

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales  
Doctorado en Ciencias de la Ingeniería

Tesis Doctoral



Utilización de chía (*Salvia hispánica* L.) en la formulación  
de productos tradicionales elaborados a base de harina  
de trigo

Autor: Mg. Ing. Carolina ARANIBAR VACA  
Director: Prof. Dr. Rafael BORNEO BENISTA

Marzo de 2020

# Utilización de chía (*Salvia hispánica* L.) en la formulación de productos tradicionales elaborados a base de harina de trigo

*por*

Mg. Ing. Carolina ARANIBAR VACA

Prof. Dr. Rafael BORNEO BENISTA

Director

COMISIÓN ASESORA:

Prof. Dr. Rafael BORNEO BENISTA

FCEFYN - UNC

Prof. Dra. Marcela Lilian MARTÍNEZ

FCEFYN - UNC

Prof. Dra. María Cecilia PENCI

FCEFYN - UNC

Esta Tesis fue enviada a la Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba para cumplimentar los requerimientos de obtención del grado académico de Doctor en Ciencias de la Ingeniería.

Córdoba, Argentina  
Marzo de 2020

A mis Padres, Delvi y Gonzalo

A mis hermanos, Daniela y Gonzalo

A mi compañero de vida, Miguel

A Leia

Por ser parte de mi vida y su apoyo incondicional

## Agradecimientos

El aprendizaje que me llevaron estos 5 años es una conjunción de todo lo vivido y atravesado en el lab. Pasaron cosas hermosas y no tan lindas, subidas y bajadas, pero gracias a utds (apoyo moral e intelectual) pude reponerme y cumplir con el objetivo final.

Gracias al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca otorgada y la que me permitió llevar a cabo este estudio.

Al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICYTAC) y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UNC por haberme permitido desarrollar mi trabajo en sus laboratorios.

Gracias a mi comisión evaluadora (Marce y Ceci) por haberme brindado su experiencia, apoyo, entusiasmo y seguimiento en estos 5 años de tesis, fueron claves durante todo el proceso.

Gracias a los miembros del tribunal de tesis por todos los aportes específicos que me ayudaron a concluir de mejor manera la tesis.

Gracias a mi director Rafa y Ali por confiar en mi y por su dirección. Gracias Pablo, Gaby y Beto por su buena predisposición son un ejemplo para seguir.

Gracias Nati Pigni por tu gran aporte y por ser un pilar fundamental en los primeros años de mi doctorado, te quiero y extraño.

Querida Sil, amiga y compañera de año y en todo momento, gracias por tus conocimientos, por tu apoyo, por tu compañía y preocupación constante. Fue hermoso compartir año y doctorado con vos. Te quiero.

Gracias a mis queridas amigas Sole, Ferchu, Popy, Anita, Romi, Mica, Xiu y Roxy, por su apoyo moral, entusiasmo, por llenarme de risas, hacerme sentir querida y hacer que estos 5 años sean lo mejor a su lado. Las quiero.

Mari y Pala, gracias por su colaboración, ayuda y por sus palabras justas en especial en mi último año de doctorado. Mari gracias por reforzar todos mis conocimientos, ambos son muy generosos en todo lo que hacen. Los quiero.

Eugi, Lolu, Pablito y Agus, gracias por su apoyo constante, estuvieron presentes siempre y más aún en los últimos días cerca de mi defensa. Los quiero.

Cande, Emi, José, Andrés, Nico, Pepi y Male a pesar de que con algunos no he compartido mucho les agradezco por estar siempre dispuestos a ayudar.

Gracias a todos por hacerme sentir tan bienvenida y parte del equipo desde el primer momento que pise el laboratorio. De todos utds siento que aprendí algo y siento que este logro no hubiera dado sus frutos sin el apoyo suyo, gracias por el aporte incondicional de sus conocimientos, ¡¡¡¡todos son muy generosos con su saber!!!!

Mi familia un pilar importantísimo en mi vida y soy lo que soy por ellos, gracias por su confianza, por cuidarme, por su amor que, pese a estar lejos me han ayudado, me han hecho sentir siempre querida, apoyada en todo momento y haber hecho todo por darme lo mejor siempre.

Miguel mi compañero de vida, mi compañía desde los 16 años, otro pilar fundamental en estos últimos años junto con Leia (mi perrita). Gracias por tu apoyo, tu simpleza, tus palabras de aliento, tus consejos, por tu escucha de siempre y por ser parte de este crecimiento.

Gracias, gracias, gracias

*“Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y en el resultado. Un esfuerzo total es una victoria completa”*



## INDICE

<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>vi</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>x</b>
<b>RÉSUMÉ</b>	<b>xi</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Antecedentes</b>	<b>1</b>
1.1.1. Descripción de la Semilla de chía	1
1.1.2. Características morfológicas de la chía ( <i>Salvia hispanica</i> L.)	1
1.1.3. Cultivo y producción de chía a nivel mundial	3
1.1.4. Producción y mercado de la chía en Argentina	4
1.1.5. Valor nutricional de las semillas chía	5
1.1.6. Beneficios de la chía para la salud	9
1.1.7. Usos de la chía en alimentos	9
1.1.8. Aspectos legislativos de la chía	11
1.1.9. Alimentos funcionales	12
<b>1.2. OBJETIVOS</b>	<b>15</b>
1.2.1. Objetivo general	15
1.2.2. Objetivos específicos	15
<b>2. OBTENCION Y CARACTERIZACIÓN DE HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA</b>	<b>16</b>
<b>2.1. Introducción</b>	<b>16</b>
<b>2.2. Materiales y métodos</b>	<b>17</b>
2.2.1. Obtención de aceite y de la harina parcialmente desgrasada de chía (HPDC)	17
2.2.1.1. Obtención de HPDC por prensado	17
2.2.1.2. Obtención de HPDC por solvente	19
2.2.2. Diseño experimental. Optimización del proceso de extracción por superficie respuesta	19
2.2.3. Análisis del aceite obtenido	20
2.2.4. Análisis de la HPDC obtenida	24
2.2.4.1. Extracción de compuestos fenólicos libres (L)	24
2.2.4.2. Extracción de compuestos fenólicos unidos (U)	24
2.2.4.3. Determinación del contenido total de polifenoles (CTP)	25
2.2.4.4. Determinación de la capacidad antioxidante (AA)	25
2.2.4.4.1. Método (FRAP) Poder reductor (PR)	25
2.2.4.4.2. Método (TEAC) Capacidad atrapadora de radicales libres (CA)	26
2.2.4.4.3. Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH	27
2.2.4.5. Análisis proximal de la HPDC	27
2.2.4.6. Calidad funcional de las semillas de chía y HPDC	29
2.2.4.7. Perfil viscoamilográfico de la HPDC	30
2.2.5. Análisis estadísticos	32
<b>2.3. Resultados y discusión</b>	<b>32</b>
2.3.1. Efecto de las variables del proceso sobre la extracción de polifenoles y la capacidad antioxidante de la HPDC	32
2.3.2. Efecto de las variables del proceso sobre el rendimiento y la calidad química del aceite extraído	37



2.3.3. Análisis proximal de la HPDC _____	41
2.3.4. Calidad funcional de la semilla de chía y HPDC _____	42
2.3.5. Comportamiento viscoamilográfico de la HPDC _____	44
<b>2.4. Conclusiones _____</b>	<b>46</b>
<b>3. EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA EN PASTAS ALIMENTICIAS _____</b>	<b>47</b>
<b>3.1. Introducción _____</b>	<b>47</b>
3.1.1. Definición de pastas alimenticias _____	47
3.1.2. Consumo de pastas alimenticias _____	48
3.1.3. Clasificación de las pastas _____	48
3.1.4. Materias primas para la elaboración de pastas alimenticias _____	51
3.1.5. Proceso de elaboración industrial de pasta larga _____	57
3.1.6. Composición y valor nutricional de las pastas alimenticias _____	61
3.1.7. Cambios estructurales durante la elaboración de pastas _____	62
3.1.7.1. Desarrollo de viscoelasticidad durante el amasado _____	63
3.1.7.2. Conformación de la red proteica en pastas _____	63
3.1.8. Cambios que se manifiestan en el proceso de cocción de pastas _____	65
3.1.8.1. Parámetros de calidad de las pastas alimenticias _____	66
3.1.9. Pastas y alimentos funcionales _____	67
3.1.9.1. Incorporación de chía a pastas alimenticias _____	69
<b>3.2. Materiales y métodos _____</b>	<b>70</b>
3.2.1. Materiales _____	70
3.2.2. Obtención de HPDC por prensado de las semillas de chía _____	71
3.2.3. Elaboración de pastas alimenticias _____	71
3.2.4. Calidad de las pastas elaboradas _____	73
3.2.4.1. Perfil viscoamilógrafo de pastas secas con HPDC (RVA- Rapid Visco Analyzer) _____	73
3.2.4.2. Determinación de la calidad de cocción de las pastas _____	74
3.2.4.2.1. Tiempo Óptimo de Cocción (TOC) _____	74
3.2.4.2.2. Pruebas de cocción _____	74
3.2.4.2.2.1. Pérdidas de sólidos por cocción-liberación del almidón _____	74
3.2.4.2.2.2. Absorción de agua _____	75
3.2.4.3. Determinación de textura y color de las pastas _____	75
3.2.4.4. Evaluación microestructural de las pastas _____	77
3.2.4.5. Evaluación nutricional de la pasta _____	77
3.2.4.5.1. Determinación de humedad _____	77
3.2.4.5.2. Determinación del porcentaje de Proteínas _____	78
3.2.4.5.3. Determinación de cenizas _____	78
3.2.4.5.4. Determinación de fibra dietaria total (FDT) _____	78
3.2.4.5.5. Cuantificación de ácidos grasos _____	79
3.2.4.5.6. Propiedades antioxidantes de las pastas _____	80
3.2.4.5.6.1. Extracción de compuestos fenólicos _____	80
3.2.4.5.6.2. Contenido total de polifenoles _____	81
3.2.4.5.6.3. Determinación de la capacidad antioxidante _____	81
3.2.4.5.7. Evaluación sensorial de las pastas _____	82
3.2.5. Análisis estadístico _____	83
<b>3.3. Resultados y discusión _____</b>	<b>84</b>
3.3.1. Efectos sobre la textura y el color de las pastas crudas _____	84
3.3.2. Efectos sobre la textura, color y calidad de cocción de las pastas cocidas _____	85
3.3.3. Efectos de la HPDC sobre la microestructura de las pastas _____	88
3.3.4. Calidad nutricional de las pastas crudas y cocidas _____	91

3.3.4.1. Contenido fenólico total (CTP) y capacidad antioxidante de las pastas _____	92
3.3.5. Evaluación sensorial _____	95
3.3.6. Cambios en la calidad de las pastas durante el almacenamiento _____	97
3.3.7. Efecto del almacenamiento en la calidad de las pastas _____	98
3.3.7.1. Microscopia confocal de las pastas almacenadas _____	100
3.3.7.2. Microscopia confocal en la pasta almacenada cocida _____	103
3.3.7.3. Cambios en la calidad nutricional de pastas durante el almacenamiento _____	103
<b>3.4. Conclusiones _____</b>	<b>106</b>
<b>4. PERFIL QUÍMICO Y BIOACCESIBILIDAD DE POLIFENOLES EN PASTAS DE TRIGO SUPLEMENTADAS CON HARINA DE CHÍA PARCIALMENTE DESGRASADA _____</b>	<b>107</b>
<b>4.1. Introducción _____</b>	<b>107</b>
<b>4.2. Materiales y métodos _____</b>	<b>108</b>
4.2.1. Estándares y reactivos _____	108
4.2.2. Preparación de muestras y elaboración de las pastas _____	109
4.2.3. Extracción de compuestos fenólicos _____	109
4.2.4. Simulación in vitro de la digestión gastrointestinal de las pastas cocidas _____	110
4.2.5. Contenido fenólico total y actividad antioxidante _____	111
4.2.6. Perfil de polifenoles por HPLC-MS/MS _____	112
4.2.7. Análisis estadístico _____	113
<b>4.3. Resultados y discusión _____</b>	<b>114</b>
4.3.1. Perfil de polifenoles de la HPDC _____	114
4.3.2. Perfil de polifenoles de las pastas suplementadas con HPDC _____	115
4.3.3. Simulación in vitro de la digestión gastrointestinal de pastas suplementadas con HPDC _____	118
4.3.4. Bioaccesibilidad de polifenoles individuales _____	120
<b>4.4. Conclusiones _____</b>	<b>121</b>
<b>5. ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE SECADO DE PASTAS ELABORADAS CON HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA _____</b>	<b>123</b>
<b>5.1. Introducción _____</b>	<b>123</b>
<b>5.2. Materiales y métodos _____</b>	<b>127</b>
5.2.1.-Elaboración de pastas _____	127
5.2.2. Secado _____	127
5.2.3. Determinación del contenido de humedad de las pastas _____	128
5.2.4. Curvas de Secado _____	128
5.2.5. Coeficiente de difusividad efectiva (Deff) _____	130
5.2.6. Relación del coeficiente de difusión con la temperatura _____	130
5.2.7. Análisis de textura de las imágenes obtenidas por microscopia _____	131
5.2.8. Determinación de la fracturabilidad de las pastas _____	134
5.2.9. Análisis estadístico _____	134
<b>5.3. Resultados y discusión _____</b>	<b>135</b>
5.3.1. Cinética de secado _____	136
5.3.2. Modelado de pérdida de humedad de las pastas _____	139
5.3.3. Velocidad de secado _____	144
5.3.4. Coeficiente de difusividad efectivo (Deff) _____	147
5.3.5. Energía de activación (Ea) _____	149
5.3.6. Análisis textural de imágenes por Matriz de Co-ocurrencia en Escala de Grises (GLCM) _____	150
5.3.7. Análisis de la microestructura de las pastas secadas a distintas temperaturas _____	153
5.3.8. Fracturabilidad de las pastas secas _____	156

<b>5.4. Conclusiones</b>	<b>157</b>
<b>6. EFECTO DE INCORPORACIÓN DE HPDC EN LA CALIDAD TECNOLÓGICA, NUTRICIONAL, FUNCIONAL Y SENSORIAL DE MUFFINS</b>	<b>159</b>
<b>6.1. Introducción</b>	<b>159</b>
<b>6.2. Materiales y métodos</b>	<b>162</b>
6.2.1. Elaboración de muffins	162
6.2.2. Evaluación de la calidad tecnológica de muffins	164
6.2.2.1. Características físicas de los muffins elaborados	164
6.2.2.1.1. Pérdida de peso	165
6.2.2.1.2. Volumen específico de los muffins (VE)	165
6.2.2.1.3. Altura-ancho de los muffins	165
6.2.2.1.4. Análisis de textura instrumental de la miga	165
6.2.2.1.5. Determinación de la cinética de envejecimiento por el modelo de Avrami	166
6.2.2.1.6. Estudio de la estructura de la miga de los muffins mediante análisis de imágenes	167
6.2.2.1.7. Color de la corteza y miga de los muffins	168
6.2.2.2. Determinación de las propiedades reológicas de los batidos	169
6.2.2.2.1. Viscosidad aparente de los batidos	169
6.2.2.2.2. Análisis de las propiedades de viscosidad de las mezclas de harina de trigo (HT) y HPDC	170
6.2.3. Evaluación nutricional y antioxidante de los muffins	171
6.2.3.1. Contenido total de polifenoles (CTP) en los muffins	171
6.2.3.2. Determinación de la capacidad antioxidante de los muffins	172
6.2.3.3. Perfil químico y cuantificación de polifenoles totales de la HPDC y de muffins fortificados con 0 y 5% HPDC	172
6.2.3.3.1. Contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos (HPDC, MF 0% HPDC y MF 5% HPDC)	173
6.2.3.3.2. Perfil de polifenoles por HPLC-MS de HPDC y de muffins con 0 y 5% HPDC	173
6.2.4. Evaluación de la calidad sensorial de muffins	174
6.2.5. Análisis estadístico	174
<b>6.3. Resultados y discusión</b>	<b>175</b>
6.3.1. Efecto de la incorporación de HPDC sobre el perfil de viscosidad de las mezclas de harina de trigo/HPDC cuando son calentadas y enfriadas (Rapid Visco Amilograph)	175
6.3.2. Efecto de la incorporación de HPDC sobre la viscosidad aparente de los batidos	177
6.3.3. Efecto de la incorporación de HPDC sobre la calidad tecnológica de los muffins	177
6.3.4. Efecto del almacenamiento en las características físicas de los muffins	180
6.3.4.1. Cinética de envejecimiento	183
6.3.5. Análisis de la estructura de la miga de los muffins	184
6.3.6. Efecto de la HPDC sobre la calidad nutricional, propiedades antioxidantes y sensoriales de los muffins elaborados	186
6.3.6.1. Características sensoriales de los muffins	186
6.3.6.2. Propiedades nutricionales y antioxidantes de los muffins	187
6.3.6.3. Perfil de polifenoles totales de la HPDC y de muffins con 0 y 5% HPDC	188
<b>6.4. Conclusiones</b>	<b>191</b>
<b>7. ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL USO DE MICROONDAS Y ULTRASONIDO EN LA EXTRACCIÓN ASISTIDA DE POLIFENOLES A PARTIR DE LA HPDC</b>	<b>193</b>
<b>7.1. Introducción</b>	<b>193</b>
<b>7.2. Polifenoles</b>	<b>194</b>

7.2.1. Beneficios que se obtienen de una dieta rica en polifenoles _____	194
7.2.2. Extracción de polifenoles _____	195
7.2.3. Extracción convencional (C) _____	195
7.2.4. Metodologías novedosas de extracción _____	196
7.2.4.1. Extracción asistida por ultrasonido (S) _____	196
7.2.4.2. Extracción asistida por microondas (MW) _____	198
7.2.5. Contenido de polifenoles _____	199
7.2.5.1. Determinación de compuestos fenólicos totales _____	200
7.2.5.2. Optimización de la extracción de polifenoles _____	200
<b>7.3. Materiales y métodos _____</b>	<b>203</b>
7.3.1. Extracción de polifenoles totales CTP _____	203
7.3.2. Optimización del rendimiento por superficie respuesta _____	206
7.3.2.1. Extracción sólido/líquido asistida por calentamiento convencional (C) _____	206
7.3.2.2. Extracción asistida por ultrasonido (S) _____	207
7.3.2.3. Extracción asistida por microondas (MW) _____	208
7.3.3. Determinación del contenido de polifenoles de los extractos etanólicos obtenidos _____	210
7.3.4. Análisis estadístico _____	210
<b>7.4. Análisis y discusión de resultados _____</b>	<b>211</b>
7.4.1. Extracción convencional sólido/líquido (C) _____	211
7.4.2. Extracción por ultrasonido (S): _____	216
7.4.3. Extracción asistida por microondas (MW) _____	221
7.4.4. Comparación de los rendimientos máximos de polifenoles entre las distintas metodologías utilizadas _____	226
<b>7.5. Conclusiones _____</b>	<b>227</b>
<b>8. CONCLUSIONES GENERALES _____</b>	<b>229</b>
<b>BIBLIOGRAFIA _____</b>	<b>234</b>
<b>ANEXO: PUBLICACIONES CIENTÍFICAS CON REFERATO DERIVADOS DE ESTA INVESTIGACIÓN _____</b>	<b>271</b>



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

%H: % de humedad

%H: porcentaje de humedad

%S: porcentaje de solubilidad

$\Delta E$ : valor de diferencia de color

1/k: recíproco de la constante de velocidad

a\*: coordenada colorimétrica tonalidad del rojo al verde

AA: actividad antioxidante

AbA: absorción de agua

ác: ácido

ALA: ácido lineico

APC: aumento de peso durante la cocción

ASM: Energía

b\*: coordenada colorimétrica tonalidad del amarillo al azul

b.h: base húmeda

b.s: base seca

BD: Breakdown

CA: capacidad atrapadora de radicales libres

CA: fracción de carotenoides

CAa: capacidad de absorción de agua

CAR: capacidad antiradicalaria

Cl: fracción de clorofilas

Co: control

CON: Contraste

CRA: capacidad de retención de agua

CT: corte transversal

CTP: contenido total de polifenoles

Deff: coeficiente de difusividad efectiva

DGC: Prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves

DIA: dializado

Ea: energía de activación

EI: estándar interno

ENT: entropía

ET: equivalente de trolox

FDA: Food and Drug Administration

FOSHU: Alimentos de uso exclusivo para la salud

GAE: equivalente de ácido gálico

GC: cromatografía de gases

GD: digestión gástrica

GLCM: matriz de co-ocurrencia en escala de grises

H<sub>0</sub>: contenido de humedad inicial  
HDC: harina desgrasada de chía  
H<sub>e</sub>: contenido de humedad de equilibrio  
HEX: desgrasado de la harina de semillas de chía con hexano  
H<sub>f</sub>: humedad final  
HPDC: harina parcialmente desgrasada de chía  
HPLC: cromatografía líquida de alta presión  
H<sub>t</sub>: contenido de humedad en cualquier punto de secado  
HT: harina de trigo  
H<sub>t+Δt</sub>: Contenido de humedad en base seca (kg agua/kg base seca) a tiempo (t<sub>i</sub>) más la diferencia del tiempo en min  
IA: índice de acidéz  
ID: digestión intestinal  
IDM: homogeneidad  
IH: índice de hinchamiento  
IP: índice de peróxidos  
k: es la constante de velocidad  
k<sub>0</sub> y D<sub>0</sub>: constantes pre-exponenciales (E<sub>a</sub>: energía de activación (kJ/mol)  
K232 y K270: son indicadores del estado de calidad y conservación del aceite  
L\*: Luminosidad  
L: distancia crítica de secado (es la mitad del espesor de la pasta  
L: extracción de polifenoles libres  
M: molar  
MBLC: microscopía de barrido láser confocal  
MF: muffins  
mM: milimolar  
MS/MS: masa exacta  
MSR: metodología de superficie respuesta  
N: normal  
nm: nanómetros  
OD: digestión en boca  
PC: peso de la pasta cocida  
PL: polifenoles libres  
PP: pérdida de peso  
PR: poder reductor  
PS: peso de la pasta seca  
PSC: pérdida de sólidos durante la cocción  
PUFA: ácidos grasos poliinsaturados  
PV: Pico de viscosidad

Q= masa de agua a incorporar  
R: es la constante universal de los gases  
RA: rendimiento de la extracción  
RH: relación de humedad  
RMSE: error cuadrático medio  
RVA: analizador rápido de viscosidad  
RVA: viscosanalizador Rápido  
SB: setback  
SB: setback  
SE: sólidos en suspensión  
Sup: superficie  
SwC: capacidad de hinchamiento de las semillas de chía  
t: es la firmeza de la miga a tiempo t,  
T°: es la temperatura absoluta de secado  
t: tiempo de secado  
T<sub>0</sub>: es la firmeza de la miga a tiempo cero o firmeza inicial  
T<sub>∞</sub>: es la firmeza límite  
TMG: temperatura media de gelatinización  
TMG: temperatura media de gelatinización  
TOC: tiempo óptimo de cocción  
T: toneladas  
TPA: análisis de perfil de textura  
TT: tocoferoles totales  
U: extracción de compuestos fenólicos unidos  
VF: viscosidad final  
Vf: volumen final  
VM: viscosidad media  
Vs: Velocidad de secado  
WV: valor de blancura  
Xi: variables independientes  
Y: variable dependiente  
B: coeficientes de correlación  
η: es el exponente de Avrami  
θ: es la fracción de cambio en la dureza de la miga del muffin a tiempo t(1,7,14)días  
k es la constante cinética de secado  
C: extracción de polifenoles sólido/líquido  
S: extracción de polifenoles asistida por ultrasonido  
MW: extracción de polifenoles asistida por microondas  
FC: Folin Ciocalteu  
vm: valor máximo de polifenoles

## RESUMEN

Las semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) son muy valoradas, principalmente por su aceite con alto contenido en ácidos grasos poli-insaturados (omega-3/omega-6) dejando de lado otros componentes nutricionalmente importantes. En este sentido, el residuo remanente (harina parcialmente desgrasada de chia-HPDC) de la extracción de aceite podría aprovecharse en la producción de alimentos mejorando su calidad nutricional. Los resultados de este trabajo de tesis son el producto de un análisis exhaustivo desde diferentes aspectos que se llevó a cabo a un residuo incorporado a dos matrices alimentarias totalmente distintas. El objetivo general fue evaluar la utilización de la semilla de chia (*Salvia hispánica* L.) en el desarrollo y formulación de productos farináceos tradicionales y estudiar el efecto de su utilización sobre la calidad tecnológica, nutricional, funcional y sensorial de estos productos. En la sección 2 se estudió y determinó la mejor combinación de variables con mayor influencia en el proceso de extracción de aceite por prensado de las semillas de chia, lo que permitió obtener un aceite de buena calidad y, al mismo tiempo, un residuo (harina desgrasada de chía, HPDC) con un buen perfil nutricional. En la sección 3 se evaluó el efecto de la incorporación de esta sobre la calidad nutricional, sensorial y tecnológica de pastas alimenticias elaboradas a tiempo 0 y 12 meses de almacenamiento. En la sección 4 se estudió la composición fenólica de la HPDC y de las pastas elaboradas con ella, con el fin de entender las propiedades antioxidantes benéficas de las pastas suplementadas, además, teniendo en cuenta que la pasta se consume después de la cocción y que el perfil químico de estos componentes puede verse afectado por las altas temperaturas se analizaron los efectos de los procesos de cocción y digestión sobre el perfil químico de los compuestos fenólicos de las pastas elaboradas. En la sección 5 se estudió el impacto de diferentes temperaturas (45, 55 y 65 °C) y la influencia de la incorporación de HPDC sobre la cinética de secado de pastas alimenticias. En la sección 6 se evaluó el efecto de la incorporación del residuo sobre la capacidad antioxidante, calidad nutricional, sensorial y tecnológica de muffins elaborados a tiempo 0, 7 y 14 días de almacenamiento. Como complemento de esta sección se realizó el perfil químico de polifenoles a los muffins elaborados. Finalmente, como cierre de este trabajo se investigó el uso de tecnologías innovadoras como microondas y ultrasonido para extraer los compuestos bioactivos de alto poder antioxidante a partir de la HPDC. Este trabajo demostró que el residuo de chía obtenido en el proceso de extracción de aceite de chia puede aprovecharse como ingrediente para mejorar la calidad nutricional de alimentos elaborados a base de harina de trigo.

## ABSTRACT

Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) are highly valued, mainly for their oil with a high content of polyunsaturated fatty acids (omega-3/omega-6), leaving aside other nutritionally important components. In this sense, the remaining residue (partially defatted chia flour-HPDC) from oil extraction could be used in food production by improving its nutritional quality. The results of this work are the product of an exhaustive analysis from different aspects that was carried out on an expeller incorporated into two totally different food matrices. The general objective was to evaluate the use of chia seed (*Salvia hispánica* L.) in the development and formulation of traditional farinaceous products and to study the effect of its use on the technological, nutritional, functional and sensory quality of these products. In chapter 1, the best combination of variables with the greatest influence on the oil extraction process by pressing the chia seeds was studied and determined, which allowed to obtain a good quality oil and, at the same time, an expeller (HPDC) with a good nutritional profile. In the second chapter, the effect of incorporating it on the nutritional, sensory and technological quality of pasta products formulated at time 0 and 12 months of storage was evaluated. In the third chapter, the HPDC's and pasta product's phenolic composition were studied, in order to understand the beneficial antioxidant properties of the supplemented pasta, in addition, taking into account that pasta is consumed after boiling and that the chemical profile of these components can be affected by the high temperatures. The effects of the boiling and digestion processes on the pasta product's phenolic chemical profile were analyzed. In Chapter 4, the impact of different temperatures 45, 55 and 65 °C and the influence of the incorporation of HPDC on the kinetics of drying pasta were studied. In the fifth chapter, the effect of the incorporation of the expeller on the antioxidant capacity, nutritional, sensory and technological quality of muffins formulated at time 0, 7 and 14 days of storage was evaluated. As a complement to this chapter, the chemical profile of polyphenols was investigated on muffins. Finally, the use of innovative technologies such as microwaves and ultrasound to extract bioactive compounds with high antioxidant power from the HPDC was investigated. This work showed that the expeller obtained in the chia oil extraction process can be used as an ingredient to improve the nutritional quality of processed foods based on wheat flour.

## RÉSUMÉ

Les graines de chia (*Salvia hispanica* L.) sont très appréciées, principalement pour leur huile à haute teneur en acides gras polyinsaturés (oméga-3 / oméga-6), laissant de côté d'autres composants importants sur le plan nutritionnel. En ce sens, les résidus restants (farine de chia-HPDC partiellement dégraissée) issus de l'extraction de l'huile pourraient être utilisés dans la production alimentaire en améliorant sa qualité nutritionnelle. Les résultats de cette thèse sont le produit d'une analyse exhaustive de différents aspects effectuée sur un déchet incorporé dans deux matrices alimentaires totalement différentes. L'objectif général était d'évaluer l'utilisation de la graine de chia (*Salvia hispanica* L.) dans le développement et la formulation de produits farinacés traditionnels et d'étudier les effets de son utilisation sur la qualité technologique, nutritionnelle, fonctionnelle et sensorielle de ces produits. Au chapitre 1, la meilleure combinaison de variables ayant la plus grande influence sur le procédé d'extraction de l'huile en pressant les graines de chia a été étudiée et déterminée, ce qui a permis d'obtenir une huile de bonne qualité et, en même temps, un résidu (farine). Chia dégraissé, HPDC) avec un bon profil nutritionnel. Dans le deuxième chapitre, l'effet de son incorporation sur la qualité nutritionnelle, sensorielle et technologique des pâtes alimentaires préparées aux temps de stockage de 0 et 12 mois a été évalué. Dans le troisième chapitre, nous avons étudié la composition phénolique du HDC et les pâtes qui en ont été élaborées, afin de comprendre les propriétés antioxydantes bénéfiques des pâtes additionnées, en tenant compte du fait que les pâtes sont consommées après la cuisson et que les températures élevées peuvent avoir une incidence sur le profil chimique de ces composants. Les effets des processus de cuisson et de digestion sur le profil chimique des composés phénoliques des pâtes traitées ont été analysés. Au chapitre 4, l'impact des différentes températures 45, 55 et 65 °C et l'influence de l'incorporation de HPDC sur la cinétique de séchage des pâtes ont été étudiés. Dans le cinquième chapitre, l'effet de l'incorporation du résidu sur la capacité antioxydante, la qualité nutritionnelle, sensorielle et technologique des muffins fabriqués aux temps de stockage de 0, 7 et 14 jours a été évalué. En complément de ce chapitre, le profil chimique des polyphénols a été établi pour les muffins fabriqués. Enfin, l'utilisation de technologies innovantes telles que les micro-ondes et les ultrasons pour extraire des composés bioactifs à haute puissance antioxydante de HPDC a été étudiée. Ces travaux ont montré que les résidus de chia obtenus dans le processus d'extraction de l'huile de chia peuvent être utilisés comme ingrédient pour améliorer la qualité nutritionnelle des aliments transformés à base de farine de blé.

# **1. INTRODUCCIÓN GENERAL**

---



## **1. INTRODUCCIÓN GENERAL**

### **1.1. Antecedentes**

#### **1.1.1. Descripción de la Semilla de chía**

La chía (*Salvia hispanica* L.), es una planta anual perteneciente a la familia de las Lamiaceae (familia de la menta). Originaria de países como Guatemala, México y Colombia, la cual fue reconocida por usos medicinales y consumida como una fuente de energía e incorporada en una serie de alimentos en la dieta de la civilización azteca indígena (Ulbricht et al., 2009). Los Aztecas utilizaron la semilla de chía sola como alimento o mezclada con otros, en agua como bebida, molida como harina, incluida en medicinas, como alimento para aves y prensada para obtener su aceite. Este último se empleaba como base para proteger estatuas y pinturas religiosas de los factores climáticos, ya que proporcionaba un gran brillo y resistencia al envejecimiento dado su alto poder antioxidante. Además, tanto hombres como mujeres usaban el aceite como parte de esencias y perfumes, presumiblemente por sus propiedades emolientes. Las semillas, combinadas con maíz, eran fuente de energía para travesías prolongadas y alimento para los guerreros (Ayerza y Coates, 2006).

En cuanto a su uso medicinal, la chía era empleada sola o bien en preparados junto con otras hierbas. Las propiedades curativas de las semillas se utilizaban, por ejemplo, para el tratamiento de obstrucciones oculares (el aceite era utilizado como emoliente), infecciones y malestares respiratorios. El mucilago que se desprende de las semillas remojadas en agua se administraba en forma de bebida para mitigar la fiebre, hacer gárgaras y como loción ocular (Cahill, 2003).

Las semillas de chía se han utilizado anteriormente como semillas enteras, harina de semillas, mucilago de semillas y aceite de semillas. Una bebida refrescante hecha con semillas de chía enteras ha alcanzado gran popularidad en México y las bebidas siguen siendo el principal uso culinario, sin embargo, las bebidas elaboradas con harina no tuvieron éxito, al igual que el uso de harina de chía en general (Cahill, 2003).

#### **1.1.2. Características morfológicas de la chía (*Salvia hispanica* L.)**

Es una planta herbácea anual que requiere menos agua en comparación con otros cultivos. Se desarrolla en condiciones tropicales y subtropicales, no es tolerante

a heladas, requiere abundante sol, y no fructifica en la sombra. Generalmente crece en suelos areno-limosos, aunque también puede hacerlo en suelos arcillo-limosos si tienen un buen drenaje. Si bien la semilla de chía necesita un suelo húmedo para germinar, una vez establecidas las plántulas, sobrevive y crece con cantidades limitadas de agua y con un amplio rango de precipitaciones. No obstante, pese a desarrollarse bien en suelos con una amplia variedad de nutrientes, el bajo contenido de nitrógeno constituye una barrera importante al momento de obtener buenos rendimientos de semilla (Ixtaina et al., 2010; Ayerza y Coates, 2006).

El género *Salvia* incluye unas 900 especies encontradas en regiones como Sudáfrica, América Central, América del Norte, Sudamérica y Asia Sur-Oriental. La familia Lamiaceae cuenta con 170 géneros y más de 3000 especies de amplia distribución en regiones tropicales y templadas, de las cuales en Argentina existen alrededor de 26 géneros (Burkart, 1979).

Esta planta herbácea anual de hasta 1 m de altura presenta hojas opuestas, de 4 a 8 cm de largo y 3 a 5 cm de ancho. Las flores son hermafroditas, púrpuras a blancas, y aparecen en ramilletes terminales; florece entre julio y agosto (Figura 1.1-A). Después del verano, las flores dan lugar a un fruto en forma de aquenio indehisciente (semillas) es un esquizocarpo y, al madurar, se separa en cuatro frutos individuales o mericarpios, ricos en mucílago, fécula y aceite (Figura 1.1-E) (Ayerza y Coates, 2005). Cada fruto tiene unos 2,1 mm de largo por 1,4 mm de ancho, y es ovalado, lustroso, y de color pardo grisáceo a rojizo con manchas irregulares marrones y algunos frutos son blancos. (Figuras 1.1-B y D) (Hernández et al., 2008).

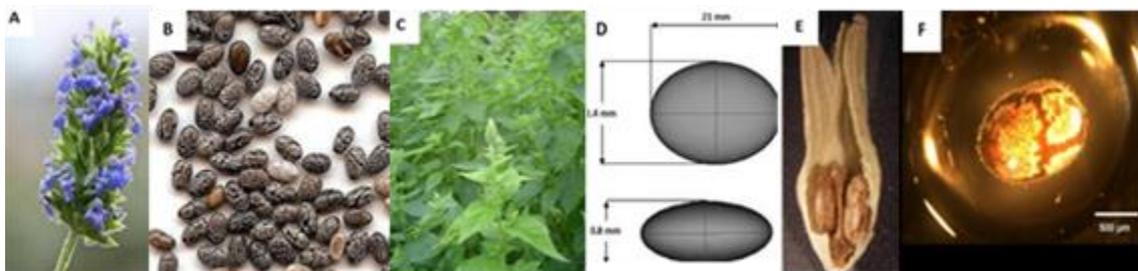


Figura 1.1. (A) Inflorescencias (flor) de *Salvia hispanica* L., (B) Semillas de chía, (C) Plántulas, (D) Dimensiones de la semilla, (E) Semillas incluidas en el cáliz, (F) Semilla entera hidratada rodeada por su mucílago. Adaptado de (Hernández et al., 2008)

### 1.1.3. Cultivo y producción de chía a nivel mundial

En la actualidad, los países productores de chía son: Argentina, México, Bolivia y Paraguay. Por ser un cultivo redescubierto hace pocos años, existe poca información sobre su manejo productivo, pero al mismo tiempo, hay mucho interés en esta especie para el desarrollo de cultivos comerciales, convencionales y agroecológicos (Busilacchi et al. 2015).

La semilla de Chía comenzó a comercializarse a nivel internacional recién a partir de la década de los noventa. Se cultiva principalmente en Centro y Sudamérica, si bien su cultivo se está expandiendo hacia otras regiones del mundo. En las temporadas 2011-2012 una importante parte de la producción se concentró en Argentina (aproximadamente 35% de la superficie cultivada). Los restantes países exhibieron superficies semejantes (Australia, México, Bolivia y Paraguay), en torno a las 3000 ha c/u, con un 15% de participación. La demanda de la semilla de Chía es creciente y está liderada por EE. UU. Las empresas norteamericanas han estado presentes en los pasados años en la mayoría de los países productores de semilla. Dichas empresas, a través de una presencia regional, incentivan la producción de semilla, estableciendo contratos y acuerdos de producción con los agricultores locales. También han integrado la producción (Busilacchi et al. 2015).

Durante la última década en especial en México, Australia y Argentina, son países que han adquirido experiencia en el cultivo de la chia, lo que provocó un aumento rápido de la producción de chía donde Bolivia entre muchos otros países se convirtió en uno de los principales productores de chía (CBI-Ministry Foreign Affairs, 2015). No se ha encontrado información más actualizada que el 2014. En la tabla 1.2 se detalla la superficie y producción del cultivo de chía en los años 2013-2014 de los mayores productores mundiales.

**Tabla 1.2. Superficie y producción del cultivo de chía en los años 2013-2014 de los mayores productores del mundo**

	2013		2014	
	Superficie en (Ha)	Producción (T)	Superficie en (Ha)	Producción (T)
Bolivia	50.000	18.000	80.000	30.000
Paraguay	30.000	25.000	100.000	30.000
Argentina	40.000	<10.000	120.000	40.000
México	18.000	84.000	50.000	25.000
Australia	n.a.	<10.000	n.a.	<10.000
América Central	15000	10.000	17.000	11.500
Perú	n.a.	n.a.	n.a.	<5.000
Ecuador	n.a.	n.a.	n.a.	<1.000
Colombia	n.a.	n.a.	n.a.	<1.000

Datos: CBI-MFA (2015), n.a., no analizado, T: toneladas, Ha: hectáreas

#### 1.1.4. Producción y mercado de la chía en Argentina

Desde el año 1991 se comenzó a desarrollar el “Northwestern Argentina Regional Project”, mediante un convenio entre la organización sin fines de lucro “Partners of the Americas Inc.” (Washington D.C.) y un grupo de productores del noroeste argentino (NOA: Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca, La Rioja, y Santiago del Estero), con el objetivo de llevar a la producción nuevos cultivos, que permitieran la diversificación agrícola e incrementar el ingreso de los agricultores del NOA. Dentro de las siete especies seleccionadas, la chía fue identificada como la más promisoría, lo que permitió el aumento de tierras sembradas y su producción comercial (Ayerza y Coates, 1998).

En Argentina la cantidad de hectáreas dedicadas al cultivo de chía suman alrededor de 100.000, casi en su totalidad localizadas en el NOA (Rodríguez, 2013). La producción de semillas por hectárea es variable y muy dependiente de la zona y época de siembra. Generalmente, los rindes varían entre los 500 y 600 kg/ha, aunque algunos productores de Salta y Acatic (México) han obtenido 1.260 kg/ha y 1000 kg/ha, respectivamente. Estos son considerablemente menores a los obtenidos para cultivos tradicionales (trigo: 2.700, maíz: 7.030 y soja: 2.580) kg/ha, incluso lotes experimentales de chía en la provincia de Salta produjeron no más de 2.500 kg al aplicárseles riego y fertilizantes nitrogenados (Ayerza y Coates, 1998).

Resulta evidente la dificultad que experimenta la chía para posicionarse como una alternativa en el mercado de granos y oleaginosas, si se compara con los rindes obtenidos por los cultivos tradicionales anteriormente mencionados. Sin embargo, la

chia posee características nutricionales sobresalientes, su posibilidad de adaptarse a suelos semiáridos, y su alto valor de comercialización, le abren un nicho favorable de desarrollo y la posicionan como una alternativa para la diversificación productiva del país. Es por eso por lo que la popularidad de las semillas de chía aumentó en los últimos años, por lo que la cantidad de publicaciones sobre la chia y sus ingredientes se extendió rápidamente. Se han revaluado debido a sus propiedades nutritivas: alto contenido de fibra, polifenoles y lípidos (Jiménez et al., 2010). Las publicaciones menos recientes hacían referencia a las propiedades botánicas de la chía, en cambio las publicaciones más actuales investigan principalmente la aplicación de la chía en diferentes productos (Zettel y Hitzmann, 2018).

#### 1.1.5. Valor nutricional de las semillas chía

En el año 2009, la chía fue aprobada como un nuevo alimento por el Parlamento Europeo y el Consejo Europeo (Mohd Ali et al., 2012). Las especificaciones de la Unión Europea (UE) muestran la composición aproximada de la chía como: 91% -96% de materia seca, 20% - 22% de proteína, 30% - 35% de lípidos, 25% - 41% de carbohidratos, 18% - 30% de fibra cruda (principalmente no digerible celulosa, pentosanos y lignina) y 4% - 6% de cenizas (AOCS, 2009). Ha sido estudiada principalmente por la calidad de su aceite, posee casi un 55-60% de ácido linolénico (omega-3), 18-20% de ácido linoleico (omega-6), 6% de omega-9 monoinsaturado y 10% de grasa saturada. También es una fuente rica de vitaminas del complejo B y minerales, contiene 6 veces más calcio, 11 veces más fósforo y 4 veces más potasio que 100 mL de leche, además de poseer magnesio, hierro, zinc y cobre (Ayerza y Coates, 2009). Así mismo, se ha comprobado que las semillas de chía tienen un alto contenido de polifenoles con capacidad antioxidante (Rahman et al., 2017; Saphier et al., 2017). Oliveira-Alves et al. (2017) encontraron principalmente ácido cafeico y danshensu y sus derivados, como los ácidos rosmarínico y salvianólico. Por lo tanto, la identificación del origen de las semillas de chía también es un área de investigación importante (Ayerza y Coates, 2009, 2009b, 2011).

Otra de las características importantes de las semillas de chía es que no contienen gluten y pueden ser consumidas por personas con enfermedad celíaca (Martínez-Cruz y Paredes-López, 2014; Mohd Ali et al., 2012; Reyes-Caudillo et al., 2008; Ullah et al., 2015).

- **Proteínas y aminoácidos:** El contenido de proteínas (20-22%) ya mencionado en las semillas de chía, supera al contenido presente en otros granos tradicionales tales como trigo (14%), maíz (14%), arroz (8,5%), avena (15,3%) y cebada (9,2%). Incluso es similar a aquellas semillas considerados de alto valor proteico, como la soja (32 - 40 %) y las lentejas (23 - 29%) (Gálvez et al., 2006). El contenido de proteínas de semillas de chía cultivadas en diferentes regiones presenta variaciones significativas. De todos modos, este contenido fue superior al 15%, llegando en algunas regiones a valores cercanos al 27% (Ayerza y Coates, 2004; Ayerza y Coates, 2011).

También es necesario evaluar la calidad de las proteínas que poseen las semillas de chía. Para ello se requiere determinar su contenido de aminoácidos esenciales, como así también la proporción de estos en relación con los requerimientos nutricionales. Weber et al. (1991) compararon los aminoácidos presentes en las semillas de chía con otros cereales como el trigo, el maíz, el arroz, la avena, la cebada y el amaranto (Tabla 1.3). Se encontró que todos los cereales fueron deficientes en uno o más aminoácidos. El grano de cereal con el perfil de aminoácidos más completo fue el amaranto seguido de la avena. La semilla de chía tiene el potencial de incorporarse en la dieta humana al combinarse con otras fuentes de proteínas para producir una proteína equilibrada.

**Tabla 1.3. Composición de aminoácidos de la chia y otros cereales**

Granos de cereales	Isoleunina	Leucina	Lisina	Metionina	Fenilalanina	Treonina	Valina	Triptofano
Requerimientos de aminoacidos	2,8	6,6	5,0	2,5	6,3	3,4	3,5	1,1
Chia	3,7	5,7	4,2	2,6	7,5	2,2	4,1	---
Trigo	3,9	6,6	2,7	2,2	7,5	3,0	4,2	1,3
Maiz	4,1	12,1	3,0	2,9	7,6	3,0	4,5	0,5
Arroz	6,6	7,3	3,6	4,2	6,7	4,0	6,3	0,7
Avena	3,6	7,1	3,8	3,9	0,4	3,3	5	1,3
Cebada	3,2	6,6	3,4	3,7	8,2	3,6	4,5	1,0
Amaranto	3,6	5,7	5,6	4,4	7,1	3,6	3,5	1,0

Fuente: Weber et al. (1991)

- **Fibra:** La fibra dietética (FDT) es un componente importante en la dieta diaria debido a su efecto beneficioso sobre la salud. Algunos de estos efectos son la reducción del colesterol, la modificación de la glucemia y la respuesta a la insulina, los cambios en la función intestinal, la disminución del riesgo de enfermedad coronaria, diabetes mellitus tipo II, varios tipos de cáncer y también la actividad

antioxidante. El consumo de fibra dietética se ha asociado con un aumento en la saciedad después de las comidas, disminuyendo el hambre subsiguiente (Borderías et al., 2005; Esposito et al., 2005; Muñoz et al., 2013).

Numerosas investigaciones (Reyes-Caudillo et al., 2008; Salgado-Cruz et al., 2013) confirmaron el alto contenido de fibra dietética (FDT) (56,46 g / 100 g) de la cual 53,45 g / 100 g corresponde a fibra insoluble y un bajo contenido de fibra dietética soluble (3,01 g / 100 g). La fibra dietética total incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y otras sustancias asociadas.

Cuando las semillas son remojadas en agua se libera una cápsula mucilaginosa presente alrededor de la semilla el cual podría usarse como aditivo industrial debido a su alta capacidad tecnológica de retención y absorción de agua, la fibra de chía la vuelve ideal para su uso como hidrocoloide (Vázquez et al., 2009; Moreira et al., 2010; Salgado-Cruz et al., 2013).

- **Lípidos:** La característica más importante de la chía es su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados. Anteriormente se mencionó que la semilla tiene alrededor del 30-35%, que comprende 55-60% de ácido linolénico (omega-3) y 18-20% de ácido linoleico (omega-6). Nuestra dieta, se basa en aceites, ya sea de girasol o maíz, que son ricos en omega-6 y prácticamente muy poco de omega-3. Entonces se produce un desequilibrio metabólico que afecta el funcionamiento de las células, es por eso por lo que la relación omega-6: omega-3 es muy importante. La FAO recomienda una relación (omega-6: omega-3) entre 5:1 y 10:1, sin embargo, el objetivo es llegar a consumir una relación que sea de 1:1, es por este motivo que el cuerpo humano requiere estos ácidos grasos esenciales para una buena salud (Ayerza y Coates, 2011; Jamboonsri et al., 2012; Martínez-Maqueda et al., 2012; Mohd Ali et al., 2012). La chía contiene el porcentaje más alto de cualquier fuente vegetal de ácido  $\alpha$ -linolénico. Este ácido graso es el precursor de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga considerados como ácidos grasos esenciales porque el cuerpo humano no puede producirlos. Las semillas de chía contienen altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados que proporcionan potentes antioxidantes lipídicos (Ayerza y Coates, 2011; Marineli et al., 2015). El aceite de la semilla de chía fue caracterizado por Álvarez et al. (2008) como fuente atractiva de ácido  $\alpha$ -linolénico y fitoesteroles en comparación con otras fuentes vegetales que se usan actualmente.

- **Vitaminas y minerales:** La semilla de chía es una buena fuente de vitaminas del complejo B (Tabla 1.6). El bajo nivel de vitaminas del complejo B en la sangre está asociado con un mayor riesgo de sufrir una enfermedad coronaria fatal y apoplejía, cuando sus niveles en sangre son bajos (Kris-Etherton, 2002). La comparación del contenido de vitaminas de la chía con respecto a la de otros cultivos tradicionales muestra que el nivel de niacina es mayor que el presente en maíz, soja, arroz y cártamo, mientras que su tenor de vitamina A es inferior al de maíz. Las concentraciones de tiamina y riboflavina son similares a las del arroz y el maíz, aunque menores que las de soja y de cártamo (Ayerza y Coates, 2005).

En cuanto al contenido de minerales, las semillas de chía son una excelente fuente de calcio, fósforo, magnesio, potasio hierro, zinc y cobre. Además, contienen entre 13-354 veces más calcio, 2-12 veces más fósforo y 1-9 veces más potasio, que el trigo, arroz, cebada, avena y maíz. Los niveles de hierro en las semillas de chía y en la harina desgrasada son muy elevados, representando valores poco frecuentes en otras semillas (EFSA, 2009).

- **Antioxidantes:** La literatura indica que las semillas de chía poseen un alto poder antioxidante, lo que está confirmado por diferentes ensayos in vitro (Marineli et al., 2014; Oliveira et al., 2017; Rendón-Villalobos et al., 2018). Las semillas de chía se consideran nuevas fuentes de antioxidantes naturales, debido al contenido de tocoferoles, fitoesteroles, carotenoides y compuestos fenólicos (Álvarez et al., 2008; Ixtania et al., 2011 Capitani et al., 2012; Marineli et al., 2014; Porrás-Loaiza et al., 2014) lo que contribuye al interés de la comunidad científica y los consumidores de semillas de chía.

