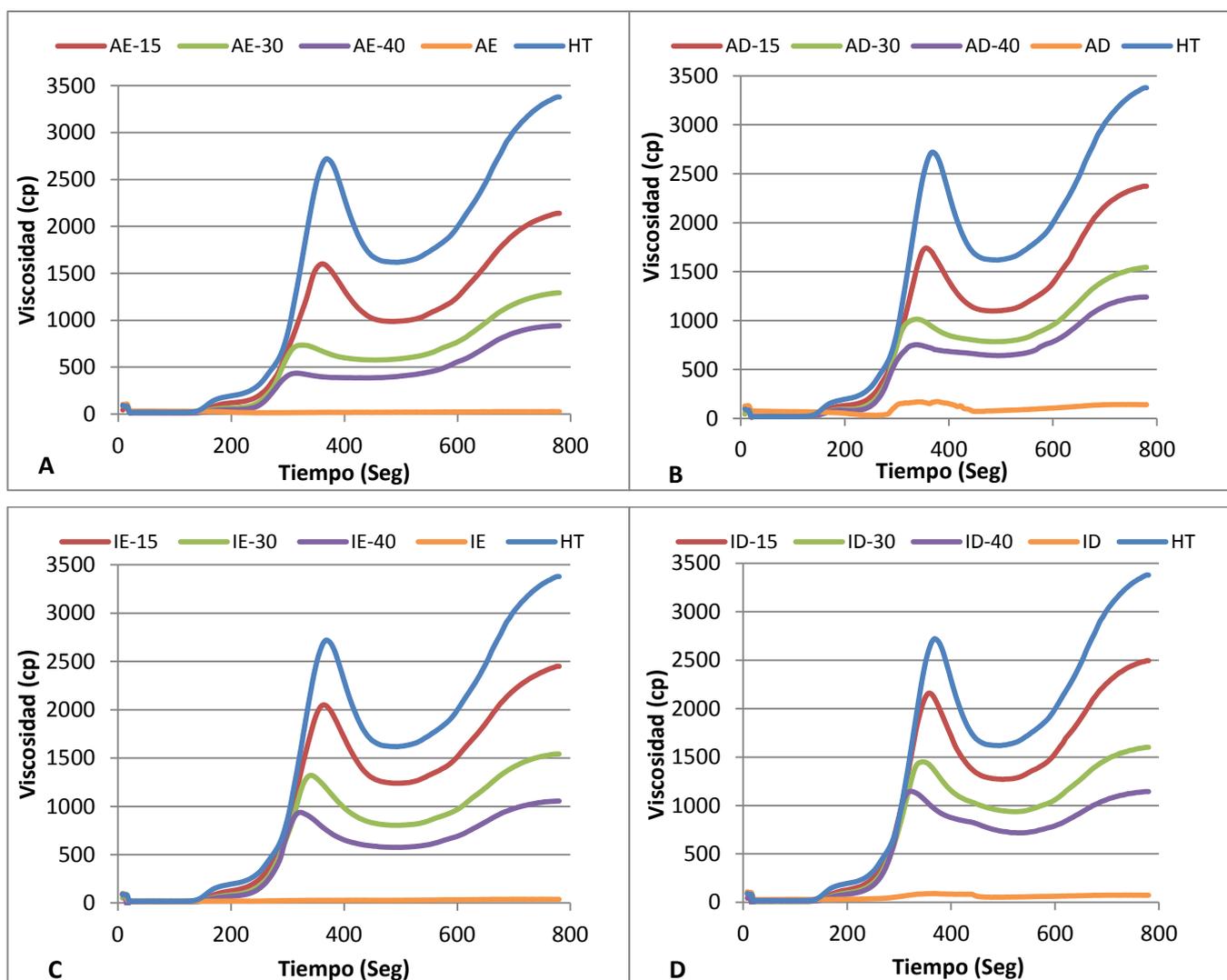


Figura III.3 Perfiles de RVA de las diferentes mezclas de harinas.

A: Harinas sustituidas con harina de soja activa entera AE. B: Harinas sustituidas con harina de soja activa desgrasada AD. C: Harinas sustituidas con harina de soja inactiva entera IE. D: Harinas sustituidas con harina de soja inactiva desgrasada ID. Harina de trigo HT. 15, 30 y 40 g harina de soja/100 g harina.

La Figura III.4 muestra los perfiles de viscosidad obtenidos para las pastas elaboradas con HT y con 40% de las diferentes harinas de soja, en relación a sus homólogos obtenidos a partir de las mezclas de las harinas utilizada para elaborar las pastas. Al comparar los perfiles, se encontró que el proceso de elaboración, incluyendo el amasado y el laminado, redujo la viscosidad pico, viscosidad final, *breakdown* y *setback*. Si se considera que la estructura interna de la pasta seca se caracteriza por presentar los gránulos de almidón profundamente embebidos en una matriz de proteínas (gluten) desarrollada durante la laminación (Petitot y col., 2009), al ponerse la pasta en

contacto con el agua, la red restringe la entrada de agua a los gránulos de almidón, limitando así su gelatinización (Calvelo, 2008).

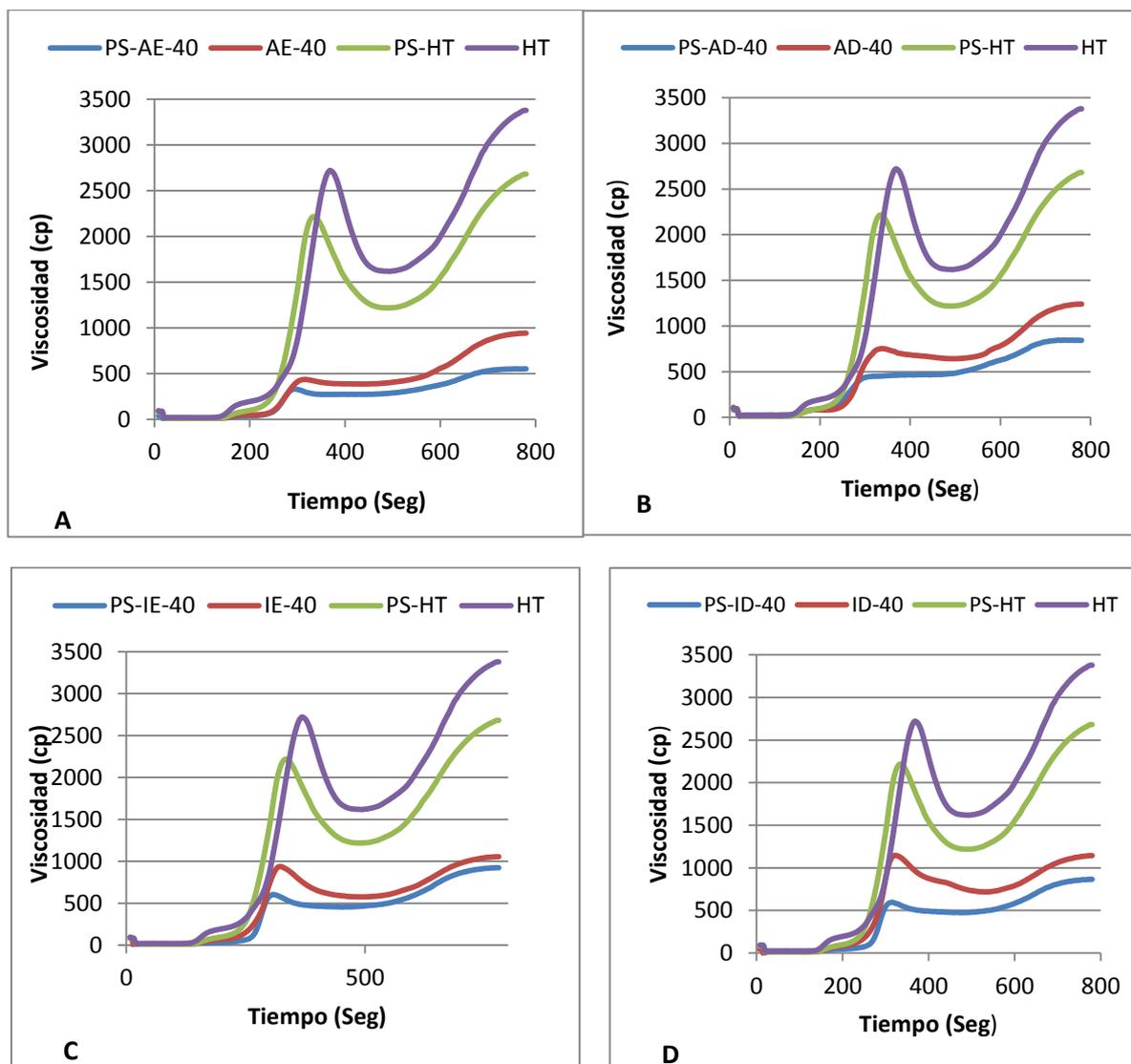


Figura III.4 Perfiles de RVA de pastas secas (PS) y harinas.

A: Con soja activa AE. B: Con soja desgrasada activa AD. C: Con soja inactiva entera IE. D: Con soja desgrasada inactiva ID. Harina de trigo (HT). 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas.

Estos resultados parciales permiten concluir que la incorporación de harina de soja cambió el comportamiento de las pastas durante la cocción y la sobre cocción en comparación con las pastas elaboradas sólo con harina de trigo; observándose una rápida gelatinización del almidón y la desaparición del centro blanquecino.

La reducción de la viscosidad durante el proceso de *pasting* de las mezclas de harina se atribuyó al efecto de dilución del almidón conforme

aumentó el contenido de soja en las mezclas de las harinas. De igual manera se corroboró que la matriz proteica presente en pastas secas restringió el proceso de hidratación lo que se verificó en menores valores de viscosidad durante el proceso de *pasting* en relación a las harinas y sus mezclas.

3.3 Tercera Sección: Evaluación de los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre las propiedades viscoelásticas y los cambios estructurales en las masas de las pastas.

Para evaluar los efectos de la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja sobre las propiedades viscoelásticas de las pastas y los cambios estructurales, se analizaron por medio de un reómetro la visco-elasticidad de las masas de las muestras.

3.3.1 EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES VISCOÉLASTICAS DE LAS MASAS

Se realizó la evaluación de las propiedades viscoelásticas de las masas, para poder observar como las diferentes harinas de soja tuvieron influencia sobre el comportamiento de las masas laminadas.

Los espectros mecánico dinámico de las masas, mostraron que el módulo de almacenamiento (G') fue mayor que el módulo de pérdida (G'') (Figura III.5, Figura III.6, Figura III.7 y Figura III.8) en todo el rango de frecuencias analizado, lo que indica que hubo una prevalencia de características elásticas sobre las viscosas. En efecto, los valores de $\tan \delta$ fueron inferiores a 1; puesto que G' fue mayor con el aumento de la frecuencia durante todo el ensayo. Además se observó que, los valores de $\tan \delta$ obtenidos para todas las muestras estuvieron entre 0,44 y 0,29.

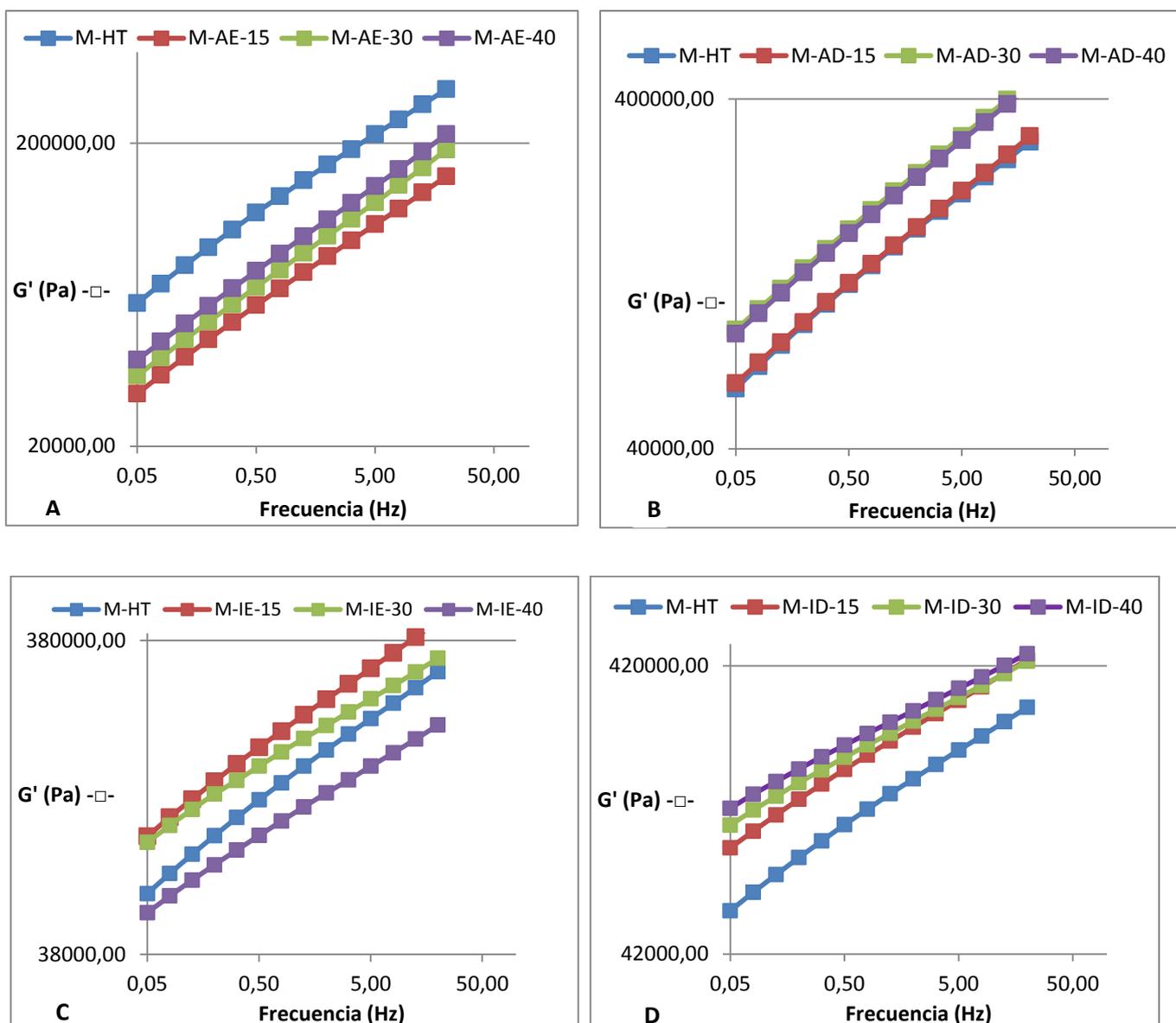


Figura III.5 Módulo elástico, G' , para las diferentes masas (M).

A: Módulo G' de masas con harina de soja activa entera (M-AE). B: Módulo G' de masas con harina de soja activa desgrasada (M-AD). C: Módulo G' de masas con harina de soja inactiva entera (M-IE). D: Módulo G' de masas con harina de soja inactiva desgrasada (M-ID). M-HT: Masas con harina de trigo. 15, 30 y 40 g harina/100 g mezcla de las harinas.

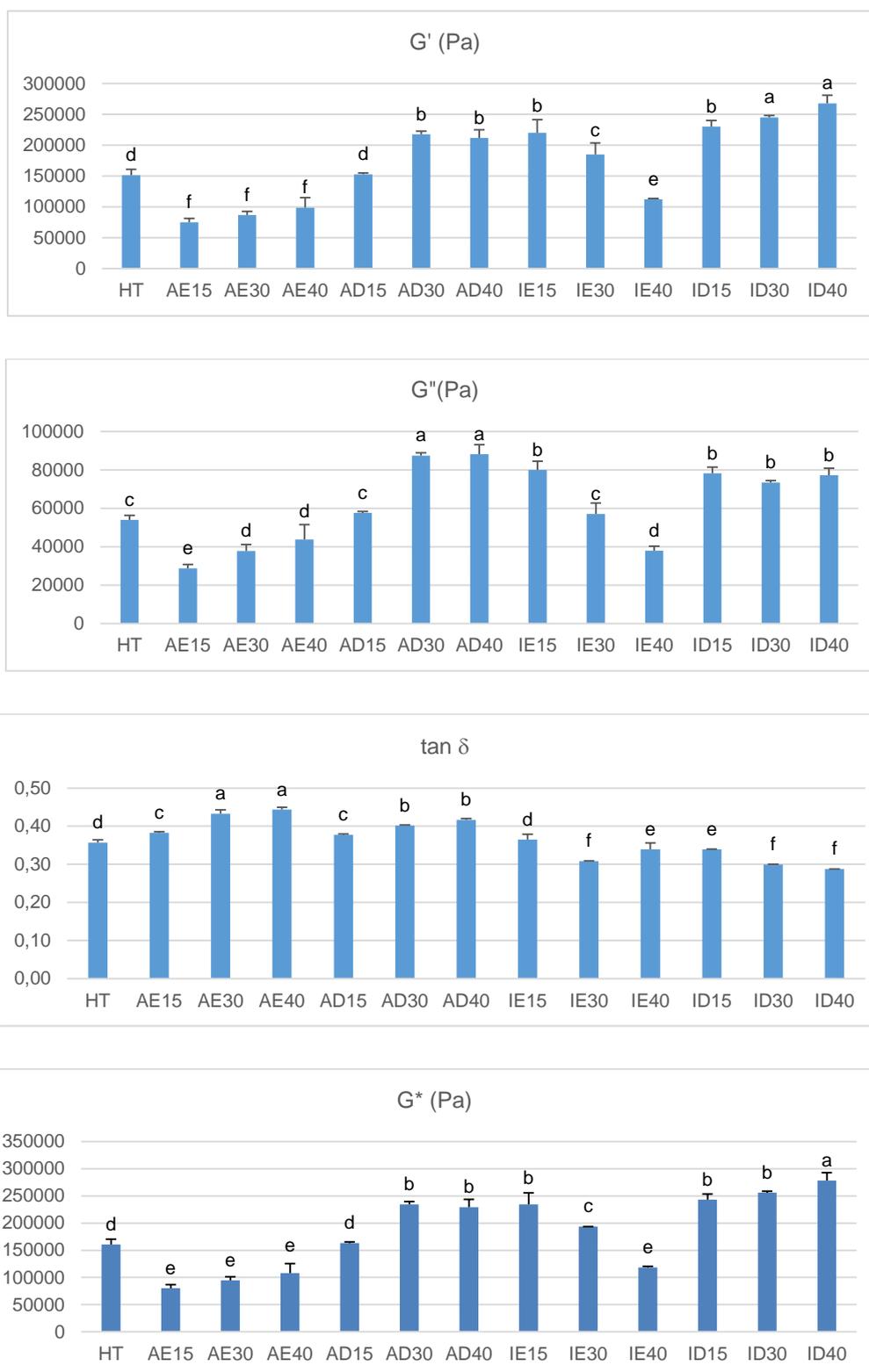


Figura III.6 Variación del módulo elástico (G'), viscoso (G''), la tangente del ángulo de fase (tan δ) y el módulo complejo (G*) de las masas con la incorporación de los derivados de soja (f=1,26 Hz).

AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera e ID: harina de soja inactiva desgrasada. 15, 30 y 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas. ¹ Valores con la misma letra en las columnas no presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$), de acuerdo a DGC.

El efecto de la incorporación de derivados de soja sobre el perfil de viscoelasticidad de las masas cambió con el tipo de harina utilizada. La incorporación de harina entera activa redujo los valores de G' , G'' y G^* con respecto a la masa sin agregado. Por otro lado, la harina desgrasada activa incrementó estos parámetros. En ambos casos, G' , G'' y G^* incrementaron con el grado de sustitución.

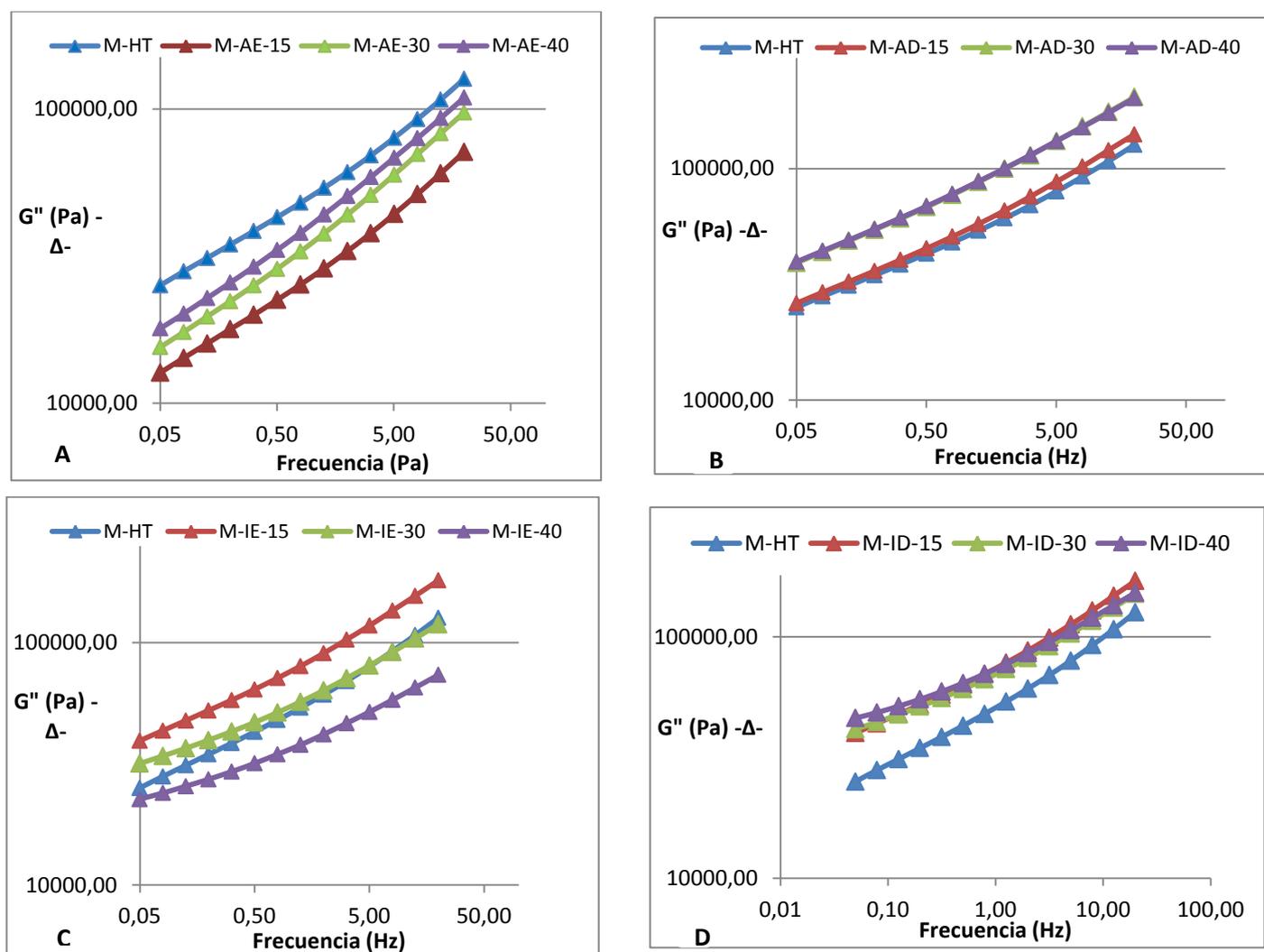


Figura III.7 Módulo viscoso G'' , para las diferentes masas (M).