Muchos estudios muestran que la ingesta de compuestos bioactivos como los compuestos fenólicos de las semillas de chía están relacionados con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y efecto hepatoprotector (Poudyal et al., 2012) y un efecto protector contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo y la obesidad (Marineli et al., 2014). Entre los compuestos fenólicos ya identificados que se encuentran en las semillas de chía se distinguen los ácidos cafeico y rosmarínico (Capitani et al., 2012; Martínez y Paredes, 2014; Reyes-Caudillo et al., 2008), juegan un papel importante en la prevención y el manejo de diferentes trastornos neurológicos, como la epilepsia (Coelho et al., 2015). Se sabe que el ácido cafeico exhibe varias propiedades, como una actividad hipoglucémica y un efecto protector de

la memoria (Chang et al., 2015). Cvetkovikj et al. (2013) informaron que el ácido rosmarínico es un compuesto fenólico importante en las especies de *Salvia* y tiene diversas funciones inmunorreguladoras que incluyen actividades antimicrobianas, antioxidantes y antiinflamatorias, efecto antidiabético (Jayanthi y Subramanian, 2014) e inhibición del proceso inflamatorio asociado con la reperfusión de isquemia hepática (Rocha et al., 2015). Yang, et al. (2013) mostraron que cuando estaban presentes el ácido cafeico y rosmarínico, hubo un aumento en el efecto hepatoprotector, relacionado con mayores niveles de enzimas antioxidantes endógenas y glutatión (GSH) y disminución de la peroxidación lipídica en el hígado.

#### **1.1.6. Beneficios de la chía para la salud**

A razón del perfil nutricional que presentan las semillas de chía, De Falco et al. (2017) realizaron una descripción general sobre el conocimiento actual del análisis nutricional y fitoquímico de la chía y los estudios metabólicos del consumo de chía. Varios autores informaron también los efectos positivos del consumo de chía en la salud humana (Altamirano et al., 2015; Salgado-Cruz et al., 2013; Toscano et al., 2014; Vuksan et al., 2010). Jenkins et al. (2016) corroboraron a las semillas de chía como suplemento en la terapia convencional para el sobrepeso y la obesidad en la diabetes, debido al control glucémico y la pérdida de peso promovida al consumir chía debido al alto contenido de fibra en la dieta. No obstante, se necesitan mayores investigaciones sobre el uso de la chía como suplemento dietético, para corroborar fehacientemente el tratamiento o la prevención de enfermedades humanas (Mohd Ali et al. 2012; Ulbricht et al., 2009).

#### **1.1.7. Usos de la chía en alimentos**

Hoy en día, las semillas de chía se destacan principalmente por sus componentes lipídicos y más específicamente por ser la fuente natural con mayor concentración de ácidos grasos esenciales omega-3, superando a otras fuentes vegetales y marinas. La chía se consume comercialmente sin procesamiento alguno, como harina o adicionada a productos de repostería; en México se prepara una bebida refrescante llamada “chía fresca”, también se prepara un mucílago dejando reposar la semilla en agua, para utilizarla como fibra dietética o como hidrocoloide para espesar mermeladas, jaleas, yogur, mostaza y salsa tártara. Su perfil de proteínas, fibras, vitaminas, minerales y antioxidantes también es destacable. Por ello, numerosos son los estudios que en la actualidad utilizan a la chía como ingrediente alimentario para la elaboración de

fórmulas para bebés, alimento balanceado, barras nutritivas, (Busilacchi et al., 2015), productos horneados, lácteos, cárnicos y otros como alimentos funcionales, hidrocoloides, espesantes y libres de gluten (Zettel et al., 2018).

El objetivo principal de la incorporación de semillas de chía en productos horneados es mejorar su valor nutritivo, debido a la buena proporción de ácidos grasos omega-3 y omega-6, fibra dietética, proteínas, cenizas y compuestos bioactivos. Muchos autores confirmaron que la incorporación de chía a bizcochuelos, budines y panes se traduce en cambios en el color de la miga y aumento de la humedad, además que existe un cambio en la cinética de retrogradación de la amilopectina durante el almacenamiento, lo que se relaciona directamente con el aumento de vida en anaquel de estos (Iglesias y Haros, 2013; Costantini et al., 2014; Luna et al., 2013).

También se encontraron estudios donde evaluaron la aplicación del mucílago de la chía como sustituto de grasa o huevo en formulaciones de bizcochuelos en un 25, 27 y 50%, mejorando de igual manera el perfil nutricional y reduciendo el contenido de grasa de estos. En cuanto a los efectos tecnológicos y reológicos el volumen de los productos horneados fue más alto con migas más suaves incluso después de 48 h (Borneo et al., 2010; Coelho y Salas-Mellado 2015; Zettel y Hitzmann 2016). Mesías et al., (2016) suplementaron a galletitas con harina de chía encontrando mejoras en las propiedades nutricionales, mientras que se redujo la vida útil de las mismas. Verdú et al., (2015) incorporaron harina de chía en panes y concluyeron que hubo una mejora en el volumen, las migas fueron menos duras mejorando la frescura del pan.

La aplicación de la chía en productos lácteos está aumentando ultimamente. Primordialmente el mucílago de la chía como espesante en helados (Chavan et al., 2017; Campos et al., 2016). Las semillas de chía en yogures (Ayaz et al., 2017) como merienda nutritiva y finalmente la chía también fue incorporada en postres lácteos por Syeda y Shruti (2017).

El mucílago de la chía también está siendo objeto de estudio como hidrocoloide, como sustituto de grasa y para mejorar el perfil nutricional en derivados cárnicos como el jamón (Ding et al., 2018), hamburguesas (Heck et al., 2017), salchichas (Herrero et al., 2017; Scapin et al., 2015; Pintado et al., 2017) y finalmente algunos estudios incorporan harina de chía en productos de carne de pescado para mejorar sus perfiles nutricionales (Carbonera et al., 2016; Riernersman y María, 2016).

La microencapsulación del aceite de chía es otra alternativa que está siendo objeto de investigación (muy poco explorada) para la incorporación en formulaciones de productos alimenticios, con el mismo fin de mejorar el contenido nutricional, reemplazar nutrientes perdidos durante el procesamiento y también añadir otros ingredientes bioactivos con beneficios para la salud, sin cambiar las características sensoriales del producto alimenticio final.

Finalmente, las propiedades nutricionales, funcionales y tecnológicas de la chia están siendo aprovechadas para la elaboración de panes y pastas libres de gluten, con el fin de mejorar su perfil nutricional y suplir la funcionalidad de la red de gluten (Pellegrini y Agostoni, 2015; Costantini et al., 2015; Moreira et al., 2013; Rendón-Villalobos et al., 2012; Menga et al., 2017).

#### 1.1.8. Aspectos legislativos de la chía

Mediante la Resolución Conjunta 201/2008 y 567/2008 se realizó una modificación del Artículo 896 bis, a fin de incorporar la semilla de chía en el Código Alimentario Argentino (CAA). En dicho artículo, “se denomina semillas de chía a las semillas sanas, limpias y bien conservadas de *Salvia hispanica* L., de color marrón oscuro, tamaño muy pequeño y de buena fluidez, con aroma suave, agradable y propio de la semilla”. El máximo contenido de agua permitido (determinado a 100- 105°C) es de 7%, con un mínimo de 33% de materia grasa, menos de 0,5% de semillas dañadas y libres de insectos vivos. Las semillas no deben contener más de 1% de materias extrañas, de las cuales el material mineral debe ser inferior a 0,25%, mientras que los insectos muertos, fragmentos o restos de insectos y/u otras impurezas de origen animal no deben superar el 0,1% (Código Alimentario Argentino, 2008).

En el año 2009, se incorporó al CAA el Artículo 1407 bis, en el cual se incluyó con la denominación de harina de chía al producto proveniente de la molienda de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.), debiendo presentar esta última característica de semillas sanas, limpias y bien conservadas, que han sido sometidas a prensado para la remoción parcial o prácticamente total del aceite que contienen. En el mismo, se tienen en cuenta dos tipos de harina de chía, según lo especificado en la Tabla 1.4.

**Tabla1.4. Composición de diversos tipos de harina de chía autorizadas en el Código Alimentario Argentino**

Harina de chía	Parcialmente desgrasada	Desgrasada
Humedad (100-105°C) (%)	9	5
Proteína (N x 6,25) mín (%)	20	29
Grasa (Extracto etéreo) máx (%)	18	7
Fibra total máx (%)	35	52
Cenizas (500-550°C) máx	5	6

Fuente. (Art. 1407 bis, CAA, 2008)

En el mismo año, mediante Resolución Conjunta 76/2009 y 391/2009 Modificación (06/2009), se autorizó el uso de aceite de chía exclusivamente en suplementos dietarios, en los términos del Artículo 1381 del Código Alimentario Argentino (CAA). A nivel internacional, la semilla de chía es considerada como un suplemento dietario por la FDA (Food and Drug Administration EE. UU.). Por otra parte, en el año 2009, quedó autorizada en el mercado comunitario (Unión Europea) la comercialización de semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) y semillas de chía trituradas, para ser utilizadas como un nuevo ingrediente alimentario en productos de panadería con un contenido máximo de semillas de chía del 5% (Comisión de las Comunidades Europeas, 2009).

#### 1.1.9. Alimentos funcionales

Las tendencias mundiales de la alimentación indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones fisiológicas del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron un nuevo desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales. Los conceptos de "alimento funcional" y "alimento saludable" son términos relativamente nuevos para la cultura occidental. Sin embargo, desde 1000 a.C. se reconoce el papel de los alimentos en la prevención y tratamiento de muchas dolencias. Este término fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("Alimentos de uso exclusivo para la salud" o FOSHU) (Saito, 2007). Este sistema describe 11 categorías de ingredientes con actividad fisiológica (Mazza 2000): Fibras alimentarias, oligosacáridos, alcoholes derivados de azúcares, ácidos grasos poliinsaturados, péptidos-proteínas, glucósidos, isoprenoides-vitaminas, alcoholes-fenoles, colinas (lecitina), bacterias del ácido láctico, minerales entre otros.

Los alimentos con la aprobación FOSHU están soportados por informes de seguridad, evidencias científicas sobre el efecto en los humanos y la composición o un análisis nutricional correspondiente. De acuerdo con los japoneses, un alimento funcional debe cumplir 3 condiciones (Schneider, 2001):

1. Estar constituido por ingredientes naturales.
2. Se debe consumir como parte de una dieta diaria.
3. Ser un alimento que al consumirse presente una particular función en el cuerpo humano, como: Mejoramiento en los mecanismos de defensa biológica, prevención o recuperación de algunas enfermedades específicas, control de las condiciones físicas y mentales, retardo del proceso de envejecimiento.
4. Tener alegaciones de salud autorizadas y con base científica.

La legislación europea relativa al etiquetado prohíbe atribuir a los alimentos propiedades preventivas, terapéuticas o curativas, y la referencia a dichas propiedades (Mazza, 2000). En Estados Unidos se permite desde 1993 que se aleguen propiedades “que reducen el riesgo de padecer enfermedades” en ciertos alimentos. Solo se autoriza una declaración de beneficio para la salud en el etiquetado de productos regulados por la administración para alimentos y medicamentos (FDA), siempre que existan evidencias científicas públicamente disponibles que demuestren la validez de la relación descrita en esa declaración (Thomson et al., 1999). La posición oficial de la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos es: “*Las sustancias específicas de los alimentos pueden favorecer la salud como parte de una dieta variada*” (CFR, 2010), en virtud de esto, la FDA ha propuesto diversas alegaciones sobre componentes particulares cuyo consumo afecta de manera beneficiosa la salud de quienes los incluyen en su dieta diaria.

El éxito actual de la industria alimentaria depende de la capacidad de adaptación e innovación de productos de calidad que satisfagan las expectativas y además respondan a las necesidades sociales de los consumidores. Para desarrollar un alimento funcional es necesario conocer los gustos y las necesidades nutricionales de la población a la que van destinados estos productos. Se espera con su consumo mejorar el estado alimenticio y de salud de la población en su conjunto, por lo que las características organolépticas del alimento funcional deberán ser del agrado y aceptación del consumidor. Esto hace que no cualquier alimento pueda ser fortificado, aunque técnicamente sea posible (Cortés et al. 2005).

La búsqueda de una alimentación más saludable y la preferencia por aquellos productos que tengan algún beneficio para la salud del consumidor compromete a la industria de los alimentos a producir más alimentos con características benéficas para la salud. Entonces, un alimento puede convertirse en funcional mediante la aplicación de cualquier método tecnológico o biotecnológico que aumente la concentración o, incorpore, remueva o modifique un componente particular, así como también mejore su biodisponibilidad, siempre que se haya demostrado científicamente un efecto funcional. En este sentido considerando que las semillas de chía se caracterizan por su potencial perfil nutricional (alto contenido de proteínas, fibra y antioxidantes) y por sus propiedades tanto tecnológicas como funcionales, se convierte en un potente ingrediente adicional en la fabricación de productos alimenticios para mejorar las propiedades nutricionales. Considerando a la vez que las pastas alimenticias y muffins son productos atractivos y de alto consumo en Argentina y el mundo, se buscó mejorar sus propiedades nutricionales y antioxidantes mediante la incorporación de un subproducto obtenido como residuo en el proceso de extracción de aceite de las semillas de chía y obtener al mismo tiempo pastas y muffins con características tanto tecnológicas y sensoriales aceptables.

## **1.2. OBJETIVOS**

---

## 1.2. OBJETIVOS

### 1.2.1. Objetivo general

Utilizar la semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) en el desarrollo y formulación de productos farináceos y estudiar el efecto de su utilización sobre la calidad tecnológica, nutricional, funcional y sensorial de los productos elaborados.

### 1.2.2. Objetivos específicos

1. Obtener harina parcialmente desgrasada (HPDC) de las semillas de chía (fracción fibrosa) para su utilización en la formulación de pastas y productos de panadería tipo muffins.
2. Analizar el efecto de la incorporación de HPDC sobre los aspectos funcionales, tecnológicos, sensoriales y nutricionales de los productos elaborados frescos y durante su almacenamiento.
3. Estudiar la capacidad antioxidante del derivado de chía y de los productos elaborados con ella.
4. Estudiar el efecto del proceso de secado en las características físicas de pastas elaboradas con un derivado de chía. Modelar estadísticamente el secado de dichas pastas.
5. Realizar un estudio preliminar sobre el uso de microondas y ultrasonido para la extracción asistida de polifenoles a partir de la HPDC.

**OBTENCION Y  
CARACTERIZACIÓN DE HARINA  
PARCIALMENTE DESGRASADA DE  
CHIA**

---

## 2. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA

### 2.1. Introducción

Actualmente, la tendencia de los consumidores a seleccionar productos alimenticios de alto valor nutricional está fuertemente asociada a la salud y el bienestar. Esta situación se puede ver claramente en el mercado con el suministro de productos que son populares por su contenido en antioxidantes, omega 3, fibra dietética y otros componentes que las personas están aprendiendo a distinguir por sus beneficios sobre la salud. Se han buscado varias estrategias para resolver la falta de ácidos grasos omega-3 y omega-6, minerales, vitaminas y aminoácidos esenciales para mejorar la calidad de vida. Hoy en día, el desarrollo de nuevos productos desempeña un papel importante en la industria alimentaria (Rendón-Villalobos et al., 2018). Como se mencionó anteriormente, la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) fue cultivada en América Central desde los mesoamericanos en tiempos precolombinos; esta planta pertenece a la familia de plantas Lamiaceae (Sandoval y Paredes, 2013). Desde 1991, este cultivo se ha desarrollado con éxito en Argentina, principalmente en el norte del país en las provincias de Salta y Jujuy, donde hoy en día se ha convertido en una actividad económica muy importante (Martínez et al., 2012). Las semillas de chía son una de las mejores fuentes naturales de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) linoléico [ALA; 18:3 (omega-3)] que presenta una proporción altamente beneficiosa de omega 3/omega 6 (Menga et al., 2017). Se ha visto que el contenido de aceite de estas semillas es de alrededor del 30-35% y el contenido de proteínas es entre 19-27% similar al encontrado en lentejas (23%), arvejas (25%) y garbanzo (21%) (Olivos-Lugo et al., 2010), con un muy buen balance de aminoácidos esenciales, especialmente metionina y cisteína (Menga et al., 2017). Además, el contenido de fibra dietética de las semillas de chía está entre 34-50%, más alto que el contenido en lentejas (8%), arvejas (3%) y garbanzos (17%) (Sandoval-Oliveros y Paredes-Lopez, 2013), lo que la convierte en una semilla prometedora para la producción de alimentos funcionales (Muñoz et al., 2012). Además, las semillas de chía también contienen compuestos antioxidantes, la mayoría de ellos son derivados del ácido cafeico, como el ácido rosmarínico, el danshensu y sus glucósidos (Oliveira-Alves et al., 2017). Los compuestos fenólicos principalmente identificados son myricetina, quercetina, kaempferol, ácido clorogénico, dialdehído del ácido 3,4-dihidroxifeniletanol-elenólico (Marineli et al., 2014). La actividad antioxidante es una de las propiedades más estudiadas en los alimentos. Muchos autores sugieren que está involucrada en la protección contra el daño oxidativo de las

células y tejidos, desempeñando un papel importante en la prevención de numerosas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como el cáncer, la diabetes y los problemas cardiovasculares (Dias et al., 2017). En general, la capacidad antioxidante se atribuye a los compuestos fenólicos (Kwee, 2016).

En el proceso de extracción de aceite de las semillas de chía, una fracción rica en fibra, proteínas y polifenoles se obtiene como residuo (Vasquez-Ovando et al., 2009). Esta fracción, denominada harina de chía parcialmente desgrasada (HPDC), podría ser una alternativa para mejorar el perfil nutricional y la capacidad antioxidante de los productos tradicionales elaborados a base de harina de trigo. Teniendo en cuenta los parámetros relacionados con el proceso de extracción de aceite de chía por prensado que estudiaron Martínez et al. (2012), el objetivo de la presente sección fue determinar las mejores condiciones de extracción de aceite para maximizar su rendimiento conservando la calidad química, estabilidad oxidativa del aceite y el contenido de polifenoles con capacidad antioxidante de la HPDC.

## **2.2. Materiales y métodos**

Las semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) se obtuvieron en el mercado local de la ciudad de Córdoba-Argentina. Todos los reactivos químicos fueron de grado analítico (DPPH, ácido gálico, trolox, Folin-Ciocalteu, acetona), adquiridos de Sigma Aldrich (Suiza). Se usó ciclohexano de grado espectrofotométrico (Sintorgan, Argentina) para el análisis de K232, K270.

### **2.2.1. Obtención de aceite y de la harina parcialmente desgrasada de chía (HPDC)**

En primera instancia, para comenzar a explorar el sistema se obtuvo y se caracterizó a la HPDC, con el fin de revalorizar a esta fracción no lipídica de las semillas de chía dándole otro tipo de aplicaciones como ingrediente alimentario en otras matrices.

#### **2.2.1.1. Obtención de HPDC por prensado**

La extracción del aceite se llevó a cabo a escala piloto en un solo paso con una prensa de tornillo helicoidal Komet, (Modelo CA 59 G, IBG Monforts, Alemania-Figura 2.1). La longitud efectiva fue de 3,1 cm, la longitud total fue de 7 cm y el diámetro interno del cilindro de la prensa fue de 3,5 cm. La longitud y el diámetro del tornillo fueron 15 y 3 cm.

Previo al acondicionamiento de las semillas de chía, se determinó, por duplicado, el contenido inicial de humedad de estas, mediante el método de la AOCS (2016). Para ello 10 g de semillas molidas, fueron secadas en estufa hasta peso constante a una temperatura de 130 °C durante 2 horas. El contenido de humedad se obtuvo por diferencia gravimétrica.

Posteriormente 300 g de semillas de chía fueron llevadas hasta un porcentaje de humedad (%H) que osciló entre 9,5 y 12% b.h, las mismas fueron introducidas en bolsas plásticas herméticamente cerradas y se las agitó a distintos intervalos de tiempo por 48 h para alcanzar el porcentaje de humedad deseado de manera uniforme en toda la muestra. Posteriormente las semillas de chía ya hidratadas fueron calentadas antes del prensado en temperaturas de acondicionamiento que oscilaron entre 30 y 90 °C. La velocidad de la prensa fue de 20 rpm y el diámetro de reducción de 6 mm. Los niveles máximos y mínimos de las variables de diseño identificadas fueron definidas en base al estudio preliminar de las condiciones de extracción de aceite de las semillas de chía que realizaron Martínez et al. (2012). Este estudio consistió en la puesta en práctica de un diseño experimental que optimice las condiciones extractivas realizadas por estos autores.

Las semillas acondicionadas fueron suministradas paulatinamente a la prensa desde la tolva por gravedad. Los componentes de la prensa de tornillo y la muestra fueron calentados primero durante 30 minutos para obtener la temperatura deseada en cada tratamiento. La temperatura durante el proceso de extracción fue constantemente evaluada con un termómetro digital (TES Termómetro 1307 Tipo K) insertado en el diámetro de reducción. Para que el dispositivo alcance las condiciones de operación en régimen, se encendió 15 min antes de cada extracción.

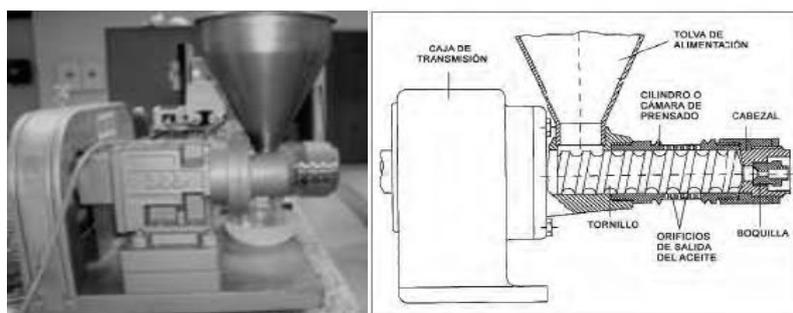


Figura 2.1. Prensa de tornillo helicoidal a escala piloto

La harina de chía parcialmente desgrasada (HPDC) obtenida como residuo en el proceso de extracción de aceite fue reducida de tamaño con la utilización de un molino de cuchillas y posteriormente tamizada por una malla con abertura 0,25 mm.

#### **2.2.1.2. Obtención de HPDC por solvente**

Las semillas de chía también fueron parcialmente deslipidizadas con la utilización de hexano. Para ello, cinco gramos de semillas de chía molidas se agitaron durante 15 h con 10 mL de hexano, la solución se filtró y el sobrenadante se evaporó para medir el contenido de aceite. La HPDC obtenida como residuo de la extracción de aceite se denominó muestra (HEX).

#### **2.2.2. Diseño experimental. Optimización del proceso de extracción por superficie respuesta**

Teniendo en cuenta el estudio preliminar de la optimización de los parámetros de procesamiento relacionados con la extracción de aceite de chía realizado por Martínez et al., (2012) en donde concluyeron que la hidratación excesiva de las semillas por encima del 19% da como resultado bajos rendimientos de extracción de aceite, además no pudieron realizar el prensado exitosamente con un contenido de humedad por debajo del 11% debido a taponamiento de la prensa. En tal sentido, se buscó evaluar si la aplicación de condiciones drásticas tanto de humedad y temperatura mejora el rendimiento de la extracción de aceite obteniendo un residuo (HPDC) con bajo contenido de este. Para ello se utilizó la metodología de superficie respuesta (MSR) con el fin de optimizar el rendimiento de extracción de aceite con una buena calidad química sin alterar las propiedades antioxidantes de la torta residual (HPDC) (Montgomery, 2005; Martínez et al., 2012; 2017; Martínez y Maestri, 2015). Para ello, se seleccionó un diseño central compuesto (Montgomery, 2005) con el fin de identificar la interacción entre los parámetros de mayor influencia en el proceso y las variables de respuesta, así como las condiciones que optimizan el proceso de extracción de aceite.

Entonces se realizó un diseño factorial  $2^2$  con 12 tratamientos y 4 puntos centrales utilizando dos niveles diferentes para cada uno de los dos factores identificados: % humedad de la semilla (%H) ( $X_1$ : 10 y 12%) y temperatura de pre-prensado (TP) ( $X_2$ : 30 y 90 °C). La velocidad de la prensa de tornillo (20 rpm) y el diámetro de reducción (6 mm) se establecieron de acuerdo con las condiciones óptimas

encontradas por Martínez et al., (2012). Las respuestas evaluadas en los aceites extraídos en este diseño fueron, rendimiento de aceite: RA (g/100 g de aceite) (Y1) y calidad del aceite: porcentaje de sólidos en el extracto SE (g sólidos/100 g de extracto) (Y2), índice de peróxido (IP) (meq O<sub>2</sub>/kg aceite) (Y3), contenido de ácido graso libre (CAGL) (mg KOH/g de aceite) (Y4), coeficientes de extinción específicos K232 (Y5) y K270 (Y6), contenido de pigmentos: carotenoides (CCa) (mg/kg de aceite) (Y7), contenido de clorofila (CCI) (mg/kg de aceite) (Y8), contenido total de tocoferoles (TT) (μg tocoferoles totales/g aceite) (Y8). Las respuestas evaluadas en los residuos obtenidos (HPDC) fueron: contenido de polifenoles totales (CTP) y actividad antioxidante (AA).

Un modelo polinomial de segundo orden (ecuación 1) se utilizó para expresar las respuestas (Yn) en función de los factores; donde Y (variable dependiente) es la respuesta estimada, β<sub>0</sub> es el término constante, β<sub>i</sub> representa los coeficientes de los parámetros lineales, X<sub>i</sub> (variables independientes) representa los factores, β<sub>ii</sub> representa los coeficientes del parámetro cuadrático y β<sub>ij</sub> representa los coeficientes de los parámetros de interacción.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (\text{Ec. 1})$$

### 2.2.3. Análisis del aceite obtenido

Una vez finalizado el proceso de extracción de aceite, el mismo fue centrifugado a 15000 rpm por 15 minutos a 10 °C para separar los sólidos en suspensión (SE). Luego de la centrifugación se separó el sobrenadante y se pesó el aceite a fin de obtener el rendimiento de la extracción (RA).

El índice de acidez (IA) es el porcentaje de ácidos grasos libres expresado como ácido oleico, cuanto menor el índice de acidez, de mayor calidad será el aceite. Se determinó de acuerdo con el método de la AOCS, 2009. Se mezcló 0,20 ± 0,01 g de aceite, una mezcla de 3,5 mL de etanol desnaturalizado, 3,5 mL de éter etílico y 0,3 mL de solución de fenolftaleína (1%, p/v) en un Erlenmeyer de 50 mL. El índice de acidez (IA) del aceite se obtuvo por titulación de esta mezcla con una solución

etanólica de KOH 0,02 N, y se expresó como % de ácido oleico, según la siguiente ecuación 2:

$$IA = \frac{V * PM * N}{10 * g \text{ de aceite}} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde:

V = mL de solución etanólica de KOH utilizados para la titulación.

PM = peso molecular del ácido oleico (PM: 282).

N = normalidad de la solución de KOH.

El valor del índice de peróxidos (IP) y los coeficientes de extinción específicos (K232 y K270), fueron analizados de acuerdo con los métodos de la AOCS (AOCS, 2009). El IP determina la cantidad de oxígeno activo (meq) contenido en 1 kg de lípidos, que podría oxidar al yoduro de potasio, seguido por la liberación de yodo. Para ello, se agitaron vigorosamente 5,00 ± 0,05 g de aceite en 30 mL de una solución de ácido acético:cloroformo (3:2, v/v) en un erlenmeyer de 250 mL, posteriormente se adicionaron 0,5 mL de una solución saturada de yoduro de potasio, se agitó y luego se dejó en reposo en oscuridad durante 1 min. Posteriormente, se incorporaron 30 mL de agua destilada y se tituló, agitando continuamente, con una solución 0,1 N de tiosulfato de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) hasta la desaparición del color amarillo. Finalmente se adicionaron 0,5 mL de solución de almidón (1%, p/v) y se continuó titulando hasta la desaparición del color azul. El índice de peróxidos se expresó como miliequivalentes de O<sub>2</sub>/kg de aceite y se calculó en base a la siguiente ecuación 3:

$$IP = \frac{S * N * 1000}{g \text{ de aceite}} \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

S = mL de solución de tiosulfato de sodio consumidos

N = normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

Los coeficientes de extinción específicos (K232 y K270), son indicadores del estado de calidad y conservación del aceite. Para su determinación se agregó 0,15 ± 0,01 g de aceite en un matraz aforado de 25 mL y se enrasó hasta el volumen final con ciclohexano de grado cromatográfico. Se midió la absorbancia que estuviera dentro del rango de 0,1 y 0,8 de una alícuota de la solución resultante a 232 nm o 270 nm en un

espectrofotómetro UV/Vis Perkin Elmer Lambda 25 utilizando ciclohexano puro como referencia. El coeficiente de extinción  $K_{232}$  se dedujo según la Ley de Lambert-Beer.

$$K_{232} \text{ o } K_{270} = \frac{A_{232} \text{ ó } A_{270}}{b * c} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

$A_{232}$  o  $A_{270}$ : Absorbancia de la disolución del aceite a 232 nm o 270 nm

b: paso óptico de la cubeta

c: concentración, % de aceite en la disolución

La cuantificación e identificación de tocoferoles totales (TT) se realizó según el procedimiento propuesto por Martínez et al. (2008). Para ello se agitaron vigorosamente  $200 \pm 10$  mg de aceite con 5 mL de tolueno durante 20 segundos a temperatura ambiente. A esa mezcla se adicionaron 3,5 mL de solución etanólica de 2,2-biperidina al 0,07% (p/v) y 0,5 mL de solución etanólica de cloruro férrico hexahidratado al 0,2% (p/v) y se enrasó a un volumen de 10 mL con etanol. Se dejó reposar por 1 minuto en oscuridad y se midió la absorbancia de una alícuota de la mezcla a 520 nm en un espectrofotómetro UV/Vis Perkin Elmer Lambda 25, utilizando el disolvente puro tolueno como referencia y se preparó un blanco siguiendo la misma metodología anteriormente descrita. La concentración de tocoferoles totales se calculó en base a una curva de calibración realizada con el estándar de  $\alpha$ -tocoferol. El contenido de tocoferoles totales se expresó como  $\mu\text{g TT/g}$  aceite.

La determinación de pigmentos se evaluó según el procedimiento propuesto por Minguez-Mosquera et al. (1991), los mismos fueron expresados como mg del pigmento/kg de aceite. Para ello se diluyeron 7,5 g de aceite en 25 mL de ciclohexano grado espectrofotométrico. Se midió la absorbancia de una alícuota de la mezcla (fracción de clorofila Cl a 670 nm y fracción de carotenoides CA a 470 nm). La concentración de cada fracción de pigmentos se obtuvo aplicando la siguiente ecuación 5:

$$C = \frac{(A * V * f)}{(A1\% * P)} * 1000 \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde:

C = concentración de pigmentos totales (mg de clorofilas o carotenoides/kg de aceite).

A = absorbancia a la longitud de onda específica.

Vf = volumen final de la solución aceite:ciclohexano (mL).

P = peso de la muestra de aceite (g).

A1% = absorbancia específica en una solución al 1% medida en una cubeta de 1 cm de paso óptico (A1% feofitina = 613; A1% luteína = 2000).

Finalmente, la capacidad antiradicalaria (CAR) del aceite se determinó por el método DPPH según (Martínez y Maestri, 2008). El DPPH se caracteriza por ser un radical libre estable, en virtud de la deslocalización del electrón libre en su estructura molecular, impidiendo la dimerización del compuesto. A su vez la deslocalización del electrón le proporciona un color violeta oscuro, que en solución etanólica presenta una absorción en el espectro UV-Visible alrededor de los 520 nm. Al mezclar la solución de DPPH con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno, se da lugar a la forma reducida (Figura 2.2) con la subsiguiente pérdida del color violeta (Sagar y Singh, 2011).

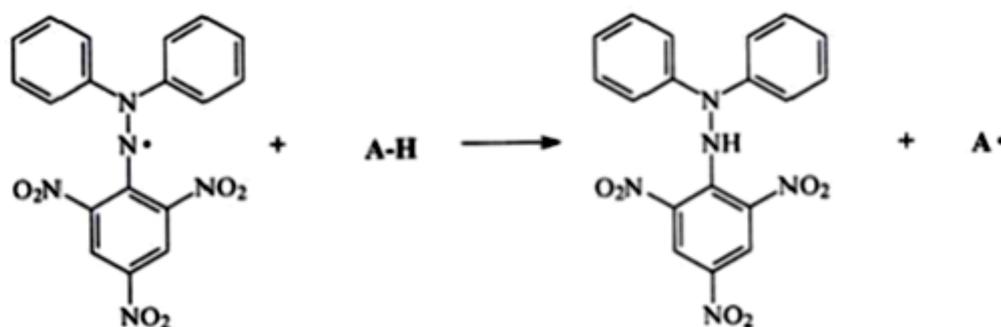


Figura 2.2. Reacción de estabilización radicalaria. DPPH (izquierda) y su correspondiente hidrazina (derecha) (Sagar y Singh, 2011)

Para la determinación de la capacidad antiradicalaria de los aceites (CAR) se agitaron 100 mg (en 1 mL de tolueno) de cada aceite durante 20 s. A esa mezcla se añadieron 3,9 mL de solución de tolueno ( $10^{-4}$  M) del DPPH estable libre (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) en tolueno y se agitó. La absorbancia fue medida a 515 nm después de 1, 30 y 60 minutos de incubación empleando un espectrofotómetro visible de rayos UV (Perkin-Elmer Lambda 25, Shelton, CT, EE. UU.), empleando tolueno puro como referencia. La capacidad antiradicalaria (CAR) del aceite se calculó a partir de la ecuación 6:

$$CAR = \frac{(Ac-Am)}{Ac} * 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

Ac = Absorbancia control

Am = Absorbancia de la muestra

CAR: expresa la cantidad de radicales que permanecen en el medio después de que los antioxidantes en la muestra de aceite se agoten (Espín et al., 2000).

Los ensayos fueron realizados por triplicado y los resultados fueron expresados como % de inhibición para una mejor explicación de los resultados.

#### **2.2.4. Análisis de la HPDC obtenida**

Cada uno de los diferentes residuos (HPDC) obtenidos en el proceso de extracción de aceite de chía se molieron (0,25 mm) y fueron deslipidizados con 50 mL de hexano durante 15 h en oscuridad. Las mezclas obtenidas se filtraron y se secaron a 35 °C hasta peso constante.

##### **2.2.4.1. Extracción de compuestos fenólicos libres (L)**

La extracción de la fracción libre de los compuestos fenólicos (L) se realizó con una mezcla de acetona/agua (4:1). Cinco gramos de harina de chía parcialmente desgrasada (HPDC) fueron agitados en 20 mL de la mezcla de disolventes (acetona/agua) durante 1 h en oscuridad, el sobrenadante se recuperó por filtración a través de un filtro de celulosa, este procedimiento se repitió dos veces para cada muestra. Finalmente, los sobrenadantes recuperados se llevaron hasta sequedad en un evaporador rotatorio a presión reducida a 50 °C y se reconstituyó con 5 mL de metanol (grado HPLC). Las muestras se prepararon por duplicado y se almacenaron a -80 °C hasta su posterior análisis.

##### **2.2.4.2. Extracción de compuestos fenólicos unidos (U)**

Después de la extracción de los polifenoles libres se obtuvo un residuo sólido que fue secado durante 2 h a 35°C. Posteriormente se realizó una hidrólisis básica con 20 mL de NaOH 2M para romper uniones éster y éter, la solución se agitó a 250-300 rpm por 15 h a 25°C en oscuridad. Luego, la muestra fue acidificada y homogenizada por 90 segundos con 4 mL de HCl concentrado, hasta llegar a un pH < 2 para precipitar ligninas. La muestra fue centrifugada a 12000 rpm por 20 min a 4°C en una ultracentrífuga (Beckman Coulter modelo Avanti J-25). Se agregó 15 mL de una mezcla fría de éter etílico/acetato de etilo (1:1) para extraer los polifenoles del sobrenadante

y se agitó durante 1 min. La muestra se centrifugó a 6000 rpm por 15 min a temperatura ambiente (centrífuga Eppendorf 5804). La extracción con acetato de etilo/éter etílico se repitió 2 veces más y los extractos orgánicos obtenidos se evaporaron a 50°C hasta sequedad y se reconstituyó con 5 mL de metanol de grado HPLC. La fracción fenólica unida (U) se almacenó a -80°C hasta su posterior análisis.

#### **2.2.4.3. Determinación del contenido total de polifenoles (CTP)**

El CTP de los extractos libres (L) y unidos (U) se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu según (Orthofer y Lamuela-Raventos, 1999). En un tubo de Khan se mezclaron 5 µL del extracto con 1,68 mL de agua ultrapura y 100 µL de metanol. Luego, se agregaron a la mezcla 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 300 µL de carbonato de sodio acuoso al 20%, se agitaron en un vórtex durante 30 segundos y se dejaron reaccionar durante 120 minutos a temperatura ambiente en oscuridad. La lectura de la absorbancia se realizó a 750 nm. El contenido de polifenoles totales CTP se calculó en base a una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g de muestra. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

#### **2.2.4.4. Determinación de la capacidad antioxidante (AA)**

La actividad antioxidante de cada uno de los tratamientos (HPDC) se determinó a través de tres métodos químicos: Método FRAP (poder antioxidante de reducción del ión férrico-PR), DPPH (capacidad antiradicalaria-CAR) y por TEAC (capacidad atrapadora de radicales libres-CA). En los tres métodos se utilizó como estándar un análogo hidrosoluble de la vitamina E.

##### **2.2.4.4.1. Método (FRAP) Poder reductor (PR)**

Se utilizó el método FRAP para evaluar la capacidad que poseen los compuestos antioxidantes presentes en la muestra en reducir, por transferencia de electrones, el ión férrico ( $Fe^{3+}$ ) a ferroso ( $Fe^{2+}$ ) en medio acuoso ácido (pH = 3,6). La reacción de reducción de 2,4,6,-tripiridil-s-triazina (TPTZ) genera un producto coloreado con un máximo de absorbancia de 593 nm. La reacción es pH dependiente y el aumento de la concentración del  $Fe^{2+}$ -TPTZ es linealmente dependiente de la concentración de antioxidantes presentes en la muestra. Este método presenta una desventaja que es que solo mide la capacidad de reducción del ión férrico, lo cual no es relevante desde

el punto de vista fisiológico. No obstante, comparado con otros ensayos, es un método rápido, simple, robusto, económico y no requiere equipamientos muy especializados (Prior et al., 2005).

El ensayo FRAP se realizó de acuerdo con (Benzie y Strain, 1996) con algunas modificaciones. El reactivo de trabajo se preparó con un tampón acetato de pH 3,6, una solución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  20 mM y una solución de TPTZ 10 mM en HCl 40 mM (10: 1: 1, respectivamente). Se agregaron 5  $\mu\text{L}$  de muestra a 3 mL de solución de FRAP y 95  $\mu\text{L}$  de metanol. Las mezclas se reservaron en oscuridad durante 30 minutos y se midieron a 593 nm de absorbancia contra un blanco procesado de la misma forma, en el cual la muestra fue reemplazada por el solvente de dilución. El PR de cada muestra se determinó extrapolando su absorbancia en una curva de calibración usando como estándar Trolox. El rango de linealidad utilizado fue de 0 a 0,020 mM y los estándares se procesaron diariamente por triplicado de la misma forma que las muestras y los blancos. Los resultados se expresaron en mmol ET/100 g de HPDC.

#### 2.2.4.4.2. Método (TEAC) Capacidad atrapadora de radicales libres (CA)

El método TEAC fue planteado inicialmente por Rice-Evans y Miller (1994) y consiste en reducir *in situ* el radical ferrilmioglobina con peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en presencia del precursor ABTS y producir el radical catión  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . Actualmente existen variaciones en la generación del  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , que consisten en hacer reaccionar el ABTS con dióxido de manganeso, persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) o ABAP (2,2'-azo-bis-(2-amidinopropano)) (Prior et al., 2005). El mecanismo del método TEAC consiste en medir la capacidad que tiene un compuesto para captar el radical coloreado (verde-azulado)  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ , convirtiéndolo en un producto decolorado (Arts et al., 2003). Este radical tiene un espectro de absorción característico, con máximos a 414, 645, 734 y 815 nm, es muy estable químicamente y soluble en medio acuoso y etanólico. La reacción no depende del pH y la capacidad de captación del radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  es linealmente dependiente de la concentración de antioxidantes presentes en la muestra (Prior et al., 2005).

Este método es aplicable al estudio de antioxidantes tanto hidrosolubles como liposolubles, de compuestos puros y de extractos de alimentos (Awika et al., 2003) y se puede utilizar para estudiar el efecto del pH sobre los mecanismos antioxidantes (Lemanska et al., 2001). El ensayo TEAC se llevó a cabo según el método propuesto por Re et al. (1999) con algunas modificaciones, donde se generó el radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  a

través de la reacción con persulfato de potasio y de la aplicación propuesta por Lopez-Martinez et al. (2009). Para generar el radical ABTS•+, se mezcló 10 mL de una solución de ABTS 7 mM en agua ultra pura, con 6,7 mg de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> la misma se estabilizó durante 12 a 15 h bajo oscuridad a temperatura ambiente. Para preparar el reactivo de trabajo se diluyó la solución concentrada de ABTS•+ con metanol hasta llegar a una absorbancia de 0,80 ± 0,02, a una longitud de onda de 734 nm y a una temperatura de 25 °C. En un tubo Khan se agitaron 3 mL del reactivo de trabajo con 95 µL de metanol y 5 µL de cada extracto. Se dejó reposar por 30 min a temperatura ambiente protegidos de la luz. La absorbancia de la solución fue medida a 734 nm contra un blanco procesado de la misma manera donde la muestra en este último fue reemplazada por el solvente de la dilución. La CA de cada muestra se determinó a través de la extrapolación de su absorbancia en una curva de calibración usando Trolox como estándar con un rango de linealidad de 0 a 0,032 mM. Las muestras fueron ensayadas por triplicado y los resultados fueron expresados como mmoles equivalente de Trolox por 100 g de muestra (mmol ET/100 g HPDC).

#### **2.2.4.4.3. Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH. Capacidad antiradicalaria (CAR) o donador de hidrógenos**

El otro método utilizado para evaluar la capacidad de la HPDC en neutralizar los radicales libres fue el método DPPH según (Brand-Williams et al., 1995) para matrices sólidas mediante el uso de una solución de trabajo de DPPH en metanol a una concentración de 24 mg/L. Se agregaron 3 mL de la solución de trabajo a 5 µL de muestra y 95 µL de metanol. Las mezclas se reservaron en oscuridad durante 15 minutos y se midieron a una absorbancia de 515 nm. Para los cálculos se realizó una curva de calibración utilizando también Trolox como estándar. La CAR se analizó por triplicado y en esta matriz se expresó como mmol ET/100 g de HPDC para una mejor interpretación de los resultados.

#### **2.2.4.5. Análisis proximal de la HPDC**

Se eligió el residuo (HPDC) con los parámetros que obtuvieron un mejor rendimiento de aceite y se evaluó el contenido de proteínas, cenizas y fibra dietética (FDT) y se realizó la cuantificación de ácidos grasos. El contenido de proteína total (método 46-13; AACC, 2000) se valoró utilizando el micro método de Kjeldahl modificado para ácido bórico. El método se basa en una mineralización de 200 mg de muestra con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 400 °C en un bloque de digestión MB-6, Raypa (R. Espinar SL,

Terrassa, España). El producto de la digestión (Destilador UDK 126, Velp Scientifica SRL, Usmate Velate, Italia) fue destilado sobre ácido bórico. El destilado se tituló con HCl (0,0388 N). El porcentaje de proteína total se calculó utilizando como factor de conversión 6,25 para alimentos en general.

El contenido de cenizas (método 08-01; AACC, 2000) se determinó por diferencia de peso (2 g de muestra), antes y después de incinerar la muestra en mufla a 600 °C hasta peso constante. del residuo (HPDC) con las mejores características antioxidantes y la de menor contenido de aceite residual.

El contenido de FDT se determinó por duplicado a la pasta cruda y a la HPDC según AACC (2001) modificado por Bustos (2011). Se utilizó el kit de fibra alimentaria de Megazyme (Megazyme International, Irlanda) para lo cual se utilizaron Erlenmeyers de 500 mL en los cuales se pesó 0,2 g para HPDC, 1 g para pasta control y 0,5 g para pastas con HPDC, cada muestra con un porcentaje de grasa menor al 10% en base seca y un blanco por tanda. Seguidamente se adicionaron 50 mL de buffer fosfato -  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,08 M (pH=6,0) y 50  $\mu\text{L}$  de  $\alpha$ -amilasa termoestable, se incubaron las muestras a baño maría (100 °C) durante 30 min con agitación constante y fueron digeridas enzimáticamente con 100  $\mu\text{L}$  de proteasa de *Bacillus licheniformis* a 60 °C/30min (con corrección de pH a 7,5 con NaOH 0,275 M) para eliminar proteínas y 200  $\mu\text{L}$  de amiloglucosidasa a 60 °C/20min (ajuste de pH a 4,5 con HCl 0,325 N) para eliminar el almidón. Posteriormente se le agregó a cada recipiente un volumen de 280 mL de etanol al 95% de pureza a 60 °C y se dejó reposar durante 1 h, con el fin de que la fibra soluble presente precipite, el cual fue filtrado (en crisoles de placa porosa con una cama de celite previamente pesados) y lavado sucesivamente con etanol al 95% y acetona. El residuo de cada muestra fue secado a 105 °C y pesado, uno de los duplicados se utilizó para la determinar proteínas por el método de Kjeldahl y el otro duplicado para determinar cenizas por incineración a 525 °C con el fin de restar al peso seco del precipitado filtrado, los valores de proteína, cenizas y blanco para calcular el contenido de fibra dietaria total - FDT. Las muestras fueron analizadas por duplicado en dos días distintos y los resultados se expresaron como porcentaje en base seca.

Se analizó el perfil de ácidos grasos (método Ce1b 89; AOCS, 1991) omega-3 y omega-6. Para ello los aceites crudos (0,5 g) fueron saponificados con 30 mL de solución de KOH 1N en metanol mediante reflujo durante 45 min. El material

insaponificable se extrajo con n-hexano (3 x 30 mL). Los ácidos grasos hidrolizados se esterificaron con 50 mL de solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N en metanol mediante reflujo durante 45 min. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron extraídos con n-hexano (3 x 40 mL). La solución resultante fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y posteriormente filtrada y concentrada en un evaporador rotatorio a 40 °C.

La mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos fue analizada en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer, Shelton, EUA) según Maestri et al. (1998), equipado con detector de ionización de llama. La separación se llevó a cabo en una columna de fase Supelcowax-10, de 30 metros de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de fase. Se utilizó nitrógeno como gas portador (1 mL/min) y el siguiente programa de temperatura: T° inicial 180 °C, con un aumento de 4 °C/min hasta 240 °C (10 min). Los tiempos de retención relativos se consideraron con relación al del palmitato de metilo y el contenido de cada uno de los ácidos grasos identificados fue expresado como valor porcentual en relación con el contenido total de éstos. Las determinaciones fueron realizadas por triplicado y los resultados fueron expresados como mg de omega-3/100 g de aceite y omega-6/100 g de aceite.

#### 2.2.4.6. Calidad funcional de las semillas de chía y HPDC

La capacidad de hinchamiento de las semillas de chía (SwC) y de la HPDC se midió siguiendo el procedimiento expuesto por (García-Salcedo et al., 2018). Se agitaron 2,5 g de HPDC ó semillas de chía y 30 mL de agua destilada y se dejaron reposar durante 24 h a temperatura ambiente. Se tomó el volumen final (Vf) de las muestras en mL y el cálculo de la capacidad de hinchamiento (SwC) se determinó siguiendo la ecuación 7:

$$SwC = \frac{Vf (ml)}{\text{peso de la muestra (g)}} \quad (\text{Ec. 7})$$

Para la determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) de las semillas de chia y de la HPDC, se agitó 1 g de muestra con 30 mL de agua y se dejaron reposar durante 18 h. Posteriormente, la muestra se centrifugó a 2000 rpm durante 30 minutos, se extrajo el sobrenadante y se tomó el peso del residuo húmedo (WR). Finalmente, este residuo se secó a 105°C durante 24 h (DR). Los resultados se calcularon con la siguiente ecuación 8.

$$CRA (g) = \frac{WR (g) - DR(g)}{DR(g)} \quad (\text{Ec. 8})$$

Con los resultados obtenidos se determinó el porcentaje de solubilidad (%S) de acuerdo con la siguiente ecuación 9:

$$\% S = \frac{\text{peso muestra (g)} - DR(g)}{\text{peso muestra (g)}} * 100 \quad (\text{Ec. 9})$$

### 2.2.4.7. Perfil viscoamilográfico de la HPDC

Las propiedades de viscosidad se realizaron tanto a la harina de trigo como a la HPDC, fueron evaluadas por medio de un Viscosanalizador Rápido (RVA 4500, Perten Instrument, Suecia) de acuerdo con el método general estándar Newport Scientific Method 1 (STD1). Este equipo tiene la finalidad de ensayar las propiedades de viscosidad de las muestras, sometiéndolas a un ciclo de cocción (calentamiento-enfriamiento) registrando un perfil de viscosidad (Figura 2.3).