A: Módulo G'' de masas con harina de soja activa entera (M-AE). B: Módulo G'' de masas con harina de soja activa desgrasada (M-AD). C: Módulo G'' de masas con harina de soja inactiva entera (M-IE). D: Módulo G'' de masas con harina de soja inactiva desgrasada (M-ID). M-HT: Masas con harina de trigo. 15, 30 y 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas.

La incorporación de harina inactiva entera mostró los mayores valores de G' , G'' y G^* que la muestra control con el menor grado incorporación (IE15), la incorporación de mayor proporción de esta harina de soja redujo

significativamente estos parámetros. Por otro lado, La incorporación de harina inactiva desgrasada produjo los mayores valores de G' , G'' y G^* observándose un leve incremento con el grado de sustitución

La $\tan \delta$ indica la relación entre el módulo de almacenamiento y el de pérdida, es decir representa la relación entre la respuesta viscosa y elástica de un material viscoelástico, en otras palabras el potencial de disipación de la energía del material. El perfil general mostró una disminución del valor de la $\tan \delta$ en todas las muestras entre 0,05 Hz y alrededor de 1 Hz, relacionado a un mayor incremento de G' sobre G'' , lo que indica un aumento más marcado de las propiedades elásticas. A mayores frecuencias, la $\tan \delta$ aumentó en todas las muestras, lo que denota un comportamiento más viscoso. Este comportamiento también fue presentado por Gonzales y col. (2014).

A partir de 1,26 Hz los valores de $\tan \delta$ aumentaron linealmente con la frecuencia, observándose valores superiores a los iniciales para las muestras con soja activa entera, lo que indica un menor comportamiento elástico en estas muestras.

Con respecto a los valores de $\tan \delta$, las muestras con soja activa entera presentaron los mayores valores (Figura III.8A, Figura III.8B y Figura III.6), estos valores fueron aumentando conforme aumentaba el nivel de sustitución, observándose el valor más bajo al 15% (0,38), el cual fue superior al de HT (0,36, a 1,26 Hz).

Un comportamiento inverso se observó con las masas elaboradas con soja inactiva desgrasada y entera, donde el valor más bajo de $\tan \delta$ se encontró en las muestras con un 40% de sustitución. Los valores de $\tan \delta$ para los diferentes niveles de sustitución de las muestras con soja desgrasada inactiva fueron menores que el control M-HT.

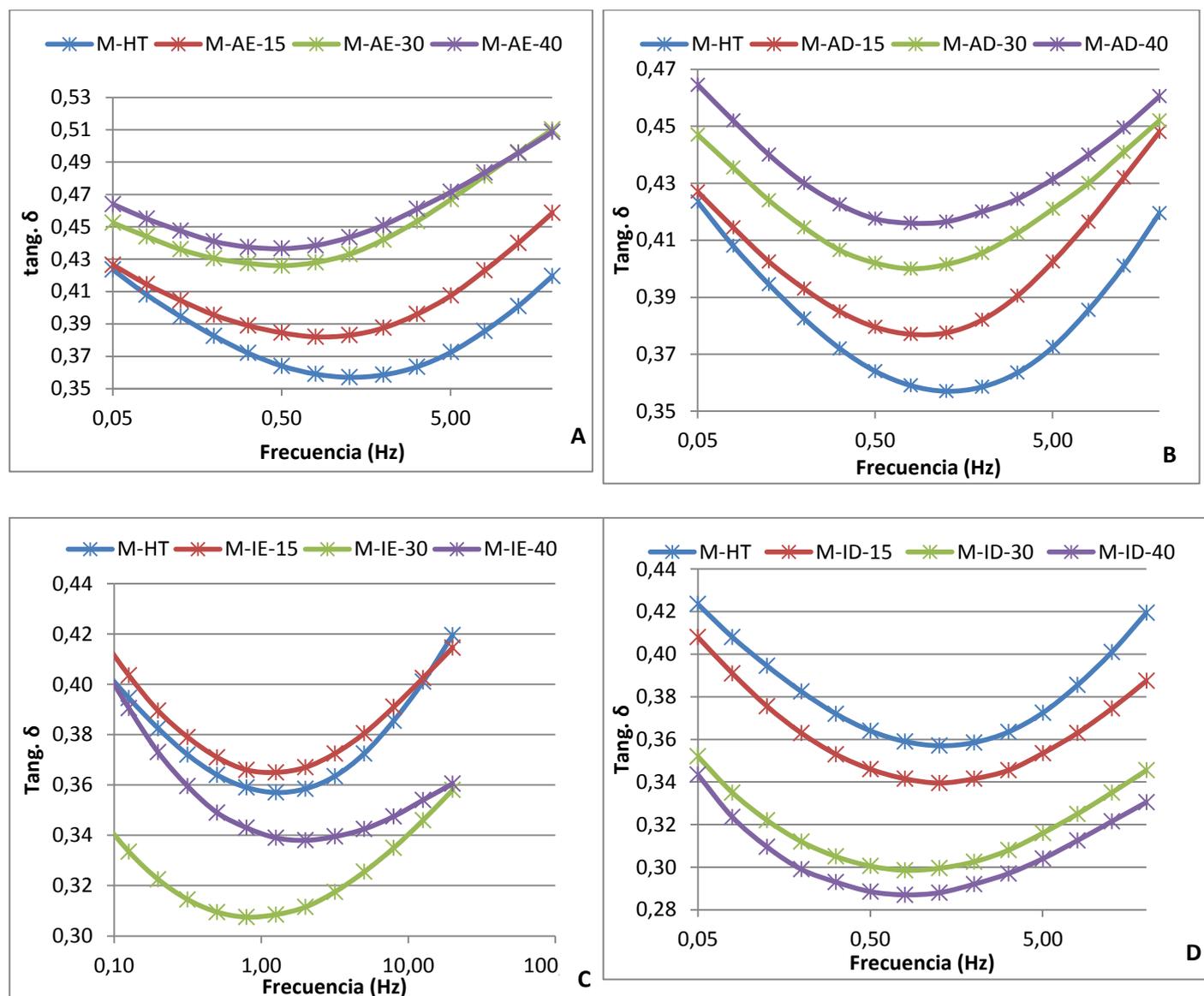


Figura III.8 Tang δ de las diferentes masas (M).

A: Tang δ de masas con harina de soja activa entera (M-AE). B: Tang δ de masas con harina de soja activa desgrasada (M-AD). C: Tang δ de masas con harina de soja inactiva entera (M-IE). D: Tang δ de masas con harina de soja inactiva desgrasada (M-ID). (M-HT) Masas con harina de trigo. 15, 30 y 40 g harina/100 g mezcla de las harinas.

El comportamiento viscoelástico de la masa se atribuye principalmente a las proteínas del gluten. La masa que tiene una alta calidad de proteínas tiene un mayor G' y menor $Tan \delta$ que una masa débil (Mirsaeedghazi, y col., 2008). El almidón, es capaz de formar una red continua de partículas junto con la red macromolecular de gluten hidratado. Estas dos redes independientes y su

interacción dan lugar a las propiedades reológicas de las masas. Aunque la interacción juega un papel importante, las contribuciones relativas de las dos fuentes son difíciles de resolver. Las interacciones de los componentes dependen del nivel de esfuerzo. Las interacciones almidón – almidón dominan sobre las interacciones proteína - proteína a bajos esfuerzos, mientras que las interacciones proteína - proteína desempeñan un papel dominante a grandes deformaciones. Cuando los gránulos de almidón se dispersan en forma homogénea en la red de gluten, aparentemente, un aumento del contenido de almidón da lugar a un aumento en el valor G' y G'' mejorando así la elasticidad y la viscosidad (Rodríguez, y col., 2005; Rizwan, y col., 2013).

Es conocido que la materia grasa posee varias funciones en los alimentos, entre las más importantes se encuentran la de producir un efecto lubricante en la matriz y la de modificar las propiedades gustativas de los productos. El tipo y cantidad de grasa añadida tiene un fuerte efecto en el comportamiento viscoelástico de las masas, actúan como un lubricante y contribuyen a la plasticidad de las masas. En este trabajo se observaron valores mayores de G' y de G'' en masas elaboradas con soja desgrasada, ya sea activa e inactiva. Es posible que la ausencia de grasa tenga dos efectos importantes, reducir el efecto lubricante y/o facilitar la interacción entre proteínas de soja y de trigo, o entre las proteínas de soja y los gránulos de almidón, generando mayores valores de elasticidad y viscosidad en las matrices en relación a las muestras elaboradas sólo con harina de trigo HT.

3.4 Cuarta Sección: Evaluación del comportamiento de las proteínas y su relación con el almidón durante el proceso de elaboración y cocción de las pastas.

La evaluación del comportamiento de las proteínas de trigo y las de soja se realizó a partir del análisis de los perfiles electroforéticos de las distintas fracciones proteicas obtenidas de las harinas, de las pastas cocidas y del agua utilizada para su cocción. Además, por medio de un microscopio confocal de barrido, se estudió la estructura de las masas y de las pastas cocidas con el objetivo de evaluar el comportamiento de las proteínas y su relación con el almidón durante la elaboración y la cocción.

3.4.1 CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEINAS

Sobre la base de la afinidad de las diferentes fracciones proteicas por los distintos solventes de extracción, se realizó una extracción secuencial para las harinas, las pastas cocidas y las aguas de cocción.

Para obtener información sobre la interacción de proteínas de trigo y los derivados de soja, se llevó a cabo un procedimiento de extracción secuencial con diferentes soluciones. El buffer sencillo (PB) puede disolver proteínas en sus estados nativos; el tampón que contiene SDS interrumpe todos los enlaces no covalentes de proteínas y disuelve pequeños agregados unidos por este tipo de interacciones. La solución que contiene PB+SDS+BME puede escindir los enlaces no covalentes y puentes disulfuro a grupos sulfhidrilo y facilita la solubilización de grandes agregados de proteínas en sus subunidades.

Esto permitió visualizar las diferentes proteínas de acuerdo a su masa molecular con el propósito de evaluar el comportamiento de las proteínas de trigo y las de soja durante las distintas etapas de elaboración y cocción.

En la Figura III.9 A muestra las fracciones de albúminas y globulinas de la harina de trigo y de la mezcla con las harinas de soja al 40% de sustitución, obtenidas a partir de la extracción con *buffer* fosfato (pH 7,6). Todas las fracciones obtenidas con la mezcla de las harinas de soja presentaron más bandas que el perfil obtenido para la harina de trigo. Las mezclas con las harinas de soja IE e ID mostraron bandas a los ~21,5 kDa y entre los ~31,0 y ~66 kDa. Un perfil similar se encontró para la mezcla con la harina de soja AE, en tanto que para la mezcla con harina de soja AD, la mayoría de las bandas se ubicaron a partir de los 31,0 kDa en adelante.