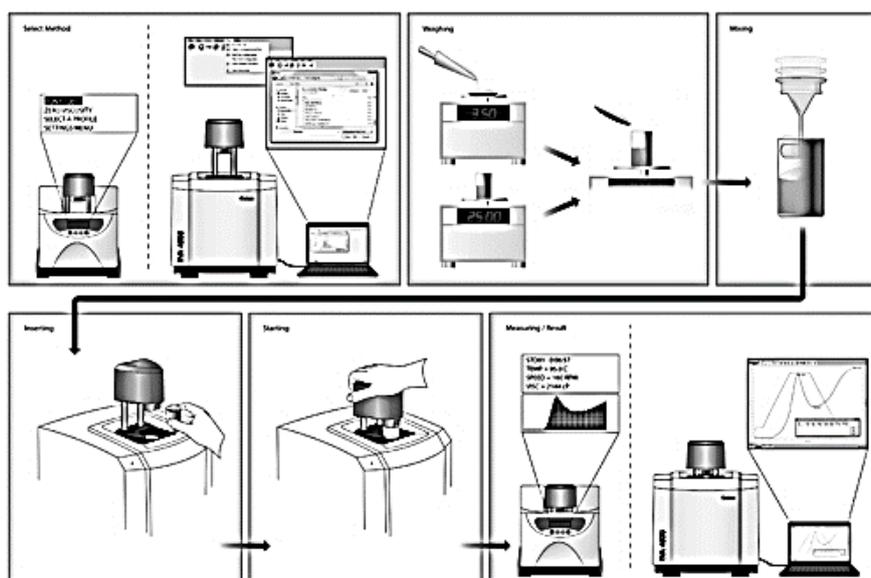


Figura 2.3. Operación del Viscosanalizador (RVA) 1) selección del método, 2) pesado 3) mezclado 4) inserción 5) arranque 6) medida-gráfico (Perkin Elmer instrument)

Este equipo mide la resistencia al flujo de una suspensión de agua-almidón cuando es sometida a una tensión de desplazamiento constante, incorporando a su vez

condiciones de tiempo y temperaturas específicas de acuerdo a la muestra, los cambios de viscosidad producidos por efecto del calentamiento y enfriamiento de una suspensión o dispersión de almidón en agua, generalmente provee una curva de viscosidad característica, lo que permite estudiar el proceso de gelatinización y gelificación del almidón. Este instrumento sustituye al amilógrafo de Brabender, el cual es un método que requiere mucho tiempo y una gran cantidad de muestra (Ávila, 2002).

Para ello se pesaron 3,5 g de muestra (humedad conocida) y se añadieron 25 mL de agua destilada. La dispersión fue agitada manualmente con la misma paleta que usa el equipo para la agitación y por último fue ubicada en la torre. Las dispersiones fueron mezcladas a 960 rpm por 10 s y posteriormente a 160 rpm. El periodo de calentamiento fue desde 50 °C hasta 95 °C en 4,7 min y se mantuvo a una temperatura de 95 °C durante 2,5 min con agitación constante y luego se enfrió nuevamente hasta 50 °C. A través del software TCW3,11,298, se obtuvo una curva de pasting como se muestra en la Figura 2.4.

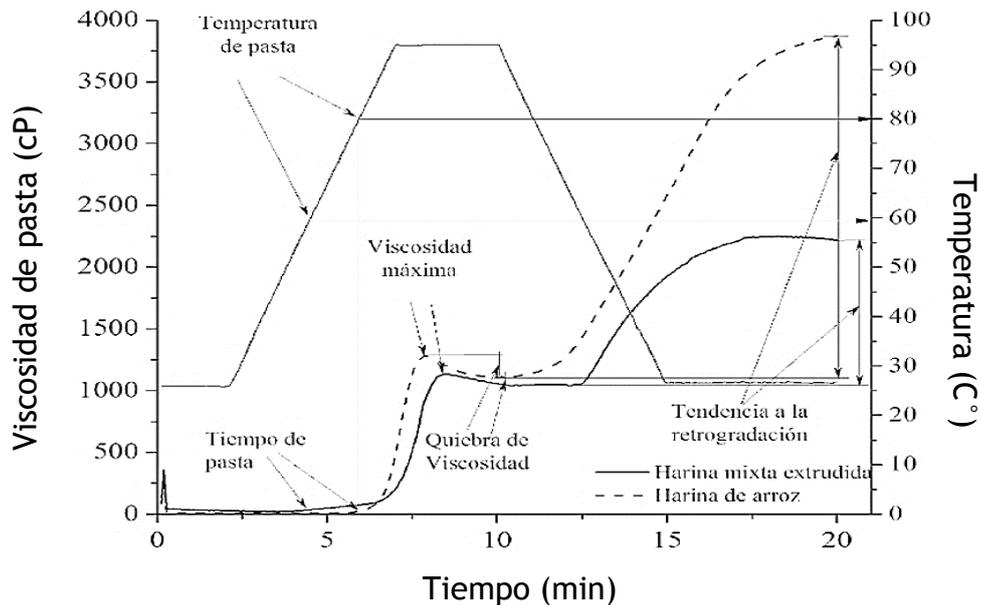


Figura 2.4. Perfil de viscosidad de una corrida en el RVA

Este análisis arroja distintos parámetros de acuerdo con las curvas de perfil de viscosidad obtenidas que son: Pico de viscosidad (PV), viscosidad media (VM), viscosidad final (VF), “breakdown” (BD: PV- VM) y “setback” (SB: VF - VM).

- Pico de viscosidad (PV): cuando un número suficiente de gránulos de almidón se hincha como consecuencia de la absorción de agua y la temperatura. Es la viscosidad máxima que la muestra puede llegar dentro del sistema.
- Viscosidad media (VM): Una vez alcanzado el PV, ocurre la ruptura de algunos gránulos y moléculas, principalmente de amilosa, se liberan al medio durante la gelatinización se orientan en sentido del flujo y como consecuencia de este fenómeno la viscosidad del sistema cae levemente.
- Viscosidad final (VF): se alcanza cuando ocurre el enfriamiento del sistema, a razón de esto la viscosidad aumenta debido a la reasociación de las moléculas de amilosa.
- Breakdown (BD): mide la facilidad con la que los gránulos hinchados pueden ser desintegrados por acción de las fuerzas de corte.
- Setback (SB): mide la tendencia de las moléculas de amilosa a retrogradar (formación de un gel) durante el enfriamiento (Copeland et al., 2009).

#### 2.2.5. Análisis estadísticos

El rendimiento de la calidad del modelo fue evaluado mediante un ANOVA (software Statgraphic Plus v 5.1, EE. UU.). La bondad del ajuste del modelo a los datos experimentales fue dada por el coeficiente de determinación,  $R^2$ . Las ecuaciones de regresión múltiple solo incluyeron coeficientes significativos ( $p < 0,05$ ). El ensayo y todas las determinaciones se realizaron al menos por duplicado y de manera aleatoria. El análisis estadístico de los datos se realizó con el software Statgraphic Plus (v 5.1, EE. UU.). Se realizó una prueba de comparación DGC (Di Rienzo, Guzmán, y Casanoves, 2002) para revelar las diferencias apareadas entre las medias. Esta última prueba se realizó utilizando el software InfoStat (InfoStat, 2019, Córdoba, Argentina).

### 2.3. Resultados y discusión

#### 2.3.1. Efecto de las variables del proceso sobre la extracción de polifenoles y la capacidad antioxidante de la HPDC

En la Tabla 2.1 se muestra el diseño experimental con 12 tratamientos y las respuestas correspondientes a los diferentes residuos (HPDC) obtenidos según la combinación de los factores descritos (contenido de polifenoles totales CTP y la actividad antioxidante de la fracción libre (L) y unida (U) de los diferentes tratamientos). Como se mencionó anteriormente, la evaluación del contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de la HPDC a partir de la extracción de aceite

de chía (por prensado) en diferentes condiciones de temperaturas (20, 30, 60 y 90) °C y humedad de las semillas de chía: (9,5; 10; 11; 12 y 12,5) %, se llevó a cabo aplicando la metodología de superficie de respuesta (Diseño de compuesto central) para lograr el mejor rendimiento de aceite preservando su calidad química. Se observó que tanto el contenido de polifenoles totales (CTP) como la actividad antioxidante evaluados en la fracción libre (L) fue mucho mayor que el contenido de polifenoles (CTP) y actividad antioxidante evaluados en la fracción unida (U) de los diferentes extractos. Sin embargo, Podio et al., 2017, confirmaron que el contenido de polifenoles en distintas variedades de trigo entero fue mayor en las fracciones unidas que en las fracciones libres.

**Tabla 2.1. Contenido de polifenoles totales (CTP) y actividad antioxidante (AA) de la HPDC**

Ensayo	Factores			Respuestas							
	H (%)	T (°C)		HPDC							
				CAR-DPPH		PR-FRAP		CA-TEAC		CTP-FOLIN	
1	12	90	L	0,40	± 0,05a	0,65	± 0,06a	0,6	± 0,08a	162,10	± 21,39a
2*	11	60	L	0,46	± 0,01b	0,71	± 0,06b	0,65	± 0,06b	200,93	± 7,41b
3	10	90	L	0,44	± 0,05a	0,75	± 0,03b	0,72	± 0,05b	201,27	± 3,19b
4	12,5	60	L	0,41	± 0,05a	0,75	± 0,01b	0,66	± 0,01b	193,80	± 5,92b
5	12	30	L	0,37	± 0,01a	0,63	± 0,04a	0,6	± 0,03a	172,07	± 15,53a
6	10	30	L	0,42	± 0,04a	0,74	± 0,04b	0,66	± 0,03b	194,56	± 14,14b
7	11	100	L	0,39	± 0,04a	0,76	± 0,04b	0,69	± 0,05b	208,55	± 9,34b
8*	11	60	L	0,39	± 0,04a	0,76	± 0,05b	0,67	± 0,06b	185,89	± 13,33b
9	11	20	L	0,38	± 0,04a	0,71	± 0,03b	0,68	± 0,05b	185,32	± 18,51b
10*	11	60	L	0,49	± 0,03b	0,82	± 0,07c	0,76	± 0,04c	239,45	± 12,55c
11*	11	60	L	0,43	± 0,02a	0,64	± 0,04a	0,66	± 0,02b	197,54	± 10,20b
12	9,5	60	L	0,47	± 0,02b	0,7	± 0,03b	0,71	± 0,01b	221,20	± 5,49c
HEX-L				0,39	± 0,02a	0,6	± 0,03a	0,57	± 0,03a	168,50	± 7,90a
1	12	90	U	0,12	± 0,06b	0,18	± 0,04a	0,35	± 0,05a	68,32	± 10,21a
2*	11	60	U	0,08	± 0,02a	0,16	± 0,09a	0,32	± 0,07a	58,20	± 15,84a
3	10	90	U	0,07	± 0,01a	0,21	± 0,03a	0,29	± 0,03a	55,31	± 0,90a
4	12,5	60	U	0,05	± 0,02a	0,15	± 0,08a	0,30	± 0,06a	70,41	± 9,30a
5	12	30	U	0,05	± 0,01a	0,17	± 0,05a	0,32	± 0,04a	64,04	± 4,45a
6	10	30	U	0,06	± 0,01a	0,16	± 0,04a	0,34	± 0,04a	60,81	± 5,07a
7	11	100	U	0,08	± 0,02a	0,25	± 0,06b	0,40	± 0,04b	83,91	± 18,63a
8*	11	60	U	0,09	± 0,01a	0,15	± 0,01a	0,30	± 0,06a	67,12	± 3,36a
9	11	20	U	0,09	± 0,00a	0,19	± 0,03a	0,31	± 0,04a	72,76	± 9,69a
10*	11	60	U	0,10	± 0,01a	0,29	± 0,05b	0,33	± 0,03a	82,18	± 12,08a
11*	11	60	U	0,09	± 0,02a	0,19	± 0,05a	0,31	± 0,05a	70,18	± 19,66a
12	9,5	60	U	0,09	± 0,02a	0,19	± 0,06a	0,33	± 0,06a	78,42	± 14,91a
HEX-U				0,10	± 0,01a	0,15	± 0,04a	0,22	± 0,05a	75,91	± 10,02a

\*puntos centrales del experimento, HPDC: harina de chia parcialmente desgrasada, H: contenido de humedad (%), T: temperatura de la semilla (°C), CAR: capacidad antiradicalaria, PR: poder reductor, CA: capacidad atrapadora de radicales libres los tres se expresaron: (mmol ET/100 g HPDC), CTP: contenido total de polifenoles (mg GAE/100 g HPDC), n=2

Las muestras que extrajeron mayor cantidad de polifenoles totales libres L-CTP fueron los tratamientos (10 y 12) teniendo en común la temperatura (60°C) a una humedad de las semillas de 9,5 y 11%. Los valores del CTP y la actividad antioxidante obtenidos en la muestra HEX no fueron significativamente diferentes a los tratamientos 1(12% de humedad; 90 °C) y 5 (12% de humedad; 30 °C).

En lo que respecta al gráfico de superficie de respuesta estimada (Figura 2.5-A), se observó que la extracción de polifenoles libres L-CTP fue mayor a medida que la cantidad de hidratación de las semillas antes del prensado disminuyó. Con respecto al factor temperatura, se observó que a 75 °C la concentración de L-CTP fue mayor. Sin embargo, según el Diagrama de Pareto que se muestra en la Figura 2.5-B, estos parámetros no afectaron significativamente el contenido de polifenoles libres L-CTP para un p-valor  $\leq 0,05$ . En cuanto a la cantidad de polifenoles unidos U-CTP (Tabla 2.1) no se observaron diferencias significativas entre las muestras.

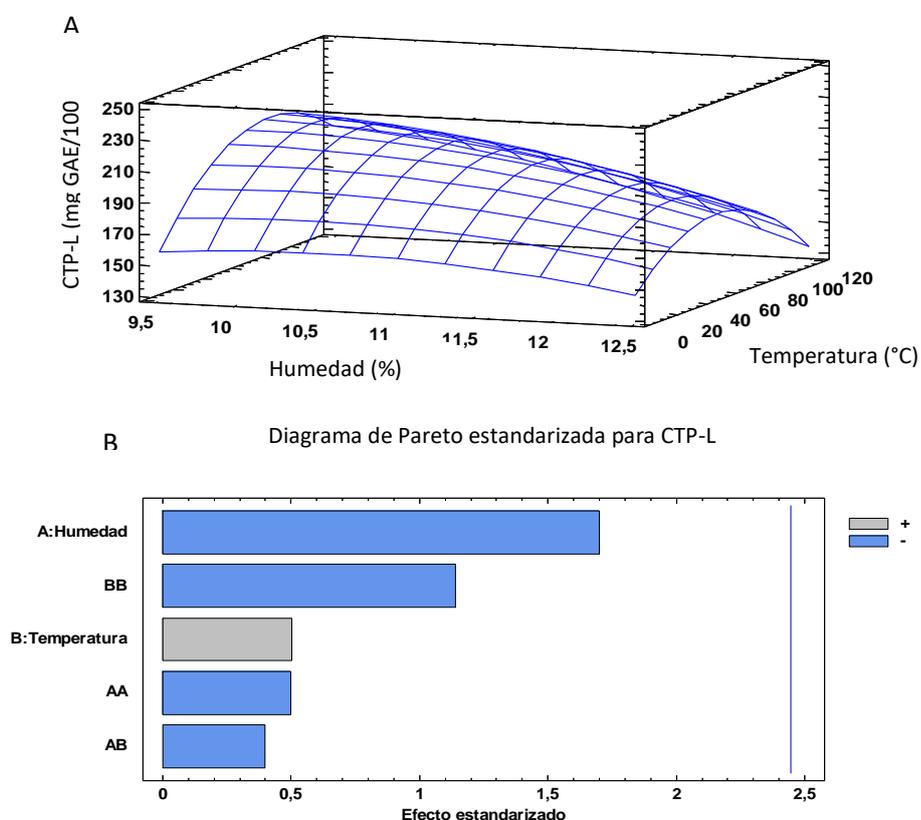
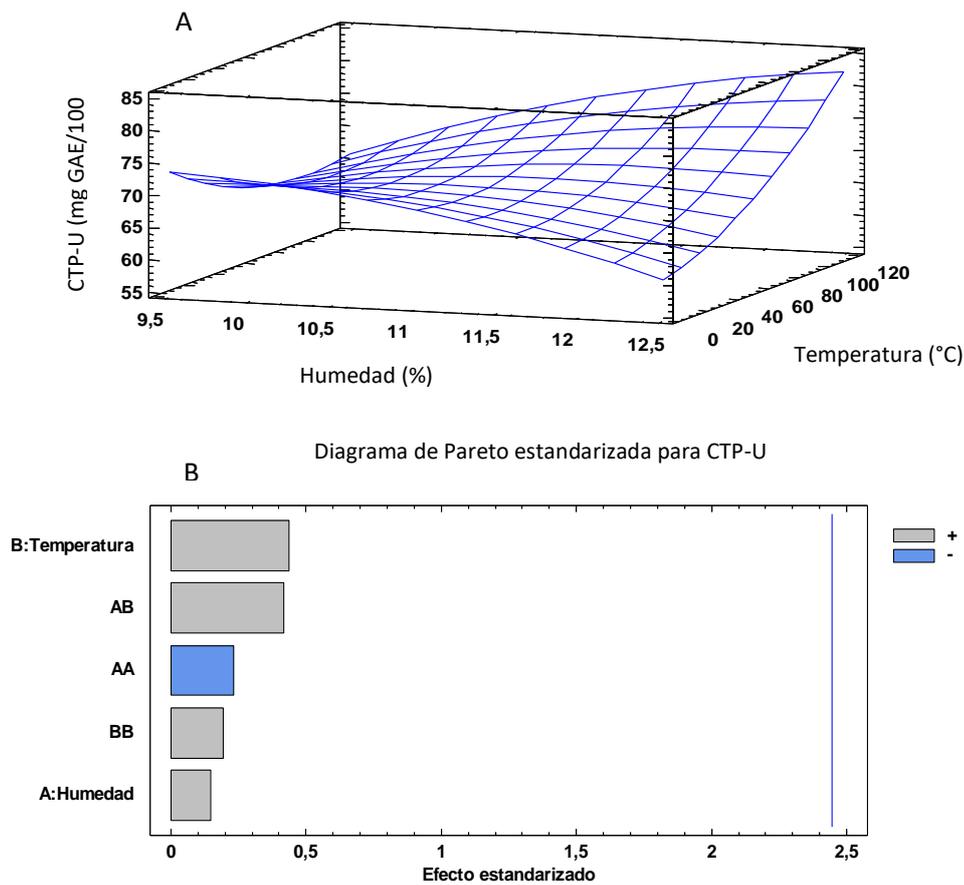


Figura 2.5. A) Gráfico de superficie de respuesta de L-CTP, B) Diagrama de Pareto de F-CTP

En la Figura 2.6-A, la altura de la superficie representa los valores predichos del contenido de polifenoles unidos U-CTP sobre la humedad y la temperatura, donde se observó que los contenidos de polifenoles unidos más altos se obtuvieron a

temperaturas altas y porcentajes de humedad bajos. Al parecer los polifenoles libres son termolábiles y parecen destruirse a temperaturas de acondicionamiento superiores a 75 °C, no obstante los polifenoles al estar unidos a la matriz, estarían protegidos de alguna manera y las temperaturas altas favorecerían su liberación, a su vez si la temperatura superara los 120 °C probablemente se podría observar una caída del contenido de los polifenoles unidos ya que, según el diagrama de Pareto Figura 2.6-B se observó que ninguno de los factores produjo efectos significativos en cuanto a la extracción de polifenoles unidos U-CTP para un p-valor  $\leq 0,05$ .



**Figura 2.6. A) Gráfico de superficie de respuesta de U-CTP, B) Diagrama de Pareto de U-CTP**

Los valores del contenido de polifenoles totales libres en los puntos centrales (Figura 2.1) (tratamientos: 2, 8, 10 y 11) - (11% H; 60 °C) a excepción para el tratamiento 10 (239,4 mg GAE/100g HPDC), se encontraron alrededor de la media (186-221 mg GAE/100 g HPDC-L) sin diferencias significativas. En cuanto a los resultados de la muestra control (extracción de aceite con hexano-HEX) y los tratamientos 1 y 5, los valores de los polifenoles totales libres fueron los más bajos en general que las demás

muestras. Estas diferencias pueden deberse a que el hexano posiblemente arrastró algunos polifenoles libres durante la extracción.

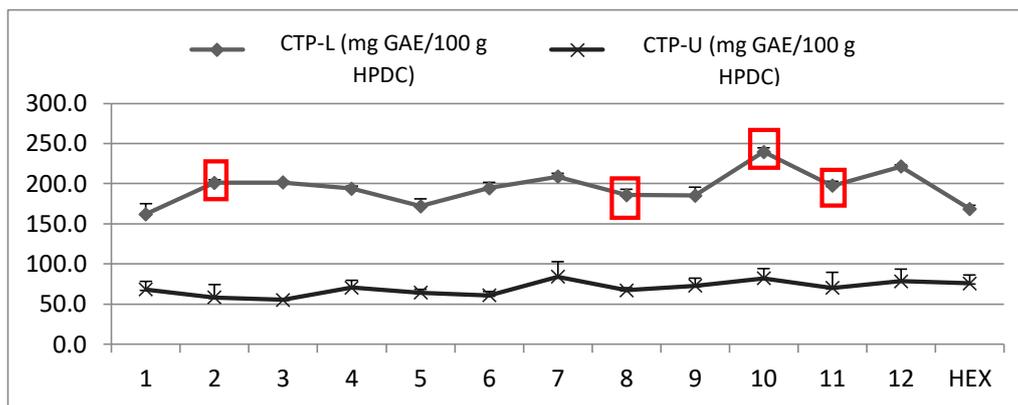


Figura 2.7. Polifenoles libres y unidos de los diferentes tratamientos

En cuanto a la actividad antioxidante de la fracción libre (L), se observó en las tres técnicas que la muestra con mayor actividad antioxidante fue la muestra 10 que pertenece al punto central con 11% de humedad y una temperatura de acondicionamiento de 60 °C. Conforme al gráfico de superficie de respuesta estimada (Figura 2.8-A), se observó que la mayor actividad antioxidante por el método DPPH de la fracción libre se alcanzó a temperaturas cercanas a 60 °C y contenidos de humedad altos.

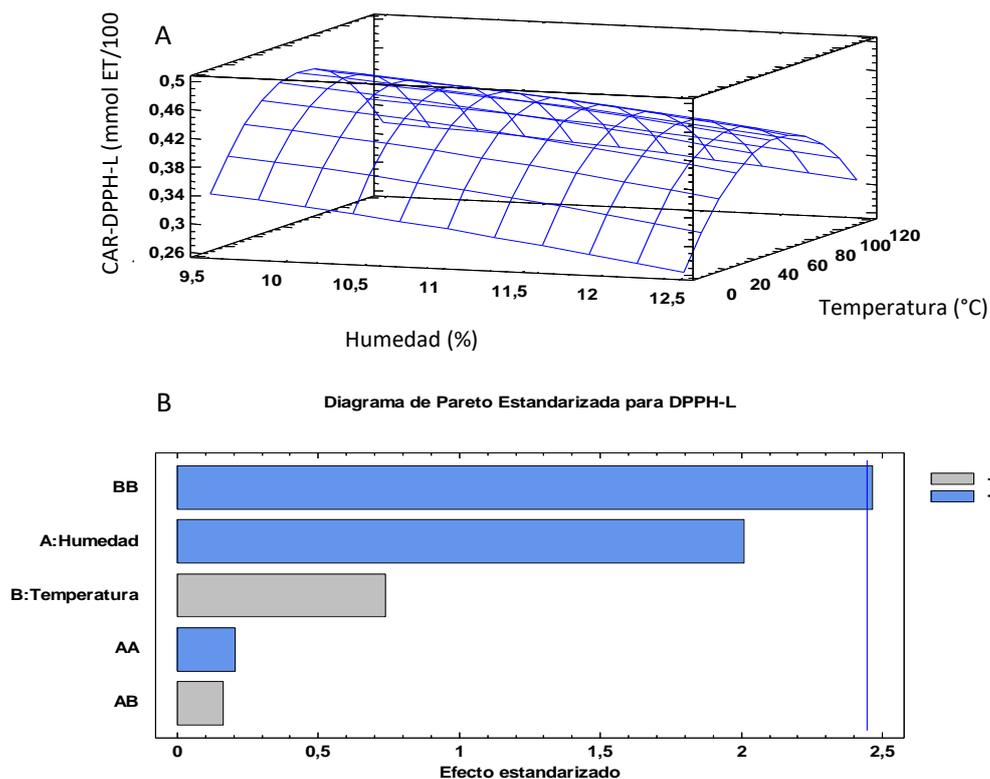
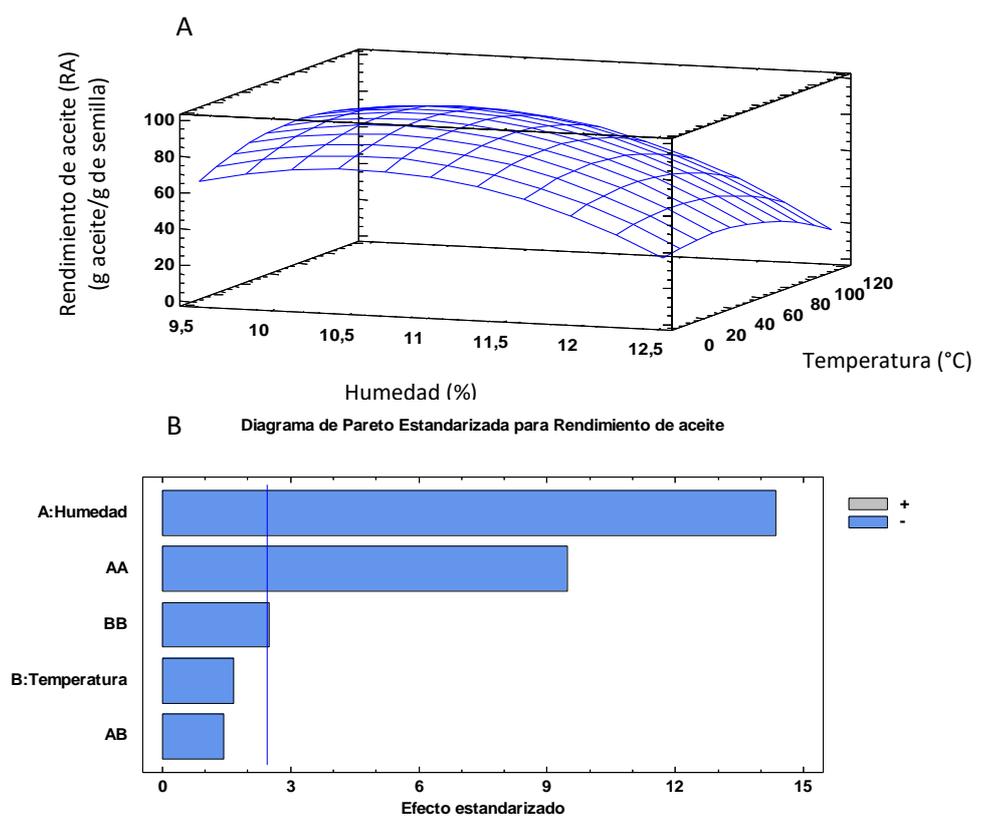


Figura 2.8. A) Gráfico de superficie de respuesta de AA-L, B) Diagrama de Pareto de AA-L por el método DPPH

Según el gráfico de Pareto estandarizado (Figura 2.8-B) un solo efecto (Temperatura °C) se observó que influyó significativamente la capacidad antiradicalaria de los antioxidantes por el método DPPH, con un nivel de confianza del 95%. No obstante, las condiciones extractivas (Temperatura y humedad) no afectaron significativamente el poder reductor (FRAP) y la capacidad atrapadora de radicales libres (TEAC) de las fracciones libres.

### **2.3.2. Efecto de las variables del proceso sobre el rendimiento y la calidad química del aceite extraído**

La Figura 2.9-B muestra los factores de mayor influencia sobre el rendimiento del aceite y se contempló que los factores que tuvieron una influencia significativa en el proceso extractivo son el contenido de humedad y su interacción. Los valores de rendimiento de aceite oscilaron entre 0,13 y 0,26 g de aceite/g de semillas de chía, y según la Figura 2.9-A se observó que, a una hidratación entre 10 a 11% a una temperatura de acondicionamiento entre 40 a 50°C, el rendimiento de extracción de aceite fue mayor. Asimismo Martínez et al., (2012) informaron que la disminución de la humedad de la semilla provocó un incremento en el rendimiento del aceite sobre las semillas y el tiempo de permanencia del material en el interior de la prensa, incluso estos valores de rendimiento de aceite extraído por prensado son similares a los reportados por Martinez et al., 2012 (0,24 g de aceite/g de semilla de chía), no obstante, fueron menores a los valores informados por da Silva Marinelli et al. (2014), (0,30 g de aceite/g de semillas de chía) mediante prensado en frío. Asimismo, Ayerza (1995) obtuvo una proporción superior de aceite (0,36 a 0,39 g de aceite/g de semilla de chía) mediante extracción de aceite de chía con n-hexano.



**Figura 2.9. A) Gráfico de superficie de respuesta del rendimiento de aceite B) Factores de mayor influencia en el rendimiento del aceite por el diagrama de pareto**

Los ensayos analíticos que permitieron evaluar la calidad química del aceite de chíá obtenido se detallan en la Tabla 2.3, los parámetros químicos primordiales se encontraron dentro de los límites aceptados por la legislación internacional (Codex, 1999) para aceites vegetales obtenidos por procedimientos mecánicos. El porcentaje de sólidos finos en el aceite (SE) osciló entre 1,88 a 3,08 %. El índice de peróxidos (IP) y el índice de acidez (IA) fueron inferiores a 0,84 meq O<sub>2</sub>/kg de aceite y 0,92 g de ácido oleico/g de aceite, respectivamente, estos resultados máximos de índice de peróxidos fueron significativamente menores que los reportados por Martínez et al. (2012) (valor máximo encontrado 2,67 meq O<sub>2</sub>/kg de aceite). Los valores de los coeficientes de extinción específicos (K232 y k270) estuvieron dentro de los rangos, 1,33 - 2,13 y 0,25 - 0,30, respectivamente, este último es significativamente menor que los valores reportados de k270 por Martínez et al. (2012). En relación con los pigmentos analizados en los aceites obtenidos, los valores de carotenoides (CA) oscilaron entre 1,59 a 3,43 y los valores de clorofilas (Cl) entre 0,60 a 1,91 mg/kg de aceite. Los resultados de CA se encuentran por encima de los informados por Ixtaina et al. (2011) (0.53 mg/kg to

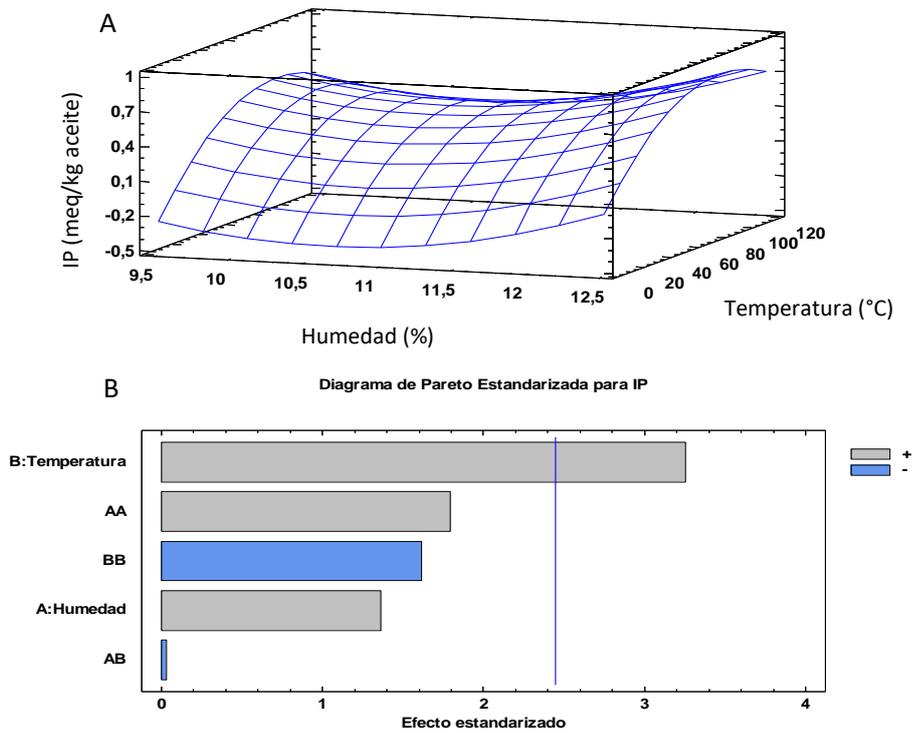
1.21 mg/kg). Con respecto al contenido de tocoferoles TT, se observó que el aceite de chía contiene alrededor de 354,56 y 388,74 (µg TT/g de aceite). Estos resultados fueron similares a los informados por Bodoira et al. (2017) y superiores a los informados por (Ixtaina et al., 2008b). La actividad antirradicalaria del aceite de chía obtenido tuvo un % de inhibición entre 80,14 y 81,74 sin encontrarse diferencias significativas entre las muestras.

**Tabla 2.3. Calidad Química del aceite**

Factores			Respuestas									
Ensayo	H (%)	T (°C)	RA	SE	K232	K270	IP	IA	TT	CA	Cl	CAR
1	12	90	0,15c	1,99a	1,61a	0,25a	0,84c	0,80a	360,9a	1,59a	0,6a	80,08a
2	11	60	0,25f	2,22a	1,38b	0,26a	0,43b	0,80a	357,4a	2,51b	1,25b	80,50a
3	10	90	0,25h	2,87b	1,72a	0,28a	0,70c	0,80a	384,1b	3,43c	1,91c	81,15a
4	12,5	60	0,13b	2,47a	1,33b	0,25a	0,65c	0,90b	364,0a	2,29b	0,92b	80,14a
5	12	30	0,17d	3,08b	1,24b	0,26a	0,26b	0,80a	354,6a	1,85a	0,68a	81,03a
6	10	30	0,25g	2,75b	1,41b	0,30a	0,11a	0,79a	369,8a	2,63b	1,19b	80,85a
7	11	100	0,24e	2,10a	2,00c	0,30a	0,21b	0,80a	368,5a	2,26b	1,11b	81,26a
8	11	60	0,26i	2,13a	2,06c	0,26a	0,38b	0,88b	354,9a	2,57b	1,06b	81,44a
9	11	20	0,25g	1,88a	2,04c	0,27a	ND	0,90b	364,0a	2,21b	1,04b	80,61a
10	11	60	0,26i	2,17a	1,99c	0,30a	0,32b	0,90b	354,8a	2,41b	1,14b	81,74a
11	11	60	0,26i	2,40a	2,13c	0,30a	0,42b	0,92b	388,7b	2,37b	1,43b	81,26a
12	9,5	60	0,26j	3,03b	1,78b	0,27a	0,42b	0,91b	372,4a	2,78b	1,31b	81,15a
HEX	7,79	25	0,11a	---	---	---	---	---	---	---	---	---

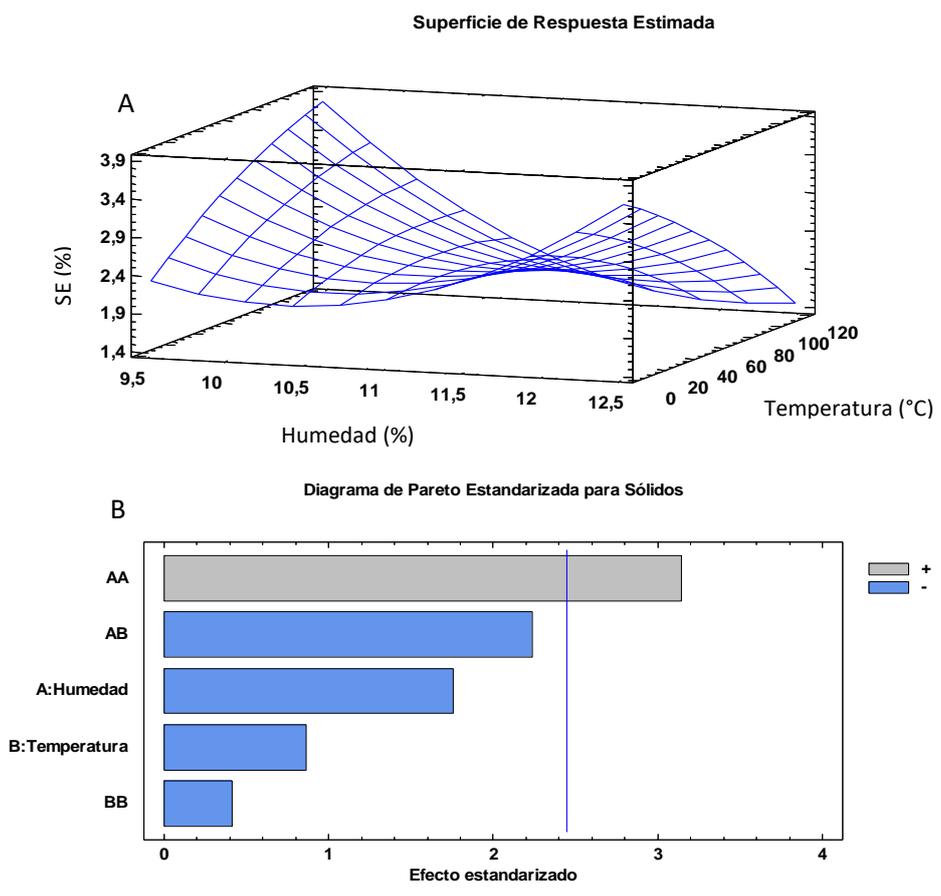
RA: rendimiento de aceite (g aceite/g semilla); SE: fracción de sólidos en el extracto (%); K232: dienos intermediarios de oxidación; K270: trienos intermediarios de oxidación; IP: índice de peróxidos (meq/kg aceite); IA: índice de acidéz (g ácido oleico/g aceite); CA: carotenoides (mg de carotenoides/Kg de aceite); Cl: clorofilas (mg de clorofilas/kg de aceite); CAR: capacidad antiradicalaria (% inhibición), TT: tocoferoles totales (mg/kg de aceite) HEX: extracción por hexano

El análisis del diseño experimental reveló que los diferentes tratamientos de extracción tuvieron efectos mínimos sobre los parámetros de calidad química y la estabilidad oxidativa de los aceites evaluados. No obstante, se observó que las únicas variables de respuesta que tuvieron efectos estadísticamente significativos por las diferentes combinaciones de las variables de diseño fueron: la cantidad de sólidos (SE) y el índice de peróxidos (IP). Según la Figura 2.10-A, se observó que a mayor contenido de humedad y a mayores temperaturas existe un incremento en el índice de peróxidos, sin embargo, en la Figura 2.10-B se observó que el efecto más significativo fue únicamente la temperatura. Esto puede explicarse ya que, a medida que la temperatura aumenta, la solubilidad del oxígeno disminuye drásticamente, como consecuencia las reacciones de oxidación se aceleran.



**Figura 2.10. A) Gráfico de superficie de respuesta del índice de peróxidos de los aceites evaluados. B) Factores de mayor influencia en el índice de peróxidos por el diagrama de Pareto**

En la Figura 2.11-B, se observó que un solo efecto (interacción de humedad) tuvo un p-valor menor a 0,05, la cantidad de sólidos en el extracto se incrementó a medida que la humedad y la temperatura disminuyeron (Figra 2.10-A).



**Figura 2.11. A) Gráfico de superficie de respuesta de sólidos presentes en los aceites evaluados. B) Factores de mayor influencia en por el diagrama de pareto**

La combinación de niveles de factores establecidos que sugirió el programa como óptimo para obtener un buen rendimiento de aceite con una buena calidad química, buena estabilidad oxidativa y una torta residual (HPDC) con una buena actividad antioxidante, fue: humectación de las semillas de chía hasta un 10,20 % a una temperatura de 88 °C, obteniendo una deseabilidad optimizada de 0,56.

### 2.3.3. Análisis proximal de la HPDC

En base a los resultados expuestos anteriormente se ha priorizado el rendimiento de aceite y se seleccionaron la combinación de parámetros que llevaron a la mejora de esta variable (9.5% H; 60 °C) y a la obtención de una HPDC con buenas propiedades antioxidantes. Es por eso que como uno de los objetivos específicos fue su incorporación en productos elaborados a base de harina de trigo, se evaluaron la composición proximal tanto de la HPDC como de una harina de trigo comercial (HT), para poder ver en que puntos fundamentalmente la HPDC genera una mejora frente a

la HT. Los resultados (Tabla 1.5) mostraron que la HPDC presentó una mejor composición proximal en general, en cuanto a un mayor contenido de proteínas (32,55 ± 0,28%), fibra dietética total (59,73 ± 7,75%), cenizas (5,62 ± 0,15%), ácidos grasos omega-3 (6850 ± 0,95mg / 100g) y una buena relación omega-6/omega-3 (0,31) en comparación a los valores presentados por la HT. Otros autores que han evaluado la composición proximal de la chía también demostraron que es una fuente rica en estos componentes (Coelho et al. 2015; Marineli et al. 2014).

**Tabla 1.5. Caracterización de la mejor muestra (HPDC)**

	HPDC	HT
% Humedad	11,80 ± 0,08	12 ± 0,15
%Proteínas	27,70 ± 0,18	9,71 ± 0,18
%Lípidos	7,96 ± 0,16	1,08 ± 0,1
% Cenizas b.s.	5,62 ± 0,15	0,58 ± 0,02
%FDT b.s	59,73 ± 7,75	3,4 ± 1,75
omega-3 (18:3) (mg/100 g)	6850 ± 50	4,8*
omega-6 (18:2) (mg/100 g)	2160 ± 50	232*
Relación omega-6/omega-3	0,31	48,33*

HPDC: harina parcialmente desgrasada de chía, HT: harina de trigo.

\*Datos de SELFNutritionData (2017), n=2

### 2.3.4. Calidad funcional de la semilla de chía y HPDC

Contemplando que después de la extracción de aceite de chía se puede conseguir una torta como residuo (HPDC) con buenas propiedades nutricionales/antioxidantes que puede ser aprovechada como ingrediente en alimentos procesados mejorando su calidad nutricional y en base a que varios estudios (Ayerza y Coates, 2001; Reyes-Caudillo et al., 2008) confirmaron que las semillas de chía contienen un 56% de mucílago que puede utilizarse como fuente de fibra dietética en alimentos; se quiso evaluar también las características funcionales tanto de las semillas de chía como de la torta residual obtenida (HPDC) con el fin de evaluar su comportamiento como un ingrediente funcional para ser utilizado como hidrocoloide en alimentos procesados (Muñoz et al., 2012).

Las propiedades funcionales están directamente relacionadas con las características estructurales de los componentes de la chía (proteínas/fibra) y su entorno en el que se encuentra interactuando (el agua) (Chandra et al., 2015) y sobre su capacidad de gelificar.

En la Tabla 2.5. se muestran las propiedades funcionales de las semillas de chía y de la HPDC. De acuerdo con la capacidad de la chía/HPDC para hincharse y gelificar (SwC) se obtuvieron valores del volumen de los geles  $13,36 \text{ mL/g} \pm 0,06$  y  $12,9 \text{ mL/g} \pm 0,14$  respectivamente, sin encontrarse diferencias significativas entre las muestras. Estos valores concuerdan con los resultados informados por García-Salcedo et al.(2018), siendo a la vez más altos que los valores informados para las harinas con bajo contenido de fibra como el trigo ( $2,3 \text{ mL/g}$ ), la razón es que las cualidades funcionales de la chía permiten que el agua se mantenga inmersa en una fase continua en forma de red, además, las proteínas también atrapan el agua y se hinchan, dando como resultado mayor absorción de agua y un mayor volumen.

La capacidad de absorción de agua (CAa) es un parámetro del proceso que tiene efecto sobre la viscosidad (Niba et al., 2001). En este caso no se encontraron diferencias significativas en los resultados de HPDC (CAa)  $13,74\text{g} \pm 0,37$  en comparación con los valores obtenidos en las semillas de chía (CAa) de  $14,78\text{g} \pm 0,05$ . Estos resultados son mayores que los encontrados en harinas compuestas (batata, almidón de maíz y harinas de soja) y harina de trigo (Julianti et al., 2017). Los valores de SwC y CAa están relacionados con el alto contenido de fibra y proteínas que contienen las semillas de chía, su capacidad hidrofílica hace que, al hidratarse y absorber agua, las semillas quedan atrapadas en medio de una red por la capacidad del mucílago para formar geles, brindando a la harina de chía propiedades funcionales.

**Tabla 2.5. Propiedades funcionales de las semillas de chía y HPDC**

Muestra	CAa (g)	SwC (mL/g)	CRA (g)	Solubilidad( %)
HPDC	$13,74 \pm 0,37\text{a}$	$12,90 \pm 0,14\text{a}$	$16,52 \pm 0,37\text{a}$	$18,91 \pm 0,44\text{a}$
Chía	$14,78 \pm 0,05\text{b}$	$13,36 \pm 0,06\text{a}$	$15,96 \pm 0,07\text{a}$	$7,43 \pm 0,79\text{b}$

CAa: capacidad de absorción de agua, SwC: capacidad de gelificar, CRA: capacidad de retención de agua, Valores con la misma letra no son significativamente diferentes para un  $p\text{-valor} \leq 0,05$ ,  $n=2$

La capacidad de retención de agua (CRA) para la HPDC ( $16,52\text{g} \pm 0,37$ ) y para las semillas de chía ( $15,96\text{g} \pm 0,07$ ) no mostró diferencias significativas entre ellas. Estos resultados son superiores a los informados por Joshi et al. (2015) en nueces, cereales, semillas oleaginosas y frijoles secos. La capacidad de retención de agua se atribuye al mucílago, capa externa de las semillas de chía que apareció como una envoltura transparente alrededor de la semilla y en el caso de la HPDC apareció como una capa de gel uniforme distribuida alrededor de cada partícula. Además, la capacidad de

retención de agua de la chía también podría, de alguna forma, atribuirse por su alto contenido de proteína donde se evaluó que tiene una buena capacidad de retención de agua (4,06 g / g) así como una excelente capacidad de retención de aceite (4,04 g / g), lo que la convierte en un atractivo aditivo en productos de panadería y como emulsionante en alimentos (Olivos- Lugo et al., 2010). Esta hidratación del mucílago puede incrementarse significativamente si se trabaja a valores de pH cercanos a 9, bajas concentraciones de sal y a temperaturas de 80 °C, este fenómeno se realaciona con la presencia o ausencia de grupos amino (Muñoz et al., 2012). El porcentaje de solubilidad (S) en la HPDC fue significativamente mayor  $18,91\% \pm 0,44$  que el porcentaje de solubilidad encontrado en la semilla de chía  $7,43\% \pm 0,79$ , en este caso particular el menor tamaño de partícula de la HPDC tuvo una gran influencia, debido a que existen mayores interacciones moleculares en la suspensión, las partículas al tener una mayor superficie de contacto con el agua mejoran la solubilidad y facilitan la formación de un gel, por otro lado, el mucílago de la semilla de chía en su forma entera, emerge de él cuando entra en contacto con el agua cubriéndola con un halo transparente. Todas estas características están relacionadas con el contenido de proteína, fibra y la capacidad para retener agua.

### 2.3.5. Comportamiento viscoamilográfico de la HPDC

Las variaciones en el comportamiento viscoso de las suspensiones de la HPDC y la harina de trigo (HT) en agua durante el calentamiento dependen de los componentes de cada harina, en el caso de la harina de trigo dependen en gran medida del almidón y en el caso de la HPDC depende de las proteínas y la fibra. La comprensión del comportamiento de dichos componentes en los ciclos de calentamiento y enfriamiento es elemental cuando se quiere incorporar materias primas no convencionales en el desarrollo de un nuevo producto alimenticio.

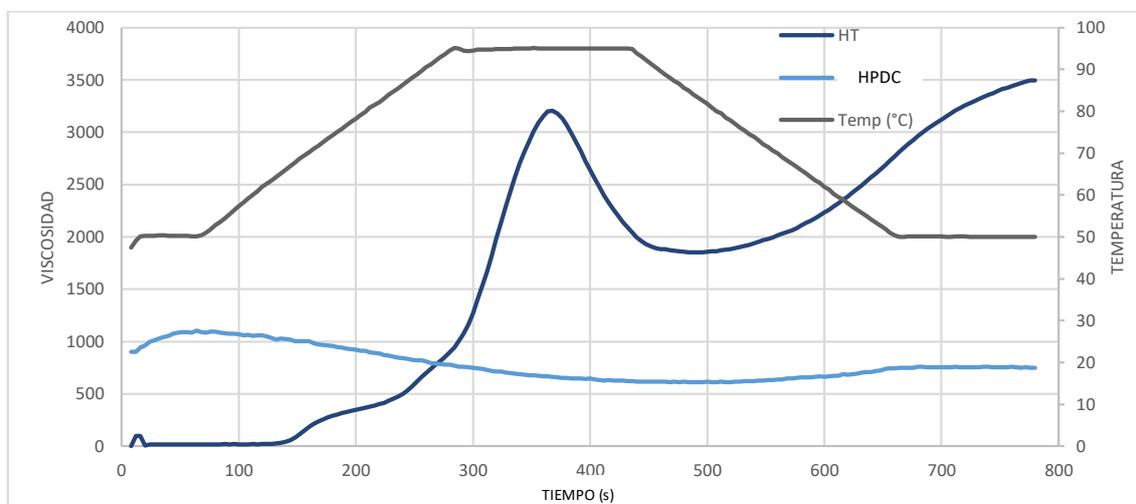
La harina de chía HPDC presentó un perfil de viscosidad muy diferente al encontrado para la HT (Tabla 2.6), esta última presentó una curva de viscosidad característica, sin embargo, la HPDC presentó una curva más achatada y casi lineal como se muestra en la Figura 2.12. La HPDC registró menores valores de viscosidad con respecto a la harina de trigo. La harina de trigo manifestó un pico de viscosidad (VP) significativamente más elevado (3210,50 cP) que la que obtuvo la HPDC (1429,6 cP) durante la etapa inicial de calentamiento hasta los 90 °C. En la harina de trigo, la viscosidad media (VM) disminuyó significativamente ( $p \leq 0,05$ ) durante el enfriamiento hasta casi la mitad del valor obtenido por el pico de viscosidad (1852,00 cP). Esta

disminución durante el calentamiento es característico de las suspensiones de almidón de trigo enteramente gelatinizadas (Guha et al., 1998). De igual forma, la viscosidad media de la HPDC disminuyó significativamente durante el enfriamiento de las suspensiones a 50 °C. La viscosidad final de la harina de trigo resultó ser también considerablemente más alta que la FV de la HPDC (3494,00 cP vs 1194,67 cP). Los valores de breakdown y setback de la HPDC se encontraron muy por debajo de los valores hallados para la harina de trigo indicando que el almidón de trigo forma una matriz más variable frente al calor y al esfuerzo de cizalla. Por otro lado, en la harina de chía lo que ocurre es una hidratación y gelificación casi espontánea (PT: 1,2 min) de sus componentes principales (proteínas, mucílago y fibra soluble) ya que se solubilizan aun a menores temperatura (TMG:50°C), permaneciendo estables desde el inicio hasta el final del ciclo de calentamiento y enfriamiento en comparación al comportamiento de la suspensión de los gránulos de almidón de trigo que se hidrataron e hincharon después de los 6 min (PT) de iniciado el ciclo a una temperatura de gelatinización mayor (66,5°C).

**Tabla 2.6. Propiedades de viscosidad de la HPDC y la harina de trigo**

Muestra	(PV) cP	(MV) cP	(BD) cP	(FV) cP	(SB) cP	(PT) (min)	(TMG) (°C)
HPDC	1429,67±64,9a	884,33±77,6a	545,33±9,8a	1194,67±86,6a	310,33±144,2a	1,60±0,76a	50,25±0,2a
HT	3210,50±9,19b	1852,00±25,46b	1358,50±34,6b	3494,00±14,1b	1642,00±11,3b	6,10±0,05b	66,55±0,6b

HPDC: harina de chía parcialmente deslipidizada, HT: harina de trigo Valores con la misma letra no son significativamente diferentes para un p-valor≤0,05



**Figura 2.12. Perfil de viscosidad de la HPDC y la harina de trigo**

## 2.4. Conclusiones

El diseño experimental elegido (diseño compuesto central) permitió determinar una combinación óptima de las variables del proceso de extracción de aceite por prensado a escala piloto, para la optimización de este. Se pudo concluir que no existieron condiciones drásticas que conlleven a un detrimento de la calidad química del aceite como de las características antioxidantes de la harina parcialmente desgrasada de chía (HPDC). La variable de respuesta que se vió afectada significativamente fue el rendimiento del aceite. Éste puede ser mejorado ajustando el contenido de humedad a 10,32% y trabajando a 58°C. Sin embargo, para la optimización de todas las variables respuesta en conjunto correspondientes tanto a la calidad química y estabilidad oxidativa del aceite de chía como a las características antioxidantes de la torta (HPDC), se concluye aumentar la temperatura de 58°C a 88°C.

Se demostraron las excelentes características nutricionales de la HPDC, presentando 3 veces más de proteína, 20 veces más de fibra alimentaria, 7 veces más de lípidos dentro de los cuales fueron ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y 10 veces más de cenizas en comparación a la harina de trigo comercial. Además, se corroboró que tanto la HPDC como las semillas de chía poseen muy buenas características funcionales: una alta capacidad de absorción de agua y buena capacidad para gelificar. Igualmente, se observó que los componentes principales de las semillas de chía (proteínas, fibra soluble e insoluble) contribuyen al comportamiento viscoso de la HPDC y que el incremento de la temperatura disminuye las propiedades de viscosidad de esta.

Los resultados de esta sección confirman que tanto las semillas de chía como la HPDC son un ingrediente alimentario con propiedades gelificantes y con un gran potencial para mejorar la calidad nutricional y la capacidad antioxidante de productos alimenticios a base de harina de trigo.

### **3. EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA EN PASTAS ALIMENTICIAS**

---

### **3. EFECTO DE LA INCORPORACIÓN DE HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA EN PASTAS ALIMENTICIAS**

#### **3.1. Introducción**

Las pastas son un alimento que contiene carbohidratos complejos, bajo contenido en grasa, de bajo costo, fácil de preparar y versátil, que es consumido por todos los sectores de la población. La composición química de las pastas (10,8% humedad, 10,9% proteína, 1,4% grasa y 79,1% de carbohidratos) y su índice glicémico que es menor que el del arroz, papas o pan y similar al de las leguminosas la convierten en un alimento apropiado para suplir el aporte de carbohidratos (Sabanis y Dokastakis, 2004).

El origen de la pasta se asocia con Italia. Sin embargo, ellos no inventaron la pasta, existen registros históricos que señalan que los tallarines se elaboraron en China desde al menos 3000 años a.C. Sin embargo, se la considera un producto característico de Italia por el hecho que es el principal productor, consumidor y exportador de pastas (de trigo duro o candeal) alimenticias del mundo. La pasta es uno de los alimentos más típicos y apreciados en las dietas de todo el mundo (Sabanis y Dokastakis, 2004) debido a la facilidad de transporte, manejo, palatabilidad y cocción (Tudorica *et al.*, 2002). Además, una porción de pastas es considerado una comida completa y nutritiva (Virtucio, 2003).

En países en vías de desarrollo, donde los problemas nutricionales afectan a una gran proporción de sus habitantes, el mejoramiento nutricional de alimentos de alto consumo por la población como la pasta, puede representar una estrategia para mejorar la calidad nutricional y funcional de la dieta (Granito y Ascanio, 2009).

##### **3.1.1. Definición de pastas alimenticias**

El Código Alimentario Argentino CAA (Capítulo IX “Alimentos farináceos, cereales, harinas y productos derivados”, bajo el título “Productos de fideería” a partir del artículo 706) describe a las Pastas alimenticias o Fideos como “aquellos productos no fermentados obtenidos por el empaste y amasado mecánico de sémolas, semolín, harina de trigo con alto contenido de gluten, 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 permitido para esta clase

de productos. En los productos de fideería podrá utilizarse mezcla de mono y diglicéridos y monoglicéridos de alta concentración, aisladamente o en mezcla y en la cantidad tecnológicamente necesaria sin declararlo en el rótulo”.

### 3.1.2. Consumo de pastas alimenticias

Las pastas son un alimento con una alta aceptabilidad a nivel mundial ya que es parte de los hábitos alimenticios de muchas poblaciones y es relativamente económica, de fácil preparación y almacenamiento. Respecto al consumo de pastas (al estilo europeo) en el mundo, Italia es el país, por lejos el mayor consumidor y productor de pastas alimenticias del mundo con un consumo *per cápita* en el año 2015 de 24,9 Kg. Lo siguen Túnez (16 Kg), Venezuela (12 Kg) y Grecia (11,2 Kg).

En Argentina, las pastas forman parte de su patrón alimentario sirviéndose como plato principal de las más diversas maneras, de dos a tres veces por semana. De acuerdo con las cifras de consumo de 2015 estimadas por la Unión de Asociación de Fabricantes de Pastas Alimentarias de la Unión Europea (UN.A.F.P. A) Argentina con 9,1 Kg *per cápita* por año ocupa el puesto N° 6 en el mundo (UN.A.F.P. A 2015). Esto se debe a que en el 2015 el consumo de pasta seca atravesó una mejora del 8,27 al 9,1 Kg *per cápita* anuales (incluyendo pastas secas y frescas). En la Tabla 3.1, se muestra la evolución del *per cápita* argentino desde el 2010-2015, donde se aprecia un incremento interanual sensible de un 7,35 a un 9,1 kg.

**Tabla 3.1. Consumo de pasta seca en Argentina**

Año	Consumo per cápita (kg)
2010	7,35
2011	7,13
2012	7,75
2013	8,27
2015	9,10
2016	7,13

Fuente: UIFRA con datos del Informe Mundial de la Industria de la Pasta (2010 - 2015), IPO, (2012), UN.A.F.P. A 2015

### 3.1.3. Clasificación de las pastas

Existen diferentes clasificaciones de las pastas alimenticias según se tengan en cuenta diversos criterios. De acuerdo con el contenido de agua que tenga el producto final, las pastas se distinguen entre frescas y secas. Según la tecnología que se utilice

para darles forma se presentan como pastas laminadas y pastas extrusadas. En ambos casos, a su vez, pueden ser largas (spaghetti, fettuccini, cintas, etc.), cortas (ñoquis, fideos soperos, moños) o rellenas (Figura 3.1). La popularidad que tienen las pastas se debe en gran medida a la gran variedad de formas, tamaños y métodos posibles para elaborarlas, lo que le proporciona una variedad interesante al alimento.



**Figura 3.1. Clasificación de pastas según su forma**

Según Hui (2007), las pastas pueden clasificarse de acuerdo con:

**1) La forma, tamaño y al modo de elaboración (Laminadas Extrudidas):**

**Pastas roscadas.** Son pastas fabricadas por extrusión a través de hileras o por laminación. Se enrollan en madejas de forma circular (como los fideos o espaguetis) o rectangular (como los tallarines).

**Pastas Largas:** obtenidas por extrusión y secado en tiras rectas y sueltas cortadas normalmente en una longitud de 200 mm. Estas pastas presentan una forma circular (espaguetis), rectangular (tallarines) o anular (macarrones).

**Pastas Cortas:** Formadas mediante extrusión y cortadas en distintos formatos, de longitud inferior a 100 mm. Dentro de las cuales se encuentran en forma de: moño, hélice y mostachol.

**Pastas Diminutas o para sopas:** Estrellas, letras, cabello de ángel, etc.

**Pastas laminadas.** Sometidas a un laminado y corte posterior con distintas formas.

**Otras pastas:** Incluye elaboraciones que suelen asociarse a la cocina italiana y que se elaboran a partir de harina o sémola de cereales o puré de patatas y estas son algunas de ellas: La polenta, ñoquis, etc.

## 2) Según su sistema de fabricación y contenido de humedad:

Las pastas se clasifican según su sistema de fabricación en:

**Pastas artesanales o frescas:** son aquellas que no han sufrido proceso de desecación alguno y que pueden elaborarse de forma artesanal en cocina (Humedad final ( $H_f$ )  $\geq 24\%$ ) y aquellas pastas que sufrieron un proceso mínimo proceso de desecación son las pastas estabilizadas  $H_f$  entre 20 y 24%.

**Pastas industriales o secas:** son las producidas industrialmente en las fábricas en las que se desecan durante un tiempo que puede variar entre 2 o 6 horas y a temperaturas que oscilan entre los  $60^\circ$  o  $90^\circ$  C, según la clase o formato, para posteriormente ser empaquetadas para su venta ( $H_f \leq 12,5\%$ ).

## 3) Según su composición:

**Pastas Simples:** Son pastas elaboradas con harinas procedentes de trigo duro, semiduro, blando o mezclas entre estos. Compuestas por harina, sémola y agua. Su calidad dependerá del tipo de harina utilizada para su elaboración, siendo únicamente la sémola o semolina de trigo duro la harina que le brindará una mayor calidad a la pasta.

**Pastas Compuestas o enriquecidas:** Son aquellas a las que se les añaden durante el proceso de elaboración productos para enriquecerlas, en sustitución de parte del agua que contienen, como ser: soja, huevos, purés de espinacas, remolacha, zanahorias y gluten para aumentar su contenido proteico, los cuales pueden hallarse en forma de conserva, natural, deshidratados o jugos y extractos. Estas sustancias alimenticias deberán estar autorizadas por la dirección de saneamiento de cada país.

**Pastas Rellenas:** Se refiere a los preparados constituidos por pastas alimenticias, simples o compuestas, que en formas diversas comprenden en su interior

un preparado elaborado con todas o algunas de las siguientes sustancias: carne, grasas animales o vegetales, productos de pesca, pan rallado, verduras, huevos, y agentes aromáticos autorizados, como ser ravioles, lasagna, sorrentinos, etc.

#### 3.1.4. Materias primas para la elaboración de pastas alimenticias

Las materias primas principales utilizadas en la elaboración de pasta son: agua, harina de trigo (algunas veces mezclada con sémola de trigo), huevo (si se desea mejorar la calidad nutricional y riqueza del producto) y sal si es necesario. Para su elaboración se utilizan tres productos derivados del trigo duro (*Triticum durum*) (semolina, granulares de durum y harina de durum). Las pastas que son elaboradas con este tipo de trigo (durum) son de mejor calidad debido a su alto contenido de proteínas (características del gluten) por su mayor dureza (permite la obtención de sémolas) y el color amarillo claro brillante que brindan al producto (Hoseney, 1994a; Bushuk, 1998; Troccoli et al., 2000).

El trigo de grano más duro (*Triticum durum*), que en Argentina se denomina candeal, se utiliza principalmente para la elaboración de pastas, los trigos duros producen una harina con mayor granulometría (sémola o semolina). Sin embargo, el trigo pan (*Triticum aestivum*) es el más ampliamente cultivado y produce harinas de calidad superior para elaborar productos leudados como pan, galletitas tipo “crackers”, masa para pizza, pan dulce y otros productos que requieren una masa muy elástica y extensible; esta harina de trigo pan puede ser utilizada para hacer pastas, pero éstas presentarán características de calidad inferiores respecto a las características que presentan las pastas producidas a partir de sémola como una menor resistencia a la sobre-cocción (León y Rosell, 2007).

En general, los principales factores involucrados en la calidad de la sémola de trigo candeal y en las cualidades reológicas de la masa son: el contenido de proteína en el grano, la fuerza, elasticidad del gluten y el color. La vitreosidad de los granos es también importante, la industria fideera prefiere los granos vítreos debido a su correlación positiva con el porcentaje de proteína, el rendimiento de sémola y la calidad de cocción (Roncallo et al., 2009). Mientras que la calidad del gluten, color de la sémola y cualidades reológicas de la masa están determinadas fundamentalmente por el genotipo, el contenido de proteína y la vitreosidad, resultan más afectadas por el ambiente (Tróccoli et al., 2000).

- **Harina de trigo:** La harina de trigo debido a su composición química especialmente en la calidad proteica y su capacidad de formar gluten, tiene la habilidad de formar una masa cohesiva y tenaz que es capaz de retener gases y dar productos esponjosos, aireados y livianos después del proceso de cocción (León y Rosell, 2007).

Según el Capítulo IX del Código Alimentario Argentino (CAA) “Con la denominación de Harina, sin otro calificativo, se entiende el producto obtenido de la molienda del endosperma del grano de trigo que responda a las exigencias de éste. Las harinas tipificadas comercialmente con los calificativos: cuatro ceros (0000), tres ceros (000), dos ceros (00), cero (0), medio cero (medio 0), Harinilla de primera y Harinilla segunda, corresponderán a los productos que se obtienen de la molienda gradual y metódica del endosperma en cantidad de 70-80% del grano limpio.”

Los parámetros que definen la calidad de una harina dependen del tipo de producto que se quiera elaborar con la misma, en el caso de las pastas los criterios de calidad varían según la cultura; en occidente se buscan pastas brillantes, traslucidas y de color amarillo que mantengan una buena textura luego de la cocción (al dente), en oriente se consumen los noodles que deben ser de color blanco o amarillo (dependiendo del tipo de noodle) de superficie lisa y de textura suave, blanda y elástica. Es por eso por lo que los fabricantes de pastas adquieren dos o más clases de harinas, de procedencias distintas, para obtener productos de buena calidad, tales como:

- Sémolas de trigo candeal o semolín (*T. durum*)
- Harinas de trigo
- Harinas de trigo pan (*T. aestivum*)
- Mezclas de las harinas anteriores

- **Función del almidón en la harina de trigo y en pastas:** Los granos de cereales almacenan energía en forma de almidón, además de ser el carbohidrato principal en el trigo formando entre el 65-70% de la harina de trigo en forma de gránulos de diferentes tamaños dentro de los amiloplastos. El almidón actúa diluyendo el gluten y de este modo da consistencia a la masa, aporta una superficie para que el gluten se adhiera fuertemente y así evitar la pérdida de almidón. Además, disminuye el agua disponible durante la gelatinización, de este modo favorece la fijación de la película del gluten para que sea más rígido (Seguezzo, 2014).

El rol del almidón en las propiedades reológicas de la masa para la elaboración de las pastas es muchas veces subestimado con respecto al rol del gluten. Sin embargo, las características de la superficie de los gránulos de almidón pueden afectar el comportamiento viscoelástico de la masa, dado que éstas determinan el tipo de interacción proteína-almidón (De Noni y Pagani, 2010). De acuerdo con Fu (2008), las pastas elaboradas con harinas que presentan un almidón con alta capacidad de hinchamiento resultan con una textura más blanda que aquellas elaboradas con almidones con baja capacidad de hinchamiento.

➤ **Importancia de las proteínas en la harina de trigo:** La calidad de un trigo se encuentra determinada por diversos parámetros, relacionados en su mayor parte con el contenido de proteínas del grano. De acuerdo con la influencia de cada fracción proteica en la funcionalidad de la masa y, consecuentemente, en la calidad de las pastas, las proteínas de trigo se clasifican según su solubilidad en cuatro fracciones: albúminas (proteínas solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones salinas diluidas), gliadinas (solubles en alcohol) y gluteninas (solubles en soluciones ácidas o básicas diluidas) (Osborne, 1907). Chen y Bushuk (1970) descubrieron que sólo una parte de las gluteninas son solubles en ácido acético diluido, diferenciándose dos fracciones proteicas: una soluble y una insoluble.

Las proteínas de trigo se pueden dividir en dos grandes grupos, las proteínas capaces de formar gluten y aquellas que no lo forman. Las primeras son proteínas de almacenamiento, mientras que entre las proteínas que no forman gluten, se encuentran la mayoría de las enzimas. **Las proteínas que no forman gluten** (albúminas y globulinas) representan entre un 15-20% del total de las proteínas del trigo, son solubles en soluciones salinas diluidas. Se ubican en las capas más externas del grano de trigo, son proteínas monoméricas, metabólicamente activas y/o estructurales. Su función en la panificación no está clara aún (Veraverbeke y Delcour, 2002). Estas proteínas poseen un buen balance de aminoácidos, contienen proporciones relativamente altas de lisina, triptofano y metionina; tres aminoácidos que se encuentran en baja proporción en la mayoría de los cereales. **Las proteínas formadoras de gluten** (gliadinas y gluteninas), representan entre un 80-85% del total de las proteínas del trigo y sirven como fuente de nitrógeno durante la germinación de la semilla (Kasarda et al., 1976). Se encuentran en el endospermo del grano de trigo maduro donde forman una matriz continua alrededor de los gránulos de almidón. Las proteínas del gluten pueden ser divididas en dos grupos de acuerdo con su

funcionalidad: las gliadinas monoméricas y las gluteninas poliméricas (extraíbles o no extraíbles), pero actualmente existen gluteninas que no son solubles en condiciones ácidas o básicas, denominadas proteínas directamente insolubles que forman el macropolímero de glutenina (Shewry et al., 1992).

Se considera en general que las gliadinas (monocatenarias) son las responsables de la viscosidad del gluten, mientras que las gluteninas (policatenarias) son las encargadas de conferirle fuerza y elasticidad al gluten (Hoseney, 1994a). Aquellas proteínas que no forman gluten (Albúminas y Globulinas del fraccionamiento de Osborne) corresponden un 20-25% del total de las proteínas y se encuentran la mayoría de las enzimas como proteasas y amilasas. Las albúminas y globulinas son proteínas monoméricas metabólicamente activas o estructurales que se concentran en el germen, salvado y en las células de la capa de aleurona, y en menor proporción en el endospermo (León y Rosell, 2007).

Las proteínas cumplen un rol fundamental en la calidad tecnológica de las pastas alimenticias donde un correcto rango del contenido de proteínas es importante para las características de textura y fortaleza del retículo en el proceso de secado. Altas concentraciones de proteínas (11-14%) en la harina de trigo, con capacidad de formar una matriz proteica fuerte y corta, produce pastas de textura elástica y chiclosa. Por el contrario, harinas con muy baja concentración de proteínas (9-10%) originan pastas con pobre tolerancia a la cocción y se vuelven blandas y pegajosas.

➤ **Gluten:** Consiste en una red tridimensional de proteínas entrelazadas, con una estructura continua y compacta, la cual se mantiene unida mediante uniones covalentes, puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Vernière y Feillet, 1999). El gluten es el responsable de la viscoelasticidad de la masa, se ha demostrado que existe una correlación positiva entre el contenido de proteínas de una harina y la calidad de las pastas, aunque no solo la cantidad total sino también el tipo de proteínas (que depende de la variedad de trigo) es determinante en la calidad de la pasta ya que se necesitan proteínas que formen un gluten muy tenaz y una masa con baja extensibilidad (Hoseney, 1994b). La conformación de la red de gluten necesita que estos cuerpos proteicos se rompan gracias a la hidratación de la harina que provoca el hinchamiento e hidratación de estas proteínas debilitando así las uniones que las mantienen inicialmente adheridas. Las propiedades de la harina de trigo para formar una masa cohesiva que puede ser horneada para producir pan o hervida para formar

pastas son derivadas de las proteínas presentes en el gluten. 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, particularmente entre los polímeros de gluteninas unidos por enlaces disulfuro (Lindsay y Skerritt, 1999).

➤ **Lípidos:** están localizados mayormente en el germen y en el salvado del grano de trigo dentro de los cuales se encuentran, ácidos grasos, glicéridos simples, galactoglicéridos, fosfoglicéridos, esteroides, esfingolípidos, dioles, tocoferoles, carotenoides e hidrocarburos.

Los lípidos de la harina de trigo se pueden encontrar libres o unidos a algún constituyente de la harina, principalmente almidón y proteínas. Los lípidos asociados al almidón comprenden en gran parte liso-fosfolípidos que forman complejos de inclusión con la amilosa durante la gelatinización del almidón, sin embargo, estos complejos también se encuentran en el almidón nativo del cereal (Morrison et al., 1993). Esta fracción de lípidos se encuentra dentro de los gránulos de almidón y solo queda disponible cuando se alcanzan las condiciones de gelatinización durante la cocción.

Durante el desarrollo de la masa, los lípidos que se encuentran libres se asocian a las proteínas del gluten mediante interacciones específicas y modifican las propiedades reológicas de la masa. En particular, los lípidos polares (especialmente los glicolípidos) pueden promover tanto interacciones hidrofóbicas como hidrofílicas entre el gluten y el almidón (Matsuo et al., 1986). Estas interacciones pueden mejorar la calidad de las pastas cocidas, favoreciendo la estabilidad tanto de la red de proteínas como del almidón (De Noni y Pagani, 2010).

➤ **Enzimas:** las enzimas se destacan, por su importancia funcional, entre las proteínas presentes en el grano de trigo. Todas las reacciones que conforman el metabolismo de los vegetales son catalizadas por este tipo de proteínas. En el grano intacto, seco y no germinado la actividad enzimática total es muy baja, pero cambia drásticamente cuando comienza la germinación. Las enzimas que han recibido mayor atención son las que digieren el almidón. Las principales enzimas hidrolíticas que actúan sobre los hidratos de carbono presentes en los cereales son  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas, enzimas desramificantes, celulasas,  $\beta$ -glucosidasas y glucosidasas (Gómez Pallarés et al., 2007).

A pesar de que la harina contiene sólo pequeñas cantidades de enzimas, su presencia puede afectar la calidad de la pasta. Cantidades excesivas de  $\alpha$ -amilasa debilitan la estructura de la pasta. Asimismo, la polifenoloxidasas también afecta la calidad de las pastas blanqueando los pigmentos amarillos de caroteno (Hoseney, 1994a).

Según Seguezzo (2014) existen diversas enzimas activas en el grano de trigo que afectan en alguna medida a las pastas alimenticias. Dentro de las enzimas **oxidadas** se encuentran las **lipoxigenasas (LOX) (caroteno - oxidadas)** y las **peroxidadas (POD)**. Las primeras tienen la función de oxidar ácidos grasos poliinsaturados liberando ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico, por lo que también poseen efectos sobre la pérdida de pigmento durante la molienda y la elaboración de las pastas. Por lo que puede ser relevante escoger granos de trigo con niveles bajos de LOX para obtener una buena calidad de las pastas ya que el color amarillo característico en las mismas es muy apreciado por los consumidores. Por otro lado, la actividad de las **peroxidadas (POD)** se relacionan con el color marrón de los productos, es mayor en la sémola que en las pastas y disminuye en el secado a altas temperaturas. De modo que, el color amarillo brillante, requerido en los granos y productos de pasta, es el resultado de la presencia de pigmentos carotenoides del tipo xantofilas y compuestos flavonoides (Lepage y Sims, 1968; Miskelly, 1984) y su degradación de las enzimas oxidativas (amarronamiento), como lipoxigenasas (LOX), peroxidadas (POD) y polifenoloxidasas (PPO) (Laignelet et al., 1972).

La cantidad de **amilasa** también depende del estado fisiológico de la semilla, las semillas que están más próximas a la cosecha, tienen mayor proporción de amilasas ya que su función en el gránulo del almidón es degradarlo para que pueda ser utilizado durante la germinación, por lo tanto, mientras más maduro esté el grano, mayor proporción de amilasas habrá. Su actividad depende tanto de la variedad del grano como del ambiente. La  $\alpha$ -amilasa acciona sobre los gránulos de almidón dañado o gelatinizado lo que hidrolizan uniones  $\alpha$ -1-4 de la molécula del almidón al azar desde su extremo reductor, liberando maltosa y dextrinas. La  $\beta$ -amilasa, por el contrario, no es capaz de hidrolizar el gránulo de almidón sin la acción previa de la  $\alpha$ -amilasa. Las amilasas se encuentran en el pericarpio y capa de aleuronas de los granos, la producción de hidratos de carbono solubles favorece la reacción de Maillard (Seguezzo, 2014).

La actividad de las **proteasas** consiste en desagregar grandes moléculas de proteína aumentando su solubilidad. Por ende, modifican la viscosidad y elasticidad de las proteínas formadoras de gluten. En pastas ocurre una correlación negativa en cuanto a la actividad proteolítica y la calidad de cocción de las pastas debido a que si existen proteasas que proceden de un grano brotado, pueden interferir negativamente la red de gluten durante el amasado, pero si las proteasas proceden de un grano sano no tienen efecto (Seguezzo, 2014).

➤ **El agua:** El agua es ingrediente en la elaboración de las pastas alimenticias, se necesita para el amasado (disolución de ingredientes hidrosolubles) y para la formación del gluten a través del agregado de energía mecánica (Seguezzo, 2014), brinda un efecto significativo sobre la calidad del producto final. El agua debe ser de excelente potabilidad (temperatura adecuada para que la harina se hinche y forme una masa de buena consistencia y no así una masa dura, harinosa o pegajosa) de salinidad controlada (dureza baja a media). El nivel de absorción de agua para la elaboración de las pastas está alrededor del 30-38%, basado en el peso de la harina (Fu, 2008).

**Otros ingredientes:** ingredientes opcionales a fin de enriquecer la pasta como: Huevo (aporta consistencia y mejora el valor nutricional), verduras (aportan color y enriquecen el producto), suplementos proteínicos (soja, leche en polvo, gluten de trigo), suplementos de vitaminas y minerales (Fe, vitaminas del grupo B), colorantes, estabilizantes, emulsionantes, antifermentos, etc. La sal es otro ingrediente que tiene como principal característica potenciar el sabor de las pastas, además de influir en la duración y estado de conservación del producto, debido a su capacidad para absorber agua (Fu, 2008).

### 3.1.5. Proceso de elaboración industrial de pasta larga

La conversión de la sémola o harina de trigo durum en una pasta y textura requerida, se logra a través de los procesos de humectación, mezclado/amasado y extrusión formando una red proteica que encapsula los gránulos de almidón y esta estructura se moldea en una sola forma con un mínimo de grietas e imperfecciones (Kill y Turnbull, 2001).

En la Figura 3.1 se muestra el diagrama de proceso industrial de pastas larga.

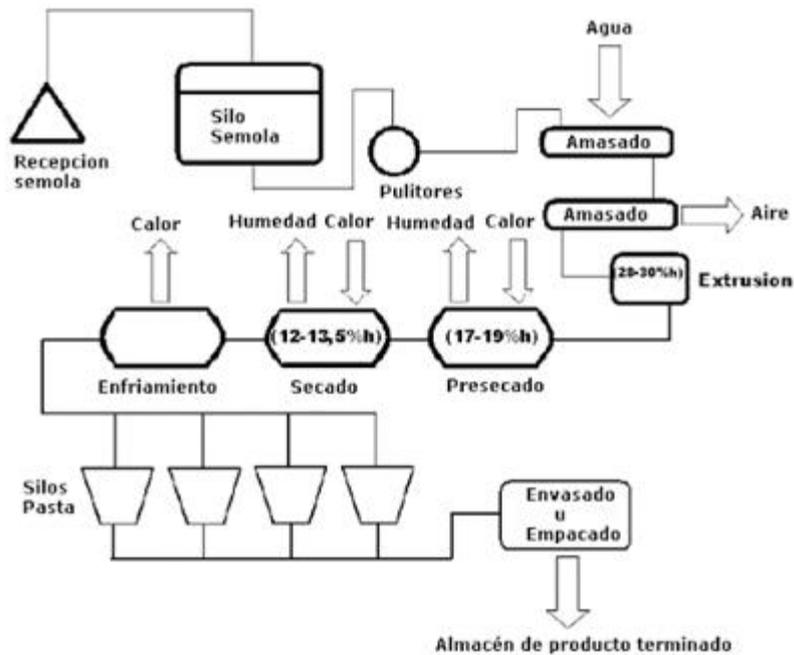


Figura 3.1. Diagrama de proceso de elaboración de pastas laminadas. Fuente: Meleán, (2004)

La sémola o harina de trigo es transportada desde silos de almacenamientos hasta los silos de línea para luego ser transportada (sistemas neumáticos) por un tamiz de control a las líneas de producción donde se reciben, almacenan temporalmente y pesan las materias primas hasta su utilización. Según Meleán y Nava (2007); De Noni y Pagani (2010) las fases son:

- **Mezclado y Amasado de los Ingredientes:** en esta operación se realiza la mezcla de los ingredientes los cuales se adicionan poco a poco mientras se amasa y agita la masa (para procesos a pequeña escala), en el cual interviene un equipo con paletas rotando a alta velocidad y unas toberas de inyección de agua en forma de rocío, lo que da un área de contacto agua/harina bastante grande hasta que la masa llegue a una humedad de 30% aproximadamente, el amasado se realiza por corto tiempo por lo tanto, el desarrollo del gluten es solo parcial en esta fase. Cuando la sémola o harina se pone en contacto con el agua el almidón y la proteína se hidratan dando lugar a la formación de una red de gluten. El amasado de la pasta hace más íntima la unión entre los ingredientes de la masa, volviéndola más homogénea. El tiempo de proceso debe realizarse dentro de los 10 a 15 minutos, para que la masa se mantenga suave, elástica, lisa y sin asperezas, evitando de esta forma, que al ser moldeada presente estrías, quebraduras e irregularidades de mal aspecto a la vista.

- **Descanso:** Este tiempo permite que se acelere la futura hidratación de las

partículas de harina y que se redistribuya el agua en el sistema. El tiempo de descanso también favorece la relajación de la estructura del gluten facilitando su formación durante el laminado (Fu, 2008).

- **Extruido/Prensado, Laminado y corte:**

Es durante el proceso de laminado y extruido que la matriz del gluten se vuelve continua. El desarrollo de una matriz uniforme de gluten con un buen balance de elasticidad y tenacidad es muy crítico para asegurar buenas propiedades de procesamiento y la buena calidad del producto terminado (Calvelo, 2008). Para este proceso se deja caer la masa por la tolva y a la salida de los cilindros la misma estará refinada y se recoge para ser llevada a la moldeadora para que se lleve a cabo el laminado, donde un buen nivel de extensibilidad de la masa asegura que la misma no vaya a encogerse durante las sucesivas pasadas por los rodillos de la amasadora (Fu, 2008).

La masa ya laminada o extruida con la forma requerida, se coloca sobre unas mesas de superficie plana, cortándose cada una con moldes. A continuación, se cuelgan las pastas moldeadas en unos carros secadores. En general la pasta cocida obtenida por el proceso de laminado es de mejor calidad que los productos extruidos, debido a que la red de gluten alcanza mayor desarrollo que por extrusión (Matsuo et al., 1978; Dexter et al., 1979).

- **Pre secado/secado-enfriamiento:** las pastas ya formadas y cortadas, son sometidas a un pre secado con el fin de evitar que se deformen, peguen entre sí y poder reducir la humedad inicial de la pasta desde 32 - 38% p/p a menos de 28%. En esta etapa se fundamenta la estructura de la pasta y se la realiza con el fin de eliminar el exceso de humedad de la pasta y evitar que sufran un sobre estiramiento. Consiste en hacer pasar una o varias corrientes de aire caliente entre 45 y 75 °C (dependiendo del tiempo de secado y tipo de pasta), la duración del proceso se calcula por el contenido de lisina (Calvelo, 2008). Es necesario controlar el secado de la pasta para evitar micro fisuras, se presenta este fenómeno cuando hay un porcentaje de humedad en el centro y otro en la superficie de la pasta, dada la compleja dinámica de la transmisión de calor, la superficie tiende a secarse más rápido que la interna, por tal motivo es que se realiza un secado previo. Es común humidificar con inyección de vapor para eliminar tensiones en los fideos.

Se puede decir que la pasta puede encontrarse en dos estados: plástico o elástico. Se dice que está en estado plástico, cuando la pasta sale del extrusor o de la laminadora. La pasta en estado plástico se deforma por la acción del disco del extrusor o de la laminadora, manteniendo la forma adquirida aún después que ha cesado la fuerza a la que fue sometida. En este estado plástico, la pasta puede soportar un intenso secado sin sufrir tensiones internas que puedan ocasionarle daño, pudiendo aun mantener la deformación dada por el disco del extrusor o los rodillos cortantes, a pesar de la contracción que sufre debido a la extracción de agua (Ferrari et al., 2014).

A la fase de pre-secado le sigue una primera, a una humedad relativa y temperatura relativamente alta (por ejemplo 75-85% HR, 30-40 °C) con períodos de mínima circulación de aire para darle tiempo a la difusión del agua desde el interior hacia la superficie de la pasta. En una segunda fase, se aplica temperaturas más altas (40-50 °C) y aire a 55-60% HR para completar esta etapa. La velocidad en la etapa de secado es inevitablemente menor que en la fase de pre-secado, debido a que la estructura del producto se ha vuelto más rígida, su capilaridad ha disminuido, y por ende la migración de las partículas remanentes de agua desde el interior hacia el exterior es más lenta. El secado toma aproximadamente 6-8 veces más que el tiempo requerido por el pre-secado (Ferrari et al., 2014). En la segunda fase de secado la pasta baja su humedad de 18-28% (obtenido en el pre-secado) a 12-12,5%. En la fase final, el producto es gradualmente enfriado hasta temperatura ambiente en silos de reposo y se cortan al tamaño deseado. El principal problema aquí es bajar lentamente la temperatura para evitar tensiones internas de la pasta (Calvelo, 2008).

Un secado inadecuado puede dañar la estructura de la pasta, causando sobre-elongación, grietas, deformación y división de las hebras, generando en consecuencia problemas en la manipulación y el envasado, así como las propiedades de cocción y de textura también pueden ser severamente afectadas. Si se seca demasiado rápido, se crea una gran diferencia de humedad entre la superficie y el núcleo de los fideos. Al perder la humedad, la pasta se encoge y la superficie seca tiende a contraerse sobre el núcleo húmedo, mientras que la superficie de la pasta se encuentra bajo tensión, el centro va a estar bajo compresión, pudiendo ocasionar una deformación permanente de la hebra de pasta al liberar esa tensión (Fu, 2008). Después de obtener la pasta seca, se procede al empaque en bolsas de celofán o de plástico, se pesan y se sellan.

### 3.1.6. Composición y valor nutricional de las pastas alimenticias

Fundamentalmente las pastas alimenticias se componen de hidratos de carbono y de una pequeña cantidad de grasa y minerales, como: hierro, calcio, fósforo, magnesio, cinc, cobre, manganeso, potasio y sodio (Dendy y Dobraszczuk, 2004), además es un producto de consumo masivo, considerado un alimento funcional por su bajo aporte de grasa y sodio y baja respuesta glicémica (Jenkins et al., 1987, Araya et al., 2003). Los hidratos de carbono que contiene la pasta se encuentran mayoritariamente en forma de carbohidratos complejos que permiten una digestión fácil y lenta, es por eso que el consumo de pastas lleva a una moderada respuesta de glucosa e insulina, debido a una absorción intestinal incompleta del almidón (Jenkins et al., 1981; Granfeldt y Björck, 1991; Björck et al., 1994; Kim et al., 2008; Singh et al., 2010), razón por la cual la pasta es clasificada como una fuente de carbohidratos de lenta liberación (Mourot et al., 1988; Colonna et al., 1990; Granfeldt y Björck, 1991; Björck et al., 1994). La pasta de trigo es un alimento nutricionalmente no balanceado, debido a su escaso contenido de grasa y fibra dietética y al bajo valor biológico de su proteína, originado por la deficiencia de lisina (Antognelli, 1980) por lo que el valor nutricional de la pasta depende de la composición de la harina, de las materias primas empleadas y si son enriquecidas o fortificadas con alguna sustancia. En la Tabla 3.2 se observa el contenido de nutrientes de dos tipos de pastas (Kill, 2004).

**Tabla 3.2. Composición química de pastas de harina de trigo candeal**

Componente	Pastas sin huevo	Pastas al huevo
Calorías (Kcal)	342	362
Carbohidratos (g)	74	70
Proteína (g)	12	12,3
Grasa (g)	1,8	2,8
Fibra (g)	2,9	3,4
Fósforo (mg)	190	191
Potasio (mg)	250	164
Vitamina B1 (mg)	0,22	0,17
Vitamina B2 (mg)	0,03	0,07

Fuente: Kill (2004)

Se puede observar que la pasta al ser un alimento elaborado a base de harina de trigo posee un alto contenido de carbohidratos. Cada 100 g de pasta contiene aproximadamente entre 70 y 75 g de hidratos de carbono dependiendo de si son o no enriquecidas o de sus componentes. Cien gramos de pasta proporcionarían aproximadamente 340 y 365 Kcal, representando alrededor de un 15% los requerimientos de una persona para desarrollar una actividad normal. El de mayor

importancia dentro de los hidratos de carbono es el almidón, ya que le otorga a la pasta propiedades funcionales como es la de aportar unos niveles estables de glucosa en sangre, por lo que es importante para aquellas personas con deficiencia de insulina, una disminución de los niveles de colesterol en sangre y una estabilización del funcionamiento normal de la tiroides (Martínez y García, 2001).

En cuanto a las grasas su aporte es muy bajo, 100 gramos de pasta contienen entre 1,8 y 2,8 g de grasa dependiendo si es una pasta con o sin huevo. La adición de huevo a las formulaciones de pasta fresca hace que el valor nutricional de la pasta aumente, gracias a las características composicionales que aporta. Además, les da un color más amarillento a las formulaciones de pasta fresca. Por otro lado, el huevo produce una textura más firme (Hager et al., 2013).

En cuanto al contenido proteico, cada 100 g de pasta contiene aproximadamente 12 g de proteína, siendo las gluteninas y las gliadinas, las responsables de conferir viscoelasticidad a las masas que se forman durante el amasado (red proteica), pero a la vez las pastas carecen de un aminoácido esencial llamado lisina. El contenido y la calidad de proteínas es un parámetro muy importante ya que dicha red rodea al almidón, formando una estructura fuerte resistente a la cocción de la pasta (Dendy y Dobraszczyk, 2004).

La contribución de las vitaminas (B1 y B2) y minerales (Fósforo y Potasio) es generalmente bajo, a no ser en el caso de que la pasta haya sido añadida. La pasta también aporta algún contenido de fibra vegetal, entre un 2,9 y 3,4 g (pastas integrales mayor contenido), ayudando a mejorar el funcionamiento gastrointestinal y a metabolizar el colesterol y los triglicéridos.

En resumen, se puede decir que la pasta es un alimento esencial, pero no completo (bajo en proteínas y grasas), por lo que es necesario acompañarla con otros alimentos ricos en proteína y aceites esenciales. Los procesos que afectan de manera significativa en el valor nutricional de los productos son la molienda, la preparación de la masa y la cocción (Seguezzo, 2014).

### **3.1.7. Cambios estructurales durante la elaboración de pastas**

El comportamiento reológico de las masas como la viscosidad, la elasticidad y la fuerza tensil son factores determinantes del comportamiento de las masas. Las

propiedades reológicas de las masas son de particular importancia por muchas razones (Feldman et al., 2001). La dureza de las pastas secas es un criterio de calidad muy importante que puede afectar el procesamiento, envasado, almacenamiento, manipulación y posiblemente la reacción del consumidor. Es importante desarrollar técnicas instrumentales, tales como aquellas basadas en pruebas de torsión y tensión, estas técnicas son efectivas para determinar propiedades físicas fundamentales (De Hombre y Castro, 2003).

Es importante también estudiar las propiedades viscoelásticas y funcionales a través de procesos térmicos e identificar las proteínas. Las transiciones de fase provocan cambios en las propiedades físicas de los alimentos, el conocimiento de las temperaturas de transición vítrea relacionado con las propiedades mecánicas (resistencia, dureza, fragilidad, elongación dentro un rango de temperaturas en el cual puede trabajar) y otras propiedades viscoelásticas son importantes en el control de los procesos de elaboración, almacenamiento y manipulación de alimentos, y para predecir las propiedades del producto, la calidad resultante y la estabilidad del alimento (Henriquez y Castro, 2002).

#### **3.1.7.1. Desarrollo de viscoelasticidad durante el amasado**

Las proteínas del trigo se encuentran localizadas en cuerpos proteicos en el endospermo del grano, que forman una estructura compacta y entrecruzada que se estabiliza mediante puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Durante el amasado se produce una hidratación y ruptura o despolimerización de estos cuerpos proteicos formando así una red tridimensional continua en la cual se encuentra embebido el almidón. Las interacciones de tipo covalentes y no covalentes entre los polipéptidos más grandes que forman la masa para la elaboración de pastas producen una matriz poco elástica y tenaz (Dexter y Matsuo, 1979a). Luego del amasado, a pesar de que las partículas de harina se encuentran suficientemente hidratadas, el desarrollo de la red proteica no es completo y solo es localizado y discontinuo. La red de proteínas completa su formación durante el laminado, ya que sólo en esta etapa se aporta la cantidad de energía necesaria para el desarrollo de la masa (Abecassis et al., 1994).

#### **3.1.7.2. Conformación de la red proteica en pastas**

Las pastas alimenticias deben ser firmes, elásticas, sin superficie pegajosa y sin pérdidas en el agua de cocción. Sus materias primas principales son el gluten y el

almidón, debido a que para la formación de la masa para elaborar pastas se utiliza menos agua, la red de gluten no se alcanza a desarrollar completamente como en el caso de la masa de pan; la masa de las pastas tiene una baja cantidad de agua, ya que solo se quiere una masa cohesiva. La continuidad y fuerza de la red proteica, está relacionada a la textura del producto final, por lo tanto, es de suma importancia para la elaboración de las pastas tanto la cantidad como la calidad de proteínas formadoras de gluten identificadas según Osborne (1907), ya que harinas con altas concentraciones de proteínas, capaces de formar una red de gluten fuerte, producen pastas de buena calidad de textura firme y elástica; en cambio harinas con baja concentración de proteínas, producen pastas con baja tolerancia a la cocción y son blandas y pegajosas (De Noni y Pagani, 2010).

Para la elaboración de pastas alimenticias, la masa requiere de cierta cantidad de agua (aprox. 30%) y energía necesaria para que se forme una estructura proteica fuerte y corta la cual puede variar y transformarse las veces que se quiera, siempre y cuando la proteína no este coagulada por efecto de temperaturas elevadas. Para evaluar la calidad del trigo destinado a la elaboración de las pastas, deben considerarse otros parámetros como la relación glutenina/gliadina, la presencia de fracciones proteicas específicas, la hidrofobicidad superficial y las propiedades funcionales del gluten y de la masa. El retículo proteico se lleva a cabo en el momento en el que se forma un mínimo de masa, dando lugar a una descomposición de las proteínas de la harina, en la etapa final del extrusado donde ya se encuentra constituida la red proteica, alrededor del almidón, existe una notable disminución de los grupos sulfhidrido libres volviendo a polimerizar la red de gluten (Dexter y Matsuo, 1979). Una vez laminado o extrudado el fideo presenta una superficie de aspecto liso, los gránulos de almidón recubiertos por las proteínas forman una red continua con pocas aberturas la cual se reafirma durante el proceso de secado debido a la desnaturalización, polimerización y agregación de las proteínas (Feillet et al., 1989). Para obtener una pasta de buena calidad es preferible que la red proteica tenga una estructura compacta, para que el agua penetre primero a través de las proteínas y después llegue a los gránulos de almidón para que se produzca una gelatinización más controlada, en caso contrario la amilopectina migrará a la superficie de la pasta produciendo pegajosidad y disminuyendo la calidad de la pasta. La red proteica será más desarrollada o tendrá una mejor calidad de cocción por el método de laminación que por extrusión (Abecassis, 1994).

### 3.1.8. Cambios que se manifiestan en el proceso de cocción de pastas

Las características de la materia prima y las condiciones de elaboración de las pastas tienen gran influencia en las propiedades de cocción de las pastas secas. La calidad de las pastas cocidas se expresa en términos de absorción de agua, de material lixiviado durante la cocción, y de las propiedades de textura como la firmeza y la pegajosidad. La textura de la pasta cocida es generalmente reconocida como su aspecto de calidad más importante (Brunnel et al., 2010). El retículo proteico desarrollado durante el amasado y posterior laminado de la pasta, se consolida durante la cocción.

La gelatinización del almidón y la coagulación de las proteínas son los principales cambios estructurales que se manifiestan durante la cocción de las pastas (Petitot et al., 2009). Como la pasta tiene un sistema de humedad limitado, ocurre una competencia por el agua entre el almidón y las proteínas. Las proteínas necesitan agua para coagular para de este modo producir una red viscoelástica, al tiempo que el almidón, absorbe agua, se hincha, gelatiniza y tiende a solubilizarse. Existe una competencia física durante la cocción de las pastas debido a que las proteínas (unidas por puentes disulfuro) se desnaturalizan aproximadamente al mismo rango de temperaturas que cuando el almidón comienza a hincharse. Como se dijo anteriormente, cuando las interacciones entre las proteínas de la red continua prevalecen, el material almidonoso, al absorber agua lentamente, queda atrapado dentro de la red (resistencia a la tensión de las partículas) y la pasta cocida queda firme, evitando pegajosidad sobre la superficie y los consecuentes agrupamientos. En caso contrario, cuando la red de proteínas no es lo suficientemente fuerte ni elástica, el almidón se hincha y gelatiniza antes que las proteínas se coagulen, lo que provoca que la amilosa lixivie principalmente hacia el agua de cocción, dejando a la amilopectina sobre la superficie de la pasta, dando como resultado una pasta de mala calidad con una textura blanda y pegajosa (De Noni y Pagani, 2010).

Se han reconocido tres regiones concéntricas por causa de los sucesivos estados, durante el proceso de gelatinización, que atraviesan los gránulos de almidón en la estructura interna de una hebra de pasta cocida. La región externa forma una red abierta y filamentosa debido a que en esa área el almidón se encuentra totalmente gelatinizado, la región consecutiva a esta no se encuentra gelatinizada y finalmente se encuentra un núcleo íntegro debido a que el agua de cocción no accedió hasta esa

zona (Dexter et al., 1979a). Con esto se puede decir que mientras mejor es el retículo proteico, más controlada es la gelatinización del almidón, ya que al ser el retículo más cerrado, es más difícil la disociación del agua, entonces así se evita la pérdida de almidón (amilosa) durante la gelatinización, ya que una óptima polimerización de las proteínas durante el procesamiento y/o cocción de las pastas es fundamental para la obtención de pastas de calidad ya que las proteínas son más propensas a seguir el hinchamiento del almidón. Es necesario saber a su vez que una polimerización desmesurada de las proteínas durante el procesamiento, especialmente durante estrictas condiciones de secado, es perjudicial para la calidad de la pasta cocida ya que las proteínas pierden elasticidad para poder limitar el hinchamiento del almidón durante la cocción, provocando mayores pérdidas en el agua de cocción y pastas más pegajosas (Brunnel et al., 2010). Lo que se concluye que, la relación entre agua-pasta, el tiempo de cocción y la calidad de agua de cocción son factores importantes durante la cocción de las pastas. El volumen recomendable del agua de cocción es 10 a 20 veces el peso de la pasta cruda húmeda, en caso contrario ésta demorará más en volver a alcanzar el punto de ebullición, quedando las hebras demasiado juntas, por falta de movimiento relativo adecuado, obteniéndose pastas con superficie rugosa y uniformidad escasa en la cocción de las pastas. De modo que, un excesivo volumen o calentamiento del agua de cocción puede dañar la superficie de las pastas debido a una intensa fricción entre sus hebras. El agua debe estar en un estado de ebullición leve durante todo el tiempo de cocción; el cual va a depender del tamaño y el tipo de la pasta (Fu, 2008).

#### **3.1.8.1. Parámetros de calidad de las pastas alimenticias**

Dentro de los parámetros considerados de mayor relevancia para determinar la calidad de la pasta se encuentran aquellos aspectos visuales tales como el color, aspecto, que engloba el agrietamiento y decoloración en el caso de la pasta deshidratada, y aspectos texturales, como la pegajosidad, la adhesividad, la firmeza, la cohesividad y la elasticidad de la pasta (Callejo, 2002).

- **Color:** es uno de los parámetros que los consumidores más consideran a la hora de comprar una pasta. El color depende en su mayoría de las características del trigo (pigmentos carotenoides-embrión) utilizado en la elaboración de la pasta. El óptimo es el color amarillo y sus tonalidades. Una tonalidad marrón en el producto es despreciada debido a su origen podría deberse a las reacciones enzimáticas (peroxidasa y polifenoloxidasa) producidas durante la molienda de

la sémola. De estas dos reacciones se obtienen compuestos oxidados como las quinonas, que son responsables de la desvalorización de las pastas.

- **Aspecto global:** igualmente influye en gran medida en la aceptación del consumidor. El agrietamiento manchas o rayas, defectos que se dan en la pasta seca, pueden acabar rompiéndola. Esto se debe a unas condiciones inadecuadas de secado donde la humedad superficial se evapora rápidamente endureciendo la superficie de la pasta y cuando llega al centro la hebra es incapaz de ejercer resistencia a la tensión y emergen las grietas. También podrían aparecer debido a un mal almacenaje tras el empaquetado debido a la inestabilidad de la humedad ambiente. Otro defecto es la decoloración, debido a una hidratación no homogénea de la masa durante la etapa de amasado apareciendo consecuentemente manchas blancas.
- **Textura:** la calidad de cocción de la pasta incluye a la **firmeza:** que es el grado de resistencia a la primera mordida o la fuerza necesaria para penetrar la pasta con los dientes, la **cohesividad:** indica la fuerza de las uniones internas que mantiene la estructura de la pasta, tras la cocción es fácil detectar una pasta en mal estado o si se ha sido producido de manera incorrecta debido a la descomposición que presenta tras la cocción, la **elasticidad:** muestra la capacidad de la pasta deformada para recuperar su aspecto inicial, la **pegajosidad:** representa la fuerza con la que la superficie de la pasta, una vez cocinada, se adhiere a otros materiales.