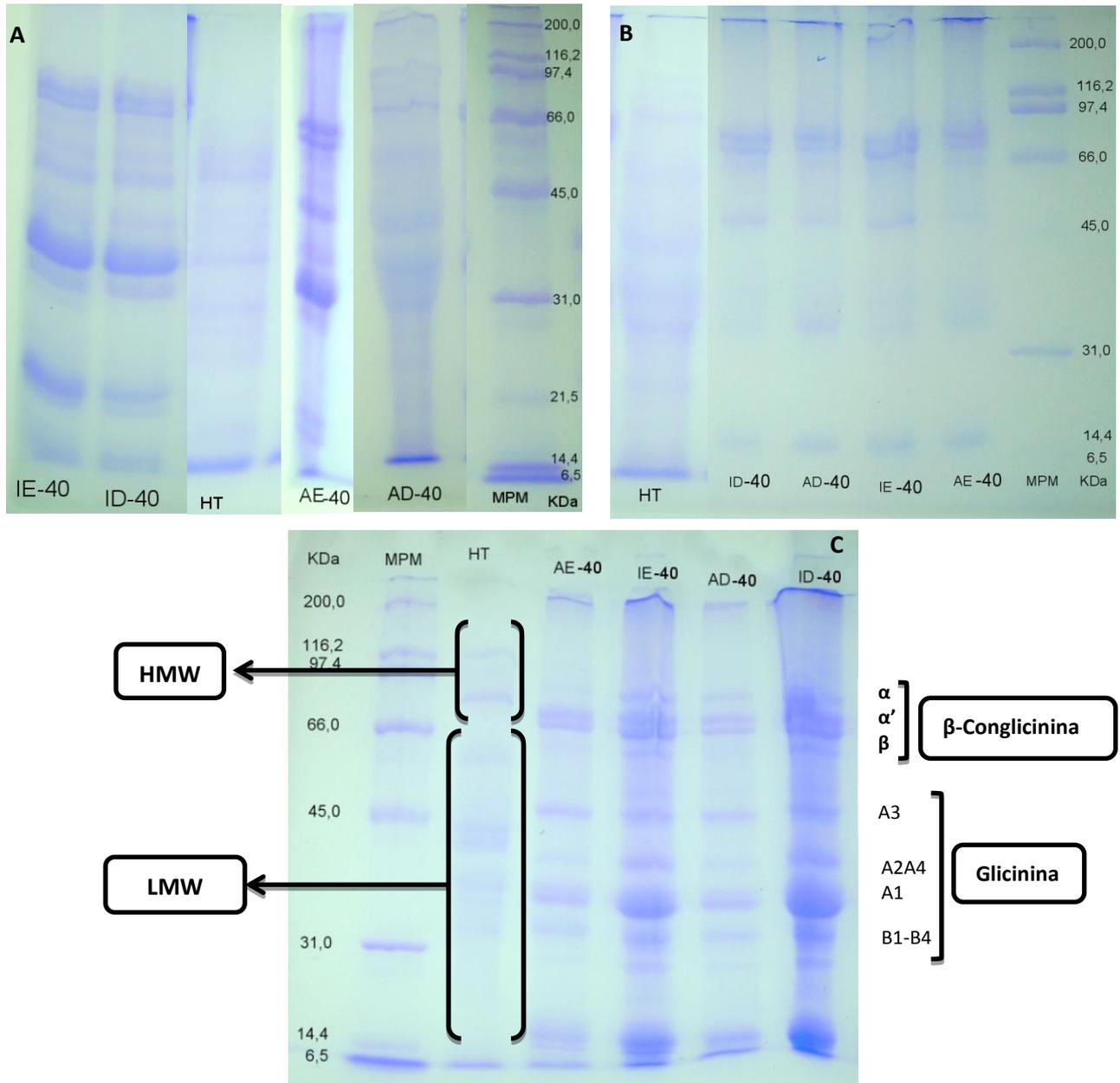


Figura III.9 Perfil electroforetico de las proteínas de la harina de trigo (HT) y de las mezclas con las harinas de soja al 40% de sustitución.

A: Fracción solubilizada por PB. B: Fracción solubilizada por PB+SDS. C: Fracción solubilizada por PB+SDS+BME. HT: harina de trigo, AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera, ID: harina de soja inactiva desgrasada. MPM: Marcador de peso molecular.

En la Figura III.9 B se observa el perfil electroforético obtenido para las extracciones PB + SDS. Las mezclas con las distintas harinas de soja a un nivel de sustitución del 40% mostraron perfiles similares, en general, para todas las muestras. La mayoría de las bandas se ubicaron entre los 45,0 y 97,4 kDa.

En cuanto a la harina de trigo, se encontraron bandas muy tenues en todo el carril.

En la Figura III.9 C se observa el perfil electroforético correspondiente a la extracción con PB+SDS+ β -mercaptoetanol. La mezcla con las harinas de soja activa, presentaron un perfil similar a las fracciones provenientes de las harinas de soja inactivas, IE e ID. Para todas las muestras con harina de soja, se encontraron bandas a los 14,4 kDa, entre los 31,0 y 45,0 kDa, correspondiente a las subunidades A_i y B_i de las glicininas. Además se observaron bandas entre los 66,0 y 97,4 kDa correspondientes a las subunidades de α , α' y β de las β - conglucininas. La muestra de harina de trigo presentó bandas entre los 31,0 y 66,0 kDa correspondientes a las subunidades de gluteninas y gliadinas de bajo peso molecular (LMW) y entre los 66,0 y 116,2 kDa correspondiente a las subunidades de alto peso moleculares (-HMW).

Según Mirojlob y col. (2005) los patrones de SDS de proteínas provenientes de la harina de soja contienen cinco bandas principales, tres de las cuales (49 kDa, 74 kDa y 81 kDa) fueron identificadas como subunidades de β -conglucininina, mientras que las otras dos (25,5 kDa y 36,3 kDa) se identificaron como subunidades de glicinina. Todas ellas pueden observarse en la Figura III.9-C.

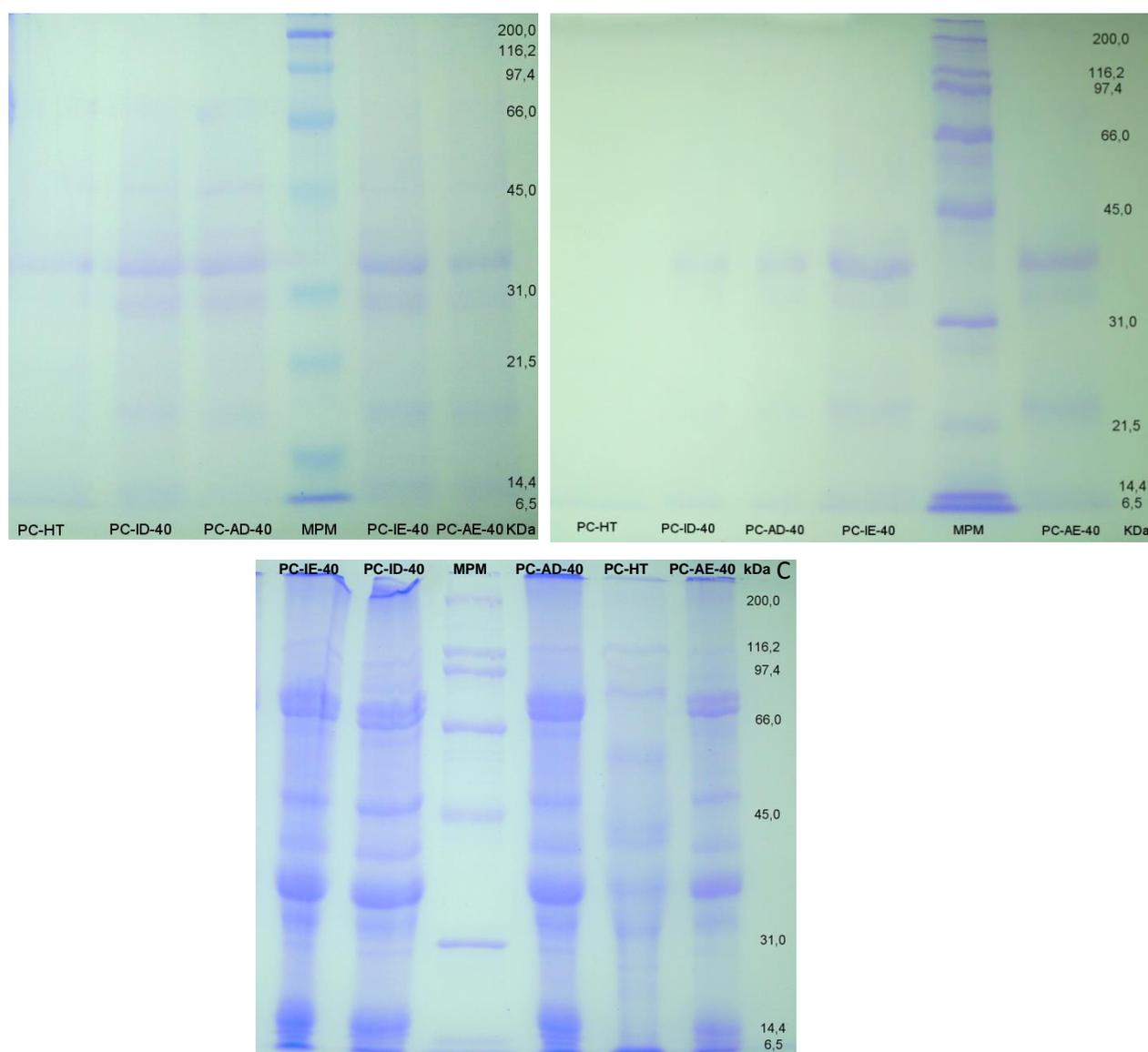


Figura III.10 Perfil electroforético de las proteínas provenientes de las pastas cocidas (PC).

A: Fracción solubilizada por PB. B: Fracción solubilizada por PB+SDS. C: Fracción solubilizada por PB+SDS+BME. HT: harina de trigo, AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera, ID: harina de soja inactiva desgrasada. MPM: Marcador de peso molecular

En el perfil electroforético observado en las figura III.10 que corresponde a las extracciones secuenciales a partir de las pastas cocidas. Los gels A (proteínas solubles en PB) y B (proteínas solubles en PB+SDS), mostraron una cantidad considerablemente menor de bandas en comparación a las observadas en las Figuras III.9 A y B. En cuanto al perfil electroforético de la

pasta cocida elaborada con harina de trigo, se encontró sólo una banda entre la región de los 31,0 a 45,0 KDa observado en la Figura III.10 A.

El perfil correspondiente a la fracción de proteínas extraídas con PB+SDS+BME a partir de las pastas cocidas (Figura III.10 C), mostró bandas correspondientes a las subunidades de peso molecular entre los 31,0 kDa y 66,0 kDa equivalentes a las LMW del trigo y la fracción glicinina de las proteínas de soja. También se identificaron bandas entre los 66,0 kDa y 97,4 kDa correspondientes a las subunidades de HMW y β -conglucina, la presencia de estas bandas sugiere que estas proteínas están comprometidas indicando que en la matriz proteica existe una interacción con las proteínas de soja, lo que limitó su difusión al agua de cocción; puesto que no se observan estas bandas en el perfil electroforético de las aguas de cocción.