Por lo que se espera tras estos conceptos que una pasta final cumpla con: Una textura de superficie lisa, ausencia de grietas y manchas, coloración y firmeza adecuada, ausencia de pegajosidad, escasa pérdida de materia durante la cocción, buen hinchamiento, aroma y gusto característicos.

### 3.1.9. Pastas y alimentos funcionales

Como se mencionó anteriormente, un alimento puede decirse que es funcional si contiene un componente (sea o no un nutriente) que beneficia una o más funciones específicas en el cuerpo en una manera objetiva tal que resulte relevante ya sea al estado de bienestar y salud o a la reducción del riesgo de alguna enfermedad (Bellisle et al., 1998), o si tiene algún efecto en la capacidad física y el estado mental de una persona, más allá del efecto nutricional tradicional que pueda brindar el alimento

(Clydesdale, 1997). Se define que los alimentos deben tener tres funciones: la primera es "nutricional", esencial para la supervivencia del individuo. La segunda es una función "sensorial", esto es que su consumo produzca una sensación placentera a partir de su sabor, olor, textura, entre otras. La tercera es una función "fisiológica" con lo cual el alimento debe producir un efecto favorable en la nutrición, el biorritmo, el sistema nervioso, en la capacidad de defensa corporal, entre otras, de quien lo consume. En el concepto japonés, los alimentos funcionales deberían enmarcarse precisamente en esta última función (Yamada et al., 2008). Se trata de una nueva categorización de algunos alimentos que comprobadamente a través de estudios clínicos y epidemiológicos han demostrado un efecto positivo en la prevención de algunas enfermedades específicas. Estos productos deben pasar por una estricta selección y son sometidos constantemente a una evaluación de sus efectos (Durán y Valenzuela, 2010).

Los requerimientos de consumo dentro de la producción de alimentos durante la última década han cambiado considerablemente y se observa una clara preocupación en la sociedad por la posible relación entre el estado de salud personal y la alimentación que se recibe. Por lo que los alimentos no son más destinados sólo para satisfacer el hambre y proporcionar nutrientes, sino sobre todo para prevenir enfermedades relacionadas con la nutrición y para mejorar el bienestar físico y mental. En este marco, los alimentos funcionales representan una de las zonas más interesantes de la investigación y la innovación en la industria alimentaria. Los cereales y otros tipos de semillas pueden ser considerados fuentes importantes de ingredientes funcionales ya que contienen, especialmente en las capas externas de granos, sustancias (es decir, polifenoles, antioxidantes) con actividades de protección relacionados con la reducción en la incidencia de enfermedades coronarias, diabetes y el cáncer (Hemery et al., 2007). La mayoría de los compuestos bioactivos están vinculados a la fibra y están presentes en el salvado (Fares, et al., 2015). Lo que para la industria alimentaria resulta una gran oportunidad de abrir nuevas líneas de productos con un valor agregado de gran aceptación por consumidores meta (Hemery et al., 2007; Fares et al., 2010).

Las pastas se destacan por ser un producto que tienen un índice glucémico bajo y un escaso aporte de grasa y sodio (Jenkins et al., 1987; Araya et al., 2003). La pasta al tener una lenta absorción el contenido de glucosa en la sangre no aumenta rápidamente por lo que los consumidores reciben los beneficios a través de una

absorción gradual como ser: sana longevidad, buen desempeño físico y cognoscitivo, jugar un papel importante en la prevención de enfermedades tales como la obesidad, diabetes, patologías coronarias y ciertos tipos de cáncer. Además del beneficio de poseer un índice glucémico bajo, las pastas son reconocidas como un buen vehículo para incorporarles ingredientes beneficiosos para la salud, transformándose así en alimentos funcionales. La textura de la pasta es mucho menos sensible a la incorporación de ingredientes adicionales que el pan, donde complejos e interacciones que se desestabilizan con facilidad entre tensioactivos, proteínas y gases arrastrados dan lugar a texturas ligeras.

En un estudio realizado por Sissons y Fellows (2014), al enriquecer pastas y panes con una cantidad similar de fibra, la evaluación sensorial de estos dos productos dio mejores resultados en pastas. Además, la pasta se conserva mejor y tiene mayor tiempo de vida útil que el pan. Pero desde un punto de vista tecnológico, la sustitución de la harina de trigo por otros ingredientes representa una disminución en el contenido de gluten y por ende una pasta de calidad inferior. Sin embargo, realizando modificaciones en el esquema tradicional de elaboración de las pastas como ser altas temperaturas de secado y la utilización de aditivos como el estearoil-lactil-lactato de sodio a concentraciones de 0,3% del peso de la harina, se puede mejorar la calidad de cocción y las características organolépticas de las mismas (Abecassis et al., 1989; Mestres et al., 1990; Bergman, et al., 1994; Fang y Khalil, 1996; Vansteelandt y Delcour, 1998).

La Organización Mundial de la Salud y la Food and Drugs Administration de Los Estados Unidos (FDA), han valorado a la pasta como un alimento apropiado para el agregado de nutrientes, siendo uno de los primeros alimentos para el cual la FDA permitió el enriquecimiento con vitaminas y hierro. Mejorar la calidad nutricional de las pastas involucra principalmente aumentarles la cantidad de proteínas, de fibra dietética, y fortificarlas con vitaminas y minerales (Marconi y Carcea, 2001).

#### **3.1.9.1. Incorporación de chía a pastas alimenticias**

Tanto la semilla de chía entera como los productos derivados de ella (aceites, harina y mucílagos) pueden ser considerados ingredientes funcionales, debido a que poseen componentes beneficiosos que pueden mejorar la salud del consumidor como ser: altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, como ácido linolénico omega-3 (aproximadamente 60%), antioxidantes (ácidos clorogénico y cafeico, miricetina,

quercetina, kaempferol y flavonoles), vitaminas y minerales (riboflavina, niacina, tiamina, calcio, fósforo, potasio, cinc y cobre) y fibra dietética (alrededor de 50% de fibra dietética insoluble y 5% de fibra dietética soluble), proteínas que oscilan entre 19 y 23% (Capitani et al., 2012-2013).

Pese a que la pasta es un vehículo ideal para la incorporación de componentes saludables en su formulación, como la semilla de chía o sus derivados, hay que tomar en cuenta que la cantidad de material que sustituye parte de la harina de trigo o que es adicionado a ella, puede tanto mejorar la calidad nutricional de la pasta como producir propiedades sensoriales y funcionales distintas en el producto final y que desde un punto de vista tecnológico ésta sustitución o incorporación de otros ingredientes puede representar una disminución en el contenido de gluten y por ende puede disminuir la calidad de la pasta. Sin embargo, pueden ser añadidos otros aditivos que imiten las propiedades del gluten mejorando la calidad de cocción y las características organolépticas de las pastas y así obtener un producto de consumo masivo nutricionalmente mejorado y beneficioso. Por lo tanto, la mejora en el contenido nutricional y funcional de las pastas mediante la adición de un residuo rico en fibra, proteína y polifenoles lo convierte en una materia prima de gran interés para la formulación de alimentos funcionales.

En la sección anterior se pudo obtener, caracterizar y comprobar las propiedades tanto nutricionales como antioxidantes de la mejor HPDC. En esta sección se buscó incorporarla dentro de una matriz proteica de un producto no perecedero, de fácil acceso y de bajo costo, con el fin de evaluar el efecto de su incorporación en la calidad tecnológica, funcional, nutricional y sensorial de las pastas elaboradas.

## **3.2. Materiales y métodos**

### **3.2.1. Materiales**

Se utilizó harina comercial de trigo pan (*T. aestivum*) se proporcionó del Molino San José, José Minetti y CIA Ltda. (Córdoba-Argentina). La HPDC se obtuvo por prensado según el procedimiento descrito en la sección 2. Todos los reactivos químicos fueron de grado analítico, adquiridos de Sigma Aldrich (Suiza).

### 3.2.2. Obtención de HPDC por prensado de las semillas de chía

Se trabajó con las condiciones de extracción de aceite de chía de la muestra que obtuvo el mejor rendimiento de aceite (tratamiento 12-sección 2) donde: 300 g de semillas de chía se hidrataron a 9,5% de humedad (Ecuación 10), se empaquetaron en bolsas herméticas y se almacenaron durante 48 h. Las bolsas se agitaron regularmente para homogeneizar la humedad de la muestra. Las semillas de chía hidratadas se acondicionaron a 60 °C y se prensaron utilizando una prensa de tornillo Komet (Modelo CA 59 G, IBG Monforts, Alemania). La velocidad del tornillo fue de 20 rpm. Se utilizó una matriz de restricción de 5 mm. La harina obtenida después de la extracción de aceite de chía se molió posteriormente con un molinillo de café y se pasó a través de un tamiz de 0,25 mm. Esta fracción molida representa la HPDC.

Se calculó la cantidad de agua a ser agregada a las semillas de chía utilizando la fórmula determinada por Olayanju et al. (2006), tal cual se muestra en la ecuación 10:

$$Q = \frac{A*(b-a)}{(100-b)} \quad (10)$$

Donde:

Q= masa de agua a agregar

A= masa de semilla a humectar

b= % de humedad a la cual quiero llegar (b.h.)

a= % de humedad inicial de las semillas (b.h.)

### 3.2.3. Elaboración de pastas alimenticias

Se utilizó un procedimiento a nivel laboratorio estandarizado a pequeña escala para la fabricación de las pastas. La misma se preparó con diferentes concentraciones (0; 2,5; 5,0 y 10%, p/p en base a la harina) de HPDC según lo autorizado por la Unión Europea (Parker et al., 2018) con el fin de observar mayores diferencias entre las muestras partiendo de una base igual para todas las muestras.

En la Tabla 3.3 se muestra la formulación utilizada en la preparación de las pastas.

**Tabla 3.3. Formulación para la elaboración de las pastas con HPDC y chíá**

Tipo de pasta	Harina Trigo (g)	Agua destilada (g)	Na Cl (g)	HPDC (g)
Control	50,00	22,50	1,00	0,00
2,5%	50,00	22,50	1,00	1,25
5%	50,00	22,50	1,00	2,50
10%	50,00	22,50	1,00	5,00

Para cada formulación, se mezcló harina de trigo pan, HPDC, agua y NaCl (50 g, 22,5 g y 1,0 g, respectivamente) en una batidora eléctrica marca Hobart (Hobart Inc., Troy, OH, EE. UU.) a una velocidad de 2, durante 1,5 minutos en tres intervalos de 30 segundos c/u con el fin de dar a la masa una consistencia adecuada para la subsiguiente laminación. Posteriormente, la masa fue amasada manualmente, se armó un bollo y se dejó reposar por 5 min para su estabilización. La masa se dividió a mano en un tamaño apropiado y se laminó usando una laminadora marca (Drago, Inc., China) siguiendo un procedimiento de 3 pasos: laminado a mano, hasta aproximadamente 10 mm de espesor; laminación por los rodillos, de hasta 5 mm de espesor; y laminación final del rollo hasta un espesor de 2 mm (espesor final de la pasta 7 laminados). La pasta laminada se cortó utilizando un rodillo de corte (2 mm de ancho) obteniendo cintas de pasta de (2 × 2 × 200 mm). Las cintas de pasta fueron colgadas por separado evitando que las mismas se peguen unas con otras, en palos de madera sobre un estante. La pasta se secó mediante un proceso de dos etapas: presecado a 30 °C durante 30 minutos (con circulación de aire forzado) y una segunda etapa de secado por 24 horas a 30 °C en una estufa con control de humedad (humedad relativa del 70%). Las pastas secas se almacenaron en bolsas herméticas a temperatura ambiente y de la misma manera las mismas fueron almacenadas por 12 meses para sus posteriores análisis.

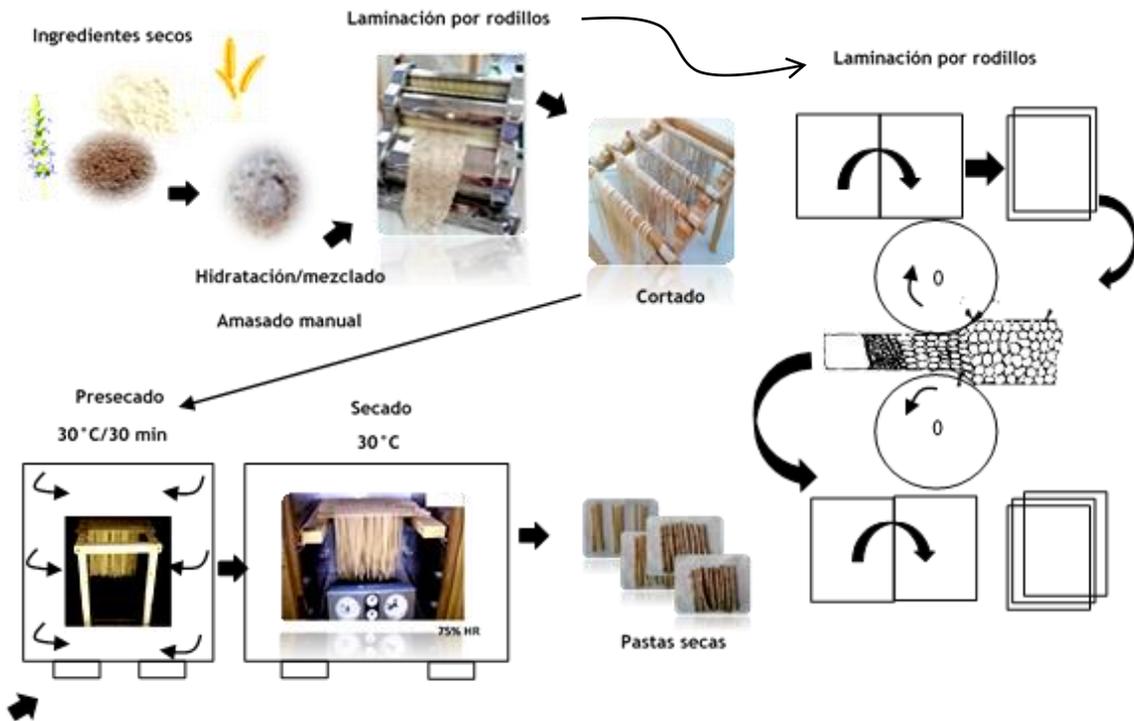


Figura 3.2. Proceso de elaboración de pastas laminadas a nivel laboratorio

### 3.2.4. Calidad de las pastas elaboradas

Las pastas fueron ensayadas a tiempo 0 y después de 12 meses de almacenamiento.

#### 3.2.4.1. Perfil viscoamilógrafo de pastas secas con HPDC (RVA- Rapid Visco Analyzer)

Las propiedades de viscosidad se realizaron a las pastas control (0% HPDC) y pastas con (2,5; 5 y 10) % HPDC, fueron evaluadas por medio de un viscosanalizador rápido (RVA 4500, Perten Instrument, Suecia). Este análisis fue evaluado por duplicado siguiendo el mismo procedimiento detallado en la sección 2. De modo que, a cada muestra de pasta molida seca (3 g) se le añadió 25 mL de agua destilada. Las dispersiones fueron mezcladas a 960 rpm por 10 s y posteriormente a 160 rpm. El periodo de calentamiento fue desde 50 °C hasta 95 °C en 4,7 min y se mantuvo a una temperatura de 95 °C durante 2,5 min con agitación constante y luego se enfrió nuevamente hasta 50 °C.

### **3.2.4.2. Determinación de la calidad de cocción de las pastas**

La calidad de cocción de la pasta se evaluó utilizando los métodos oficiales de la AACC (método 16-50; AACC, 2000). Se evaluaron el tiempo óptimo de cocción (TOC), el aumento de peso durante la cocción (APC), absorción de agua (AA) y la pérdida de sólidos durante la cocción (PSC). Las pastas se cortaron en piezas de aproximadamente 4 cm de largo, se pesó 3 g de cada muestra y se cocinó en 50 mL de agua destilada a ebullición. A estas muestras acondicionadas se realizaron las siguientes pruebas de cocción:

#### **3.2.4.2.1. Tiempo Óptimo de Cocción (TOC) (AACC 16-50, 2001)**

El Tiempo Óptimo de Cocción (TOC) de la pasta se define como el tiempo necesario para obtener la gelatinización completa del almidón. Para la determinación del punto óptimo de cocción de las pastas elaboradas, 3 gr de pasta fueron sumergidas en agua a ebullición, donde en intervalos de 30 segundos se extrajo una hebra de pasta para ser comprimida entre dos portaobjetos limpios. Este paso se repitió hasta observar que la pasta estuviese blanca translúcida y hasta que la línea blanca en el centro de esta desapareciera, a ese tiempo transcurrido fue denominado TOC. Posteriormente, se retiraron las pastas del agua de cocción, se transportaron a un colador y se enjuagaron con 10 mL de agua fría destilada durante un minuto para evitar que la pasta siga cocinándose, el agua de cocción fue conservada para el análisis de pérdidas por cocción, luego se escurrieron las pastas durante 30 segundos y finalmente las muestras fueron llevadas a un recipiente con 200 mL de agua destilada a temperatura ambiente para su siguiente análisis.

#### **3.2.4.2.2. Pruebas de cocción**

Se determinaron: las pérdidas de sólidos durante la cocción (Método AACC 16-50, 2001), ganancia de peso durante la cocción y absorción de agua (Tudoricâ et al., 2002).

##### **3.2.4.2.2.1. Pérdidas de sólidos por cocción-liberación del almidón (PSC)**

Para la determinación de las pérdidas por cocción se colocaron 5 mL del agua de cocción de cada una de las muestras (3 g de pastas) en cápsulas de aluminio previamente pesadas. Las cápsulas fueron llevadas a una estufa a 130 °C hasta su total

evaporación y peso constante donde finalmente el residuo conseguido fue pesado y calculado por diferencia de peso expresando los sólidos como % p/p de muestra.

#### 3.2.4.2.2.2. Absorción de agua (AbA)

La AbA está relacionada con el aumento de peso de la pasta durante la cocción. Se analizó pesando a la pasta antes (3 g) PS y después de la cocción PC según Tudoricâ et al. (2002) (Ecuación 11), se expresó en porcentaje.

$$AbA = \left( \frac{(PC - PS)}{PS} \right) * 100 \quad (\text{Ec. 11})$$

Donde:

PC= peso de la pasta cocida (g)

PS= peso de la pasta seca (g)

#### 3.2.4.3. Determinación de textura y color de las pastas

Los parámetros instrumentales de textura de la pasta cruda y cocida se analizaron utilizando un texturómetro INSTRON (Modelo 3342, Norwood, MA, EE. UU.) equipado con una celda de 500 N (Figura 3.3-A). La pasta cruda se evaluó mediante la prueba de flexión de tres puntos (AACCC, 2000). De esta manera se determinó la dureza en términos de fracturabilidad como el pico de fuerza máxima hasta que alcanza el punto de quiebre de la pasta (Figura 3,3-B). En este caso se expresó como el número de rupturas o quiebres al comprimir la pasta cruda/seca, representado en el número de picos de la curva obtenida Fuerza vs Tiempo.

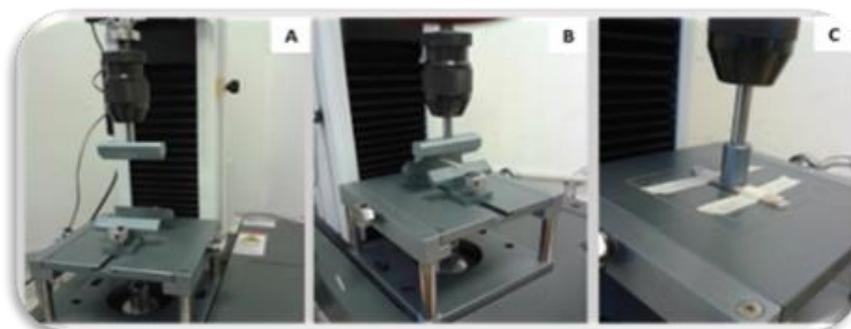


Figura 3.3. (A)Texturómetro (B) Fracturabilidad de pasta seca y cruda, (C) TPA pasta cocida

El análisis de firmeza (Figura 3.3-C) o perfil de textura instrumental (TPA) de la pasta cocida se evaluó utilizando el estudio de aplicación Ref. N002 / P35 (Stable Micro System, Surrey, Reino Unido). Tres hebras de pasta cocida de 4 cm de longitud fueron colocadas de forma perpendicular a la sonda de acero inoxidable y fueron ordenadas una al lado de la otra en forma paralela sobre la placa de acero. Se utilizó una sonda cilíndrica AP / 35 y se midió la fuerza en modo de compresión a una tensión fija del 50% de deformación a una velocidad de 50 mm/s. Una vez concluido el ensayo, se obtuvo una gráfica (fuerza vs distancia) que explicó el perfil instrumental de textura (TPA) de la muestra tal cual se muestra en la Figura 3.4.

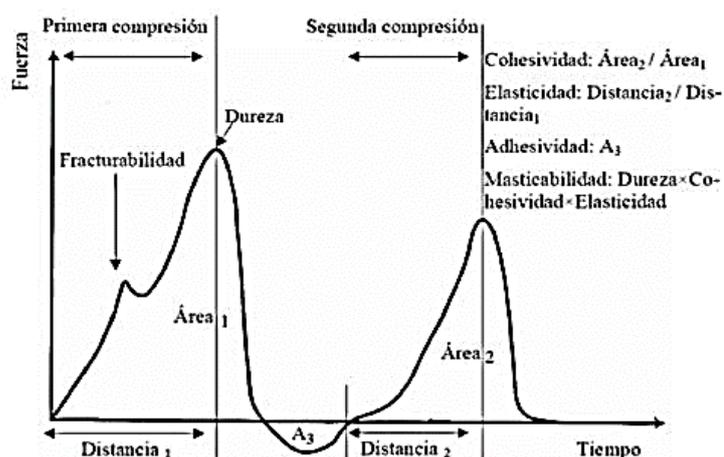


Figura 3.4. Gráfica general de análisis de perfil de textura (TPA) (Hleap y Velasco 2010)

El color de la pasta cruda y cocida se determinó utilizando un colorímetro (espectrofotómetro CM KONICA MINOLTA Sensing, INC) de 8 mm de apertura, ángulo de observador 10°, iluminante D65, componente especular incluido. Para tal determinación, se ubicaron 5 hebras de pastas de 4 cm de largo una al lado de la otra sobre un fondo blanco y se anotaron los datos manejando la escala CIE-Lab que define cada color a partir de tres coordenadas en el espacio de color del CIE lab: L\* (luminosidad), a\* (rojo-verde) y b\* (amarillo azul). Los parámetros L\*, a\*, y b\* son adimensionales y se definen en función del tipo de estímulo para simular a los observadores reales (Joshi y Brimelow, 2002). La coordenada L\* recibe el nombre de luminosidad y a\* y b\* son las coordenadas colorimétricas que forman un plano perpendicular a la luminosidad, siendo, a su vez, perpendiculares entre sí. El corte del eje L\* con el plano que forman a\* y b\* es el punto acromático. El valor a\* es una medida de la intensidad de color rojo, en el desplazamiento sobre el eje a\* hacia valores positivos del punto acromático se observan los rojos y hacia valores negativos los

verdes. El valor  $b^*$  es una medida de la intensidad de color amarillo, en el desplazamiento sobre el eje  $b^*$  hacia valores positivos del punto acromático se observan los amarillos y para valores negativos los azules. Con estos parámetros se determinó el grado de color de las muestras siguiendo la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de color} = \frac{(L^* + b^* \times 2)}{20} \quad (\text{Ec. 12})$$

#### 3.2.4.4. Evaluación microestructural de las pastas

Las características microestructurales de la superficie y el interior (sección transversal) de las pastas crudas y cocidas (0; 2,5; 5 y 10) % HPDC, se determinaron utilizando un microscopio confocal de barrido láser Olympus LEXT OLS4000 3D (CLSM). El microscopio confocal permitió observar las muestras en tres dimensiones para detectar marcas, fisuras y evaluar las características microestructurales de las muestras.

#### 3.2.4.5. Evaluación nutricional de la pasta

Los análisis para la evaluación de la calidad nutricional se realizaron a las pastas elaboradas a tiempo cero y a las pastas almacenadas por 12 meses.

##### 3.2.4.5.1. Determinación de humedad (método 44-19, AACC, 2001)

El porcentaje de humedad de las pastas se calculó por pérdida de peso al someter la muestra a un calentamiento estándar. Para ello se prepararon 3 g de cada muestra por duplicado, las cuales fueron trituradas, colocadas en cápsulas y calentadas en estufa a 130 °C hasta peso constante, seguidamente las muestras fueron retiradas de la estufa, llevadas a un desecador por 20 min y finalmente pesadas. El resultado se expresó en porcentaje de humedad según la Ecuación 13.

$$\%H = \left( \frac{(PC + MH) - (PC + MS)}{(PC + MH) - PCV} \right) * 100 \quad (\text{Ec. 13})$$

Donde:

%H = Porcentaje de humedad

$(P_C+M_H)$  = Peso de la capsula vacía + masa húmeda

$(P_C+M_S)$  = Peso de la capsula vacía + masa seca

$P_{CV}$  = Peso de la cápsula vacía

#### 3.2.4.5.2. Determinación del porcentaje de Proteínas (Método 46-13, AACC, 2001)

El contenido de nitrógeno se valoró utilizando el micro método de Kjeldahl modificado para ácido bórico. El método se basa en una mineralización de 200 mg de muestra con  $H_2SO_4$  a 400 °C en un bloque de digestión MB-6, Raypa (R. Espinar SL, Terrassa, España). El producto de la digestión (Destilador UDK 126, Velp Scientifica SRL, Usmate Velate, Italia) fue destilado sobre ácido bórico. El destilado se tituló con HCl (0,0388 N). El porcentaje de proteína total se calculó utilizando como factor de conversión 6,25 para alimentos en general. Tal cual se muestra en la ecuación 14.

$$\%Proteinas = \frac{N(g) * 6,25}{peso muestra} * 100 \quad (Ec. 14)$$

#### 3.2.4.5.3. Determinación de cenizas (Método 08-03, AACC, 2001)

El contenido de cenizas se determinó por diferencia de peso (2 g de muestra), antes y después de incinerar la muestra en mufla a 600 °C hasta peso constante.

#### 3.2.4.5.4. Determinación de fibra dietaria total (FDT) (Método 32-05, AACC, 2001)

El contenido de FDT se determinó por duplicado a las pastas crudas y a la HPDC. Se utilizó el kit de fibra alimentaria de Megazyme (Megazyme International, Irlanda) para lo cual se utilizaron Erlenmeyers de 500 mL en los cuales se pesó 0,2 g para HPDC, 1 g para pasta control y 0,5 g para pastas con HPDC, cada muestra con un porcentaje de grasa menor al 10% en base seca y un blanco por tanda. Seguidamente se adicionaron 50 mL de buffer fosfato -  $Na_2HPO_4$  0,08 M (pH=6,0) y 50  $\mu$ L de  $\alpha$ -amilasa termoestable, se incubaron las muestras a baño maría (100 °C) durante 30 min con agitación constante y fueron digeridas enzimáticamente con 100  $\mu$ L de proteasa de *Bacillus licheniformis* a 60 °C/30min (con corrección de pH a 7,5 con Na OH 0,275 M) para eliminar proteínas y 200  $\mu$ L de amilogucosidasa a 60 °C/20min (ajuste de pH a 4,5 con HCl 0,325 N) para eliminar el almidón. Posteriormente se le agregó a cada recipiente un volumen de 280 mL de etanol al 95% de pureza a 60 °C y se dejó reposar durante 1 h, con el fin de que la fibra soluble presente precipite, el cual fue filtrado

(en crisoles de placa porosa con una cama de celite previamente pesados) y lavado sucesivamente con etanol al 95% y acetona. El residuo de cada muestra fue secado a 105 °C y pesado, uno de los duplicados se utilizó para la determinar proteínas por el método de Kjeldahl y el otro duplicado para determinar cenizas por incineración a 525 °C con el fin de restar al peso seco del precipitado filtrado, los valores de proteína, cenizas y blanco para calcular el contenido de fibra dietaria total - FDT. Las muestras fueron analizadas por duplicado en dos días distintos y los resultados se expresaron como porcentaje en base seca.

#### 3.2.4.5.5. Cuantificación de ácidos grasos

La cuantificación de ácidos grasos omega-3 y omega-6 fue realizada también a las cuatro pastas con HPDC, para tal motivo se utilizó el método oficial de AOCS Ce1b-89 (AOCS, 1991) para aceites y ésteres metílicos de aceites marinos detallado en la sección 2. Se utilizó como estándar interno (EI) el éster de metilo C25:0 (Ácido pentacosanoico). Se pipeteó un mililitro del (EI) (1 mg / mL) en un tubo, el disolvente se evaporó utilizando nitrógeno. Se pesaron 85 mg de las pastas trituradas en el tubo que contenía el (EI), se añadieron 1,5 mL de NaOH 0,5 N, la mezcla se calentó durante 5 min en un baño de agua hirviendo. Después de la saponificación, se añadieron 2 mL de reactivo de BF<sub>3</sub> (12% en metanol), se calentó durante 1 hora en un baño de agua hirviendo con agitación constante. Una vez que la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió 1 mL de hexano y la mezcla resultante se agitó con un vórtex. Inmediatamente se añadieron 5 mL de una solución saturada de NaCl con agitación continua. Después de 5 minutos de descanso, la capa de hexano que se separó de la capa acuosa fue transferida a un tubo de vidrio limpio con tapa. La fase metanol/agua fue extraída dos veces agregando alícuotas adicionales de hexano de 1 mL, los extractos resultantes se combinaron. Seguidamente, el extracto combinado se concentró hasta 1 mL bajo una corriente de nitrógeno seco.

Se utilizó un cromatógrafo de gases (GC) (modelo Agilent 6850, Agilent Technologies, Palo Alto, California, U.S.A.) equipado con un Supelco SP-2330 (Supelco Inc., Bellefonte, Pa., EE. UU.) con columna de sílice fundida (longitud 30 m, ID 0,25 mm, 0,2 mm de espesor de la película). Se utilizó helio como gas portador para el análisis de los ésteres metílicos de ácidos grasos. El programa de temperaturas utilizado fue: Temperatura del horno de la columna fue programado para una temperatura inicial de 50 °C, esta se aumentó a un ritmo de 40 °C / min hasta alcanzar

170 °C, se aumentó a un ritmo de 1 °C / min hasta 200 °C para un tiempo de retención de 10 min, entonces se incrementó a una velocidad de 40 °C / min hasta que alcanzó 240 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 1 min.

El tiempo total de ejecución fue de 45 min. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 250 °C y 300 °C, respectivamente. Las velocidades de flujo de gas de helio, gas de hidrógeno y aire fueron de: 24, 30, y 300 mL / min, respectivamente, con una relación de división de 50:1.

Se utilizó un detector de ionización de llama para localizar los picos de omega-3 y de omega-6, se identificaron comparando los tiempos de retención con la del (EI) C23: 0 (ácido tricosanoico). Se determinaron los contenidos de omega-3 y omega-6 utilizando la siguiente ecuación 15:

$$\text{omega 3; omega 6} \left( \frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \left( \frac{\text{AX} * \text{WEI} * \text{CFX}}{\text{AEI} * \text{WS} * 1,04} \right) * 100 \quad (\text{Ec. 15})$$

Donde:

AX=cuantificación de área para omega-3 u omega-6.

AEI=es el recuento de área para el EI.

CFX es factor de corrección teórico para omega-3 u omega-6.

WEI=es el peso del EI en (mg) que se añadió a la muestra.

WS=es el peso de la muestra (mg).

Las muestras fueron analizadas por duplicado y los resultados fueron expresados en g de omega-3 u omega-6/100 g de pastas.

### 3.2.4.5.6. Propiedades antioxidantes de las pastas

#### 3.2.4.5.6.1. Extracción de compuestos fenólicos

Las muestras de pasta seca se trituraron en un molino de cuchillas para la extracción de compuestos fenólicos. Paralelamente, se cocinó otro lote de muestras de pasta en agua ultrapura en sus respectivos TOC. Posteriormente, la pasta cocida fue liofilizada y molida. Se extrajeron cinco gramos de pasta cruda/pasta cocida liofilizada con 20 mL de una mezcla de acetona/agua (4:1), durante 1 hora a

temperatura ambiente en la oscuridad. El sobrenadante se eliminó y se filtró a través de un filtro de celulosa. Este procedimiento se repitió dos veces. Finalmente, los sobrenadantes se agruparon, se evaporaron a sequedad a 50°C a presión reducida y se reconstituyeron con 5 mL de metanol grado HPLC. Las muestras se prepararon por duplicado y se almacenaron a -80 ° C hasta su posterior análisis.

#### **3.2.4.5.6.2. Contenido total de polifenoles CTP**

El contenido total de polifenoles (CTP) libres de las cuatro pastas con distintos niveles de HPDC de los extractos se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Orthofer y Lamuelas-Raventos, 1999). Este ensayo los compuestos fenólicos presentes en la muestra reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu a pH básico, dando lugar a una coloración azul cuya intensidad es la que se determina (con un máximo de absorción de 750 nm) para evaluar el contenido en polifenoles la cual se cuantifica por espectrofotometría en base a una curva patrón de ácido gálico (GAE) (solución madre 246 µg/mL, 0,0123 g de ac. Gálico en 50 mL de metanol y sus respectivas diluciones). El contenido de CTP se realizó de acuerdo con el mismo procedimiento explicado en la sección 2 con modificaciones en los volúmenes de los extractos: 20 µL de extracto de cada muestra se mezclaron en un tubo kahn con 1,68 mL de agua ultrapura y 100 µL de metanol. Luego, se agregaron 100 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y se agitaron (vortex). Después de exactamente 1 minuto, se agregaron 300 µL de carbonato de sodio acuoso (20%), se y se dejó reposar 120 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Luego, se leyó la absorbancia a 750 nm. El CTP se calculó mediante regresión lineal utilizando ácido gálico como estándar. Los resultados se expresaron en mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de pasta. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

#### **3.2.4.5.6.3. Determinación de la capacidad antioxidante (FRAP, TEAC y DPPH)**

La capacidad antioxidante se midió mediante los tres métodos químicos explicados en la sección 2 con la diferencia que se agregó distinta cantidad de extracto según la muestra. Para evaluar la capacidad de reducir el ion  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$  se utilizó el método FRAP y para evaluar la capacidad antirradicalaria se utilizó el ensayo de DPPH y el ensayo de TEAC.

En el ensayo de FRAP la solución de trabajo se preparó mezclando buffer acetato a pH 3,6, una solución de TPTZ 10 mM en HCl 40 mM y una solución de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  al 20 mM (10: 1: 1, respectivamente). Se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra a 3 mL de solución de FRAP y 80  $\mu\text{L}$  de metanol. Las mezclas se incubaron en la oscuridad durante 15 minutos y se midió la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en mmol equivalente de Trolox /100 g de pasta (mmol ET/100 g pasta).

Para generar el radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  en el ensayo de TEAC, se mezclaron 10 mL de una solución 7 mM de ABTS en agua ultra pura con 6,7 mg de  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  la misma se estabilizó durante 12 a 15 h bajo oscuridad a temperatura ambiente. Para preparar el reactivo de trabajo se diluyó la solución concentrada de  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  con metanol hasta llegar a una absorbancia de  $0,80 \pm 0,02$ , a una longitud de onda de 734 nm y a una temperatura de  $25^\circ\text{C}$ . En un tubo Khan se agitaron 3 mL del reactivo de trabajo con 95  $\mu\text{L}$  de metanol y 5  $\mu\text{L}$  de cada extracto. Se dejó reposar por 30 min a temperatura ambiente protegidos de la luz. La absorbancia de la solución fue medida a 734 nm contra un blanco procesado de la misma manera donde la muestra en este último fue reemplazada por el solvente de la dilución. La capacidad antioxidante de cada muestra se determinó a través de la extrapolación de su absorbancia en una curva de calibración usando Trolox como estándar con un rango de linealidad de 0 a 0,020 mM. Las muestras fueron ensayadas por triplicado y los resultados fueron expresados como mmoles equivalente de Trolox por 100 g de muestra (mmol ET/100 g pasta).

El ensayo DPPH (Brand-Williams et al., 1995) se realizó utilizando una solución de trabajo de DPPH en metanol a una concentración de 24 mg / L. Se agregaron 3 mL de la solución a 30  $\mu\text{L}$  de muestra y 70  $\mu\text{L}$  de metanol. Las mezclas se incubaron en la oscuridad durante 15 minutos y se midió la absorbancia a 515 nm. Se utilizó Trolox como estándar para calcular una regresión lineal. Los resultados se expresaron también como mmol equivalente de Trolox/100 g de pasta. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

#### **3.2.4.5.7. Evaluación sensorial de las pastas**

Para evaluar la calidad organoléptica y determinar la aceptación de las pastas elaboradas a tiempo cero y después de 10 meses de almacenamiento, se realizó una prueba de evaluación sensorial de los atributos color, apariencia general, aroma, sabor, textura y aceptabilidad con 35 jueces semi-entrenados (parte de su dieta basada en pastas) de acuerdo con su agrado o desagrado. La evaluación se llevó a cabo a la

luz del día en una mesada apropiada, las muestras (0%, 2,5%, 5%, 10% HPDC) se cocinaron según el TOC establecido para c/pasta, se filtraron, se enjuagaron y se enfriaron en agua a 20 °C y fueron presentadas a los panelistas en vasos individuales con uno de agua adicional para la limpieza bucal entre cada prueba y muestra. A su vez se les entregó una planilla con una escala hedónica de nueve puntos (1 me gusta muchísimo, 2 me gusta mucho, 3 me gusta moderadamente, 4 me gusta ligeramente, 5 ni me gusta ni me disgusta, 6 me disgusta ligeramente, 7 me disgusta moderadamente, 8 me disgusta mucho, 9 me disgusta muchísimo) y se les dio las instrucciones correspondientes para la evaluación independiente de las cuatro muestras, las cuales fueron codificadas con números aleatorios de tres dígitos (117, 581, 185, 803) para evitar sesgo. Al final de la evaluación, se les preguntó a los jueces si estarían dispuestos a comprar/consumir o no este tipo de pasta.

Para la evaluación los panelistas utilizaron los sentidos de la vista, gusto, olfato y tacto. Primeramente se les pidió que evaluaran el color y la apariencia general (aspecto superficial) de las pastas a través de una observación visual; el sabor y la textura fueron evaluados simultáneamente al introducir las muestras a la boca (firmeza, fuerza de los molares necesaria para desintegrar la muestra y masticabilidad, tiempo necesario de masticación para ser deglutido) y finalmente con el sentido del tacto (dedos) se les pidió a los panelistas que evalúen la pegajosidad de la superficie de la pasta y su elasticidad, los cuales son parámetros muy importantes dentro de la calidad de las pastas, adicionalmente los jueces llenaron otra planilla con la intención de compra del producto con una escala hedónica de 5 puntos (5 Estoy seguro que lo compraría, 4 Quizás lo compraría, 3 No sé si lo compraría, 2 Quizás no lo compraría y 1 Definitivamente no lo compraría)

### **3.2.5. Análisis estadístico**

Se realizó un ANOVA para evaluar las diferencias entre muestras. En el caso de significancia ( $p < 0,05$ ), se realizó una prueba de comparación DGC (Di Rienzo et al., 2002) para explicar las diferencias apareadas entre las medias. La prueba se realizó utilizando el software InfoStat (InfoStat, Córdoba, Argentina) y finalmente se realizó un ACM (Análisis de correspondencias múltiples) en la evaluación sensorial de las pastas para poder identificar la asociación y relación con los resultados del ANOVA.

### 3.3. Resultados y discusión

Uno de los principales problemas en la formulación de alimentos con la incorporación de nuevos ingredientes alimenticios es el posible efecto adverso de estos sobre la calidad del producto final. En tal sentido se evaluaron y analizaron los efectos de la incorporación de la HPDC sobre la calidad de las pastas crudas y pastas cocidas a tiempo cero y durante su almacenamiento entre 10 y 12 meses, sobre las propiedades físicas, nutricionales y sensoriales de pastas alimenticias elaboradas.

#### 3.3.1. Efectos sobre la textura y el color de las pastas crudas

Las pastas secas y crudas se caracterizan por su color amarillo brillante y translúcido, además una pasta de buena calidad debe ser fuerte mecánicamente y no presentar quebraduras (parámetro importante en el envasado y transporte del producto a góndola). En tal sentido, los resultados evaluados a las pastas crudas en cuanto al color, propiedades mecánicas de dureza/fracturabilidad y su perfil viscoamilógrafo se detallan en esta sección.

La Tabla 3.5 muestra el efecto de la HPDC sobre la calidad de las pastas crudas, considerando el color y la fuerza de ruptura como las características principales. El color es el primer parámetro de calidad que un consumidor evalúa en el momento de comprar un producto como por ejemplo se espera ver un amarillo brillante en una pasta. La resistencia a la rotura de la pasta cruda es un indicador de cómo el producto soportará el almacenamiento y la manipulación durante el transporte.

En cuanto al color, los resultados mostraron que la adición de porcentajes crecientes de HPDC, disminuyó el parámetro  $L^*$  (luminosidad) y el grado de color general de las muestras (Tabla 3.5). Esto implica que pastas con HPDC son más oscuras, con un tono más pardo que la muestra control (0% HPDC). Si bien este aspecto marrón puede causar cierta preocupación a los consumidores que no están acostumbrados a consumir productos integrales, la tendencia actual hacia alimentos "más saludables" puede representar una oportunidad para introducir este tipo de producto.

La fuerza de rotura (FR) se define como la necesaria para provocar la ruptura de una hebra de pasta (fracturabilidad) bajo una compresión (Mariotti et al., 2011). La incorporación de HPDC disminuyó la FR a un nivel significativo (Tabla 3.5), lo que implica que las muestras con HPDC resultaron ser más frágiles que la muestra control,

esto puede estar relacionado a que la incorporación de una HPDC al tener una granulometría distinta genera mayores puntos de quiebre debilitando la estructura de las pastas. Probablemente, al usar un procedimiento de secado diferente, esta debilidad podría superarse. El aumento en la fuerza de la red de proteínas en la pasta como resultado del secado a alta temperatura ha sido descrito por Zweifel et al., 2003.

**Tabla 3.5. Color y textura de pastas crudas**

Pasta cruda								
HPDC (%)	L*		a*		b*		Grado de color	FR (N)
0,0	68,84	± 3,01a	1,04	± 0,14a	16,08	± 0,15a	5,05	3,87 ± 0,07
2,5	66,09	± 0,78a	1,35	± 0,29b	14,43	± 1,42b	4,75	2,86 ± 0,62
5	63,5	± 2,34b	1,38	± 0,08b	12,99	± 0,54c	4,47	2,25 ± 0,11
10	61,81	± 5,07b	1,52	± 0,09b	11,07	± 0,88d	4,2	2,25 ± 0,53

La muestra de 0% HPDC corresponde a una pasta de harina de trigo 100%; Grado de color =  $(L^* + b^* \times 2) / 20$

### 3.3.2. Efectos sobre la textura, color y calidad de cocción de las pastas cocidas

El objetivo final es producir pastas con las mejores propiedades de textura posibles. Sin embargo, lo que define la mejor calidad de cocción puede ser subjetivo en relación con la preferencia del consumidor y puede variar de un país a otro, pero la calidad de cocción está a menudo vinculada con una alta firmeza a la mordida, baja pegajosidad, aspecto uniforme e integridad estructural, así como una buena resistencia a la sobre cocción donde el agua de cocción debería estar libre o con un mínimo contenido de almidón. La calidad y cantidad de las proteínas, la continuidad y fortaleza de la red proteica (gliadinas y gluteninas que interaccionan fuertemente) están muy relacionadas a la textura del producto final ya que el contenido de proteínas justifica el 30-40% de la variabilidad en la calidad de cocción. Las propiedades de textura se relacionan con cambios microestructurales durante la cocción, que a su vez están afectados por el agua y la temperatura (Marti et al., 2014).

La fibra puede inducir fuertes aromas (debido a los ácidos fenólicos) y cambios en la textura con una mayor pérdida de amilosa en la cocción (interacción física y química con la red proteica) y consecuente disminución de la firmeza en las pastas (obstaculizan la agregación de la red proteica) (West, 2012). En la pasta fresca las fibras solubles se incluyen dentro de la red proteica de la pasta, mientras que las fibras insolubles, como el salvado, estarían perturbando la red (Tudoricâ et al., 2002).

Algunos mencionan que podría depender de la cantidad, el tipo de fibra y de las condiciones de proceso (Villeneuve y Gelinas, 2007). Las partículas del germen afectan la red de proteínas en mayor medida que las partículas de salvado (Aravind et al., 2012).

Al igual que lo ocurrido en la pasta cruda, la adición de HPDC disminuyó la luminosidad ( $L^*$ ) de las pastas cocidas en comparación con la pasta control (0% HPDC). El parámetro  $a^*$  aumentó significativamente, mientras que el parámetro  $b^*$  disminuyó significativamente (Tabla 3.6) a medida que el contenido de HPDC fue mayor en las pastas. Además, el grado de color disminuyó con el aumento de HPDC en la formulación de las pastas. Estos parámetros indicaron que la pasta se oscureció a medida que se incrementaron las proporciones de HPDC.

Con respecto a la calidad de cocción, se encontró que la firmeza y la adhesividad (TPA instrumental), dos características texturales muy importantes en la calidad de la pasta no fueron estadísticamente diferentes entre las pastas con o sin HPDC (Tabla 3.6). Las partículas pequeñas de HPDC dentro de la red proteica al hidratarse con el agua de cocción gelifica y podría contribuir a una mayor firmeza. Vignola et al., 2018, Bagdi et al., 2014, Sozer et al., 2007a y Aravind et al., 2012, encontraron que pastas con el agregado de germen y salvado de trigo fueron significativamente más firmes que pastas con 100 % semolina. Vignola et al., 2018, lo atribuyeron al tamaño de partícula de las harinas (125  $\mu\text{m}$ ), indicando que un gran número de partículas pequeñas pueden estar homogéneamente distribuidas en la estructura de la pasta promoviendo al aumento de la firmeza. Steglich et al. (2015) y Shiau et al. (2012) también llegaron a la conclusión que la firmeza de las pastas cocidas fue mayor en muestras con tamaño de partículas de salvado más pequeñas.

Los valores de adhesividad de las pastas (Tabla 3.6) oscilaron entre 0,24 y 0,29 mJ, no encontrándose diferencias significativas entre las muestras. No obstante, las pastas con HPDC presentaron valores más bajos que la pasta control, en conformidad con los resultados en relación con las menores pérdidas de sólidos durante la cocción que se observaron en pastas con HPDC, indicando menor liberación de amilosa al agua de cocción y menor cantidad de amilopectina sobre la superficie de las pastas con HPDC.

**Tabla 3.6. Color, textura y características de cocción de pastas**

Pasta cocida					
HPDC (%)	0,0	2,5	5	10	
L*	74,45 ± 1,64a	68,01 ± 1,05b	64,48 ± 3,56c	60,24 ± 0,31d	
a*	0,57 ± 0,36a	1,76 ± 1,21b	1,68 ± 2,62c	2,7 ± 3,80d	
b*	13,03 ± 3,15a	12,87 ± 4,83a	11,84 ± 4,12b	9,7 ± 0,10c	
Grado de color	5,03	4,69	4,41	3,98	
Firmeza (N)	7,42 ± 1,06a	8,4 ± 0,12a	6,73 ± 0,59a	7,42 ± 0,64a	
Adhesividad (mJ)	0,29 ± 0,05a	0,25 ± 0,02a	0,24 ± 0,02a	0,27 ± 0,03a	
TOC	14,15 ± 0,20a	13,15 ± 0,20b	13,00 ± 0,20b	12,00 ± 0,20c	
PSC(%)	13,61 ± 1,27a	11,77 ± 1,26b	10,22 ± 1,42b	10,43 ± 0,50b	
AbA (%)	162,23 ± 3,90a	159,35 ± 5,86a	156,76 ± 8,56a	161,73 ± 6,88a	
IH (%)	2,79 ± 0,04a	2,68 ± 0,01b	2,61 ± 0,04c	2,49 ± 0,03d	

Valores con letras iguales no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ) de acuerdo con el test DGC. Grado de color:  $(L^* + b^* \times 2) / 20$ ; TOC: tiempo óptimo de cocción, PSC: pérdidas de sólidos durante la cocción, AbA: absorción de agua, IH: índice de hinchamiento

El tiempo óptimo de cocción (TOC) disminuyó a medida que el contenido de HPDC aumentó en la formulación (Tabla 3.6), lo que indica que la HPDC interfirió en la estructura de las pastas debilitando la matriz almidón/proteína lo que se traduce en una disminución de los tiempos de cocción en comparación a las pastas 100% harina de trigo. Otros autores que elaboraron pastas a partir de semolina con el agregado de germen y salvado de trigo, obtuvieron el mismo comportamiento (disrupción de la matriz proteica por salvado y germen) en las pastas enriquecidas en comparación a su control (Kaur et al, 2012, Aravind et al., 2012; Manthey y Schorno, 2002).

Las pérdidas de sólidos por cocción (PSC) de las pastas alimenticias es uno de los parámetros de mayor importancia en la aceptabilidad de las pastas por parte del consumidor (Sissons et al., 2005; Fu, 2008), además brinda información del comportamiento general de la pasta durante la cocción. En la Tabla 3.6, se observa que el peso del total de sólidos perdidos durante la cocción disminuyó, mientras que la absorción de agua durante la cocción (AbA) no cambió significativamente como resultado de la incorporación de la HPDC. El hecho de que la HPDC sea un material con capacidad de retención de agua (Iglesias y Haros, 2013) tal cual se confirmó en la sección 2, la naturaleza soluble del polisacárido de la chia y la interacción de la red con este hidratado puede encapsular la matriz de almidón y proteína como un gel que atrapa agua (Tudorica et al., 2002) retardando la difusión de los compuestos de almidón hacia el agua de cocción. Esto refuerza la hipótesis de que el mucílago de chia forma una red alrededor de los gránulos de almidón, encapsulándolos durante la cocción y restringiendo la hinchazón excesiva y la liberación de la amilosa al agua de

coCCIÓN en pastas con mayores proporciones de HPDC. No obstante, algunos autores Sozer et al. (2007a) evaluaron espaguetis comerciales de harina integral y encontraron mayores pérdidas por coCCIÓN en comparación a espaguetis elaborados con 100% semolina otorgando dicha pérdida al debilitamiento de la red proteica por la presencia del salvado.