Según Nikolic y Lazic (2011) y Ribotta y col. (2005), las proteínas de soja se asocian a las proteínas de trigo a través de una interacción física, covalente y no covalente, durante la mezcla y el descanso de la masa, lo que genera polímeros medianos y grandes.

El proceso de formación de la masa y cocción de las pastas disminuyó la solubilidad de las proteínas de soja y trigo en las soluciones de PB y PB+SDS, como puede observarse en el menor número de bandas de proteínas y en el menor grado de tinción de los geles obtenidos de las mezclas de las harinas y las pastas cocidas. El efecto contrario se observó en la fracción extraída con PB+SDS+BME donde el número y tipo de banda y el grado de tinción son similares. Estos resultados indican que los procesos de formación y cocción de las pastas redujo la solubilidad de las proteínas principalmente por formación de interacciones covalentes, puentes disulfuro entre los polipéptidos.

Además, se analizó el perfil electroforético de las proteínas recuperadas de las aguas de cocción (Figura III.11).

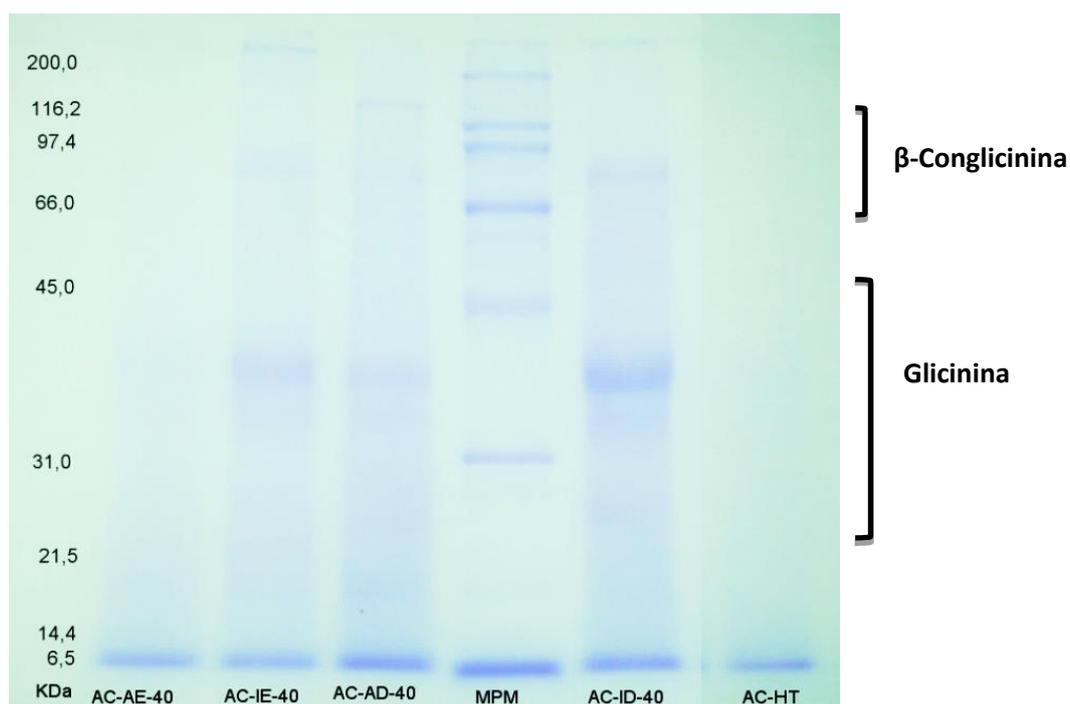


Figura III.11 Perfil electroforético de las proteínas recuperadas del agua de cocción (AC) de las pastas.

AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera, AC-ID: harina de soja inactiva desgrasada. HT: harina de trigo. 40: nivel de sustitución. MPM: Marcador de peso molecular.

En las aguas provenientes de la cocción de las pastas elaboradas con IE, ID, AE y AD sólo se encontraron bandas con pesos moleculares entre los 31,0 a 45,0 KDa, lo que sugiere la presencia gluteninas y gliadinas de bajo peso molecular y de polímeros de glicinina. También se observaron bandas entre los 66,0 y 97 kDa, posiblemente correspondientes a la fracción de β -conglycinina. Asimismo, en el carril del agua de cocción de la pasta elaborada solo con harina de trigo, no se observó ninguna banda.

La presencia de bandas correspondientes a las subunidades de HMW, LMW, glicinina y β -conglycinina en los perfiles de las fracciones extraídas con PB+SDS+BME a partir de las pastas cocidas y la ausencia de bandas correspondientes a subunidades de HWM y β -conglycinina en las aguas de cocción sugiere que las proteínas de mayor peso molecular están más comprometidas en la matriz proteica de las pastas que las proteínas de menor peso molecular (entre 45 y 31 kDa). La presencia de bandas en las aguas de cocción de muestras elaboradas con harina de soja induce a considerar una lixiviación predominante de estas proteínas al agua de cocción, como

consecuencia de una estructura debilitada de las pastas elaboradas con dichas harinas. Estos resultados son concordantes con los residuos de cocción elevados encontrados en estas muestras (Sección uno /capítulo III) mostrados anteriormente

La interacción de las proteínas de trigo y soja limita la difusión de las proteínas de soja al agua de cocción.

3.4.2 EVALUACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA DE MASAS Y PASTAS COCIDAS

La microscopía confocal de barrido nos permitió observar la microestructura de las masas y de las pastas cocidas elaboradas con las diferentes harinas de soja. El propósito de realizar este ensayo fue observar las proteínas, el almidón y la posible interacción entre ambos en la masa y en las pastas cocidas. Las observaciones se realizaron en masas y pastas cocidas a los niveles de sustitución de 15 y 40% p/p. Como consecuencia de los colorantes utilizados, las proteínas resultaron de rojo al ser teñidas con Rhodamina B, mientras que el almidón quedó teñido de color verde con el colorante Fluoresceína de Sodio.

En las muestras elaboradas con harina de soja se observó menor presencia de gránulos de almidón que en la muestra control HT (Figura III.12), esto es entendible debido al efecto de dilución dado por el porcentaje de sustitución con las harinas de soja; de igual manera se pudo observar que los gránulos de almidón se encontraban en su forma nativa. En cuanto a la red proteica que rodea el almidón, se encontró que todas las muestras con harina de soja presentaron una discontinuidad de la red. El estado nativo de las proteínas de soja posiblemente facilitó la interacción con las proteínas del trigo, disminuyendo el deterioro de la estructura general de las pastas, contrarrestando en cierto modo la incorporación de una harina carente de gluten como lo es la de soja.

El desgrasado de las harinas tanto activa como inactiva provocó una estructura proteica más aún más débil al encontrarse espacios vacíos entre la red proteica y el almidón. Además, en las muestras con harina inactiva los

gránulos de almidón se encontraron más libres que en las muestras con harina activa.

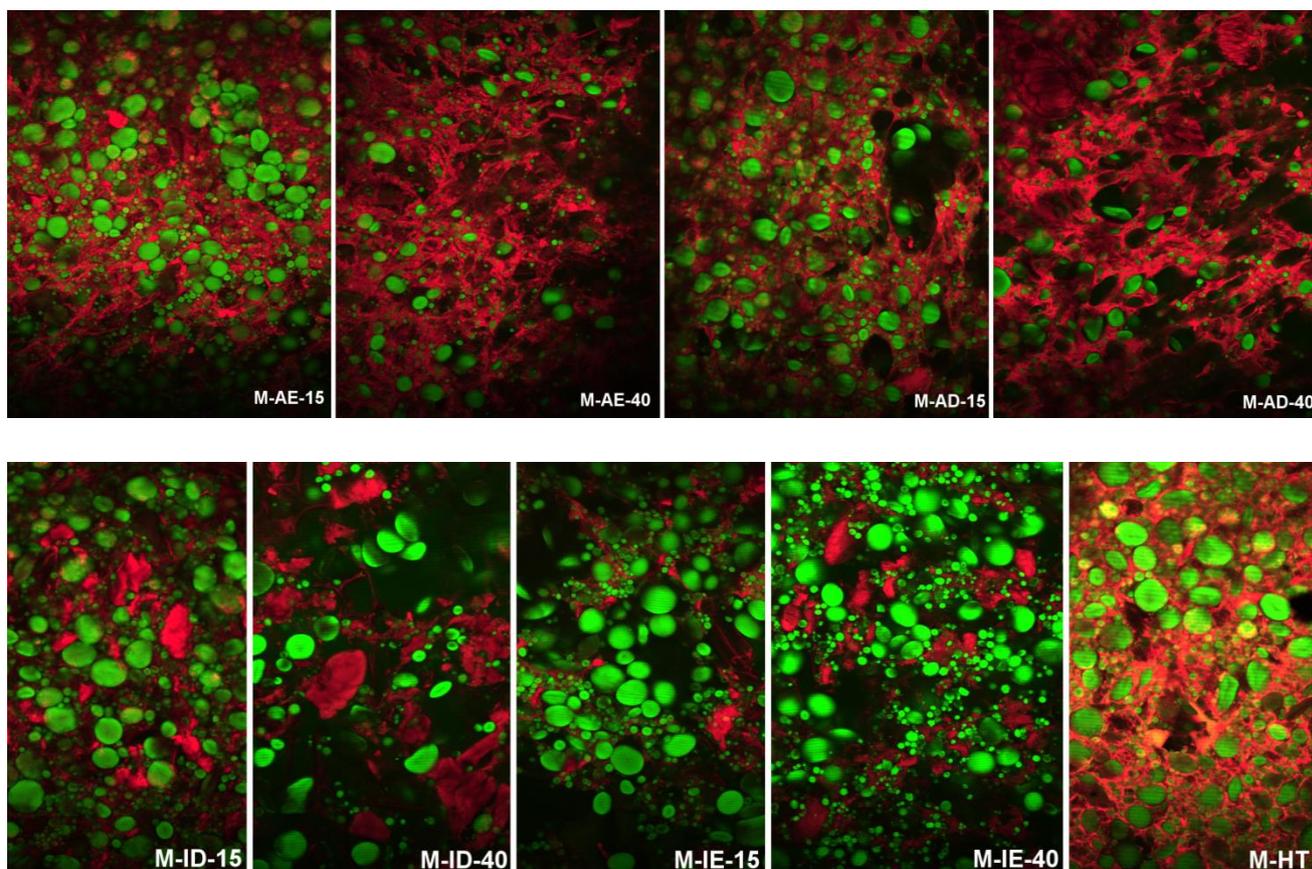


Figura III.12 Microscopia de masas (M).

HT: Harina de trigo, AE: Harina de soja activa entera, AD: Harina de soja activa desgrasada, IE: Harina de soja inactiva entera, ID: Harina de soja inactiva desgrasada. 15 y 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas.

Al evaluar las pastas cocidas (Figura III.13), se observó una deformidad de los gránulos de almidón provocada por el proceso de gelatinización sufrido por éstos. En las pastas con soja los gránulos de almidón se encontraban totalmente libres y gelatinizados. La red de proteínas de las pastas cocidas con soja resultó más débil, presentando una mayor discontinuidad.

En las muestras con harinas de soja sustituidas al 15% se encontró una red de proteínas más continua que protegió en mayor medida a los gránulos de almidón, a diferencia de las muestras con harinas de soja al 40% en donde el almidón estaba totalmente gelatinizado y la red proteica discontinua.