Los valores del índice de hinchamiento estuvieron entre 2,49 y 2,79% (Tabla 3.6) donde se observó que las pastas con HPDC presentaron valores más bajos que las pastas control (0% HPDC). Las pastas con HPDC al cocinarse en menor tiempo absorben menor cantidad de agua al mismo tiempo que evidencian una distribución desigual y competencia por esta dentro de la matriz (proteína-fibra-almidón) evitando así el hinchamiento del almidón debido a la disponibilidad limitada de agua (Sozer et al., 2007a; Brennan y Tudorica 2008). Aravind et al. (2012) registraron una disminución en el índice de hinchamiento en pastas de semolina con salvado, justificando dicho resultado a la competencia por el agua entre el salvado y los gránulos de almidón. Kaur et al. (2012) también encontraron que el índice de hinchamiento disminuyó debido a la incorporación de germen y salvado en pastas.

### **3.3.3. Efectos de la HPDC sobre la microestructura de las pastas**

La introducción de la microscopía de barrido láser confocal (MBLC) significó un gran avance en la microscopía y tiene la capacidad de obtener imágenes con una buena resolución, contraste y nitidez que las que se pueden lograr con la microscopía óptica convencional de niveles seleccionados dentro de objetivos gruesos y tridimensionales (Shotton, 1989; Hepler y Gunning, 1998). Su principio se basa en que un láser de una determinada longitud de onda aplicado en forma de barrido en una pequeña parte de la muestra hace que moléculas excitadas emitan fluorescencia una longitud de onda superior a la aplicada, eliminando además la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco, obteniendo así imágenes de diferentes planos focales que permiten el análisis tridimensional de las estructuras analizadas. La preparación de las muestras no es invasiva lo que permite la observación de estructuras fisiológicamente activas. La MBLC puede utilizarse en modos de transmisión y reflexión, pero se ha demostrado que la imagen de fluorescencia ha sido probada como la técnica microscópica más potente en aplicaciones biológicas y en la microscopía de alimentos.

En tal sentido, se utilizó la microscopía confocal de barrido láser (MBLC) para evaluar el efecto de la adición de HPDC sobre la microestructura de las pastas. La Figura 3.5 muestra las microfotografías de la superficie y la sección transversal de una hebra de pasta seca y cocida. Se evaluaron a las pastas control (0% HPDC) y las pastas con 5% de HPDC.

En la microfotografía de la superficie de la pasta cruda control (Figura 3.5a) se observó consolidación del retículo proteico y una matriz de proteína que rodea numerosos gránulos de almidón intactos sin gelatinizar de distinto tamaño, así como pequeños cuerpos proteicos. La superficie de la muestra control de la pasta seca se observó homogénea mientras que la superficie de la pasta con 5% HPDC se observó más heterogénea con presencia de material (HPDC) insertado entre los gránulos de almidón pareciendo estar interrumpiendo la estructura compleja de la red proteica (Figura 3.5e), lo que se correlaciona con los menores valores de FR encontrados en pastas con HPDC (Tabla 3.6). Además, se pudo observar que la superficie de la pasta con 5% de HPDC fue más porosa. Esta estructura abierta y la presencia de poros pueden ser responsable de una mayor absorción de agua, una explicación plausible de los menores tiempos de cocción observados de las pastas con HPDC (Tabla 3.6).

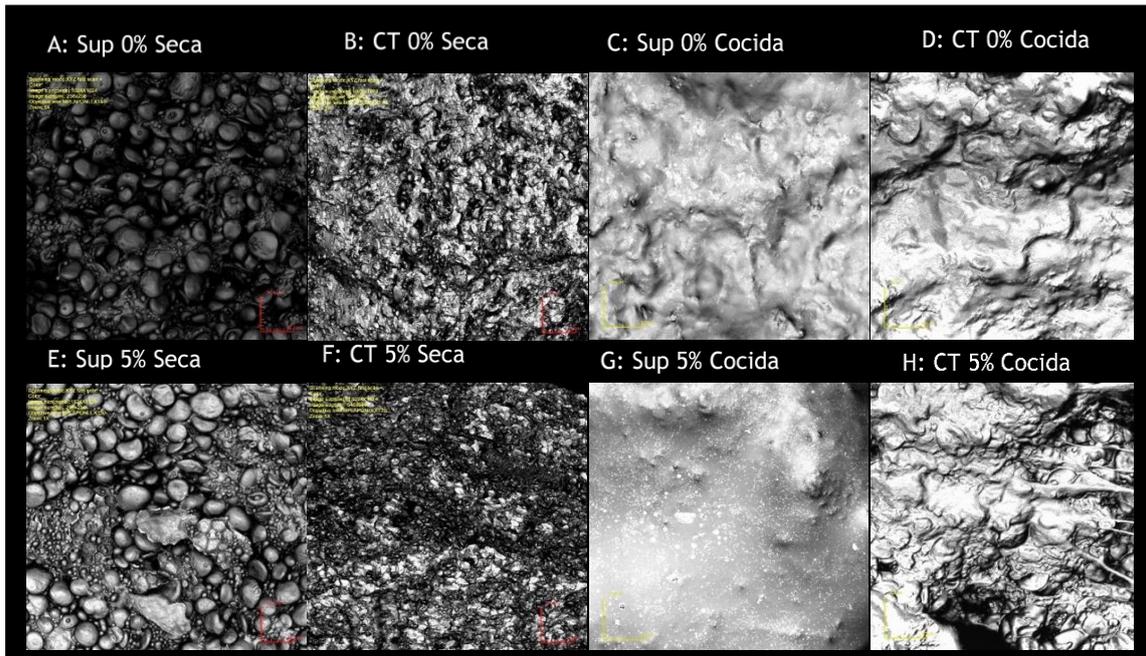
Las imágenes de la sección transversal de la pasta cruda también muestran algunas diferencias entre el control y la pasta con 5% HPDC. La sección transversal de la pasta control (Figura 3.5b) parece ser más compacta y muestra una matriz de proteínas que rodean los gránulos de almidón, los mismos se ven profundamente incrustados en una red de proteína, estos resultados están de acuerdo con las observaciones de otros autores (Gull et al., 2016). Mientras que la pasta con 5% de HPDC (Figura 3.5f) fue similar, la estructura fue menos homogénea que la muestra control. Otros autores también han observado efectos similares en la microestructura de la pasta al agregar otros ingredientes como semillas de lentejas (Wójtowicz y Mościcki, 2014).

Con respecto a la microestructura de la pasta cocida, se pudo observar gelatinización del almidón lo que corrobora que durante el proceso de cocción hubo una hidratación por difusión del agua de afuera hacia el centro de la pasta (aumento de la viscosidad de la suspensión-gránulos hinchados adheridos unos a otros) provocando un cambio continuo de la estructura desde la superficie hasta el interior de esta. En las microfotografías de la superficie no se distinguieron gránulos de almidón

ni cuerpos proteicos visibles (Figura 3.5 c y g) en cambio se observó la matriz proteica coagulada que se extendía sobre los gránulos de almidón, revistiéndolos completamente formando una estructura compacta con ausencia de espacios vacíos.

La superficie de la pasta cocida con 5% HPDC (Figura 3.5g) pareció estar cubierta por una estructura homogénea similar a una película. Las partículas de harina de chíá al absorber agua produjeron un film homogéneo sobre la superficie de la pasta como si fuera una capa de gel sin ninguna fisura e irregularidades como se observó en la imagen de la pasta control (Figura 3.5 c), esto se corrobora con los menores %PSC obtenidos en las pastas con HPDC (Tabla 3.6), la capa de gel formada al hidratarse la HPDC retarda la difusión de estos compuestos al agua de cocción.

En la sección transversal de la hebra de pasta, se observa una matriz que envuelve los gránulos de almidón parcialmente gelatinizados y recubiertos por la matriz de proteínas desnaturalizada pero compacta (Figura 3.5d). Estas imágenes muestran diferencias relacionadas con la incorporación de HPDC (Figura 3.5h). La adición del 5% de HPDC interrumpe esta red proteica observándose mayor cantidad de gránulos de almidón que parecen estar menos hinchados dentro de una matriz que pierde regularidad, dando lugar a una estructura más abierta y debilitada, a la vez estos parecen estar atrapados dentro de una red proteína y fibra. Además, esta alteración de la estructura de la pasta puede justificar la leve competencia por el agua entre la fibra y el almidón limitando su hinchamiento (IH). No obstante, la mayor cantidad de grietas que se formaron durante el secado de la pasta cruda facilitó la migración del agua a nivel local disminuyendo el TOC. Matrices microestructurales similares se observaron al agregar harina de frijol blanco (Wójtowicz y Mościckibib, 2014).



**Figura 3.5. Microscopía confocal (MBLC) de la superficie (Sup- magnificación 1070x) y del corte transversal (CT-magnificación 428x) de pastas sin almacenamiento con 0% y 5% HPDC (A-H).**

### 3.3.4. Calidad nutricional de las pastas crudas y cocidas

Los resultados de la evaluación nutricional de la pasta muestran que el contenido total de fibra dietética (FDT) y omega-3 de la pasta aumentó significativamente con mayores proporciones de HPDC (Tabla 3.7). De hecho, la pasta con 10% HPDC mostró un aumento de alrededor del 300% de FDT en comparación con la pasta control. La proporción de ácidos grasos omega-6/omega-3 también aumentó significativamente de 0 a 2,14, lo que constituye un producto con un mejor equilibrio de ácidos grasos poliinsaturados según lo establecido por Simopoulos et al. (2000). Con respecto al contenido de proteínas y minerales, ambos parámetros aumentaron a medida que aumentó el contenido de HPDC en la formulación, a excepción en el caso del contenido de cenizas en pastas con 2,5% HPDC.

**Tabla 3.7. Caracterización de las pastas crudas y cocidas**

Pastas secas	ácidos grasos omega-3 (18:3) (g/100 g)	ácidos grasos omega-6 (18:2) (g/100g)	Relación omega-6/omega-3	Proteínas (%) (b.s.)	Fibra alimentaria FDT (%) (b.s)	Humedad (%)	Cenizas (%) (b.s.)
0% HPDC	0,00a	0,02a	0,00a	11,04 ± 0,03a	2,86 ± 0,19a	10,45 ± 0,33a	2,18 ± 0,00a
2,5% HPDC	0,06a	0,05a	1,20b	11,28 ± 0,12a	4,53 ± 0,12b	10,74 ± 0,06a	2,25 ± 0,01a
5% HPDC	0,11a	0,07a	1,57c	11,72 ± 0,18b	4,89 ± 0,05b	10,65 ± 0,11a	2,37 ± 0,07b
10% HPDC	0,30a	0,14a	2,14d	12,66 ± 0,14c	9,08 ± 0,63c	10,42 ± 0,19a	2,48 ± 0,02b
<b>Pastas cocidas</b>							
0% HPDC	---	---	---	11,66 ± 0,30a	2,01 ± 0,37a	---	0,78 ± 0,02a
2,5% HPDC	---	---	---	12,43 ± 0,03b	2,23 ± 0,03a	---	0,78 ± 0,04a
5% HPDC	---	---	---	13,14 ± 0,09c	2,49 ± 0,39a	---	0,95 ± 0,02b
10% HPDC	---	---	---	14,33 ± 0,11d	2,89 ± 0,16a	---	1,20 ± 0,06b

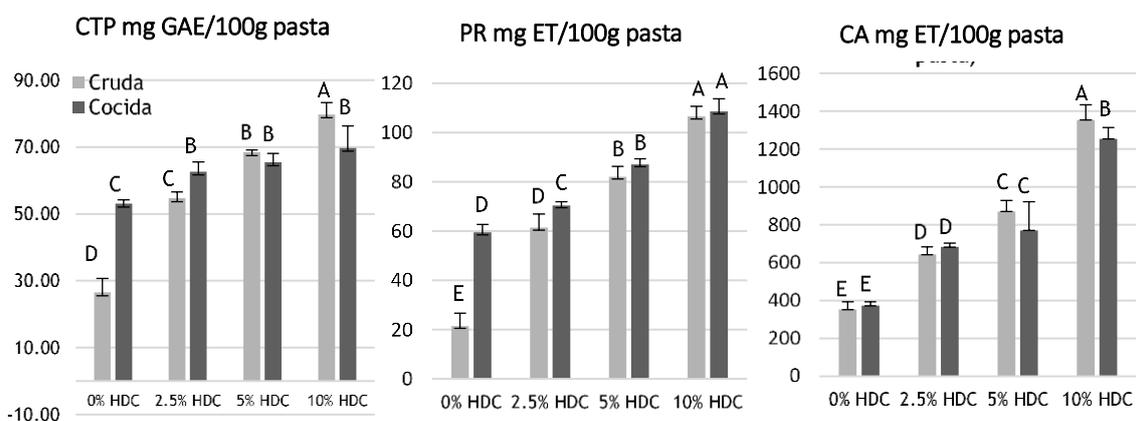
Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) según la prueba DGC. HPDC = harina de chíá parcialmente desgrasada; la muestra 0.0% HPDC corresponde a una pasta con 100%harina de trigo

El contenido de proteínas obtenido en pastas cocidas (Tabla 3.7) osciló entre 11,66 y 14,33 % valores levemente más elevados que los encontrados en pastas secas, las pastas con HPDC presentaron valores significativamente más elevados en comparación a las pastas control (0% HPDC). Los valores de FDT y cenizas encontrados en las pastas cocidas fueron significativamente menores que los encontrados en las pastas secas, es decir que la mayor cantidad de fibra de la HPDC se difundió al agua de cocción, no obstante, se observó de igual manera un incremento en el contenido de FDT y cenizas de las pastas cocidas con 5 y 10%HPDC en comparación a las pastas cocidas con 0 y 2,5% HPDC.

### 3.3.4.1. Contenido fenólico total (CTP) y capacidad antioxidante de las pastas

La actividad antioxidante es una de las propiedades más estudiadas en los alimentos. Muchos autores sugieren que está involucrada en la protección contra el daño oxidativo de las células y los tejidos, desempeñando un papel importante en la prevención de numerosas enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como el cáncer, la diabetes y los problemas cardiovasculares (Dias et al., 2017). En general, la capacidad antioxidante se atribuye a los compuestos fenólicos, que son componentes comunes de las plantas comestibles (Kwee, 2016). El consumo de productos con altas concentraciones de antioxidantes ayuda a prevenir dichas enfermedades relacionadas al estrés oxidativo de las células y tejidos.

Los resultados del análisis de CTP mostraron que la adición de HPDC aumentó significativamente el contenido fenólico total en comparación con la pasta control (Figura 3.6). En el caso de la pasta cruda, el nivel de compuestos fenólicos se incrementó linealmente junto con el mayor contenido de HPDC. Sin embargo, teniendo en cuenta que la pasta se consume después de la cocción, el resultado clave está representado por el aumento del CTP de la pasta cocida con HPDC en comparación a la pasta cocida control.



**Figura 3.6. Contenido fenólico total (CTP) y (PR) poder reductor y (CA) capacidad atrapadora de radicales libres de pastas con diferentes niveles de HPDC. Las barras representan la media ± la desviación estandar n=4. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de DGC (p < 0,05)**

Con respecto a la capacidad antioxidante medida por los métodos FRAP (PR) y ABTS (CA), la tendencia fue la misma para las pastas crudas y cocidas que mostraron un aumento de la actividad directamente relacionada con el mayor contenido de HPDC (Figura 3.6). Estos resultados son consistentes con estudios previos en pastas enriquecidas con materias primas ricas en fenoles, como el wakame de algas (Prabhasankar et al., 2009) o alforfón (Biney y Beta, 2014), en los cuales se observaron relaciones positivas entre el CTP, capacidad antioxidante y la proporción de materiales añadidos. En conjunto, estos estudios apoyan la mejora de las propiedades antioxidantes de la pasta de trigo mediante el uso de ingredientes de origen natural, obteniendo un producto con un valor agregado beneficioso para la salud humana. Por otro lado, es interesante analizar los efectos del proceso de cocción. Mientras que el contenido de polifenoles aumenta en la pasta control y en la pasta con 2,5% HPDC después de la cocción, el CTP de la pasta con 5%HPDC no se vio afectado

significativamente, mientras que para la pasta con 10%HPDC se observó una ligera disminución.

Un componente puede ejercer su acción antioxidante por dos mecanismos principales: por transferencia de un átomo de hidrógeno (determinado como la capacidad antiradicalaria-CA) y por transferencia de un electrón (determinada como el poder reductor-PR) (Prior et al., 2005). El ensayo de FRAP (PR) también indicó que en la pasta control y la pasta con 2,5% HPDC se produce una liberación de componentes fenólicos, pero no para el caso de las pastas con 5% y 10% HPDC. En el caso de la capacidad antiradicalaria (CA) evaluada por el método ABTS, la única diferencia significativa encontrada fue en la pasta con 10% HPDC, para la cual la pasta cocida mostró menos actividad que la pasta cruda. En este sentido, Fares et al. (2010) han llegado a la conclusión de que el proceso de cocción mejora las propiedades antioxidantes de la pasta de trigo (medida por métodos químicos), lo que podría explicar la liberación de algunos ácidos fenólicos del trigo por altas temperaturas. En estos resultados, fue notable observar un mayor aumento del contenido de polifenoles entre la pasta cruda y la cocida para la muestra control y con 2,5% HPDC. Esto sugiere que los compuestos fenólicos liberados en el proceso de cocción son probablemente componentes del trigo, y no los proporcionados por la harina de chía.

La pasta elaborada es a base de harina de trigo blanca, que se sabe que tiene un contenido reducido de micronutrientes en comparación con la harina de trigo de grano entero (Hemery et al., 2007). Se ha informado que la harina de trigo integral tiene muchos efectos beneficiosos para la salud humana, como las propiedades antioxidantes atribuidas a su alto contenido de polifenoles (Podio et al., 2017). Si se comparan estos resultados con los de la fracción libre de compuestos fenólicos de la pasta de trigo integral obtenidos por Podio et al. (2017), es interesante observar que la adición de HPDC a la harina de trigo blanco (hasta un 10%) permite alcanzar niveles similares del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante (FRAP) que las pastas de trigo entero. Finalmente, con respecto a los efectos del proceso de cocción en la actividad antioxidante de los polifenoles, las diferencias más notables se observaron en las pastas no suplementadas, mostrando un claro aumento de sus niveles después de la cocción. Ya se ha propuesto que el proceso de cocción de la pasta de trigo provoca una liberación de polifenoles de la matriz alimentaria (Podio et al., 2017). Por otro lado, los efectos sobre la pasta suplementada con diferentes proporciones de HPDC no fueron significativos en términos generales. Entonces es plausible pensar que los

compuestos de las semillas de chía responsables de sus propiedades antioxidantes no se vieron fuertemente afectados por el proceso de cocción, siendo no afectados en el momento de la ingesta de la pasta enriquecida.

### 3.3.5. Evaluación sensorial

La tabla 3.8, muestra los resultados de la evaluación sensorial de las pastas cocidas. Se obtuvieron las puntuaciones de preferencia de color, apariencia, sabor, olor y firmeza en el momento cero y luego de 10 meses de almacenamiento en bolsas herméticas a temperatura ambiente. En general, todas las características sensoriales se evaluaron por encima del punto central de la escala (5 = ni me gusta ni me disgusta), lo que indica que las muestras con HPDC no fueron rechazadas. Sin embargo, todas las características se evaluaron con puntuaciones inferiores a las pastas control. Las preferencias basadas en el aroma no fueron estadísticamente diferentes lo que implica que la HPDC no impartiría características de olor negativo. Esta es una ventaja evidente sobre otras materias primas que se pueden usar para el mismo propósito que la chía, como las semillas de lino o el aceite de pescado. El sabor y la firmeza de la pasta con 10% HPDC fueron significativamente diferentes del resto. Sin embargo, las muestras con 2,5 y 5% HPDC fueron evaluadas estadísticamente similar a la pasta control. La preferencia de color se vio afectada por la adición de HPDC en la formulación, el grupo de pastas con HPDC fueron significativamente diferentes a la pasta control. La evaluación sensorial realizada después de 10 meses de almacenamiento (Tabla 3.8) no mostró diferencias significativas con respecto a las preferencias de color, aspecto, sabor y olor entre las muestras con o sin HPDC. Solo la firmeza se vio afectada negativamente en pastas con HPDC. Estos resultados muestran que, aunque las pastas con HPDC fueron menos preferidas que la pasta tradicional, no se encontraron alteraciones significativas en las características sensoriales de las pastas con HPDC. A pesar del almacenamiento cabe destacar que las pastas no perdieron aceptabilidad sensorial. Es posible concebir que con una buena comunicación sobre los beneficios de las pastas con HPDC, los consumidores elijan el producto.

**Tabla 3.8. Evaluación sensorial de pastas cocidas elaborada con diferentes niveles de HPDC a tiempo 0 y después de 10 meses de almacenamiento**

	Color	Apariencia	Sabor	Aroma	Firmeza
0 meses de almacenamiento					
(%) HPDC					
0,0%	6,95 ± 1,05a	6,85 ± 1,14a	5,55 ± 1,00a	6,50 ± 1,10a	7,30 ± 1,45a
2,5%	5,30 ± 1,03b	5,40 ± 1,35b	5,65 ± 0,74a	6,50 ± 1,10a	6,60 ± 1,23a
5,0%	5,10 ± 0,97b	5,35 ± 1,18b	5,75 ± 0,91a	6,50 ± 1,19a	6,60 ± 1,23a
10,0%	4,65 ± 1,49b	4,70 ± 1,56b	5,20 ± 0,95b	5,40 ± 1,70a	5,80 ± 1,88b
10 Meses de almacenamiento					
(%) HPDC					
0,0%	6,60 ± 1,75a	6,80 ± 1,36a	6,50 ± 1,41a	6,53 ± 1,50a	7,18 ± 1,39a
2,5%	6,15 ± 1,39a	6,35 ± 1,39a	6,30 ± 1,24a	6,10 ± 1,39a	6,18 ± 1,57b
5,0%	6,03 ± 1,61a	6,03 ± 1,72a	6,15 ± 1,478a	6,40 ± 1,37a	6,05 ± 1,81b
10,0%	6,08 ± 1,95a	5,90 ± 1,85a	6,13 ± 1,70a	6,00 ± 1,37a	6,10 ± 1,78b

Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) según la prueba DGC; HPDC = harina de chíá parcialmente desgrasada. La muestra de 0.0% HPDC corresponde a una pasta 100% harina de trigo

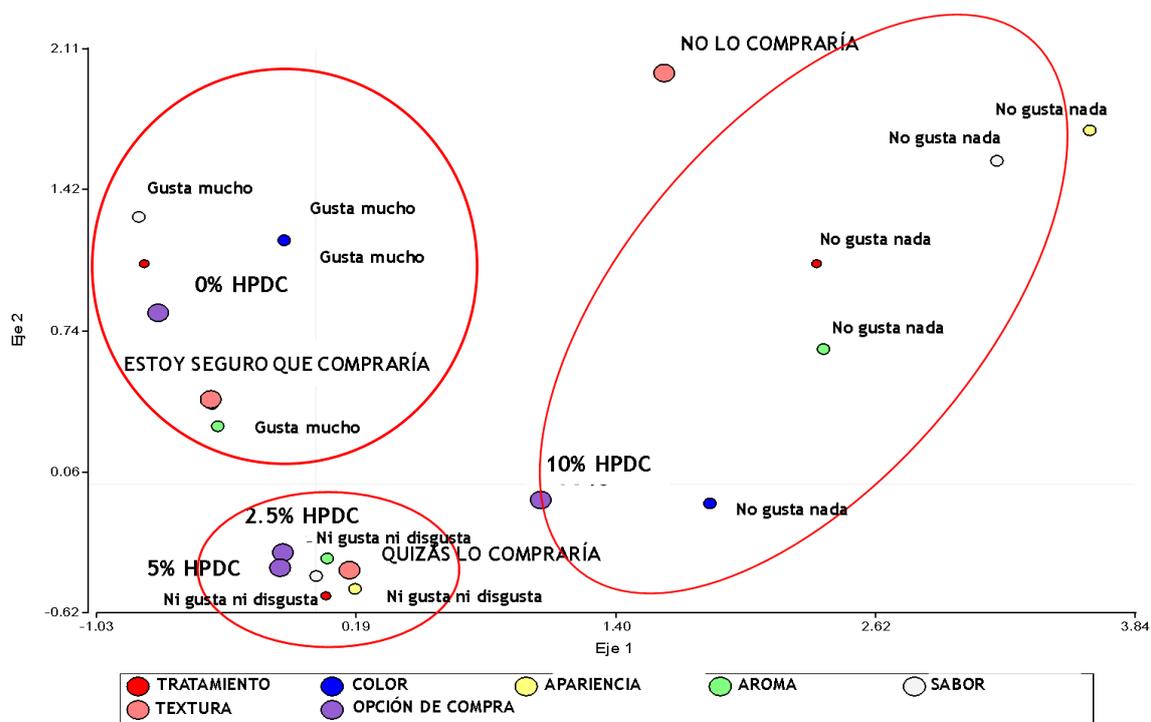
En la Tabla 3.9 se muestran los valores obtenidos de la intención de compra del producto (pastas con HPDC) por los jueces. Se observó que las muestras con 2,5% HPDC y 5% HPDC obtuvieron valores similares con las puntuaciones 4,00 y 4,20 que corresponden a quizás lo compraría y como se fue viendo hasta el momento la muestra con 10% HPDC también recibió el menor puntaje con 3,20 correspondiente a no lo compraría. Lo que queda claro que la incorporación hasta un 5% HPDC es el porcentaje indicado para que las pastas sean aceptadas en todos los atributos.

**Tabla 3.9. Intención de compra de los consumidores**

Contenido de HPDC	Opción de Compra
0,0%	5,40 ± 0,88a
2,5%	4,00 ± 0,92b
5,0%	4,20 ± 0,83b
10,0%	3,20 ± 1,24a

Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) según la prueba DGC

En la Figura 3.10 se muestra el análisis de correspondencias múltiples (ACM) realizado a la evaluación sensorial de 35 jueces semi entrenados y a la opción de compra que tuvieron cada uno de ellos. Este análisis se realizó con el fin de representar gráficamente la relación entre la aceptabilidad global de los consumidores, según los distintos atributos evaluados a los cuatro tipos de pastas en relación de cercanía/lejanía, relaciones de dependencia y semejanzas existentes entre las variables de naturaleza cualitativa.



**Figura 3.7. Análisis de correspondencias múltiples de la evaluación sensorial y la opción de compra de las pastas cocidas con HPDC**

Este análisis muestra mejor la asociación de los resultados tanto de la evaluación sensorial como de la opción de compra. Según el eje 1 de la Figura 3.7, se pudo observar que las pastas control (Co-0%) fueron las más elegidas por los jueces y las que los jueces preferirían comprar, también se pudo contemplar que las pastas con el mayor contenido de HPDC (10%) fueron las muestras menos aceptadas y la que los jueces no preferirían comprar. Sin embargo, las muestras con 2,5% y 5% de HPDC no gustaron ni disgustaron a los jueces y quizás comprarían el producto.

### 3.3.6. Cambios en la calidad de las pastas durante el almacenamiento

La búsqueda de alimentos beneficiosos para la salud ha potenciado a las industrias que elaboran pastas alimenticias a producir productos de alta calidad, que garanticen su estabilidad en góndola. La calidad y estabilidad de las pastas listas para el consumo cambia durante el almacenamiento, especialmente debido a las modificaciones de textura.

El estudio de los cambios que pueden sufrir las pastas durante el almacenamiento podría ser de gran utilidad para mejorar su calidad y estabilidad. No

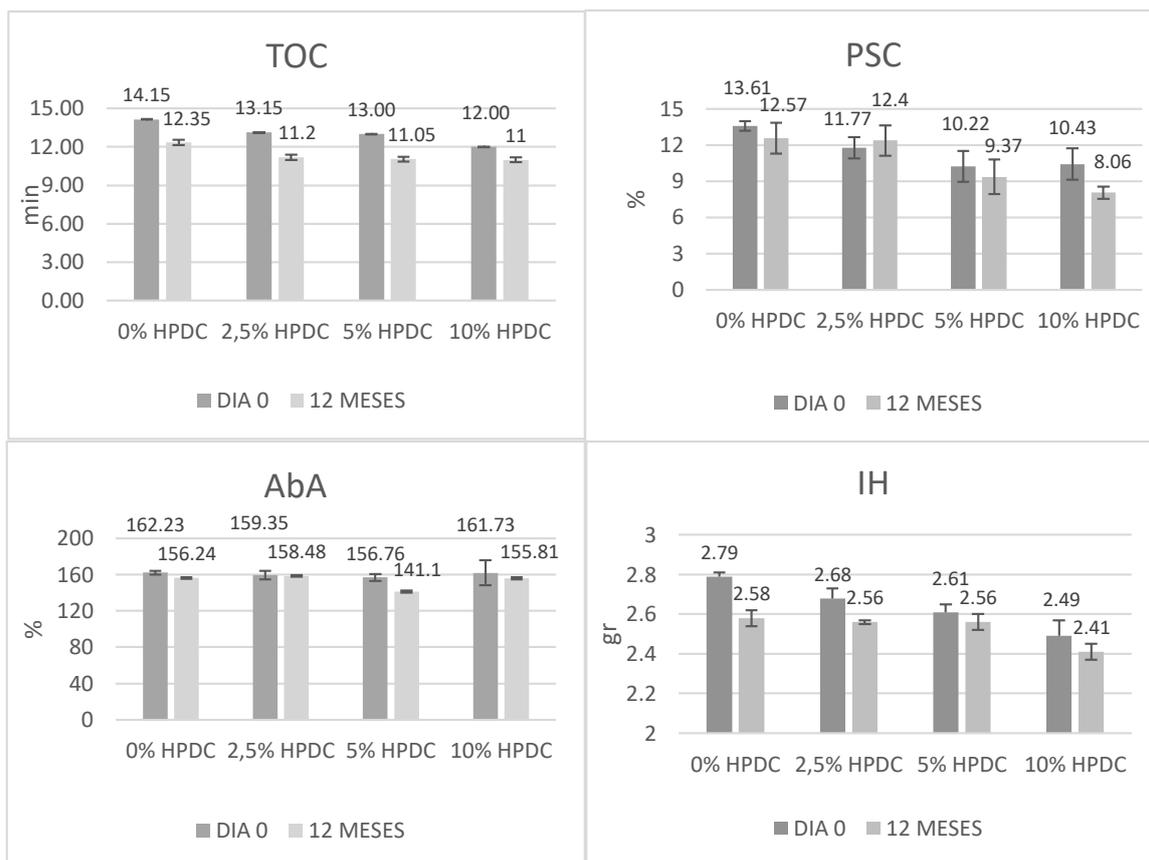
se encontraron estudios sobre los cambios fisicoquímicos y estructurales que pueden sufrir las pastas secas durante su almacenamiento. Solo se encontraron publicaciones recientes con relación al almacenamiento sobre los cambios que se producen en pastas listas para consumir (Carini, et al., 2014), lasaña refrigerada (Olivera y Salvadori, 2012), lasaña congelada (Redmond, Gormleya y Butlerb, 2005), comidas a base de pasta congeladas (Kindt, Lercker, Mazzaracchio y Barbiroli, 2006, 2008) y tagliatelle congelado (Olivera y Salvadori, 2009, 2011).

### 3.3.7. Efecto del almacenamiento en la calidad de las pastas

Se realizó la evaluación de la calidad de las pastas almacenadas para observar si el almacenamiento provoca cambios en la calidad de estas. Las propiedades de cocción de las pastas almacenadas se informan en la Figura 3.8.

El tiempo óptimo de cocción influye directamente sobre la textura y sobre el sabor de las pastas, por lo cual, si las pastas se cocinan en un tiempo menor al recomendado, adquirirá una textura dura y sabor a harina; pero si por el contrario las pastas se sobre-cocinan, éstas se tornarán blanquecinas-traslucidas, tenderán a romperse y presentarán una textura suave, elástica y pegajosa, cualidades que son desagradables para el consumidor (Khouryieh et al., 2006).

Los resultados del TOC revelaron que las pastas a los 12 meses de almacenamiento se cocinan en menor tiempo (14,15 min a 12,35 min) para pasta control y (12,00 min a 11,00min) para pasta con 10% HPDC, debido a que posiblemente durante el almacenamiento se produce un cambio y debilitamiento en la estructura lo que contribuye a una migración más rápida del agua de cocción hacia el interior de la pasta con una consecuente disminución del TOC. En cuanto al porcentaje de pérdidas por cocción (%PSC), se observó la misma tendencia, las pastas almacenadas obtuvieron menores pérdidas de sólidos por cocción, no obstante, la única muestra con valores significativamente diferentes a la muestra control ( $10,43 \pm 0,5$ ) % fue la muestra con 10% HPDC ( $8,06 \pm 1,29$ ) % (Figura 3.8).



**Figura 3.8. Propiedades de cocción de pastas almacenadas (TOC: tiempo óptimo de cocción, PSC: pérdidas por cocción, AbA: absorción de agua, IH: índice de hinchamiento)**

Los resultados de la absorción de agua (AbA) tampoco mostraron diferencias significativas entre las muestras a tiempo 0 en comparación a las pastas almacenadas por 12 meses, resultado no esperado ya que al observar una disminución significativa en el TOC se esperaría una disminución de la AbA, solamente la pasta con 5% HPDC obtuvo valores más bajos después del almacenamiento. Ferreira et al. (2004), Oliveira et al. (2015), Bordin y Roca (2012), encontraron que a mayores tiempos de cocción favorecen aún más la absorción de agua y el consiguiente aumento de peso. Lo que se busca para mejorar la calidad de cocción de las pastas, es un proceso de gelatinización del almidón controlado, donde la presencia del retículo proteico controla la gelatinización del almidón al competir por el agua disponible. La presencia de un retículo proteico bien estructurado alrededor de los gránulos de almidón controla y limita el acceso de agua.

El índice de hinchamiento (IH) de una pasta se encuentra fuertemente relacionado a la absorción de agua. En este caso se observó que las pastas almacenadas presentaron valores significativamente menores que las pastas sin almacenar, claramente la pérdida de humedad durante el almacenamiento influyó en este parámetro evidenciando una unión más débil entre el almidón y el agua comparado con las pastas sin almacenar.

La prueba de máxima fuerza de rotura (Bending Strength test) como medida de la fracturabilidad (Tabla 3.11), efectuada sobre la pasta seca mostró que pastas a los 12 meses de almacenamiento requieren menor fuerza de quiebre que las pastas sin almacenar. En cuanto a las pastas control se observó una disminución significativa de la fuerza de quiebre de 3,87N a 1,83N, y en cuanto a las pastas con 2,5; 5; 10%HPDC los valores disminuyeron de (2,86; 2,25; 2,25) N a (1,96; 1,75; 1,52) N respectivamente. Concluyendo que pastas a los 12 meses de almacenamiento se vuelven significativamente más frágiles lo que se correlacionaría con la disminución observada en el TOC de las pastas a almacenadas (Figura 3.8), durante este almacenamiento existe un debilitamiento significativo del retículo proteico que envuelve los gránulos de almidón.

**Tabla 3.11. Fracturabilidad de pastas a tiempo 0 y a 12 meses de almacenamiento**

% HPDC	Fracturabilidad (N)	
	0 DIAS	12 MESES
0%	3,87 ± 0,07a	1,83 ± 0,47b
2,5%	2,86 ± 0,62a	1,96 ± 0,30b
5%	2,25 ± 0,11a	1,75 ± 0,24b
10%	2,25 ± 0,53a	1,52 ± 0,25b

Los valores con la misma letra dentro de cada fila no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) según la prueba DGC

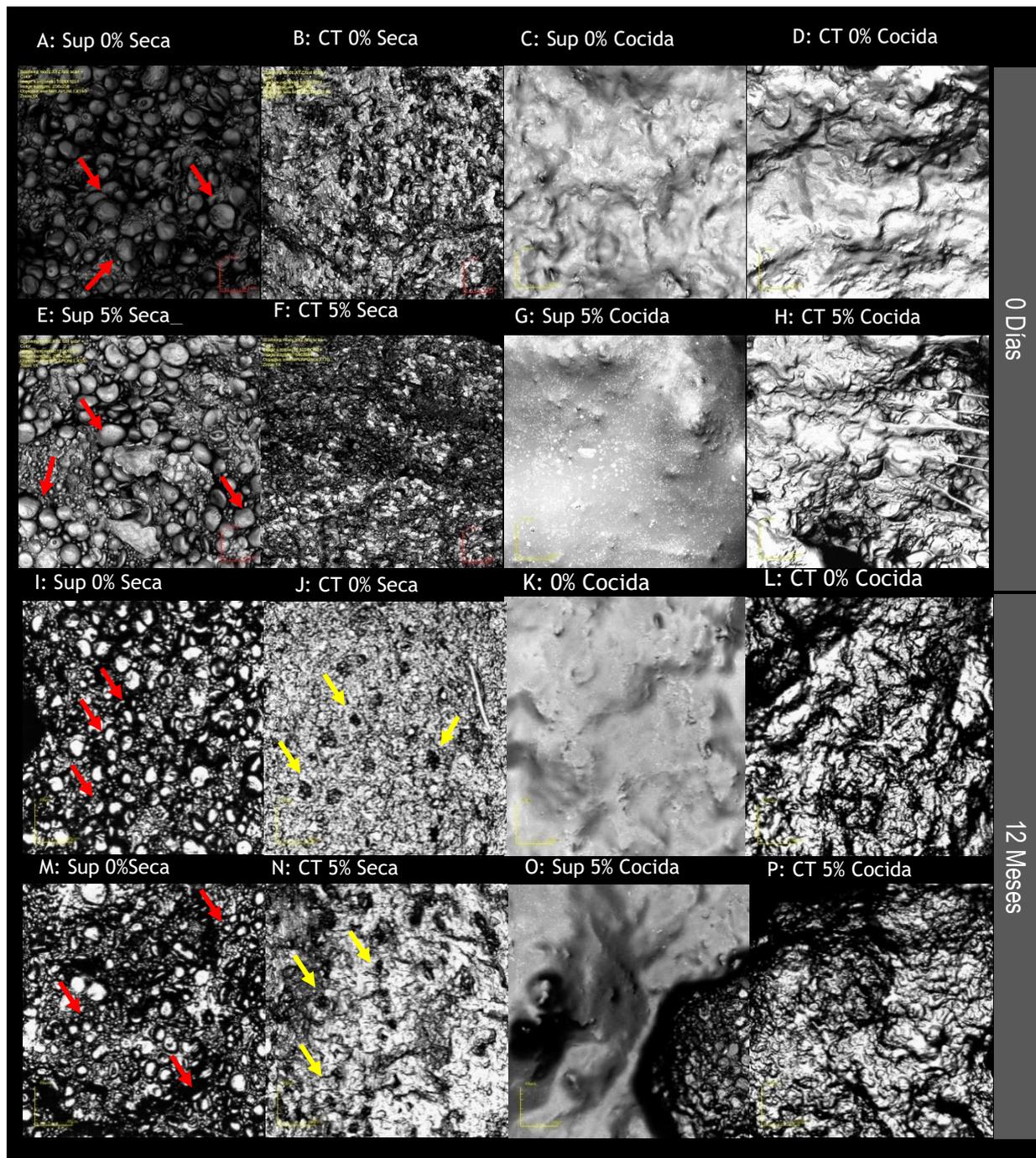
### 3.3.7.1. Microscopia confocal de las pastas almacenadas

Conociendo que el almacenamiento de las pastas provocó un debilitamiento de la estructura de estas se realizó una microscopía confocal de barrido láser a las pastas crudas y cocidas para obtener información mucho más fina y así corroborar explicando de mejor manera estos cambios provocados durante el almacenamiento en la integridad de la matriz proteína-almidón de las muestras.

Las imágenes fueron tomadas con el microscopio confocal de barrido láser superficial y transversalmente a dos tipos de pasta seca, a la pasta control con 0% HPDC y a la pasta con el agregado del 5% HPDC. Las magnificaciones utilizadas fueron las mismas que se emplearon a las pastas sin almacenar detalladas en materiales y métodos de esta sección.

Se observó en la superficie de las pastas secas y crudas (Figura 3.8 I y M) numerosos gránulos de almidón sin gelatinizar al igual que lo observado en las pastas sin almacenar (Figura 3.8 A y E). No obstante, en ambas pastas almacenadas (0 y 5%HPDC) se observó un aparente reacomodo de los componentes traducido en una matriz proteica que aparenta ser más abierta y heterogénea.

Analizando la estructura interna de las pastas almacenadas (Figura 3.8 J y N) se observó un sistema poroso con gránulos de almidón profundamente incrustados en una red de proteína interrumpida por huecos perfectamente distinguibles tanto en las pastas control como en las pastas con 5% HPDC. Estos espacios que parecen acentuarse se traducen en una matriz proteica debilitada por el almacenamiento, lo que corrobora la disminución del TOC y la mayor fracturabilidad encontrada en las pastas almacenadas (Figura 3.8 y tabla 3.11).



0 Dias

102

12 Meses

**Figura 3.8.** Microscopía de barrido láser confocal de la superficie (Sup-1040 x) y corte transversal (CT-428x) de pastas con 0% y 5% HPDC. (A-H) Pastas con 0 días de almacenamiento, (I-P) Pastas con 12 meses de almacenamiento. Flechas de color rojo diferencian el tamaño de los gránulos de almidón en las pastas sin almacenar (gránulos grandes) y en las pastas almacenadas (gránulos pequeños). Flechas de color amarillo señalan aparición de espacios vacíos en pastas almacenadas

### 3.3.7.2. Microscopia confocal en la pasta almacenada cocida

Se pudo observar gelatinización del almidón lo que corrobora que durante el proceso de cocción hubo una hidratación por difusión del agua de afuera hacia el centro de la pasta lo que provocó un cambio continuo de la estructura desde la superficie al centro de esta. Se observó en la superficie de la pasta cocida con 0%HPDC almacenada (Figura 3.8 K) una extensión de los cuerpos proteicos revistiendo a los gránulos de almidón formando una estructura compacta y más lisa con ausencia de huecos en comparación a la pasta sin almacenar (Figura 3.8 C) que se observaba una estructura compacta pero irregular. En cuanto a la pasta con 5% HPDC durante el almacenamiento se observó una superficie más irregular que la observada en las pastas sin almacenar (film homogéneo similar a una capa de gel sin fisuras). La microfotografía de la pasta con 5% HPDC almacenada (Figura 3.8 O) mostró una superficie más irregular (HPDC expuesta) y con una superficie más parecida a la pasta control.

En la estructura interna de ambas pastas almacenadas (Figura 3.8 L y P) se distinguieron gránulos de almidón pequeños sin gelatinizar por completo y también se observó una red de proteínas que envuelve al almidón gelatinizado de menor tamaño que se mantuvo más compacto, ambas microfotografías (0% y 5% HPDC almacenadas L y P) fueron muy similares, sin embargo también se observó una estructura más abierta comparada a la estructura compacta de las pastas sin almacenamiento (Figura 3.8 D y H), se observaron grietas debido a que durante la cocción el almidón que se encuentra más cerca de la superficie, parte de la amilosa lixivia hacia el agua de cocción.

### 3.3.7.3. Cambios en la calidad nutricional de pastas durante el almacenamiento

A su vez se quiso evaluar si el almacenamiento de las pastas provoca algún detrimento en la calidad nutricional de estas. En la literatura consultada, se encontró poca información disponible sobre los cambios en los componentes fenólicos y su actividad antioxidante en pastas alimenticias durante el almacenamiento por largos períodos de tiempo.

En la Tabla 3.12 se muestran los resultados obtenidos en cuanto a la calidad nutricional de pastas a tiempo 0 y a 12 meses de almacenamiento. Los resultados muestran que la calidad nutricional de las pastas con HPDC en ambos casos (0 y 12 meses de almacenamiento) mostraron valores mayores en cuanto a proteínas, fibra dietaria total y cenizas en comparación a las pastas control (0%HPDC), además no se observaron diferencias significativas en cuanto al contenido de proteínas y cenizas

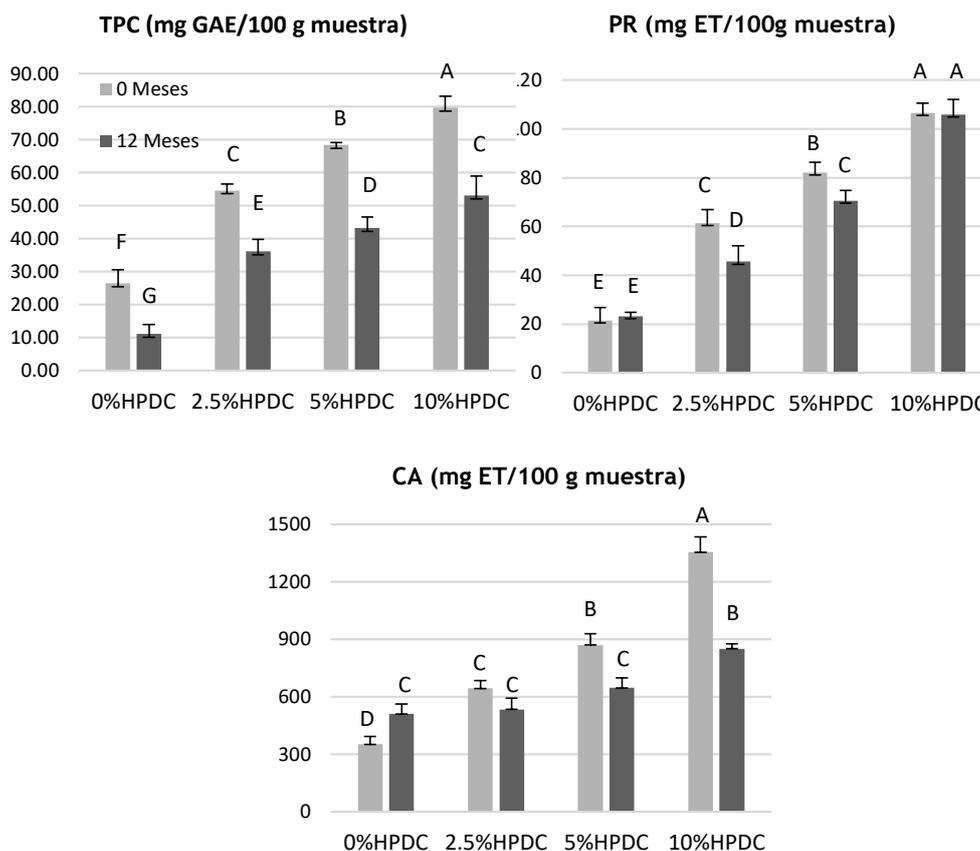
evaluados a tiempo 0 en comparación a las pastas almacenadas. El contenido de FDT fue el único componente que se incrementó durante el tiempo de almacenamiento, sin embargo, las mejoras nutricionales se mantuvieron durante el almacenamiento.

**Tabla 3.12. Perfil nutricional de pastas a tiempo 0 y a 12 meses de almacenamiento**

% HPDC en base harina	Meses Almacenamiento	%Humedad	%Proteínas	% FDT	% Cenizas
0	0	10,6 ± 0,04a	11,05 ± 0,04a	2,86 ± 0,2a	2,18 ± 0,01a
	12	10,46 ± 0,18a	10,42 ± 0,11a	4,27 ± 0,52b	2,19 ± 0,56a
2,5	0	10,72 ± 0,02a	11,28 ± 0,13b	4,54 ± 0,12b	2,25 ± 0,01a
	12	10,32 ± 0,11a	10,71 ± 0,06b	5,43 ± 1,39b	2,14 ± 0,10a
5	0	10,65 ± 0,07a	11,72 ± 0,18b	4,89 ± 0,04b	2,37 ± 0,07b
	12	10,33 ± 0,02a	11,70 ± 0,56b	7,16 ± 1,87c	2,32 ± 0,01b
10	0	10,42 ± 0,2a	12,63 ± 0,12c	9,09 ± 1,7d	2,48 ± 0,02c
	12	10,30 ± 0,34a	13,09 ± 0,14c	8,70 ± 2,18d	2,46 ± 0,07c

Los valores con la misma letra no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) según la prueba DGC

Los resultados del contenido total de polifenoles CTP de pastas almacenadas por 12 meses (Figura 3.9) mostraron una disminución junto con el contenido de HPDC en las pastas comparado a las pastas sin almacenamiento. Con respecto al poder reductor la tendencia fue la misma en las pastas con 2,5 y 5% HPDC, no obstante, en pastas control y 10%HPDC no se observaron diferencias significativas durante el almacenamiento de estas. En cuanto a la capacidad antirradicalaria de las pastas con HPDC disminuyó significativamente durante el almacenamiento, sin embargo, la capacidad anti radicalaria de la pasta control fue mayor a los 12 meses de almacenamiento. Esto muestra que pudo haber modificaciones en la capacidad antioxidante por alguna reconversión o hidrólisis de algunos polifenoles, estas modificaciones también podrían interferir en algunas especies que puedan reaccionar durante el almacenamiento. Buitimea-Cantúa et al. (2019), también evaluaron los cambios en la actividad antioxidante en una bebida a base de maíz y nejayote (cocción alcalina del maíz) y encontraron una disminución significativa de polifenoles con actividad antioxidante. Ellos atribuyen que los ácidos fenólicos pueden degradarse mediante la descarboxilación durante el almacenamiento prolongado. Además, podría ocurrir un cierto grado de polimerización e interacción con proteínas (Buitimea-Cantúa et al., 2018b; Brennan et al., 2011), por lo tanto, reduciendo su capacidad de extracción y posterior cuantificación de los polifenoles.