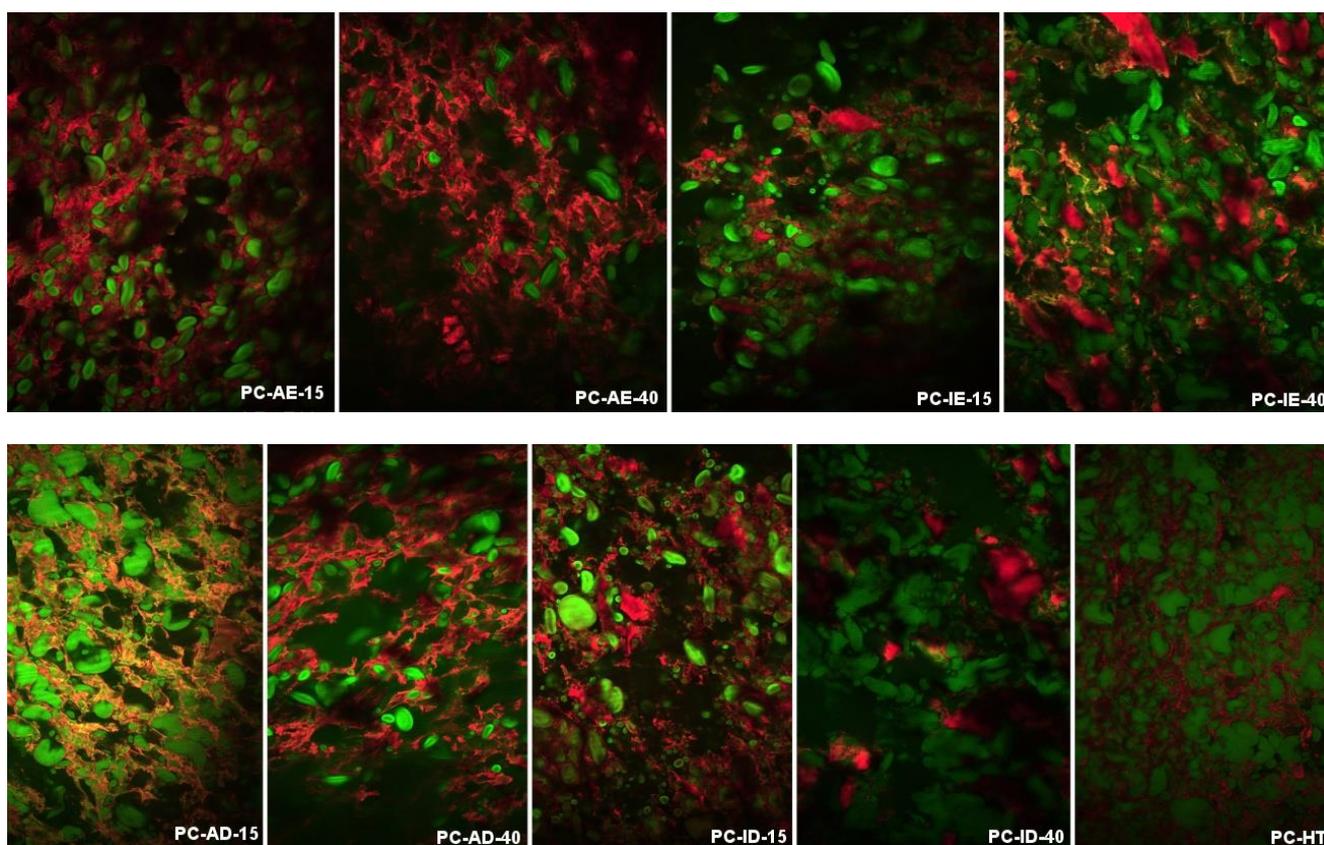


Figura III.13 Microscopia de pastas cocidas (PC).

HT: Harina de trigo, AE: Harina de soja activa entera, AD: Harina de soja activa desgrasada, IE: Harina de soja inactiva entera, ID: Harina de soja inactiva desgrasada. 15 y 40 g harina de soja/100 g mezcla de las harinas.

Definitivamente la adición de proteínas de soja afectó la estructura de las pastas. Lorimer y col. (1991) notaron que la adición de proteínas que no forman el gluten (por ejemplo, proteínas de leguminosas) provoca un efecto de dilución y un consecuente debilitamiento de la masa de trigo. Ammar y col. (2011) sugirieron varios factores responsables del debilitamiento, tales como; la competencia entre las proteínas de las leguminosas y el gluten por moléculas de agua, la alteración de los complejos proteína-almidón por las proteínas extrañas y alteración del intercambio S-S por las proteínas que no forman el gluten.

A partir de las imágenes obtenidas, se pudo observar que la estructura de las masas (Figura III. 12) y de las pastas (Figura III.13) fue menos afectada al menor nivel de sustitución; respecto al encontrado en las muestras con mayores porcentajes de harina de soja.

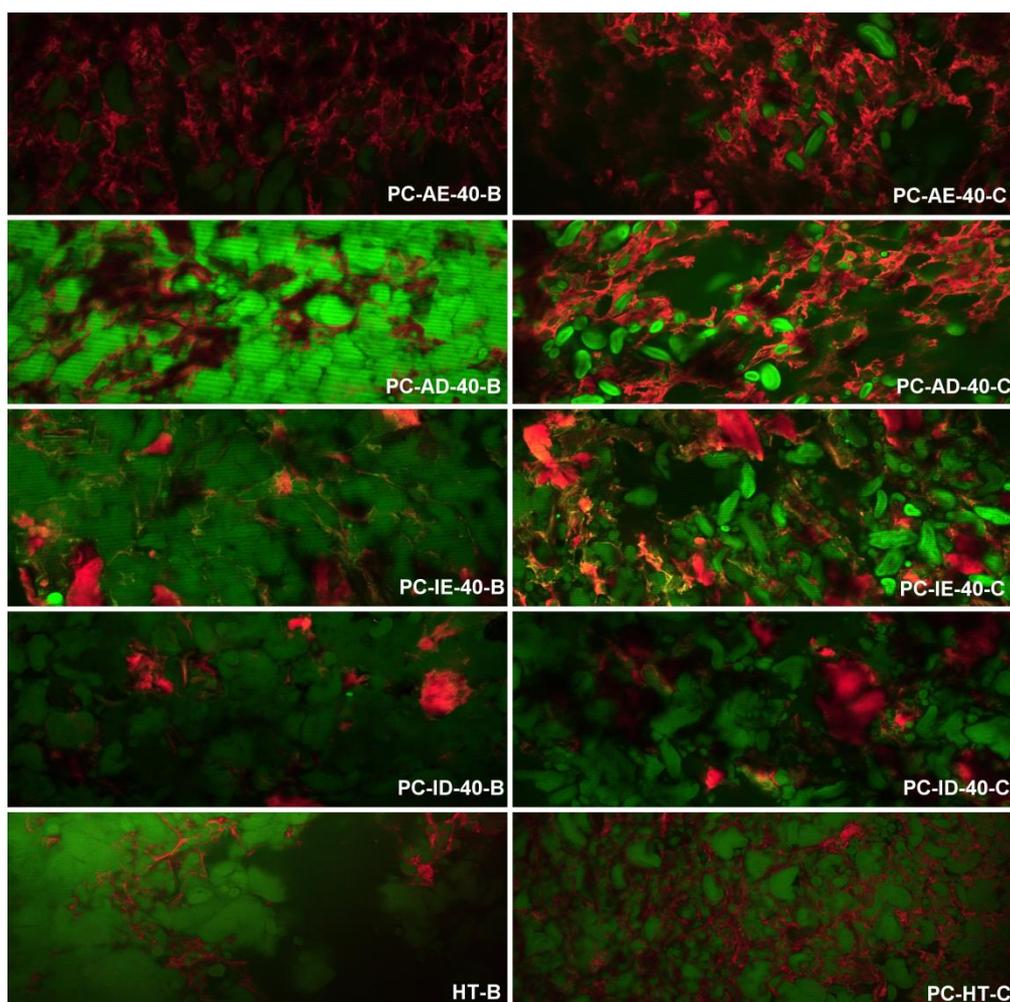


Figura III.14 Microscopia del centro y borde de pastas cocidas (PC)

HT: harina de trigo, AE: harina de soja activa entera, AD: harina de soja activa desgrasada, IE: harina de soja inactiva entera, ID: harina de soja inactiva desgrasada. 40 g harina/100 g mezcla de las harinas. B: Borde de las pasta cocida. C: Centro de la pasta cocida.

Adicionalmente, se obtuvieron imágenes del borde (Figura III.14-B) y del centro (Figura III.14-C) de las muestras cocidas, a fin de comparar el efecto de la difusión del agua durante la cocción y su relación con la estructura en las diferentes zonas de la pasta.

En todas las muestras el almidón presentó un alto grado de gelatinización en el borde de las pastas facilitado por mayor disposición para la interacción con el agua de cocción. Ante una estructura proteica debilitada, la contención de los gránulos de almidón resultó prácticamente nula, por lo que estos pudieron completar su gelatinización durante el proceso de cocción favoreciendo de ese modo la ruptura de la red de proteínas que los rodeaba.

En tanto que en el centro de las pastas cocidas se encontraron mayormente gránulos de almidón parcialmente gelatinizados e inmersos en la red de proteínas. La cocción de las pastas se da en forma radial, parte de los bordes hasta llegar al centro y la red proteica limita la difusión del agua de cocción hacia el centro. En función de cuan integra esté la red de proteínas, la difusión del agua durante la cocción será más limitada y por consiguiente la gelatinización del almidón será menor. De este modo, es esperable que la estructura en el centro de la pasta sufra menos modificaciones que en la superficie, ya que esta última está más expuesta al agua de cocción. Si bien la adición de harinas de soja provocó un debilitamiento de la estructura proteica, este efecto fue menos acentuado en las pastas cocidas con soja inactiva desgrasada.

Según Fardet y col. (1998a), en la región externa, las finas fibrillas de la red de proteínas son separadas por grandes zonas verdes; debido a que las fibrillas de proteína forman una estructura más gruesa en la zona central y existe menor acceso al agua. De igual manera Fardet (1998-b), observo que en el borde exterior el almidón y la matriz proteica que rodea parecían interactuar estrechamente, que los gránulos de almidón ya eran visibles en el borde externo por haber perdido su forma y que hacia el centro de los espaguetis, los gránulos de almidón estaban parcialmente gelatinizados.

Petitot y col. (2009); Sung y Stone (2005) revelaron que la fracción de almidón en el borde, presenta una pérdida completa de la birrefringencia cuando la pasta se cocina con el tiempo de cocción óptima.

A partir de los ensayos realizados se encontró que las proteínas de soja presentaron una cierta interacción con las proteínas de trigo, hecho que se evidencio en las electroforesis de pastas cocidas al observar la presencia de proteínas de soja indicándonos menor solubilización de las proteínas de alto peso molecular. Además se observó que el agregado de harina de soja generó un debilitamiento de la estructura de la red proteica, liberando proteínas al agua de cocción. La estructura de las masas de las pastas y de las pastas cocidas se vio menos afectada con la incorporación de harina de soja al 15% de sustitución, lo que se manifestó con la presencia de una red más continua

rodeando los gránulos de almidón que presentan menor hinchamiento de los gránulos.