**Figura 3.9. Contenido total de polifenoles (CTP), poder reductor (PR) por el método FRAP y capacidad antiradicalaria (CA) por el método ABTS de pastas almacenadas a 0 y 12 meses. Las barras son la media ± DE de 4 valores. Letras diferentes indican diferencia significativa en la prueba DGC (p <0,05).**

La degradación de los compuestos con actividad antioxidante durante el almacenamiento puede también deberse a su oxidación y otros factores que afectan su estabilidad, como el pH, la luz, la temperatura, el oxígeno, entre otros (Cavalcanti et al., 2011). Existe información limitada sobre el efecto de la adición de HPDC en pastas alimenticias y el tiempo de almacenamiento en estos compuestos.

Klimczak et al. (2007) concluyeron que el tiempo y la temperatura del almacenamiento disminuyó significativamente el contenido total de polifenoles de jugos de naranja almacenados por 4 meses. No obstante, a los 6 meses de almacenamiento, los jugos mostraron un aumento significativo en el contenido fenólico total, atribuyendo dicho incremento a que durante el almacenamiento pueden formarse algunos compuestos que reaccionan con el reactivo Folin (Vinson et al., 2001).

Aranibar et al. (2019) estudiaron la actividad antioxidante de pastas enriquecidas con HPDC almacenadas por 45 días en bolsas biodegradables de harina de triticale, donde concluyeron que las bolsas de harina de triticale mantienen la capacidad antioxidante de la pasta enriquecida de manera similar a las bolsas comerciales hasta 45 días de almacenamiento.

### 3.4. Conclusiones

Los resultados de esta sección nos llevan a concluir que la adición de HPDC a pastas de trigo permite una mejora evidente de varias propiedades nutricionales en comparación con la pasta no suplementada. Se ha demostrado un aumento notable presentando un 38,5 % más de fibra dietética, un 22,8 % más de proteínas, un 55% más de minerales, una excelente proporción omega 6/omega 3, un 31,5 % más del contenido fenólico total y un 83% más de capacidad antioxidante. Por otra parte, la presencia de HPDC modificó la estructura de la pasta a medida que se incrementó el contenido de estas en el producto provocando una disminución en el TOC, de modo que pastas con HPDC se cocinaron más rápidamente que las pastas control. Además, fueron más resistentes a la cocción, más oscuras y marrones en comparación a las pastas control que fueron más amarillas, luminosas y traslúcidas. De modo que la incorporación de hasta un 5% permite obtener pastas con excelentes propiedades nutricionales, antioxidantes, sensoriales y una calidad tecnológica aceptable.

El almacenamiento de las pastas por 12 meses no interfirió en sus propiedades tanto nutricionales como sensoriales. No obstante, la calidad tecnológica se vio afectada, provocando una mayor fragilidad, debilitamiento de la estructura y por ende disminución del TOC de las pastas.

Este trabajo representa la utilización y revalorización de un residuo generado después del proceso de extracción de aceite de chía, proponiendo a la HPDC como un ingrediente en la formulación de pastas de trigo. Una buena campaña de comunicación que exponga las propiedades beneficiosas a la salud y las características favorables del producto enriquecido podría ser una forma adecuada de alentar a los consumidores a elegirlo.

## **4. PERFIL QUÍMICO Y BIOACCESIBILIDAD DE POLIFENOLES EN PASTAS DE TRIGO SUPPLEMENTADAS CON HARINA DE CHÍA PARCIALMENTE DESGRASADA**

---

## **4. PERFIL QUÍMICO Y BIOACCESIBILIDAD DE POLIFENOLES EN PASTAS DE TRIGO SUPLEMENTADAS CON HARINA DE CHÍA PARCIALMENTE DESGRASADA**

### **4.1. Introducción**

Conocer la composición de los alimentos es importante tanto para la industria como para los consumidores. Además del interés en evitar el fraude alimentario, que genera la necesidad de identificar ciertos marcadores químicos para diferentes ingredientes, también existe una tendencia a comprender los efectos potenciales de un producto alimenticio en la salud y la nutrición. Todas estas razones enfatizan la importancia de la caracterización de la composición química de los ingredientes alimentarios.

Las pastas de harina de trigo son un alimento muy popular que ha sido ampliamente considerado como un vehículo para ser fortificado con el fin de mejorar su calidad nutricional. En la sección anterior, se ha demostrado la viabilidad tecnológica de la utilización de la harina de chia parcialmente desgrasada (HPDC) en la elaboración de pastas alimenticias. A su vez se evaluó una serie de indicadores de calidad junto con la capacidad antioxidante de las pastas elaboradas al incorporar a la harina de trigo diferentes proporciones de HPDC (2,5%, 5% y 10%). Los resultados de la sección 3 mostraron la mejora de las propiedades nutricionales y el aumento de la capacidad antioxidante de la pasta suplementada con HPDC, en comparación con la no suplementada.

La actividad antioxidante de un producto vegetal se asocia generalmente con el contenido de compuestos fenólicos. En sección 3 se ha demostrado la mejora de la capacidad antioxidante de la pasta suplementada con HPDC mediante métodos químicos (Folin-Ciocalteu, FRAP y DPPH), se acepta ampliamente que incluso los métodos más simples de preparación de alimentos pueden modificar la composición de los ingredientes bioactivos de un alimento (Fares et al., 2008; Fares et al., 2010; Verardo et al., 2011). En el caso de la pasta de trigo integral, por ejemplo, se ha demostrado que el proceso de cocción provocó un aumento en los polifenoles libres totales, lo que se ha atribuido a la liberación de polifenoles unidos causados por el agua en ebullición (Podio et al., 2019).

El objetivo principal de esta sección fue determinar la composición de polifenoles de la HPDC y evaluar su “BIOACCESIBILIDAD” cómo estos componentes se ven afectados por los procesos de elaboración y cocción de la pasta suplementada,

para comprender cuáles son los compuestos bioactivos que están potencialmente disponibles en el momento de la ingesta.

El proceso de digestión humana implica muchas etapas que modifican los componentes inicialmente ingeridos. Los cambios drásticos en el pH, así como las enzimas específicas involucradas a través de las diferentes etapas, pueden afectar negativamente la estabilidad de algunos compuestos o ayudar a liberar algunos polifenoles de la matriz alimenticia haciéndolos más biodisponibles (Lucas-González et al., 2018). Cualquier supuesto componente bioactivo debe llegar primero al torrente sanguíneo para ser distribuido efectivamente a los tejidos con el fin de ejercer su acción. La absorción a nivel intestinal es una de las principales vías de entrada. En particular, los polifenoles se pueden absorber en el intestino delgado o permanecer en el lumen de este para continuar su camino hacia el colon, donde la microflora juega un papel importante en su absorción (Acosta-Estrada, Gutiérrez-Urbe y Serna-Saldívar, 2014; Podio et al., 2019).

Pellegrini et al. (2018) han evaluado recientemente la bioaccesibilidad de semillas de chía molidas a través de un modelo de digestión gastrointestinal in vitro. Como la matriz alimentaria también puede afectar el grado de absorción, en esta sección se ha simulado una digestión gastrointestinal in vitro de las pastas elaboradas con el agregado de HPDC después de ser cocidas para analizar las variaciones de la actividad antioxidante a través de las diferentes etapas de la digestión y para obtener información sobre la absorción de los polifenoles individuales identificados en la pasta con HPDC. Este trabajo representa una contribución interesante, considerando que este es el primer estudio con un perfil detallado de compuestos fenólicos de chía como ingrediente en una pasta suplementada, junto con la evaluación de los efectos del proceso de cocción en el perfil y la actividad antioxidante. Además, se ha abordado la evaluación de la bioaccesibilidad de los polifenoles identificados a través de una simulación de la digestión gastrointestinal in vitro.

## **4.2. Materiales y métodos**

### **4.2.1. Estándares y reactivos**

Se utilizó agua ultrapura ( $<18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ,  $<5 \mu\text{g L}^{-1} \text{ TOC}$ ) obtenida mediante un sistema de purificación Arium 61316-RO y Arium 611 UV (Sartorius, Alemania). Los reactivos de Folin-Ciocalteu, ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-

sulfónico)), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) y Trolox (Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) se obtuvieron de Sigma Aldrich (Suiza). J.T. Baker (Edo. De México, México) y Fluka (Steinheim, Alemania) proporcionaron metanol (grado HPLC) y ácido fórmico (puriss. P.a. para espectroscopia de masas), respectivamente. Los estándares comerciales de ácido ferúlico y ácido cafeico se obtuvieron de Extrasynthese (Genay, Francia), el ácido quínico, el ácido rosmarínico y la quercetina se compraron en Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). Los filtros (0,45 µm, HVLP04700) se obtuvieron de Millipore (Sao Paulo, Brasil). La pepsina (P-7000, de la mucosa estomacal porcina), la pancreatina (P-1750, el páncreas porcino) y el extracto biliar (B-6831, porcino) fueron comprados en Sigma-Aldrich (Buenos Aires, Argentina). Las bolsas de diálisis utilizadas fueron SnakeSkin®, 10 KDa. Todos los demás reactivos fueron de grado analítico.

#### 4.2.2. Preparación de muestras y elaboración de las pastas

Para la elaboración de las pastas se utilizó harina de trigo pan comercial (Molino San José, José Minetti y CIA Ltda. Córdoba-Argentina). La HPDC utilizada se obtuvo por prensado según el procedimiento descrito en la sección 2. La fabricación y conservación de las pastas suplementadas con diferentes proporciones de HPDC (0, 2,5%, 5,0% y 10%) fueron evaluadas según el procedimiento detallado en la sección 3, por lo que se utilizó para cada formulación, 50 g de harina de trigo pan, (0,0; 1,2; 2,5; 5,0) g de HPDC, 50 g agua y 1,0 g Na Cl. Todos los ingredientes se mezclaron, se laminó la masa, se realizó el cortado de la misma y las tiras de pasta fueron pre secadas a 30°C en una estufa con ventilación forzada por 30 min y a 30°C en una estufa con humedad relativa del 70% durante 24 hs.

#### 4.2.3. Extracción de compuestos fenólicos

La harina obtenida después de la extracción de aceite de semillas de chía fue molida con un molino de cuchillas para obtener la harina que denominamos HPDC. Antes de la extracción de compuestos fenólicos, la HPDC se desengrasó completamente con n-hexano. Por otro lado, las pastas crudas se molieron y las pastas cocidas fueron liofilizadas para poder realizar los distintos análisis como se detalló en la metodología descrita en la sección 3.

La extracción de la fracción libre de los compuestos fenólicos de las muestras de pastas se realizó de la misma manera como se describió en la sección 3. La mezcla de disolventes extractivos consistió en acetona/agua (4:1). Cinco gramos de harina de

chía parcialmente desgrasada (HPDC), o pasta cruda o cocida liofilizada, se suspendieron en 20 mL de la mezcla de solventes. Después de 1 h de agitación en la oscuridad, el sobrenadante se filtró a través de un papel de celulosa. El procedimiento se repitió dos veces para cada muestra. Finalmente, los sobrenadantes recogidos se secaron en un evaporador rotatorio a presión reducida a 50°C y se recuperaron con 5 mL de metanol (grado HPLC). Las muestras se prepararon por duplicado y se almacenaron a -80 °C hasta su posterior análisis.

#### 4.2.4. Simulación in vitro de la digestión gastrointestinal de las pastas cocidas

El procedimiento de digestión in vitro se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Podio et al. (2019) con algunas modificaciones. Se realizaron tres etapas:

- Digestión en boca (OD): Se colocaron dos gramos de cada una de las pastas a analizar recién cocidas (TOC establecido en la sección 3) en un tubo de plástico Falcon de 15 mL, se agregaron 2 mL de saliva humana recién recolectada (según lo descrito por Hu et al., 2013). Para simular la etapa de masticación, la mezcla se homogeneizó en un homogeneizador de tejidos T18 ultra-turrax (Ika-Labortechnik, Alemania) a 22,000 rpm durante 30 s, se agregaron 2 mL de agua ultra pura y finalmente, el pH fue ajustado a 2 con 100 µL de HCl 6M.
- Digestión gástrica (GD): para simular el proceso de digestión en el estómago, se agregaron 500 µL de una solución de pepsina (20 mg de pepsina en 500 µL de HCl 0,1 M) al homogeneizado obtenido en la digestión en boca. Luego, se incubó con agitación constante durante 2 h a 37°C.
- Digestión intestinal (ID) y dializado (DIA): Después de la incubación con la enzima gástrica (pepsina), se agregaron 3 mL de una solución de pancreatina/bilis porcina (15 mg de pancreatina porcina más 75 mg de extracto de bilis porcina en 3 mL de NaHCO<sub>3</sub> 0,1 M, pH = 7,5) para simular la digestión intestinal. El producto de digestión se colocó en una bolsa de diálisis para simular la absorción de los compuestos fenólicos a través de la membrana del intestino delgado (dializado). La bolsa de diálisis cerrada se colocó en un vial de vidrio de 100 mL con 40 mL de solución de NaHCO<sub>3</sub> 0,1 M (pH = 7,5) y la bolsa completamente sumergida se dejó dializar durante 3 horas a 37 °C.

Se recogieron cuatro submuestras a lo largo del procedimiento descrito anteriormente por triplicado: digestión en boca (OD), digestión gástrica (GD), digestión

intestinal (ID) y dializado (DIA). También se hicieron blancos de reactivos en cada etapa de la digestión in vitro. Las submuestras OD, GD e ID se centrifugaron a 13,000 g durante 15 min, y las submuestras ID y DIA se acidificaron con ácido fórmico a pH = 2. Luego, todas las submuestras se filtraron a través de filtros de 0,45 µm, se fraccionaron y se almacenaron a -80 ° C hasta su posterior análisis.

#### 4.2.5. Contenido fenólico total y actividad antioxidante

El contenido total de polifenoles (CTP) se midió mediante el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con la metodología descrita en la sección 2 con algunas modificaciones en los volúmenes de los extractos. Se mezclaron 20 µL de extractos de pasta, o 30 µL de submuestras GD, o 70 µL de submuestras OD e ID, o 110 µL de submuestras DIA, con 1,68 mL de agua ultrapura y el volumen correspondiente de metanol para alcanzar una total de 110 µL (muestra + metanol). Luego, se agregaron 100 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y se agitaron (vortex). Después de exactamente 1 minuto, se agregaron 300 µL de carbonato de sodio acuoso (20 g 100 mL<sup>-1</sup>), se agitaron (vortex) y se dejaron reposar 120 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Luego se leyó la absorbancia a 750 nm. El CTP se calculó mediante regresión lineal utilizando ácido gálico como estándar. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de pasta.

La capacidad atrapadora de radicales libres CAR se midió utilizando el ensayo de TEAC, descrito en la sección 3 con algunas modificaciones en la cantidad de extracto a utilizar según las muestras. El radical ABTS se preparó haciendo reaccionar ABTS 7 mM y persulfato potásico 2,45 mM en 10 mL de agua. La mezcla se almacenó en la oscuridad 16 h antes de su uso. La solución acuosa de ABTS se diluyó con metanol hasta una absorbancia de  $0,80 \pm 0,02$  a 734 nm (dilución 1/70). Para las submuestras obtenidas del modelo de digestión gastrointestinal (OD, GD, ID y DIA), la dilución del reactivo de trabajo se preparó en un tampón PBS (pH = 7,5). Se agregaron 20 µl de extractos de cada pasta, o 70 µl de submuestras OD, GD, ID y DIA, a 3 mL de solución de TEAC, agregando un volumen correspondiente de metanol (80 µl para extractos de pasta y 30 µl para submuestras de digestión). La mezcla se incubó durante 30 minutos en la oscuridad y se midió la absorbancia a 734 nm. La concentración de cada muestra se calculó mediante regresión lineal utilizando Trolox como estándar. Los resultados se expresaron en mmol equivalente Trolox (ET) por 100 g de muestra.

Para ambos ensayos, todas las muestras se analizaron por triplicado y se utilizaron blancos de reactivos para cada tipo de muestra (pasta y digestiones) para descontar la absorbancia de solventes, enzimas y sales utilizadas.

#### 4.2.6. Perfil de polifenoles por HPLC-MS/MS

Los polifenoles se identificaron por HPLC-MS/MS utilizando un HPLC conectada a un espectrómetro de masas QTOF con una fuente de ESI (ionización por electrospray), con las mismas condiciones descritas por Podio et al. (2015).

Se utilizó un HPLC Agilent Technologies Serie 1200, equipado con una bomba de gradiente binario Agilent G1312B SL, un desgasificador de solventes Agilent G1379 B y un inyector automático Agilent G1367 D SL+WP. La separación cromatográfica se ejecutó en una columna LUNA (Phenomenex, Torrance, CA, Estados Unidos) de fase reversa C18 (5  $\mu$ m, 250 mm  $\times$  4,60 mm de diámetro interno) a 35°C utilizando el módulo de calentamiento Agilent G1316 B. El gradiente de fase móvil necesario para la separación cromatográfica se efectuó utilizando ácido fórmico al 0,5 % v/v en agua como solvente A, y ácido fórmico al 0,5 % v/v de metanol como solvente B, según se muestra en la Tabla 4.1.

**Tabla 4.1. Gradiente cromatográfico para la separación de compuestos fenólicos**

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0	80	20
3	50	50
8	50	50
15	30	70
20	30	70
21	20	80
30	20	80
31	80	20
41	80	20

Se utilizó un flujo de 0,4 mL/min de la fase móvil para la separación cromatográfica y un volumen de inyección de la muestra de 40  $\mu$ L. Los polifenoles presentes en las muestras se caracterizaron de acuerdo con sus tiempos de retención, masa exacta, MS y MS/MS espectros, que se compararon con los informes de compuestos tentativos en la literatura o estándares auténticos cuando estuvieron disponibles.

La cuantificación de los polifenoles se basó en curvas de calibración externa de los estándares fenólicos disponibles, utilizando las áreas de picos de masa obtenidas a partir de los cromatogramas de picos de base. Para ello, se prepararon soluciones multicomponentes de distintas concentraciones. El rango de concentración utilizado para cada compuesto se muestra en la tabla 4.2.

**Tabla 4.2. Rango lineal de los estándares utilizados para la cuantificación de los compuestos encontrados en los extractos de trigo**

Compuesto	Rango lineal (mg/L)
Ácido gálico	0,1 - 60,0
Catequina	0,1 - 5,0
Ácido cafeico	0,1 - 30,0
Ácido ferúlico	0,1 - 400,0
Apigenina	0,1 - 5,0
Triptófano	0,1 - 50,0

Cuando los estándares correspondientes no se encontraban disponibles, la cuantificación se realizó utilizando un estándar externo con una estructura similar a la del compuesto provisional. Las soluciones de muestra y estándar se filtraron (0,45 µm) y se inyectaron en el sistema HPLC-MS/MS. Las etapas de purificación y concentración de submuestras digestivas no fueron necesarias. Todas las muestras se analizaron por triplicado y los blancos de los reactivos también se analizaron para evaluar posibles interferencias. Los resultados se expresaron en mg de equivalente estándar por 100 g de pasta.

#### 4.2.7. Análisis estadístico

Los resultados se analizaron utilizando Infostat (Di Rienzo et al., 2008). Las diferencias entre las muestras fueron evaluadas con ANOVA; en el caso de significación ( $p < 0,05$ ), se realizó una prueba de comparación DGC (Di Rienzo et al., 2002) para revelar diferencias apareadas entre las medias.

### 4.3. Resultados y discusión

#### 4.3.1. Perfil de polifenoles de la HPDC

La Tabla 4.3 muestra la identificación tentativa de los componentes detectados en el extracto de acetona/agua (4:1) realizado por HPLC-MS/MS, en donde se pudo observar la presencia de 14 compuestos fenólicos. Se encontró que 12 de ellos son ácidos hidroxicinámicos, uno fue identificado como ácido quínico y uno corresponde a la metilquercetina flavonoide con muy poca abundancia ( $<1 \mu\text{g} / \text{g}$ ). Además, también se detectó el aminoácido triptófano. Entre los ácidos hidroxicinámicos 10 de los compuestos pueden considerarse relacionados estructuralmente con el ácido cafeico mientras que los otros dos son el ácido ferúlico y un derivado (ácido fertárico). El extracto de la HPDC se caracterizó por la abundancia prominente de dos compuestos principales identificados como ácido rosmarínico y su derivado glicosilado (salviaflasido). Como se pudo observar a partir de los datos cuantitativos detallados en la tabla 4.3, ambos componentes (ácido rosmarínico y su derivado glicosilado) fueron aproximadamente diez veces más abundantes que el resto de los compuestos detectados en el extracto de la HPDC (30-34 mg/100 g de HPDC).

Aunque existen discrepancias en los datos publicados con respecto a la composición de compuestos fenólicos de las semillas de chía, nuestros resultados coinciden con el perfil informado por Oliveira-Alves et al. (2017), quienes utilizaron una metodología similar para identificar los componentes en la chía (HPLC-ESI-QTOF-MS). Ellos informaron la presencia de 29 ácidos fenólicos, considerando el extracto crudo y los extractos hidrolizados de las semillas de chía en total. El ácido rosmarínico también se informó como el principal compuesto de las semillas de chía según Martínez y Paredes (2014). Por otro lado, a pesar de que algunas publicaciones reportaron la presencia de flavonoides como quercetina, miricetina, daidzeína o kaempferol (Ayerza, 2013; Capitani et al., 2012; Martínez y Paredes, 2014; Marineli et al., 2014; Rahman et al., 2017), no se pudo detectar ninguno de estos compuestos en los extractos de HPDC a excepción de una cantidad muy baja de metilquercetina.

Tabla 4.3. Análisis por HPLC-MS/MS extractos polifenólicos de la HPDC

RT (min)	Nombre del compuesto	Fórmula Molecular	[M-H] <sup>-</sup> (m/z) experimental	[M-H] <sup>-</sup> (m/z) calculado	Error ppm	MS/MS	[mg/100g HPDC]*
1 7,8	ác. quínico	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>	191,0572	191,0561	-5,5	-	2,19 ± 0,49
2 13,4	Danshensu	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	197,0441	197,0455	-7,3	179	1,76 ± 0,10
3 13,8	ác. caftárico	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> O <sub>9</sub>	311,0385	311,0409	-7,5	179	0,95 ± 0,32
4 14,8	Triptófano	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	203,0831	203,0826	2,6	-	NQ <sup>a</sup>
5 15,0	Hexosido de ác. cafeico	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	341,0911	341,0878	9,6	179	1,44 ± 0,32
6 15,3	ác. Salvianólico I/H	C <sub>27</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	537,1016	537,1038	-4,3	339; 295; 197	0,73 ± 0,01
7 15,4	ác. Fertárico	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>9</sub>	325,0547	325,0565	5,6	193	3,90 ± 1,41
8 17,4	ác. Cafeico	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	179,0339	179,0350	-5,9	-	0,69 ± 0,13
9 17,8	ác. Salvianólico E/B/L	C <sub>36</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>	717,1467	717,1461	0,9	519; 475; 339	2,83 ± 0,53
10 20,4	ác. Ferúlico	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	193,0487	193,0506	-10,3	-	1,74 ± 0,32
11 20,6	Salviaflásido	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>13</sub>	521,1354	521,1301	10-3	359; 323; 197	30,69 ± 3,15
12 22,8	ác. Rosmarínico	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	359,0732	359,0772	-11,2	197; 179; 161	33,97 ± 3,19
13 24,1	ác. Salvianólico C	C <sub>26</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	491,1011	491,0984	5,5	311	2,30 ± 0,07
14 24,5	Metilrosmarinato	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>8</sub>	373,0961	373,0929	8,5	281; 197; 179	2,39 ± 0,39
15 25,2	Metilquercetina	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	315,0464	315,0510	-14,8	300	< LoQ <sup>b</sup>

RT, tiempo de retención; ác. Abreviatura de ácido; [M-H]<sup>-</sup> (m/z) ion molecular cargado negativamente; MS/MS, picos principales del patrón de fragmentación; \* Los resultados cuantitativos se expresan como una media ± desviación estándar de 4 mediciones; NQ: no cuantificado; LoQ: debajo del límite de cuantificación

Las diferencias en los perfiles reportados pueden atribuirse a diversos factores. En primer lugar, se ha demostrado que la mezcla de disolventes utilizada para obtener los extractos afecta el perfil de compuestos fenólicos extraídos de semillas de chía (Alves et al., 2019; Scapin et al., 2016). En segundo lugar, el origen de las semillas también debe considerarse dado que se ha demostrado que el efecto del genotipo y las variaciones de las condiciones de crecimiento causan cambios en los metabolitos (de Falco et al., 2018). Finalmente, la metodología utilizada en la identificación de compuestos fenólicos es clave para obtener información confiable de las estructuras detectadas. En muchos casos, el uso de los tiempos de retención y los espectros UV solo puede conducir a resultados ambiguos, que no son suficientes para lograr una identificación confiable de los compuestos. Por otro lado, las masas exactas y los picos de los patrones de fragmentación (MS/MS) pueden darnos una visión más cercana de las estructuras moleculares reales.

#### 4.3.2. Perfil de polifenoles de las pastas suplementadas con HPDC

Con el fin de evaluar el efecto de la cocción sobre la composición de los compuestos fenólicos de la pasta suplementada con distintos niveles de HPDC, se analizaron los extractos de las pastas crudas y cocidas utilizando un análisis cuantitativo por HPLC-MS. La Tabla 4.4 muestra los compuestos fenólicos cuantificados en cada extracto de las pastas en µg/g de pasta seca. Doce de los 14 compuestos

fenólicos identificados en la HPDC se incluyeron en el análisis, dejando solo dos componentes: la metilquercetina, debido a su baja abundancia, y el hexósido de ácido cafeico, que se detectó de manera deficiente en los extractos de las pastas que podrían haberse visto afectados por el proceso de manufactura de estas.

Casi todos los polifenoles individuales cuantificados en los extractos de las pastas mostraron una concentración creciente directamente correlacionada con el contenido creciente de HPDC tanto en las pastas crudas como cocidas, con la excepción del ácido ferúlico (Tabla 4.4). Curiosamente, aunque se detectó ácido ferúlico en la HPDC (1,74 mg/100 g), este ácido hidroxicinámico y sus derivados se encuentran entre los componentes más característicos de la pasta de trigo integral (Podio et al., 2019). Por lo tanto, es plausible inferir que el ácido ferúlico cuantificado en los extractos de las pastas elaboradas en este estudio proviene principalmente de la harina de trigo, lo que hace que la adición de HPDC no afecte sus niveles.

En cuanto a lo que respecta a la suma de los polifenoles individuales, se mostró un aumento de alrededor de 3 veces el valor teórico esperado para cada contribución del 2,5; 5 y 10% de HPDC en la pasta cruda, encontrándose la suma de 68,28  $\mu\text{g/g}$  para pastas crudas con 2,5% HPDC, 130,72  $\mu\text{g/g}$  para pastas con 5% HPDC y 238,81  $\mu\text{g/g}$  para pastas con 10% HPDC, lo que indicó que el proceso de elaboración y cocción de las pastas provocó una liberación de polifenoles. El análisis de los componentes individuales reveló que la contribución más importante a este aumento observado se debe a los dos componentes más abundantes en la HPDC (ácido rosmarínico y salviaflasido) que son aproximadamente 3 veces más altos que el valor esperado. Además, se observó un incremento en las cantidades de ácido cafeico, ácidos salvianólicos I/H y E/B/L, y ácido caftárico. Por otro lado, los niveles de algunos compuestos fueron ligeramente inferiores al valor esperado (ácido quínico, danshensu, ácido ferúlico y metilrosmarinato), mientras que las cantidades de ácido fertárico y ácido salvianólico C parecen no verse afectadas. Se ha demostrado que el proceso de elaboración de las pastas puede afectar el contenido de polifenoles de los ingredientes originales (Fares et al., 2010). En algunos casos algunos compuestos son degradados debido a la oxidación causados por el agua, oxígeno y el calor, como en pastas de trigo de grano entero donde los polifenoles mostraron un marcado desenso (Podio et al., 2019). Mientras que algunas veces, en pastas enriquecidas con frutos rojos, el CTP puede verse incrementado después de los procesos de amasado y laminado (Bustos et al., 2019). Es notable, que los principales compuestos bioactivos de la chia parecen liberarse de la matriz a lo largo del proceso de elaboración de las pastas.

**Tabla 4.4. Cuantificación de polifenoles en pasta cruda y cocida**

Comp*.	HPDC	Pasta cruda				Pasta cocida			
		0,00%	2,50%	5,00%	10,00%	0,00%	2,50%	5,00%	10,00%
QA	21,9 ± 4,91	<LoQ	0,66 ± 0,09	0,81 ± 0,10	1,24 ± 0,05	0,55 ± 0,05	0,79 ± 0,07	0,93 ± 0,07	1,32 ± 0,08
D	17,57 ± 1,03		0,55 ± 0,00	0,79 ± 0,14	1,32 ± 0,05		1,64 ± 0,00	2,89 ± 0,28	3,87 ± 0,54
CTA	9,47 ± 3,23	<LoQ	<LoQ	0,58 ± 0,15	1,38 ± 0,02				
SA I/H	7,33 ± 0,09		<LoQ	0,74 ± 0,08	1,54 ± 0,11		0,36 ± 0,04	0,65 ± 0,07	1,16 ± 0,15
FTA	38,96 ± 14,13		1,12 ± 0,11	1,89 ± 0,59	3,98 ± 0,47				
CA	6,86 ± 1,25		0,78 ± 0,10	1,03 ± 0,13	1,52 ± 0,10	<LoQ	3,12 ± 0,14	4,5 ± 0,44	5,77 ± 0,35
SA									
E/B/L	28,34 ± 5,33		1,15 ± 0,15	2,30 ± 0,54	4,44 ± 0,33		0,46 ± 0,00	0,99 ± 0,02	1,59 ± 0,15
FA	17,39 ± 3,19	1,37 ± 0,04	1,51 ± 0,16	1,24 ± 0,16	1,35 ± 0,09	3,43 ± 0,25	3,19 ± 0,20	3,35 ± 0,46	2,51 ± 0,04
SF	306,93 ± 31,47		20,91 ± 2,62	46,53 ± 5,62	89,96 ± 10,29		14,63 ± 0,61	34,81 ± 1,76	70,41 ± 5,31
RA	339,68 ± 31,94		40,84 ± 4,71	73,36 ± 9,92	128,63 ± 16,08		34,52 ± 1,87	70,01 ± 6,14	106,94 ± 2,76
SA C	23,05 ± 0,69		0,76 ± 0,02	1,16 ± 0,25	2,28 ± 0,30		0,85 ± 0,01	1,68 ± 0,05	2,7 ± 0,13
MeRA	23,93 ± 3,91		<LoQ	0,59 ± 0,11	1,18 ± 0,16		0,45 ± 0,03	0,62 ± 0,03	1,23 ± 0,01
<b>Total</b>	<b>841,43 ± 74,37</b>	<b>1,37 ± 0,04</b>	<b>68,28 ± 7,73</b>	<b>130,72 ± 17,84</b>	<b>238,81 ± 27,92</b>	<b>3,98 ± 0,31</b>	<b>58,75 ± 0,84</b>	<b>120,43 ± 9,29</b>	<b>197,50 ± 9,51</b>

Comp.\* compuestos, \* Los resultados cuantitativos se expresan en (µg/g de pasta) y como la media ± desviación estándar de 4 mediciones; LoQ: debajo del límite de cuantificación; AQ: ác. Quínico; D: Danshensu; CTA: ác. Caftarico; SA I/H: ác. Salviafolio I/H; FTA: ác. Fertarico; CA: ác. Cafeico; SA E/B/L: ác. Salviafolio E/B/L; FA: ác. Ferúlico; SF: Salviafolio (RA Glu); RA: ác. Rosmarínico; SA C: ác. Salviafolio C; MeRA: Metilrosmarinato

Con respecto a los efectos generales del proceso de cocción, a pesar de la aparente disminución de la suma de los polifenoles individuales analizados en las pastas suplementadas, las diferencias entre las muestras crudas y cocidas no fueron estadísticamente significativas. Sin embargo, se observó un aumento significativo gradual en el total de la suma de compuestos fenólicos cuantificados para las pastas cocidas suplementadas con respecto a la pasta cocida no suplementada (0% HPDC) aumentando de 3,98 µg/g a 197,50 µg/g para las pastas con 10% HPDC (Tabla 4.4). Estos resultados están de acuerdo tanto en lo que respecta al contenido fenólico total obtenido por Folin-Ciocalteu como para la capacidad antioxidante, en los que el proceso de cocción parece afectar principalmente el contenido fenólico de la pasta no suplementada sin tener un efecto significativo sobre la pasta suplementada con HPDC (sección 3). El aumento de los polifenoles causado por la cocción de las pastas de trigo se ha atribuido a la liberación de los polifenoles unidos a las macromoléculas facilitadas por las altas temperaturas del agua de cocción (Fares et al., 2010; Podio et al., 2019). Como se concluyó en la sección 3 estos resultados indican que es probable que los compuestos liberados por el proceso de cocción son los componentes proporcionados por el trigo, mientras que los compuestos bioactivos de la HPDC no se ven afectados significativamente permaneciendo disponibles en el momento de la ingesta.

Analizando los cambios de los polifenoles individuales, pueden mencionarse tres componentes principales que mostraron un aumento significativo después de la

cocción: el ácido cafeico, ácido ferúlico y danshensu (la forma hidratada del ácido cafeico). El aumento en la abundancia de ácido cafeico es el más notable, siendo 4 veces mayor que en la pasta cruda (de 0,78 a 3,12 µg/g para pasta con 2,5% HPDC; de 1,03 a 4,5 µg/g para pastas con 5% HPDC, de 1,52 a 5,77 µg/g para pastas con 10% HPDC). La pasta no suplementada se caracterizó principalmente por el mayor contenido de ácido ferúlico después de la cocción Tabla 4.4 (de 1,37 a 3,43 µg/g), lo que concuerda con el aumento de los derivados del ácido ferúlico reportado en la pasta de trigo integral cocida en comparación con la pasta cruda (Podio et al., 2019). Por otro lado, tres componentes mostraron una disminución significativa en las pastas suplementadas: ácido caftarico, ácido fertárico y ácido salvianólico E/B/L. Tanto el ácido caftárico como el fertárico (ésteres de ácido tartárico con ácido cafeico y ferúlico, respectivamente) no se detectaron en la pasta cocida, indicando alguna alteración. Estos compuestos, incluido el ácido salvianólico E/B/L (un tetrámero de ácido cafeico), tienen estructuras con enlaces éster lábiles susceptibles de romperse en condiciones de altas temperaturas (Zhou et al., 2010). Curiosamente, el aumento del ácido cafeico y ácido ferúlico descrito anteriormente podría estar relacionado con la alteración de estos derivados cafeicos.

Finalmente, los seis polifenoles restantes analizados (Ácido quínico, ácido salvianólico I/H, salviaflaside, ácido rosmarínico, ácido salvianólico C., metilrosmarinato) no mostraron cambios significativos con respecto a su abundancia después de la cocción. Curiosamente, los niveles de los dos componentes principales de la HPDC, que son el ácido rosmarínico y su glucósido (salviaflaside), no se vieron afectados significativamente por el proceso de cocción, lo que indica su disponibilidad en el momento de la ingesta.

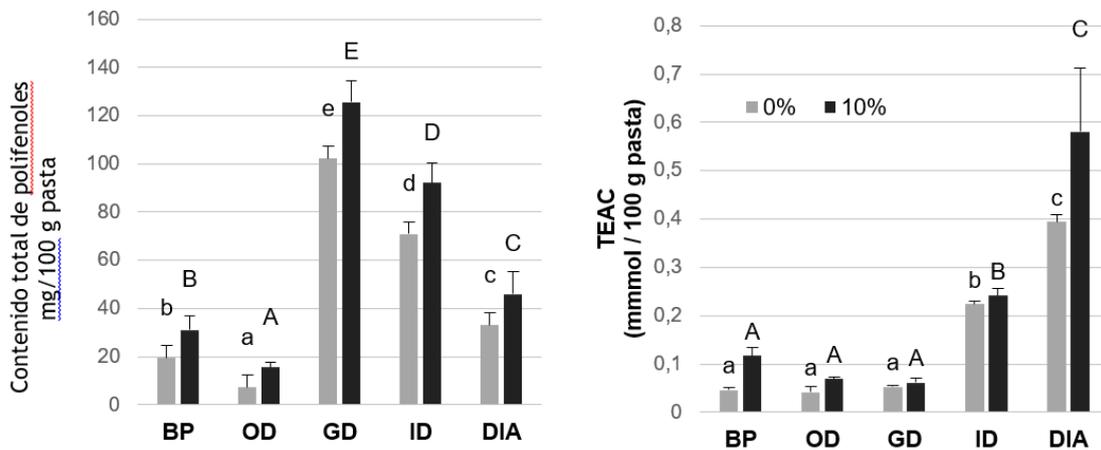
#### **4.3.3. Simulación in vitro de la digestión gastrointestinal de pastas suplementadas con HPDC**

Con el fin de obtener información sobre la medida en que los componentes bioactivos propuestos ingresan al organismo para producir su efecto, se ha realizado una simulación de las diferentes etapas de la digestión humana de las pastas cocidas. Se han considerado los principales pasos de la digestión: digestión oral (OD), digestión gástrica (GD), digestión intestinal (ID) y absorción intestinal (DIA). Se evaluaron el contenido fenólico total y la actividad antioxidante mediante el método (TEAC) para obtener una idea de los efectos en cada paso. Además, se analizó la composición fenólica de las muestras de la etapa de la simulación intestinal para concluir cuáles componentes de la pasta se absorben (teóricamente) en el intestino para ir hacia el

torrente sanguíneo y hacia los órganos y tejidos. En estudios anteriores se han aplicado procedimientos similares para estudiar pastas de trigo integral (Podio et al., 2019) y semillas de chía (Pellegrini et al., 2018), para observar el efecto que la matriz alimentaria tiene en el porcentaje de bioaccesibilidad de los polifenoles. Los resultados informados en estos estudios (Pellegrini et al., 2018) han sido útiles para analizar los resultados. Hasta donde se sabe, este es el primer estudio de los efectos de la digestión gastrointestinal en los polifenoles de la pasta suplementada con un subproducto de las semillas de chía.

La evaluación del contenido fenólico total (CTP) por Folin-Ciocalteu de los diferentes pasos de la digestión gastrointestinal in vitro mostró la misma tendencia tanto para la pasta control (0% HPDC) como para las pastas suplementadas (2,5; 5 y 10) % HPDC (Figura 4.1). Los resultados son similares a los reportados en pastas de trigo integral (Podio et al., 2019). Aparentemente, la etapa de la digestión en boca (OD) permitió la liberación del 37% de los polifenoles encontrados en las pastas cocidas (BP) control y el 50% en las pastas cocidas suplementadas con HPDC. Por otro lado, las etapas GD e ID causaron un aumento mucho mayor (entre 300 y 500%), lo que indica que la acción de las enzimas y el pH ayudan a liberar polifenoles de la matriz alimentaria en estas etapas de la digestión. Finalmente, las submuestras dializadas (DIA), que representan la fracción absorbida en el intestino, mostraron un aumento de alrededor del 50% en comparación con los valores de las pastas cocidas.

Con respecto a los resultados de la actividad antioxidante medida por el ensayo de TEAC, los datos obtenidos son bastante diferentes a la tendencia mostrada en el contenido de polifenoles. En la Figura 4.1, es posible observar que los niveles de capacidad antioxidante no se modificaron significativamente en las dos primeras etapas del proceso digestivo (digestión en boca -OD y gástrica- GD), pero las condiciones de la fase intestinal causaron un notable aumento en la capacidad antioxidante. Además, la fracción absorbida (DIA) mostró valores incluso más altos que los encontrados en la etapa de digestión intestinal (ID), lo que sugiere que los compuestos con capacidad de eliminación de radicales libres de la pasta cocida probablemente se liberen en una alta proporción en esta etapa.



**Figura 4.1. Contenido fenólico total y actividad antioxidante de las pastas cocidas a lo largo de las etapas de la digestión gastrointestinal in vitro**  
Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre barras del mismo color

#### 4.3.4. Bioaccesibilidad de polifenoles individuales

Debido a que la absorción intestinal es una de las principales maneras de entrada de los componentes alimenticios al torrente sanguíneo. Se realizó el análisis por HPLC-MS de las submuestras en la etapa de digestión intestinal (ID) y de las submuestras dializadas (DIA), con el propósito de evaluar cuál de los componentes detectados en las pastas cocidas es probable que se absorba en el intestino delgado, o permanezca en la luz intestinal (ID) para continuar hacia el colon, donde puedan ser fermentados por la microflora local, lo que representaría un paso adicional de importancia en la digestión gastrointestinal (Acosta-Estrada et al., 2014).

De los diez componentes identificados en las pastas cocidas (Tabla 4.4), solo 5 se detectaron en las submuestras intestinales de todas las pastas (0; 2,5; 5 y 10 % HPDC) (Figura 4.2): el ácido quínico (QA), ácido cafeico (CA), ácido salvianólico E/B/L (SA E/B/L), ácido rosmarínico (RA) y salviaflásido (SF). El QA pareció absorberse completamente, ya que solo se detectó en las submuestras DIA pero no en las submuestras de ID, por el contrario, SA E/B/L solo se detectó en ID. Con respecto a los otros 3 compuestos (CA, SF y RA), todos se detectaron en ambas fracciones, lo que indica que al menos una pequeña fracción puede ser susceptible de ser absorbida en esta etapa (submuestras DIA), pero también es probable que otra proporción aproximadamente igual permanezca en el intestino y pueda pasar hacia el colon (submuestras ID). Dado que RA y SF son los componentes mayoritarios y principales de las semillas de chía y de la HPDC, éste es un resultado interesante que destaca su biodisponibilidad. Pellegrini et al. (2018) también informaron que el compuesto RA de

las semillas de chía se absorbe y es bioaccesible a través de la etapa intestinal de la digestión humana. Curiosamente, el ácido rosmarínico (RA) ha sido ampliamente estudiado debido a su notable bioactividad. Además de sus propiedades antioxidantes, este compuesto ha demostrado muchos otros efectos beneficiosos para la salud humana, como las actividades antiinflamatorias y anticancerígenas (Nunes et al., 2017).

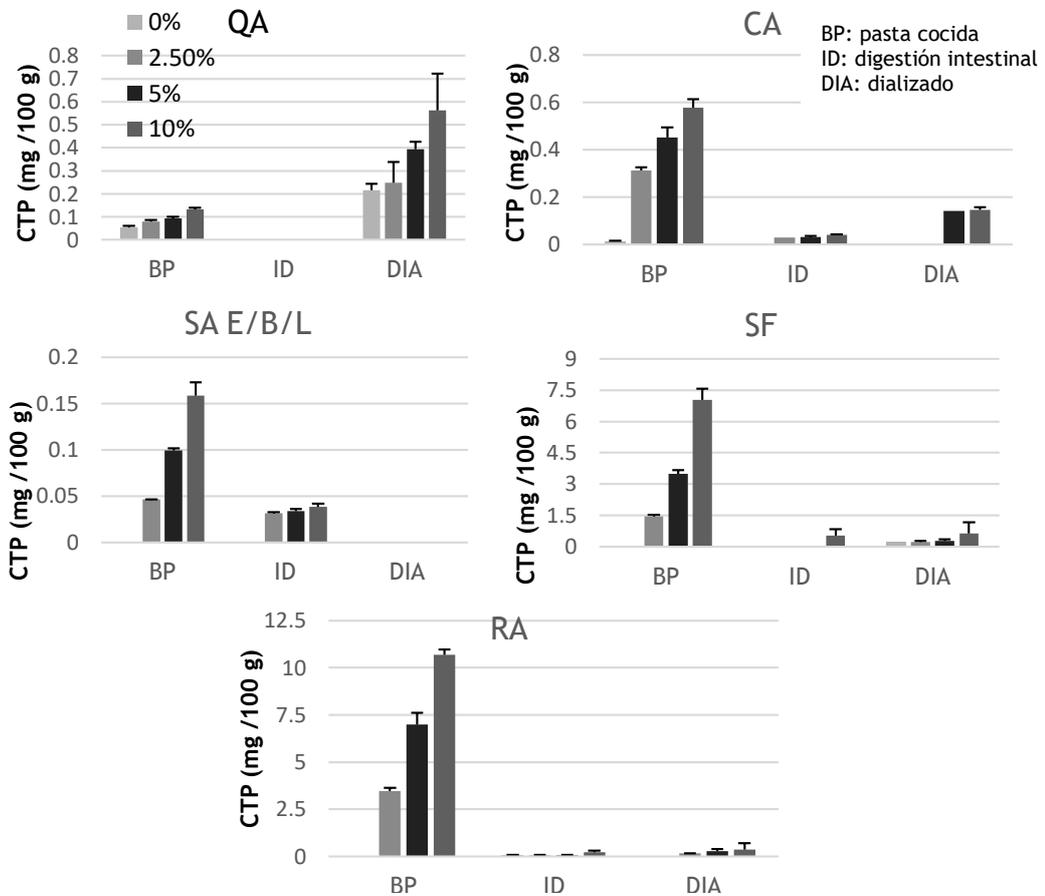


Figura 4.2. Biodisponibilidad de polifenoles en las pastas cocidas

#### 4.4. Conclusiones

Los resultados de esta sección representan una importante contribución al conocimiento de la composición polifenólica y la actividad antioxidante de las pastas de trigo suplementadas con un subproducto obtenido después de la extracción de aceite de semillas de chía (HPDC). Además, este estudio proporciona información para comprender los efectos de los procesos de cocción y digestión en el perfil fenólico del producto alimenticio propuesto. En primer lugar, la composición de la fracción fenólica

libre de la HPDC y de la pasta enriquecida se analizaron a través de HPLC-ESI-QTOF-MS revelando la presencia de 14 compuestos fenólicos, la mayoría de ellos correspondientes a ácidos hidroxicinámicos estructuralmente relacionados con los ácidos cafeico y ferúlico, donde el ácido rosmarínico y su glucósido se confirman como los compuestos principales.

Con respecto a los efectos del proceso de cocción, el cambio más significativo fue el aumento de los polifenoles y la actividad antioxidante de las pastas no suplementadas, mientras que los principales componentes antioxidantes de las pastas con HPDC no se vieron muy afectados. Estos resultados sugieren que los componentes bioactivos proporcionados por la HPDC permanecen disponibles en la pasta suplementada en el momento de la ingesta.

Finalmente, el análisis de los diferentes pasos del modelo simulado de digestión gastrointestinal mostró que solo una pequeña proporción de los polifenoles libres estudiados puede ser potencialmente absorbida en el intestino delgado para llegar a los tejidos, mientras que algunos compuestos permanecen sin absorber en esta etapa continuando hacia el colon, siendo otro proceso de digestión que involucra a la microflora. Curiosamente, uno de los componentes más bioactivos y principales de las semillas de chía, el ácido rosmarínico y su glicosido, asimismo parecen estar potencialmente biodisponibles en ambas vías de entrada.

En conjunto, estos resultados refuerzan y confirman las propiedades nutricionales prometedoras del subproducto generado a partir de la extracción de aceite de semillas de chía HPDC, lo que nos permite promover el uso de esta inmemorial semilla como ingrediente funcional para enriquecer una de las fuentes más populares de carbohidratos en todo el mundo, las pastas de trigo.

## **5. ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE SECADO DE PASTAS ELABORADAS CON HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA**

---

## **5. ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE SECADO DE PASTAS ELABORADAS CON HARINA PARCIALMENTE DESGRASADA DE CHÍA**

### **5.1. Introducción**

El secado es una operación unitaria ancestral, pero de gran importancia en la industria de los alimentos ya que es la etapa de mayor impacto en la calidad de estos. Su principal propósito es mejorar la estabilidad del producto durante el almacenamiento, prolongando así su vida útil. Además, permite disminuir el peso del producto y, de esta manera, facilitar su transporte, reduciendo el espacio requerido para el almacenamiento (Vega y Fito, 2005).

Durante el secado de las pastas alimenticias, el transporte del agua líquida se realiza desde el interior hacia el exterior a través de los capilares de estas. El transporte del agua hasta la superficie se produce por difusión y una vez en la superficie se evapora. Este flujo de agua puede ser considerado una función del gradiente de la presión de vapor, la difusividad del vapor en el aire, la distancia a recorrer y las propiedades del medio, siendo fundamentalmente un fenómeno de transporte de materia, aunque también se enlaza con el transporte de calor a través de la energía necesaria para la vaporización (Singh, 1997).

El estudio de las condiciones de secado óptimas permite mejorar la calidad del producto, optimizar los tiempos de secado y la utilización de la energía reduciendo los costos. Comprender la cinética de secado de los alimentos permite controlar y optimizar el proceso de deshidratación. En una curva de secado típica de pastas, el contenido de humedad disminuye rápidamente durante la etapa inicial de secado, y gradualmente se desacelera en la etapa posterior (Ogawa et al., 2012). La curva característica de secado muestra el contenido de humedad a través del tiempo durante todo el proceso. El periodo inicial consiste en un precalentamiento, posteriormente el secado toma una forma lineal llamada periodo de velocidad de secado constante y finalmente llega a un punto crítico, donde la línea recta tiende a curvarse, este periodo se conoce como caída de la velocidad de secado. Debido a que los periodos de precalentamiento y velocidad de secado constante son generalmente muy cortos en comparación con todo el periodo de secado durante la producción de pasta seca, generalmente se ignoran los periodos de precalentamiento y de velocidad de secado constante, asumiendo un periodo de velocidad de secado decreciente desde el comienzo del secado. Este último inicia con el contenido de humedad crítica y termina

con el contenido de humedad de equilibrio, es así como la temperatura del producto se incrementa por encima de la temperatura de bulbo húmedo y el mecanismo controlante resulta de la difusión de agua desde el interior de este (Singh, 1997).

Las pastas frescas contienen inicialmente un 31% de humedad y debe reducirse hasta un 12,5 %, para garantizar su estabilidad y formar la estructura de la pasta desarrollando consistencia de la red proteica alrededor del almidón (Ogawa et al., 2012; De Temmerman et al., 2007).