IV CONCLUSIONES

El uso de harina de soja para complementar a la harina de trigo favorece el perfil de aminoácidos esenciales debido a que las proteínas de trigo aportan cisteína, pero son deficientes en lisina. Al combinarse éstas con harina de soja, rica en lisina, generan un producto de mayor valor biológico. Al mismo tiempo, los derivados de soja están ganando importancia, no sólo como alimentos nutritivos, sino también como fuente de fitoquímicos y nutracéuticos, los que se relacionan con la menor prevalencia de enfermedades coronarias, y osteoporosis, entre otras. Es de tal importancia el consumo de soja, que en el año 1999 la FDA autorizó una alegación de salud (*health claim*) para la rotulación de alimentos que contengan proteína de soja dado el rol de esta proteína en la reducción del riesgo de enfermedades coronarias. Sin embargo la sustitución de harina de trigo pan por harina de soja causa un efecto sobre los principales componentes (proteínas y almidón) de la estructura de las pastas.

En este trabajo se evaluó el efecto de los diferentes niveles de sustitución de harina de trigo pan por harina de soja activa entera y desgrasada e inactiva entera y desgrasada sobre las diferentes propiedades de la estructura de las pastas, haciendo hincapié en el comportamiento del almidón y de las proteínas. El desarrollo de las actividades propuestas permitió obtener las siguientes conclusiones:

- Los efectos causados debido a la sustitución de harina de trigo pan por las diferentes harinas de soja afectó los parámetros de calidad de las pastas. Se observó un detrimento de la calidad tecnológica de las pastas conforme se aumentó el nivel de sustitución. De igual manera la textura de las pastas secas, medida en términos de fracturabilidad, se vio modificada, encontrándose menores valores de resistencia a la fractura que la muestra control.

Si bien se observó un detrimento de la calidad de las pastas con la incorporación de harinas de soja, se encontraron valores aceptables en cuanto a parámetros de calidad se refiere, en pastas elaboradas con soja activa tanto entera como desgrasada al 15% de sustitución.

- La incorporación de harina de soja cambió el comportamiento de las pastas durante la cocción y la sobre cocción, observándose una menor tolerancia de las pastas elaboradas con diferentes harinas de soja en comparación con las muestras de trigo. En este sentido, a valores crecientes de sustitución, se obtuvieron menores valores de viscosidad durante el proceso de *pasting*, atribuible a la dilución progresiva del almidón. Sin embargo, la muestra elaborada con harina de soja desgrasada inactiva al 15% de sustitución mostró valores cercanos al control.
- El efecto de la incorporación de derivados de soja sobre el perfil de viscoelasticidad de las masas cambió con el tipo de harina utilizada en su elaboración; observándose un aumento de las características elásticas y viscosas en los sistemas donde se utilizó soja desgrasada ya sea inactiva o activa. El análisis de los resultados sugiere que la ausencia de grasa redujo el efecto lubricante en la matriz y al mismo tiempo, facilitó la interacción de las proteínas de soja y los gránulos de almidón generando así mayores valores de las propiedades mencionadas.
- La evaluación realizada sobre el comportamiento de las proteínas mediante SDS-PAGE mostró que durante el proceso de formación de las masas y cocción de las pastas, las proteínas de soja y de trigo interaccionaron mediante enlaces no covalente y covalentes (puentes disulfuro). Los resultados sugieren un mayor compromiso de las proteínas de alto peso molecular en la matriz proteica en comparación con las de bajo peso molecular, quienes mostraron una mayor lixiviación como consecuencia de una estructura de las pastas menos compacta. . La observación de la microestructura de las masas y pastas cocidas mediante CLSM, mostró una pérdida de la organización en la estructura de las pastas elaboradas con las diferentes harinas de soja. Sin embargo las muestras con harinas de soja al 15% de sustitución presentaron un menor grado de hinchamiento de los gránulos de almidón y una red proteica más continua.

A pesar de que la incorporación de soja afectó la estructura y la calidad de las pastas resultantes, la sustitución hasta un 15 % mostraron parámetros de calidad cercanos a la muestra control. Particularmente, las pastas elaboradas con soja activa desgrasada al 15% presentaron las mejores cualidades en cuanto a la calidad tecnológica y a las propiedades estructurales.

V BIBLIOGRAFÍA

AACC. American Association of Cereal Chemistry. 1995. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 9th Ed., American Association of Cereal Chemists, St. Paul. MN. USA.

ADACHI, M.; KANAMORI, J.; MASUDA, T.; YAGASAKI, K.; KITAMURA, K.; MIKAMI, B. y UTSUMI, S. "Crystal structure of soybean 11S globulin: Glycinin A3B4 homohexamer". *Plant Biology*. 2003, vol. 100, núm. 12, p. 7395–7400.

AMMAR, A.; SALEM, S. y BADR, F. "Rheological Properties OF Wheat Flour Dough as Affected by Addition of Whey and Soy Proteins". *Pakistan Journal of Nutrition*. 2011, vol. 10, núm. 4, p. 302-306.

AÑON, M.; PUPPO, M.; PEDROZA-ISLAS, R.; BONASTRE, O. y VILLAGOMEZ-ZAVALA, D. "Valor nutricional y saludable de materias primas para la elaboración de productos de panificación". En: LEON, A. y LUTZ, M. Aspectos nutricionales y saludables de los productos de panificación. Chile: Universidad de Valparaíso, 2009. p. 71-119.

ANSARI, A.; KALBASI-ASHTARI, A. y GERAMI, A. "Effects of Defatted Soy Flour, Xanthan Gum, and Processing Temperatures on Quality Criteria of Spaghetti". *Journal Agro Science Technology*. 2013, vol 15, p. 265-278.

AOAC International. Official Methods of Analysis of AOAC International 1998. 16th edition, 4th revision. Vol II. Maryland. USA.

ARENDRT, E. y ZANNINI, E. "Capítulo 1: Wheat and other Triticum grains". En: ARENDRT, E. y ZANNINI, E. Cereal grains for the food and beverage industries. Woodhead Publishing Limited. 2013, p. 1-57.

BADUI, S. "Soya". En: BADUI, S. Química de los Alimentos. México. Pearson Educación. Cuarta Edición. 2006, p. 633-650.

BOX, M. "Cultivos Agrícolas". En: Prontuario de Agricultura. Mundi Prensa. 2005, p. 3-229.

CAA, Código Alimentario Argentino, Ley 18.284 18/07/69, Decreto 2126/71-Reglamentario de la Ley 18.284. 2009/10a. Alimentos Farináceos-Cereales, Harinas y Derivados. Capítulo IX. [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa/CAPITULO IX Harinas actualiz_06-03.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa/CAPITULO_IX_Harinas_actualiz_06-03.pdf) <http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa>, consultado en abril 2014.

CALVELO, A. "Material del Curso Tecnología de elaboración de pastas secas". Universidad Nacional de la Plata. Maestría en Tecnología de los Alimentos. 2008.

CAUVAIN, S. y YOUNG, L. "Baked Products". En: CAUVAIN, S. y YOUNG, L. BAKED PRODUCTS: Science, Technology and Practice. UK. Blackwell Publishing Ltda.: 2006, Primera Edición, p. 72-98.

CHIECH, C. "Water". En: HUI, Y.H. BAKERY PRODUCTS: Science and Technology. USA. Blackwell Publishing. 2006, Primera Edición, p. 211-232.

CORNELL, H. "The functionality of wheat starch". En: ELIASSON, Ann-Charlotte. STARCH IN FOOD: Structure, function and applications. England: Woodhead Publishing Limited, 2004.

COSTAS G, B. "Structural Transitions and Related Physical Properties of Starch". En: BeMILLER, James y WHISTLER, Roy. STARCH: Chemistry and Technology. Tercera Edición. USA: Food Science and Technology, International Series, 2009, p. 293-372.

CUNIBERTI, M.; HERRERO, R. y BAIGORRI, H. "El cultivo de soja en la Argentina". En: ILSI Argentina: serie de informes especiales. Soja y Nutrición. Buenos Aires. Publitec. 2004, vol 1, p. 6-8.

DAPCEVIC, T.; POJIC, M.; HADNADEV, M. y TORBICA A. "The Role of Empirical Rheology in Flour Quality Control". En: AKYAR, Isin. Wide Spectra of Quality Control. InTech. 2011, p. 335-360.

DEVI, K. y HARIPRIYA, S. "Pasting behaviors of starch and protein in soy flour-enriched composite flours on quality of biscuits". Journal of Food Processing and Preservation. 2012, p.1-9.

DICK, J. y YOUNGS, V. "Evaluation of durum wheat, semolina and pasta in the United States. En: FABRIANI, G. y LINTAS, C. Durum Wheat Chemistry and Technology. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. 1988, p.237-248.

DIXIT, A.; ANTONY, J.; SHARMA, N. y TIWARI, R. "Soybean constituents and their functional benefits". En: TIWARI, V. Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry. India. Research Signpost.2011, p. 367-383.

DÜRRENBERGER, M.; HANDSCHIN, S.; CONDE-PETIT, B. y ESCHER, F. "Visualization of Food Structure by confocal laser Scanning Microscopy (CLSM)". LWT – Food Science and Technology. 2001, vol. 34 N^o1, pg. 11-17.

ENDRES, J. "Functionality of Soy proteins". En: ENDRES, J. Soy protein products characteristics, nutritional aspects, and utilization. AOCS Press, Champaign, Illinois, USA. 2001a. p. 16-30.

ENDRES, J. "Uses in Food Systems". En: ENDRES, J. Soy protein products characteristics, nutritional aspects, and utilization. AOCS Press, Champaign, Illinois, USA. 2001b. p. 31-40.

FARDET, A; BALDWIN, P.; BERTRAND, D.; BOUCHET, B.; GALLANT, D. y BARRY, J. "Textural Images Analysis of Pasta Protein Networks to Determine Influence of Technological Processes". Cereal Chem. 1998-a, vol 75, núm. 5, p. 699-704.

FARDET, A; HOEBLER, C; BALDWIN, P.; GALLANT, D. y BARRY, J. "Involvement of the Protein Network in the in vitro Degradation of Starch from Spaghetti and Lasagne: a Microscopic and Enzymic Study". Journal of Cereal Science. 1998-b, vol 27, p. 133-145.

FU, B. "Asian noodles: History, classification, raw materials, and processing". ScienceDirect. 2008, 41, p. 888-902.

FUKUSHIMA, B. "Soy proteins". En: YADA, R. Proteins in food processing. England. Woodhead Publishing Limited. 2004, primera edición.

GAMEL, T.; ABDAL-AAL, E.; WOOD, P.; AMES, N. y TOSH, S. "Application of the Rapid Visco Analyzer (RVA) as an Effective Rheological Tool for Measurement of β -Glucan Viscosity". Cereal Chemistry. 2012, vol 89, núm 1, p. 52-58.

GONZALES, E.; SEGURA, E.; MAGAÑA-BARAJAS, E.; TORREZ-CHAVEZ, P.; MANTHEY, F. y RAMIREZ-WONG, B. "Characterization of the Dynamic Viscoelastic Behavior of Semolina Dough Obtained from Mexican Durum Wheat Cultivars". Advanced Chemical Engineering Research. 2014, vol. 3, p. 58-63.

GRANITO, M.; TORRES, A. y GUERRA, M. "Desarrollo y evaluación de una pasta a base de trigo, maíz, yuca y frijol". Ciencia y Tecnología de América. 2003, vol 28, núm 007, p. 372-379.

GUERRIERI, N. "Cereal proteins". En: YADA, R. Y. Proteins in food processing. England. Woodhead Publishing Limited. 2004, primera edición.

HATCHER, W. "Asian noodle processing". E: OWENS, Gavin. Cereals Processing Technology. England. Woodhead Publishing Limited. Primera Edición. 2001, p. 131-154.

HE, F. y CHEN, J. "Consumption of soybean, soy food, soy isoblavones and breast cancer incidence: Differences between Chinese women and women in Western countries and possible mechanisms". Food Science and Human Wellness. 2013, vol 2, p. 146-161.

JHONSTON, K. "Pasta Mixing and Extrusion- Introduction and background". En: KILL, R. C. y TURNBULL, K. Pasta and Semolina Technology. Primer Edición. London. Blackwell Science Ltd. 2001. p. 86 -90.

JIDEANI, V. "Functional Properties of Soybean Food Ingredients in Food Systems". En: TZY, BU, Ng. Soybean Biochemistry and Phisiology. Croacia: Intech, 2011, p. 345-366.

KILL, R. "Introduction". En: KILL, R. C. y TURNBULL, K. Pasta and Semolina Technology. Primer Edición. London. Blackwell Science Ltd. 2001, p. 1-10.

KILL, R. y TURNBULL, K. "Basic Semolina requirements". En: KILL, R. y TURNBULL, K. Pasta and Semolina Technology. Primer Edición. London. Blackwell Science Ltd. 2001, p. 43-45.

KIM, E.; PETRIE, J.; MOTOI, L.; MORGENSTERN, M.; SUTTON, K.; MISHRA, S. y SIMMONS, L. Food Biophysics. 2008, vol 3, p. 229-234.

KIM, M.; FREUND, W. y POPPER, L. "Asian Wheat Noodles". En: POPPER, L.. Future of Flour: A Compendium of Flour Improvement. AgriMedia. 2006, p. 330-353.

LEZCANO, E. "Pastas Alimenticias". Cadenas Alimentaria. Alimentos Argentinos. 2009, vol 46, p. 20-28.

LEZCANO, E. "Pastas Alimenticias". Cadenas Alimentarias. Alimentos Argentino. 2012, vol 56, p. 41-55.

LOMONTE, V. y ROJAS, G. "Manual de laboratorio de inmunología general". Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 1996, p. 92-101.

LORIMER, L.; ZABIK, M.; HARTE, J.; STACHIW, N. y UEBERSAX, M. "Effect of Navy Bean Protein Flour and Navy Bean Globulin (s) on Composite Flour Rheology, Chemical Bonding, and Microstructure". Cereal Chemistry. 1991, vol. 68, núm. 3, p. 213-220.

LUKOW, O. "Wheat Flour Classification". En: HUI, Y.H. BAKERY PRODUCTS: Science and Technology. USA. Blackwell Publishing. 2006, Primera Edición, p. 69-86.

MANINGAT, C.; SEIB, P.; BASSI, S.; WOO, K. y LASATER, G. "Wheat Starch: Production, Properties, Modification and Uses". En: BeMILLER, J.y

WHISTLER, R. STARCH: Chemistry and Technology. Tercera Edición. USA: Food Science and Technology, International Series, 2009, p. 442-491.

MARCHYLO, B. y DEXTER, J. "Pasta Production". En: OWENS, Gavin. Cereals Processing Technology. England. Woodhead Publishing Limited. Primera Edición. 2001, p. 109-127.

MIROJLUB, B.; BARAC, S. y SNEZANA, J. "Characterization Of Alkali-Modified Soy Protein Concentrate". Acta periodica technologica . 2005, vol. 36, p. 11-21.

MOURE, A.; SINEIRO; DOMÍNGUEZ, H. y PARAJO, J. "Functionality of oilseed proteína products: A review". Food Research International. 2006, vol 39, núm. 9, p. 945-963.

NAWAB, A. "Soybean Processing and Utilization". En: SINGH, Guariqbal. The Soybean Botany, Production and Uses. UK: AMA DataSet Ltda, 2010. p. 345-374.

Newport Scientific. RVA-4 Operation Manual. 1995.

NIKOLIC, N. y LAZIC, M. "The Main Components Content, Rheology Properties and Lipid Profile of Wheat-Soybean Flour". En: KREZHOVA, Dora. Recent Trends for Enhancing the Diversity and Quality of Soybean Products. 2011, p. 81-94.

OLKKU, J. y CHOKYUN, R. "Gelatinisation of starch and wheat flour starch-A review". Food Chemistry. 1978, vol. 3, núm. 4, p. 293-317.

OSBORNE, T. "The proteins of the wheat kernel". Carnegie Institute of Washington. 1907, núm. 84, p. 119.

OTEGBAYO, B.; SAMUEL, F. y ALALADE, T. "Functional properties of soy-enriched tapioca". African Journal of Biotechnology. 2013, vol. 12, núm. 22, p. 3583-3589.

PALLARES, M.; LEÓN, A. y ROSELL, C. "Trigo". En: LEON, A. y ROSELL, C. De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. Córdoba: Hugo Baéz; 2007. p. 18-71.

PARCHMENT, O; SHEWRY, P.; TATHAM, A. y OSGUTHORPE, D. "Molecular Modeling of Unusual Spiral Structure in Elastomeric Wheat Seed Protein". Cereal Chemistry. 2001, vol. 78, núm. 6, p. 658-662.

PERIC, V.; SREBRIC, M.; JANKULOSKI, L.; JANKULOSKA, M., ŽILIC, S.; KANDIC, V. y DRINIC-MLADENOVIC, S. "The effects of nitrogen on protein and trypsin inhibitor content of soybean". Genetika. 2009, vol. 41, núm. 2, p. 137-143.

PERTEN INSTRUMENTS. "Rapid Visco Analyzer Aplicaciones & Method: Measure Performance of Ingredients and Finished Products". p, 1-6.

PETITOT, M.; ABECASSIS, J. y MICARD, V. "Structuring of pasta components during processing: impact on starch and protein digestibility and allergenicity". Trends in Food Science & Technology. 2009, vol. 20, p. 521-532.

PUPPO, M.; AROCHA, M.; PEREZ, G.; RIBOTTA, P. y AÑON, M. "Soja". En: LEON, A.; ROSELL, C. De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. Córdoba: Hugo Baéz; 2007. p. 321-361.

PYLER, E. "Baking Science and Technology". Sosland Publishing. Kansas City, M.O.

QUESTER, S.; DAHESH, M y STREY, R. "Microcellular foams made from gliadin". Colloid Polym Sci. 2014, vol. 292, p. 2385–2389.

RASHEED, F.; NEWSON, W.; PLIVELIC, T.; KUKTAITE, R.; HEDENQVIST, M.; GALLSTEDTD, M. y JOHANSSONA, E. "Structural architecture and solubility of native and modified gliadin and glutenin proteins: non-crystalline molecular and atomic organization". Royal Society of Chemistry. 2014, núm. 4, p. 2051-2060

REKEMA, J. "Introduction". En: REKEMA, J. Formation, structure and rheological properties of soy protein gels. Ph. D. thesis, Wageningen University, The Netherlands. 2001, p. 1-11.

RIBOTTA, P.; LEON, A.; PEREZ, G.; AÑON, M. "Electrophoresis studies for determining wheat-soy protein interactions in dough and bread". *Eur Food Res Technol.* 2005, núm. 221, p. 48-53.

RIDNER, E. "Valor Nutricional de la Soja". En: RIDNER, E. Soja propiedades nutricionales y su impacto en la salud. Buenos Aires. Primera Edición. Grupo. QSA.: Sociedad Argentina de Nutrición. 2006, p. 8-35.

RINCON, J.; HUCK, C. y HERRERA, M. "Applications of Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) in Foods". En: LAGALI, Neil. Confocal Laser Microscopy – Principles and Applications in Medicines, Biology, and the Food Sciences. Croacia. In Tech. 2013, p. 203-234.

RIZWAN, A.; SHEHZAD, A.; HUSSAIN, S.; ASIM, M.; RAFIQ, M. y SHOAI, M. "A comprehensive review on wheat flour dough rheology". *Pakistan Journal of Food Sciences.* 2013, vol. 23, núm. 2, p. 105-123.

RODRIGUEZ, E.; FERNANDEZ, A. y AYALA, A. "Reología y textura de masas: aplicaciones en trigo y maíz". *Ingeniería e Investigación.* 2005, vol 25, núm 1, p. 72-78.

SALUNKHE, D.; CHAVAN, J.; ADSALE, R. y KADAM, S. "Soybean". En: SALUNKHE, D.; CHAVAN, J.; ADSALE, R. y KADAM, S. *World Oilseeds, Chemistry, technology and utilization.* New York. AVI Publishers. 1992, p. 9-48.

SASAKI, T.; YASUI, T. y KOHYAMA, K. "Influence of Starch and Gluten Characteristics on Rheological Properties of Wheat Flour Gel at Small and Large Deformation". *Cereal Chem.* 2008, vol 85, núm. 3, p. 329-334.

SHEWRY, P.; HALFORD, N.; BELTON, P. y TATHAM, A. "The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain". *Philos Trans R. Soc Lond B Biol Sci.* 2002, vol. 357, num. 1418, p. 133-142.

SINGH, P.; KUMAR, R.; SABAPATHY, S. y BAWA, A. "Functional and Edible Uses of Soy Protein Products". *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2008, vol. 7, p. 14-28.

SISSONS, M. "Role of Durum Wheat Composition on the Quality of Pasta and Bread". *Food. Global Science Books*. 2008, vol. 2, núm. 2, p. 75-90.

STAUFFER, C. *Beneficial soy, Baking Snack*. 2004, p. 26-51.

STEVENSON, D.; JANE, J. y INGLETT, G. "Structure and physicochemical properties of starch from immature seeds of soybean varieties (*Glycine max* (L.) Merr.) exhibiting normal, low-linolenic or low-saturated fatty acid oil profiles at maturity". *Science Direct*. 2007, vol. 70, p. 149-159.

SUNG, W. y STONE, M. "Characterization of various wheat starch in pasta development". *Journal of Marine Science and Technology*. 2003, vol. 11, núm. 2, p. 61-69.

SUNG, W. y STONE, M. "Microstructural studies of pasta and starch pasta. *Journal of Marine Science and Technology*". 2005, vol.13, núm. 2, p. 83-88.

TUDORICA, C.; KURI, V. y BRENNAN, C. "Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, vol. 50, p. 347-356.

TWONBLY, W. y MANTHEY, F. "Soy in Pasta and Noodles". En: RIAZ, Mian N. *Soy Applications in Food.U.S.* CRC Press Taylor & Francis Group. 2006, p. 93 -111.

URGACIC-HARDI, Z.; JUKIC, M.; KOCEVA, D.; SABO, M. y HARDI J.M "Quality Parameters of Noodles MAde with Various Supplements". *Czech Journal Food Science*. 2007, vol. 25, num. 3, p. 151-157.

VERGNES, B.. "Rheological Properties of Biopolymers and Applications to Cereal Processing". En: KALENTUC, G.; BRESLAUER, K. *Characterization*

of Cereals and Flours: Properties, Analysis and Applications. Estados Unidos: Marcel Dekker, Inc. 2003, cap.7.

WHALEN, P. Use of the RVA in the Evaluation Pasta Processing. RVA world: Technical journal of Newport scientific. 2001, núm. 17, p. 1-4.

WILSON, L.; BIRMINGHAM, D.; MOON y SNYDER, H. "Isolation and characterization of starch from mature soybeans". Cereal Chemistry. 1978, vol. 55, núm. 5, p. 661-670.

WONG, D. "Proteínas". En: WONG, Dominic W. S. Química de los Alimentos: Mecanismos y teoría. Acribia, 1994. Capítulo 2.

WU, V.; HARELAND, G. y WARNER, K. "Protein-Enriched Spaghetti Fortified with Corn Gluten Meal". Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2001, vol. 49, núm. 8, p. 3906-3910.