Condiciones severas de temperatura y humedad relativa pueden afectar en gran medida las propiedades de apariencia, textura, organolépticas, físicas (color, forma, porosidad) y de cocción de las pastas (Owens, 2001). El fenómeno físico mas evidente que ocurre durante el secado de pastas es el encogimiento, que depende fuertemente del contenido de humedad y la forma inicial del producto. Esto sucede por que la matriz viscoelástica puede contraerse en el espacio previamente ocupado por el agua. El volumen final del producto se fija en etapas tempranas de secado si la velocidad al inicio del secado es alta debido a que las capas externas de las piezas se tornan rígidas, generando una estructura abierta al romperse los tejidos internos. Antagónico a esto, si la velocidad inicial de secado es baja se logra un producto de mayor densidad. En estas condiciones el tamaño y la forma del producto se setean hacia el final del proceso. (Aguilera, 2003). Entonces, para conocer y explicar los cambios que describen la transferencia de agua y la cinética del proceso de secado de acuerdo con las condiciones de operación aplicadas se han desarrollado diversos modelos teóricos, semiteóricos y empíricos (Piazza et al., 1990; Xiong et al., 1991; Litchfield and Okos, 1992; Inazu et al., 2003). La mayoría de estos modelos están basados en la ley de difusión de Fick (Andrieu and Stamatopoulos, 1986; Migliori et al., 2005a; De Temmerman et al., 2007), que consideran que el agua migra desde el interior del sólido a la superficie por un proceso de difusión y a su vez permite obtener el coeficiente de difusión efectivo (Kaymak-Ertekin, 2002) mediante las ecuaciones derivadas resueltas por Crank (1975) para tres formas geométricas: placa plana, cilindro y esfera.

Los modelos empíricos y semiempíricos más utilizados que describen las curvas de secado de un alimento, son las ecuaciones de: Newton (Westerman et al. 1973), Page (Agrawal y Singh, 1977), Page modificada (Ozdemir y Devres, 1999), Henderson y Pabis (Chhinnan, 1984), Logarítmico (Yagcioglu et al. 1999), Dos Términos (Henderson, 1974) y Dos Términos Exponenciales (Sharaf-Eldeen et al. 1980), entre otras.

En general, en el análisis del secado de pastas se estudian los siguientes parámetros: el contenido de humedad en equilibrio (es el contenido de humedad más bajo posible), difusividad efectiva de la humedad (indica velocidad de deshidratación) y la energía de activación (es energía necesaria para iniciar la migración del agua) (Villeneuve y Gélinas, 2007).

Aunque la pasta se seca tradicionalmente a bajas temperaturas, los métodos de secado a alta temperatura (HT), muy alta temperatura (VHT), y a temperatura ultra alta (UHT) se han aceptado rápidamente. Debido a tales aumentos en la temperatura de secado, muchos investigadores han estudiado el efecto de la temperatura de secado sobre las propiedades de la pasta (Manser, 1980; DeStefanis et al., 1990; Resmini et al., 1983). A nivel industrial, para el secado de la pasta se utiliza aire caliente humedecido de 40 a 105 °C, con humedades relativas, entre 40 y 85% (De Temmerman et al., 2007). El control inapropiado de la velocidad de secado puede desarrollar pastas frágiles, quebradizas y que se desintegren durante la cocción.

Algunos cambios que atraviesan los alimentos durante el proceso de secado están relacionados, de alguna forma, con los cambios en su microestructura. El uso de técnicas de análisis de imágenes para monitorear los cambios en la microestructura como indicador de calidad en los alimentos, es de gran importancia. A partir de una imagen del alimento a estudiar, puede realizarse un análisis de textura que permite observar la complejidad de una superficie determinada, la aplicación de la técnica de análisis de imágenes puede ser una herramienta muy útil en los procesamientos térmicos que permite brindar información para controlar las modificaciones que va sufriendo el alimento durante el proceso de secado. Según Pedreschi et al. (2004) esta técnica consiste en:

- Obtención de la imagen por medio de cámaras o microscopios.
- Mejoramiento de la información de la imagen obtenida a través del pre-procesamiento de la imagen.
- Clasificación de la imagen en partes o zonas para extraer la información de interés.
- Medición de las características estructurales o morfométricas (tamaño, forma, color o textura) del objeto de estudio.
- Re-asociación de los objetos de interés identificados en las imágenes.

Se realizaron varios estudios sobre la fortificación de pastas con harinas ricas en proteínas con el fin de suplir las deficiencias en lisina y treonina de pastas elaboradas solamente con harina de trigo, como harina de porotos (Gallegos et al., 2010), por mezclas de sémola y harina de quinua (Petitot et al., 2010), semillas de leguminosas germinadas (Torres et al., 2007) y garbanzo (Wood, 2009). La mayoría de las fortificaciones implicaron cambios en las propiedades de cocción, textura y color, entre otras, de la pasta elaborada. Los resultados obtenidos anteriormente en la sección 3 han mostrado que la incorporación de harina de chía en pastas impacta en la calidad tecnológica, sensorial y nutricional del producto. En efecto, esta incorporación de ingredientes específicos en la formulación final de las pastas conlleva a analizar la validez de los modelos actuales para representar esta nueva realidad de producción, debido a que estos modelos fueron desarrollados generalmente para pastas elaboradas de manera estándar con harina de trigo duro y agua (Mercier et al., 2016).

No obstante, la literatura muestra diferentes estudios relacionados al modelado matemático de cinéticas de secado de pastas de trigo duro (Villeneuve y Gelinas, 2007; Mercier et al., 2014; Migliori et al., 2005) y muy pocos estudios en el modelado de la cinética de secado de pastas con otro tipo de harinas (Lopez-Mejia et al., 2019;), estos autores evaluaron distintas condiciones de secado, utilizando distintas temperaturas (50 y 60 °C) y evaluaron el efecto de la sustitución de sémola de trigo por pulpa de zapallo sobre el tiempo de secado, la difusividad efectiva y algunas características que definen la calidad de las pastas de trigo. Larrosa et al. (2016), también elaboraron pastas libres de gluten con distintos tipos de ingredientes (almidón de maíz, harina de maíz, entre otros) donde evaluaron las condiciones de secado de estas utilizando dos temperaturas (30 y 50 °C) y humedades relativas de 40 y 80%. Villeneuve y Gélinas (2007) fueron otros autores que también evaluaron la cinética de secado de pastas de trigo y de trigo entero (ricas en salvado) a tres temperaturas (40, 60 y 80 °C) y distintas humedades relativas (65%, 75% y 85%). A su vez, no se encontraron estudios sobre el modelado de la cinética de pastas con harina de chía.

En función a que los resultados de la sección 3 han demostrado que la incorporación de HPDC en pastas impacta en alguna medida la calidad tecnológica de estas. Por tal motivo el objetivo de esta sección fue determinar si los cambios de temperatura durante el proceso de secado imparten alguna mejora sobre las características estructurales de las pastas y el efecto de la incorporación de HPDC durante la cinética de deshidratación.

## 5.2. Materiales y métodos

### 5.2.1.-Elaboración de pastas

Se elaboraron pastas con 0, 5 y 10% HPDC p/p base harina de la misma manera como se detalló en la sección 3. Las materias primas secas (50 g harina de trigo 000 y distintas proporciones de HPDC) se pesaron y se mezclaron manualmente para asegurar que éstas se integren de manera uniforme. Un gramo de sal se disolvió en 22 mL de agua destilada y se incorporó a la mezcla de materias primas secas. El amasado se llevó a cabo a una velocidad intermedia durante 1,5 minutos en tres intervalos de 30 segundos c/u. Posteriormente, la masa fue amasada manualmente, se armó un bollo y se dejó reposar por 5 min. El laminado se realizó haciendo pasar el bollo de masa (previamente aplanado manualmente) por la máxima apertura de la laminadora. Una vez pasada la masa por los rodillos, la misma fue doblada por la mitad y sometida a laminado siete veces por los rodillos. Luego, la masa se sometió a laminados adicionales hasta reducir su espesor a 1,50 mm. Una vez finalizado el proceso de laminado, la lámina de pasta fue cortada con rodillos estriados para obtener un ancho de pasta de 2,00 mm, 1,5 mm de espesor y 20 cm de largo.

### 5.2.2. Secado

Se estudió el proceso de secado de las pastas elaboradas con 0, 5 y 10% HPDC (5 cm de largo). El proceso se evaluó en dos etapas, en primera instancia se realizó un pre-secado a 30 °C por 30 minutos en una estufa con ventilación forzada de aire (Mettler Model 600 D060602, Alemania) sin control de humedad relativa. En segunda instancia el secado se realizó en una estufa con control de humedad relativa (FAC modelo CDH4060, Argentina) a tres temperaturas distintas 45, 55 y 65 °C por 24 horas. Las temperaturas de trabajo fueron ajustadas en el equipo considerando las temperaturas de bulbo húmedo y bulbo seco para trabajar en una humedad relativa (HR) constante igual a 75%. Los datos fueron extraídos durante la etapa del pre secado cada 10 minutos y durante el secado cada 60 minutos. El ensayo y las mediciones se realizaron por duplicado y los resultados expuestos en esta sección resultan el promedio de todas las mediciones.

### 5.2.3. Determinación del contenido de humedad de las pastas

Para determinar el contenido de humedad en cada uno de los puntos muestreados durante el secado a tres temperaturas distintas (45, 55 y 65 °C), se calculó por pérdida de peso con respecto al peso inicial de cada muestra. Los ensayos fueron realizados por duplicado a partir de la ecuación 16.

$$\%Humedad = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100 \quad (\text{Ec. 16})$$

### 5.2.4. Curvas de Secado

Para el estudio de las características de secado de las pastas con y sin la suplementación de HPDC a distintas temperaturas, se utilizaron siete modelos matemáticos para poder explicar el comportamiento de estas durante 24 horas de secado. Los datos obtenidos de humedad fueron el punto de partida para graficar las curvas de pérdida de humedad y de relación de humedad (RH) en función del tiempo (t), dicha relación se calculó a partir de la siguiente ecuación 17.

$$RH = \frac{H_t - H_e}{H_0 - H_e} \quad (\text{Ec. 17})$$

Donde:

H<sub>t</sub>: contenido de humedad en cualquier punto de secado (kg agua/kg sólido seco)

H<sub>e</sub>: contenido de humedad de equilibrio (kg agua/kg sólido seco)

H<sub>0</sub>: contenido de humedad inicial (kg agua/kg sólido seco)

Para el ajuste de las curvas de RH vs Tiempo en el secado se utilizó un método de regresión no lineal mediante siete modelos matemáticos para capa fina (Tabla 5.1) que han sido utilizados por numerosos autores (Darvishi et al., 2014).

**Tabla 5.1. Modelos utilizados en la cinética de secado**

Modelo	Ecuación
Power	$RH = c + a \cdot t^n$
Henderson and Pabis	$RH = a \cdot \text{EXP}(-k \cdot t)$
Logarithmic	$RH = a \cdot \text{EXP}(-kt) + c$
Midilli	$RH = a \cdot \text{EXP}(-k \cdot t^n) + bt$
Wang and Singh	$RH = 1 + b \cdot t + a \cdot t^2$
Lewis	$RH = \text{EXP}(-k \cdot t)$
Modified page	$RH = \text{EXP}(-(k \cdot t)^n)$
Page	$RH = \text{EXP}(-k \cdot t^n)$

\*RH representa la relación de humedad; k es la constante de secado; n, a, b y c son constantes de las ecuaciones

Para tal efecto se utilizó el software SigmaPlot® para identificar el modelo que mejor ajuste (mayor  $R^2$  y menor error cuadrático medio) a dichas curvas. En la ecuación 18 se muestra el cálculo del error cuadrático medio (RMSE).

$$RMSE = \left( \frac{\sum_{i=1}^N (RH_{pre,i} - RH_{exp,i})^2}{N} \right)^{0,5} \quad (\text{Ec. 18})$$

Donde:

$RH_{pre,i}$  y  $RH_{exp,i}$ : la *i*ésima humedad reducida de forma predicha y experimental

N: número de observaciones

Con el mejor modelo seleccionado se elaboraron las curvas de velocidad de secado ( $V_s$ ) en función del tiempo (t) para determinar el efecto de las distintas temperaturas y de la incorporación de HPDC sobre la velocidad de deshidratación en cada una de las muestras. La ecuación 19 se utilizó para determinar la velocidad de secado (Shi et al., 2013):

$$V_s = -\frac{dH_{bs}}{dt} = -\frac{(H_{t+\Delta t}) - H_t}{t_{i+1} - t_i} \quad (\text{Ec. 19})$$

Donde:

$H_{t+\Delta t}$ : Contenido de humedad en base seca (kg agua/kg base seca) a tiempo ( $t_i$ ) más la diferencia del tiempo en min

$V_s$ : Velocidad de secado (kg agua/kg ms min)

t: tiempo de secado (min)

### 5.2.5. Coeficiente de difusividad efectiva (Deff)

La difusividad se entiende como la facilidad con la que el agua es removida del material y cómo varía en función a los cambios en las condiciones de secado (Larrosa *et al.*, 2015). Mediante la solución de la ecuación de difusión de la ley de Fick para una geometría plana (lámina fina) y considerando que la pérdida de humedad se distribuye uniformemente por ambas caras de la pasta, se aplicó la ecuación de Crank (Crank, 1975) (Ecuación 20) para el cálculo de Deff (Darvishi *et al.*, 2014).

$$RH = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \left( \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left(- (2n+1)^2 \frac{\pi^2}{4L^2} Deff * t\right) \right) \quad (\text{Ec. 20})$$

Donde:

RH: Es la relación de humedad (kg agua/kg sólido seco)

Deff: es el coeficiente de difusividad efectiva (m<sup>2</sup>/s)

t: es el tiempo (min)

L: distancia crítica de secado en m (es la mitad del espesor de la pasta)

Considerando a la pasta como lámina fina y un secado en largos periodos de tiempo, la ecuación (20) puede simplificarse a la ecuación 21:

$$RH = \frac{8}{\pi^2} \exp\left(- \frac{\pi^2 Deff * t}{4 * L^2}\right) \quad (\text{Ec. 21})$$

Se obtuvo el coeficiente Deff de cada una de las muestras a diferentes temperaturas al graficar el logaritmo natural (ln) de la relación de humedad (RH) en función del tiempo de secado obteniendo como resultado la pendiente de la línea recta.

### 5.2.6. Relación del coeficiente de difusión con la temperatura

La relación de la temperatura frente al coeficiente de difusión de humedad efectiva (Deff) y de la constante cinética de secado (k) se determinó siguiendo la ecuación de Arrhenius (Shi *et al.*, 2013) ecuación (23), esta ecuación es utilizada en alimentos para poder describir este fenómeno de difusión.

$$k = k_0 * \exp\left(- \frac{Ea}{R * T}\right) \quad (\text{Ec. 22})$$

$$\ln Deff = \ln D_0 - \left(\frac{E_a}{R}\right) * \frac{1}{T} \quad (\text{Ec. 23})$$

Donde:

$k$  es la constante cinética de secado ( $\text{min}^{-1}$ )

$k_0$  y  $D_0$ : constantes pre-exponenciales ( $\text{min}^{-1}$  y  $\text{m}^2/\text{s}$  respectivamente)

$E_a$ : energía de activación ( $\text{kJ/mol}$ )

$T$ : es la temperatura absoluta de secado ( $\text{K}$ )

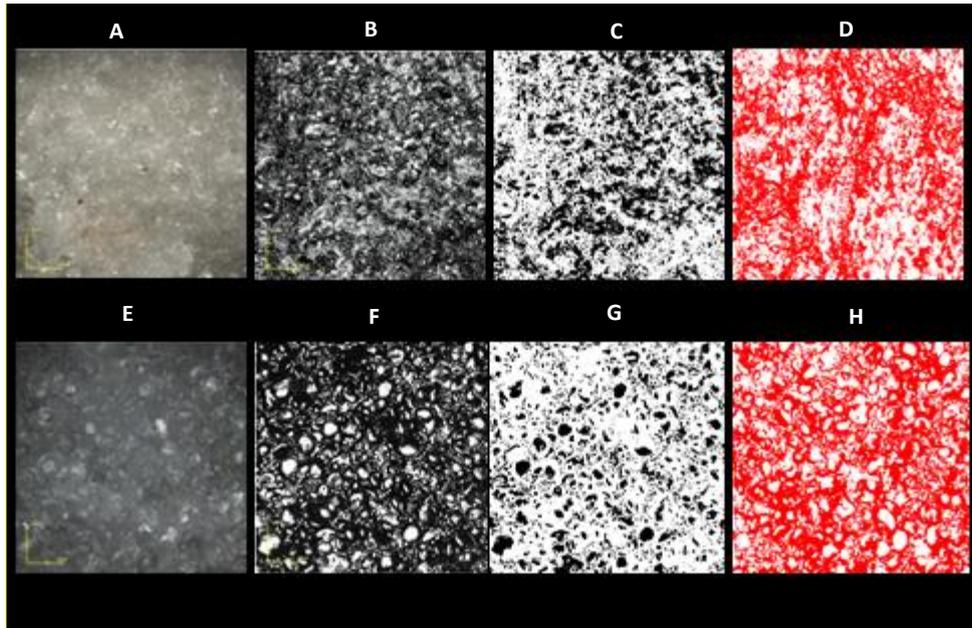
$R$ : es la constante universal de los gases ( $8,314 \times 10^{-3} \text{ kJ/mol K}$ ).

Se linealizó la ecuación de Arrhenius y se graficó  $\ln(Deff)$  y  $\ln(k)$  en función de  $1/T$ , la pendiente obtenida en la ecuación de la recta se utilizó para calcular la energía de activación ( $E_a$ ).

### 5.2.7. Análisis de textura de las imágenes obtenidas por microscopia

Las pastas con 0, 5 y 10% HPDC secadas a tres distintas temperaturas (45, 55 y 65 °C) fueron evaluadas mediante imágenes obtenidas por microscopia laser confocal de barrido XL-30 (Philips, EUA) a un potencial de aceleración de 25 Kv. Las imágenes se obtuvieron en las mismas magnificaciones que se realizaron a las pastas en la sección 3, siendo 428x para la estructura interna de la pasta (CT) y 1070x para la superficie de estas (S).

El análisis textural de las imágenes obtenidas por microscopía confocal se llevó a cabo con el programa Image J (National Institutes of Health, EUA). Para mejorar las características de las imágenes, las mismas obtenidas en JPEG fueron corregidas a 8 Bit y posteriormente binarizadas con el fin de representar a la imagen únicamente en dos colores, blanco y negro (Figura 5.1) permitiendo que el análisis de textura y la cuantificación de las diferencias microestructurales entre las muestras pudiera realizarse correctamente.



**Figura 5.1. Análisis de imágenes de pastas. Arriba: Microfotografías de la estructura interna (CT). Abajo: Microfotografías de la superficie (S). (de izquierda a derecha) microfotografías a color, con contraste en blanco y negro, microfotografías binarizadas**

Para la medición cuantitativa de la textura de cada imagen se utilizó un algoritmo estadístico de segundo orden denominado Matriz de Co-ocurrencia en Escala de Grises (GLCM), con el fin de analizar las imágenes a través de la comparación de dos píxeles próximos entre sí en un tiempo determinado agrupando la frecuencia a la cual diferentes niveles de grises pueden ser encontrados dentro de un área restringida (Gosselin et al., 2008). La imagen se representó como una función que asignó diversos tonos de grises para cada píxel o conjunto de píxeles y a partir de esa información se pudo caracterizar la textura de cada imagen. La imagen pre procesada en escala de grises analizada por el algoritmo GLCM permitió obtener parámetros texturales como la Energía (ASM), Contraste (CON), homogeneidad (IDM) y entropía (ENT).

- Energía/ Segundo Momento Angular (ASM): mide la homogeneidad local de una imagen. A valores elevados, la frecuencia de aparición de las parejas de píxeles en la *Matriz de Co-ocurrencia* posee la misma intensidad de nivel de gris cuyo valor será 1 cuando la imagen presente la máxima uniformidad textural.

- Contraste (CON): mide la variación local del nivel de gris en una imagen. A medida que el nivel de gris de la pareja de píxeles se aleja hacia los extremos de la escala en

una imagen de 8 bits este parámetro aumenta y adquiere su valor máximo cuando un píxel presenta una intensidad de 0 y su vecino de 255.

- Homogeneidad/ Momento Inverso de la Diferencia (IDM): mide la diferencia en la intensidad de grises entre píxeles próximos. Es antagónico al contraste, lo que significa que, si hubiese una única intensidad de gris en los píxeles de la imagen, el valor de la homogeneidad sería 1 y la imagen tendría un pequeño contraste.

- Entropía (ENT): se relaciona con el desorden y aleatoriedad que presenta una imagen y ayuda a caracterizar la textura de esta. Altos valores de entropía se relacionan a imágenes complejas (Mendoza et al., 2007). Por el contrario, cuanto más baja es la entropía, la imagen será más uniforme dentro del campo visual. La entropía puede tener un valor de cero cuando todos los píxeles de la imagen presenten un solo nivel de gris.

El cálculo de la dimensión fractal (DF) se determinó sobre la superficie/estructura interna de las imágenes pre procesadas, descritas anteriormente, para ello se utilizó el algoritmo Fractal Box count (Quevedo et al., 2002), dentro del software Image J, el cual proporcionó un parámetro numérico que describió la morfología y la textura de materiales con estructuras irregulares y complejas. Este parámetro fue utilizado con el fin de poder explicar las variaciones que sufren los alimentos como efecto del procesamiento (Perez-Nieto et al., 2010; Quevedo et al., 2010; Kerdpiboon y Devahastin, 2007). La conformación irregular, la geometría compleja de la superficie y la porosidad/rugosidad interna de las pastas secadas a distintas temperaturas pueden ser diferenciadas de manera más representativa por la dimensión fractal. Hasta el momento, se registraron muy pocas investigaciones relacionadas con la textura superficial de pastas en donde utilicen un análisis de imágenes como metodología de estudio (Fongaro y Kvaal, 2013).

El análisis textural de las imágenes se realizó por duplicado y se evaluaron tres piezas por cada muestra. En la Figura 5.2 se muestran los parámetros seleccionados para la caracterización de la textura de una imagen seleccionada.

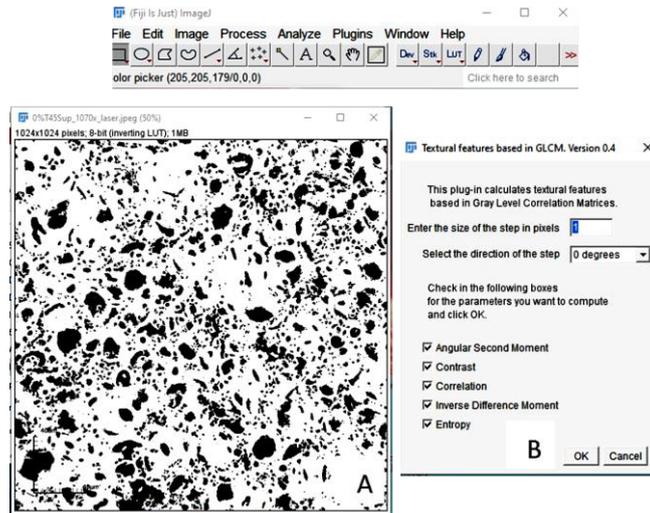


Figura 5.2. A) Microfotografía binarizada. B) Parámetros texturales extraídos con el programa ImageJ

### 5.2.8. Determinación de la fracturabilidad de las pastas

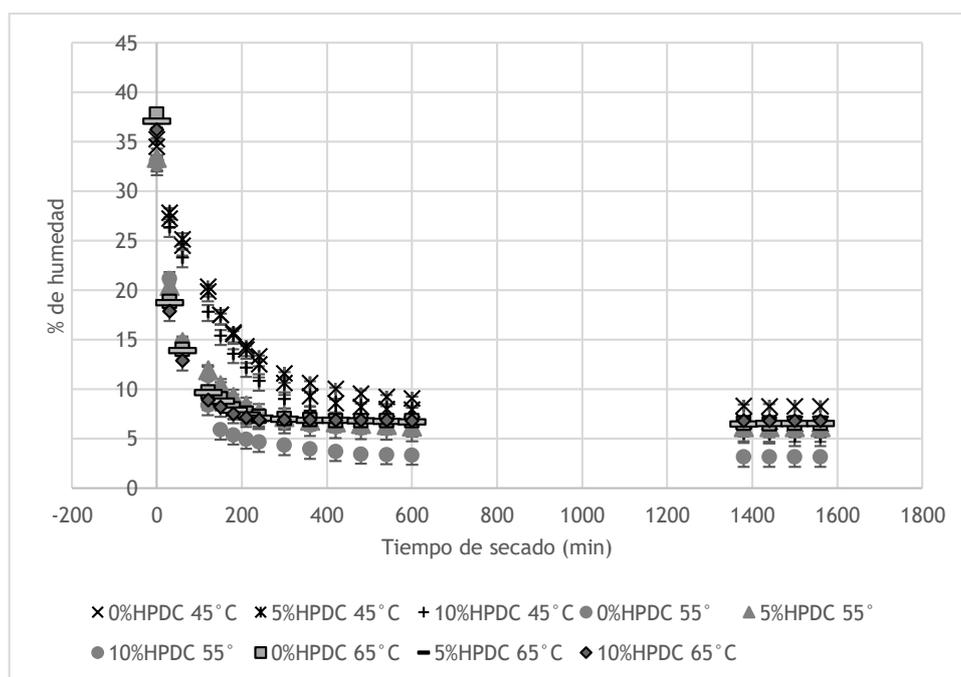
La influencia de la temperatura de secado sobre la fracturabilidad (fuerza de quiebre) de las pastas se evaluó a las 24 h después del secado con un texturómetro INSTRON (Universal Testing Machine, modelo 3342, EUA). Cada hebra fue apoyada sobre dos soportes paralelos, separados por una distancia de 3,6 cm. La fuerza de quiebre de la estructura del producto se midió a través del desplazamiento vertical de una barra del mismo material y forma que los soportes. La velocidad de desplazamiento de este fue de 0,5 mm/s, los resultados se expresaron en Newtons como la fuerza necesaria para producir el quiebre de las pastas. Se realizaron cinco mediciones por cada muestra de pasta.

### 5.2.9. Análisis estadístico

Se utilizó el software estadístico InfoStat (Infostat, 2019) con el cual se analizaron los resultados obtenidos mediante el análisis de varianza (ANOVA) y fueron comparados con el método DGC (Di Rienzo et al., 2002) y las diferencias significativas fueron consideradas  $p < 0,05$ . La prueba DGC constituye un método particionante (sin solapamiento de letras entre las medias) recomendable para comparar cinco o más medias.

### 5.3. Resultados y discusión

El contenido de humedad inicial del producto tuvo efecto en la tasa de secado, es por eso que se determinó el porcentaje de humedad inicial de cada una de las pastas el cual fue del  $35,0 \% \pm 3,0$ , esta variación puede deberse a la humedad relativa ambiente del día de elaboración de las pastas. Contenidos de humedad inicial similares en pastas fueron informados por otros autores (Waananen y Okos 1996; De Temmerman et al., 2007; Mercier et al., 2011).



**Figura 5.3. Cinética de secado de las pastas a distintas temperaturas**

En la Figura 5.3, se muestra la reducción de humedad durante el tiempo de secado de cada una de las muestras (0, 5 y 10% HPDC) a distintas temperaturas (45, 55 y 65 °C). Se pudo observar en todas las muestras que, durante las seis primeras horas del proceso de secado (360 min), el contenido de humedad disminuyó bruscamente en una primera instancia y luego más lentamente hasta llegar a la humedad de equilibrio después de las 24 h del proceso. Sin embargo, el detrimento en el contenido de humedad fue diferente según la temperatura del aire de secado de las pastas, debido a que, a temperaturas de 55 y 65 °C la extracción de humedad de las pastas fue más rápida en comparación a pastas secadas a 45 °C.

### 5.3.1. Cinética de secado

De acuerdo con los datos experimentales se elaboraron las curvas de secado (relación de humedad vs tiempo de secado) tanto para el pre secado a 30 °C como para la segunda etapa de secado a 45, 55 y 65 °C. En la Figura 5.4 se observó que durante la etapa de pre secado ocurrió una brusca disminución de humedad con el tiempo de secado, no se observaron diferencias significativas entre las muestras con y sin el agregado de HPDC.

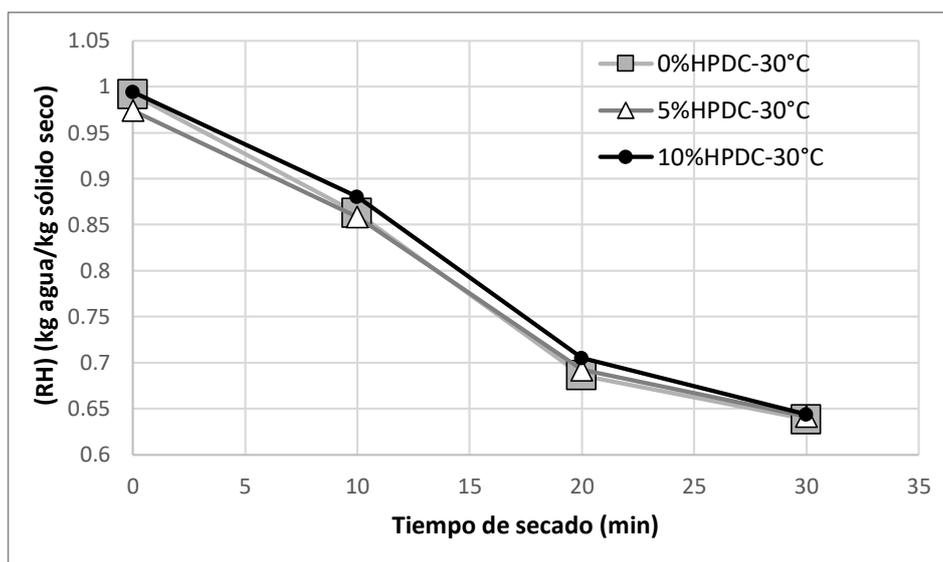
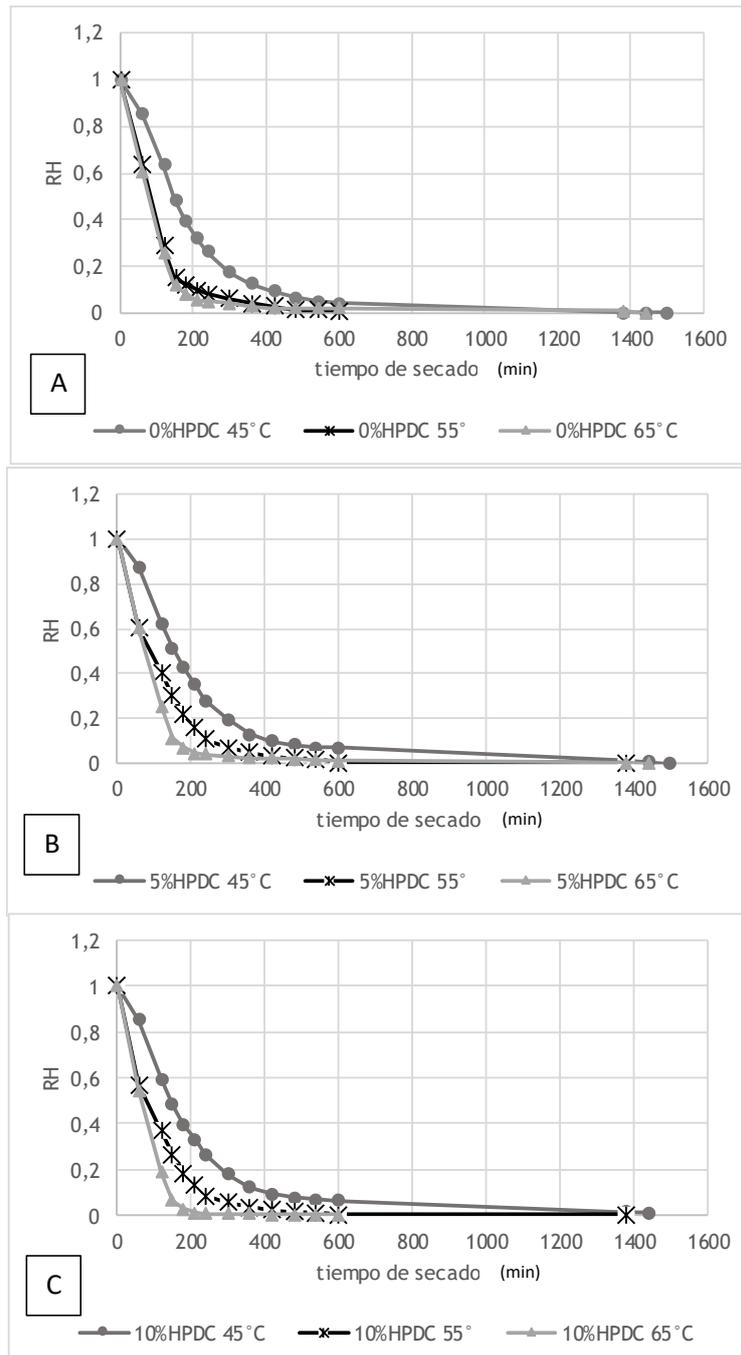


Figura 5.4. Variación de la relación de humedad (RH) en función del tiempo de pre secado de pastas a 30 °C

La influencia de la temperatura del aire de secado a 45, 55, 65 °C y de la incorporación de HPDC sobre la pérdida de humedad de las muestras experimentales se muestran en la Figura 5.5. Se pudo observar la misma tendencia que se observó en la Figura 5.3, que a mayor temperatura de secado la relación de humedad (RH) disminuyó constantemente durante el tiempo de secado. Lo que señala que, a mayor temperatura del aire de secado, mayor es la transferencia de calor desde la superficie de la pasta hacia el interior de esta.



**Figura 5.5. Variación de la relación de humedad (RH) en función del tiempo de secado a distintas temperaturas A:0%HPDC, B: 5%HPDC, C:10%HPDC**

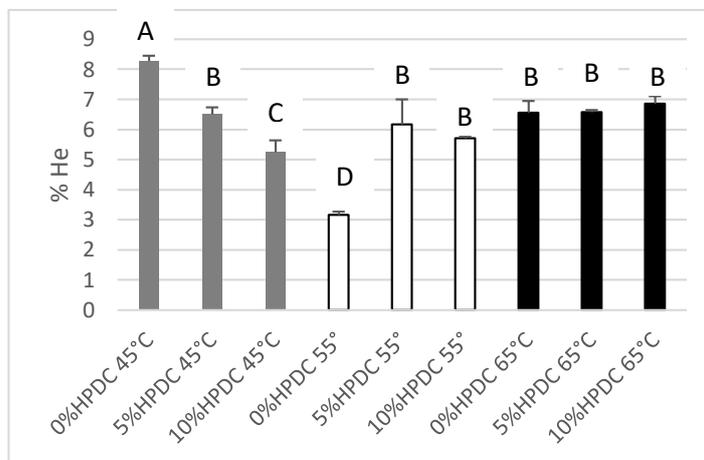
Se observó, al igual que en la Figura 5.4, que la mayor cantidad de agua se perdió en los puntos iniciales del proceso de secado. Al haber mayor cantidad de agua en las pastas el agua se encuentra más disponible para ser evaporada. En cuanto a las pastas suplementadas se pudo observar que la incorporación de HPDC a las mismas tuvo poco impacto en los cambios de humedad durante el secado frente al comportamiento de las pastas no suplementadas (0% HPDC), de modo que no se observaron diferencias

significativas en cuanto a los valores de relación de humedad en función del nivel de enriquecimiento de las pastas con HPDC. No obstante, se observaron diferencias entre las temperaturas utilizadas. El secado a altas temperaturas disminuyó el tiempo de secado, ya que después de las 5 primeras horas de secado a 45 °C, después de las 2 primeras horas de secado a 55 °C y después de la primera hora y media a 65 °C, el contenido de humedad llegó a valores de humedad de almacenamiento aceptables y menores al 12,5 %, punto en el cual empezó a disminuir el contenido de humedad a una tasa menor.

El conocimiento de la relación de la actividad del agua y el contenido de humedad de equilibrio de los alimentos es importante para predecir los cambios en sus propiedades físicas, químicas y biológicas que ocurren durante el almacenamiento y transformación (Moreira et al., 2008). Cuando la presión de vapor de la pasta iguala a la presión de vapor parcial del aire de secado el proceso de secado concluye (Rizvi, 2005). En este sentido, los porcentajes de humedad de equilibrio (He) se muestran en la Figura 5.6, todas las muestras alcanzaron valores inferiores al 8% de humedad, equivalentes a 0,09 kg agua/kg sólido seco. Mercier et al. (2014) reportaron que el tiempo requerido para reducir la humedad de 0,5 a 0,14 kg agua/kg sólido seco (bs) en pastas de 2,5 mm de diámetro con un contenido de humedad en equilibrio de 0,1 kg agua/kg sólido seco fue de 6 h a 40 °C y de una hora y media a 120 °C.

En la Figura 5.6 se observó que la adición de HPDC y la temperatura tuvieron efecto sobre el contenido de humedad de equilibrio. A una temperatura de 45 °C la humedad de equilibrio (He) alcanzada en pastas con HPDC fue significativamente menor (He 5% HPDC: 6,50%; He10% HPDC: 5,25%) comparado a las pastas no suplementadas (He 0% HPDC: 8,27%). A 55 °C se observó lo contrario, pastas con 0% HPDC alcanzaron una humedad de equilibrio mucho menor (He: 3,16%) que las pastas con 5 y 10% HPDC (6,17%; 7,70%, respectivamente). Finalmente, a 65 °C no se observaron diferencias significativas en los valores de He entre las muestras con y sin HPDC, la He alcanzada para las pastas con 0, 5 y 10% HPDC fue de 6,55; 6,56 y 6,85%, respectivamente. Estos resultados se encuentran en concordancia con lo informado por otros autores (Litchfield y Okos 1992), los cuales reportaron un contenido de humedad de equilibrio de alrededor de 8,9% en pastas secadas a 70-85 °C y 81-94% de humedad relativa y Waananen y Okos, (1996) informaron un contenido de He de 7,4-11,5% en pastas secadas a 71 °C y 100% de humedad relativa (Waananen y Okos, 1996). No obstante, Mercier et al. (2011) y Villeneuve y Gélinas (2007), obtuvieron contenidos de

humedad de equilibrio más altos (14.3-14.8%) en pastas secadas a 40 y 80 °C, ellos partieron de una humedad inicial mayor en sus pastas (48%) y trabajaron con humedades relativas de 65 y 85%.



**Figura 5.6. Humedad de equilibrio a diferentes temperaturas**

Los resultados mostraron que la incorporación de HPDC en las pastas influyó en el contenido de la humedad de equilibrio de estas y dicha He cambió con la temperatura del aire de secado. Posiblemente, a 65 °C las moléculas de agua interactuaron más fuertemente con la HPDC, al encontrarse entre la estructura de las pastas, atraparon mayor cantidad de agua no encontrándose diferencias significativamente en la migración del agua dentro de las pastas en comparación a las pastas sin HPDC. En cambio, a 45 °C la HPDC probablemente permitió la migración del agua dentro de la pasta disminuyendo su capacidad de absorción de agua, lo que resultó en una menor He en comparación a las pastas sin HPDC. Un fenómeno antagónico se observó en pastas secadas a 55 °C debido a que la HPDC pareció interferir con la migración del agua dentro de la pasta disminuyendo la deshidratación de las pastas y por consiguiente obteniendo He mayores que las pastas sin HPDC.

### 5.3.2. Modelado de pérdida de humedad de las pastas

El ajuste de los datos experimentales durante el secado de las pastas (Tablas, 5.2; 5.3; 5.4) reveló que no todos los modelos pueden explicar adecuadamente los datos obtenidos ya que los valores de  $R^2$  tuvieron una gran variabilidad según el modelo considerado (oscilaron entre 0,258 y 0,999) al igual que los valores del error cuadrático medio (RMSE) estuvieron en el rango de 0,007 a 0,264. No obstante, el modelo que

demonstró alta capacidad para describir el comportamiento de las pastas con y sin HPDC durante el secado a diferentes temperaturas fue el modelo de Midilli. Este modelo ya fue considerado por otros autores como aquel de mejor ajuste para el proceso de secado en capa fina de lonjas de pimientos (Darvishi et al., 2014) y yacón (Shi et al., 2013) entre otros. No obstante, Lopez-Mejía et al., (2019) mostraron que los modelos Henderson y Pabis y el modelo Logarítmico describieron de mejor manera la cinética de secado de pastas enriquecidas con pulpa de zapallo.

**Tabla 5.2. Parámetros y análisis estadísticos de los modelos experimentales analizados en pastas con 0% HPDC a distintas temperaturas**

0% HPDC								
Modelo	T °C	Constantes y coeficientes				R <sup>2</sup>	RMSE	
		a	k	c	n			
Henderson and Pabis	45	RH= a*EXP(-k*t)	1,0692	0,0054			0,9865	0,0374
Logarithmic		RH= a*EXP(-kt) + c	1,0765	0,0053	-0,0099		0,9869	0,0382
<b>Midilli</b>		<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>	<b>1,0191</b>	<b>0,0011</b>	<b>6,0437E-06</b>	<b>1,2978</b>	<b>0,9957</b>	<b>0,0228</b>
Wang and Singh		RH= 1 + b*t + a*t^2	1,4053E-06	-0,0027			0,8673	0,1174
Lewis		RH= EXP(-k*t)		0,0051			0,9821	0,0417
Modified page		RH= EXP(-(k*t)^n)		0,005		1,3172	0,9952	0,0224
Page		RH= EXP(-k*t^n)		0,0009		1,3172	0,9952	0,0224
Henderson and Pabis		55	RH= a*EXP(-k*t)	1,0275	0,0104			0,9869
Logarithmic	RH= a*EXP(-kt) + b		1,0248	0,0105	0,0036		0,9869	0,033
<b>Midilli</b>	<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>		<b>1,007</b>	<b>0,0026</b>	<b>6,3331E-06</b>	<b>1,2816</b>	<b>0,9923</b>	<b>0,0262</b>
Wang and Singh	RH= 1 + b*t + a*t^2		1,7156E-06	-0,0032			0,258	0,2401
Lewis	RH= EXP(-k*t)			0,0102			0,9861	0,0318
Modified page	RH= EXP(-(k*t)^n)			0,0096		1,2806	0,992	0,025
Page	RH= EXP(-k*t^n)			0,0026		1,2806	0,992	0,025
Henderson and Pabis	65		RH = a*EXP(-k*t)	1,03	0,0117			0,9837
Logarithmic		RH = a*EXP(-kt) + b	1,0264	0,0118	0,0043		0,9839	0,0362
<b>Midilli et al.</b>		<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>	<b>1,0022</b>	<b>0,0015</b>	<b>9,1736E-06</b>	<b>1,4323</b>	<b>0,9952</b>	<b>0,0205</b>
Wang and Singh		RH = 1 + b*t + a*t^2	1,7476E-06	-0,0032			0,1015	0,2614
Lewis		RH = EXP(-k*t)		0,0114			0,9829	0,0349
Modified page		RH = EXP(-(k*t)^n)		0,0104		1,4243	0,9945	0,0205
Page		RH = EXP(-k*t^n)		0,0015		1,4243	0,9945	0,0205

**Tabla 5.3. Parámetros y análisis estadísticos de los modelos experimentales analizados en pastas con 5% HPDC a distintas temperaturas**

		5% HPDC						
Modelo	T <sup>o</sup> C	Constantes y coeficientes				R <sup>2</sup>	RMSE	
		a	k	c	n			
Henderson and Pabis	RH= a*EXP(-k*t)	45	1,0703	0,0051			0,987	0,0369
Logarithmic	RH= a*EXP(-kt) + c		1,0734	0,0051	-0,0041		0,987	0,0381
<b>Midilli</b>	<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>		<b>1,023</b>	<b>0,0011</b>	<b>9,2907E-06</b>	<b>1,2743</b>	<b>0,9951</b>	<b>0,0243</b>
Wang and Singh	RH= 1 + b*t + a*t^2		1,3639E-06	-0,0027			0,8776	0,113
Lewis	RH= EXP(-k*t)			0,0048			0,9823	0,0416
Modified page	RH= EXP(-(k*t)^n)			0,0048		1,2935	0,9942	0,0247
Page	RH= EXP(-k*t^n)			0,001		1,2935	0,9942	0,0247
Henderson and Pabis	RH= a*EXP(-k*t)	55	1,0048	0,0084			0,9976	0,0138
Logarithmic	RH= a*EXP(-kt) + b		1,0056	0,0083	-0,0012		0,9976	0,0142
<b>Midilli</b>	<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>		<b>0,9973</b>	<b>0,0062</b>	<b>1,1776E-06</b>	<b>1,0562</b>	<b>0,9979</b>	<b>0,0137</b>
Wang and Singh	RH= 1 + b*t + a*t^2		1,6528E-06	-0,0031			0,4882	0,201
Lewis	RH= EXP(-k*t)			0,0083			0,9976	0,0134
Modified page	RH= EXP(-(k*t)^n)			0,0082		1,0515	0,9979	0,0128
Page	RH= EXP(-k*t^n)			0,0064		1,0515	0,9979	0,0128
Henderson and Pabis	RH= a*EXP(-k*t)	65	1,0316	0,0119			0,9827	0,0364
Logarithmic	RH= a*EXP(-kt) + b		1,0317	0,0119	-0,000034665		0,9827	0,0377
<b>Midilli</b>	<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>		<b>1,0007</b>	<b>0,0012</b>	<b>6,6238E-06</b>	<b>1,4816</b>	<b>0,9964</b>	<b>0,018</b>
Wang and Singh	RH= 1 + b*t + a*t^2		1,7632E-06	-0,0033			0,0895	0,2643
Lewis	RH= EXP(-k*t)			0,0117			0,9818	0,0362
Modified page	RH= EXP(-(k*t)^n)			0,0105		1,4753	0,996	0,0176
Page	RH= EXP(-k*t^n)			0,0012		1,4753	0,996	0,0176

**Tabla 5.4. Parámetros y análisis estadísticos de los modelos experimentales analizados en pastas con 10% HPDC a distintas temperaturas**

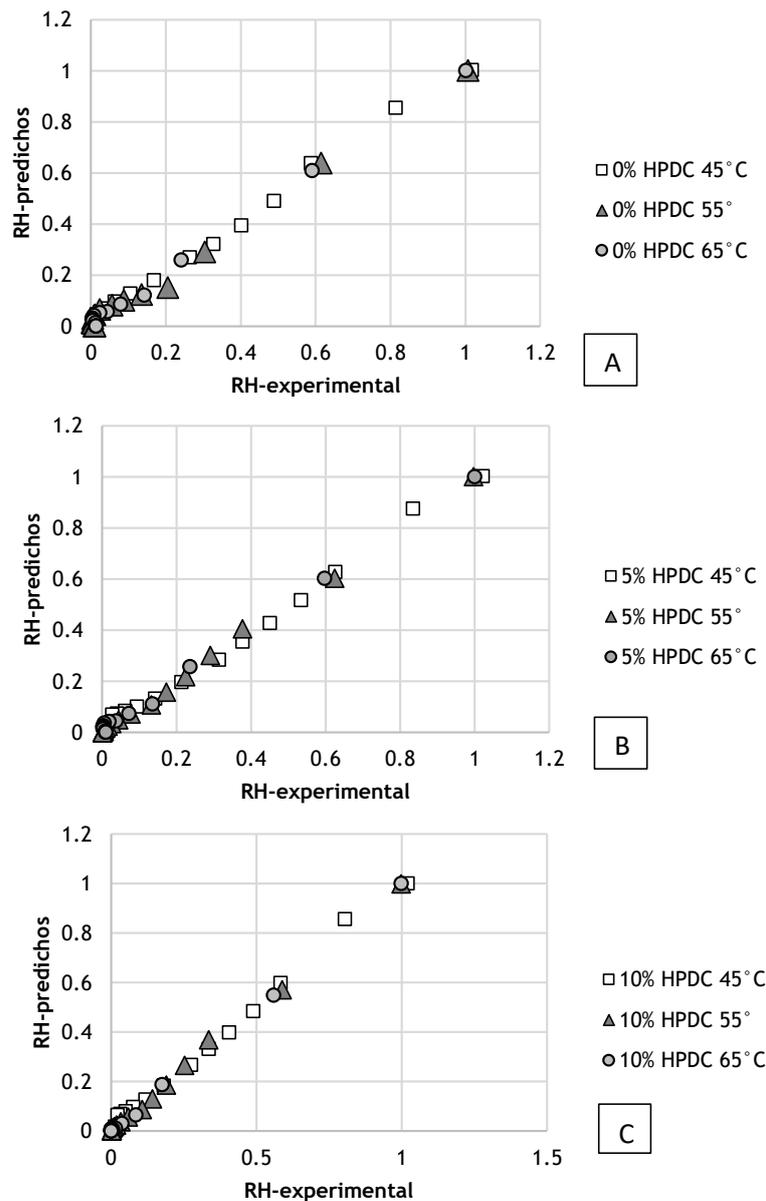
		10% HPDC						
Modelo	T °C	Constantes y coeficientes				R <sup>2</sup>	RMSE	
		a	k	c	n			
Henderson and Pabis	RH= a*EXP(-k*t)	45	1,0606	0,0054			0,9889	0,0334
Logarithmic	RH= a*EXP(-kt) + c		1,0605	0,0054	0,0001		0,9889	0,0346
<b>Midilli</b>	<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>		<b>1,0212</b>	<b>0,0015</b>	<b>0,000010402</b>	<b>1,2367</b>	<b>0,9951</b>	<b>0,0237</b>
Wang and Singh	RH= 1 + b*t + a*t^2		1,3963E-06	-0,0027			0,8489	0,1231
Lewis	RH= EXP(-k*t)			0,0051			0,9854	0,0371
Modified page	RH= EXP(-(k*t)^n)			0,005		1,2492	0,9941	0,0243
Page	RH= EXP(-k*t^n)			0,0013		1,2492	0,9941	0,0243
Henderson and Pabis	RH= a*EXP(-k*t)		55	1,0025	0,0092			0,9979
Logarithmic	RH= a*EXP(-kt) + b	1,003		0,0091	-0,0007		0,9979	0,0131
<b>Midilli</b>	<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>	<b>0,9974</b>		<b>0,0074</b>	<b>1,1201E-06</b>	<b>1,0424</b>	<b>0,9981</b>	<b>0,0129</b>
Wang and Singh	RH= 1 + b*t + a*t^2	1,6896E-06		-0,0032			0,3861	0,2167
Lewis	RH= EXP(-k*t)			0,0091			0,9979	0,0123
Modified page	RH= EXP(-(k*t)^n)			0,009		1,0382	0,9981	0,0121
Page	RH= EXP(-k*t^n)			0,0076		1,0382	0,9981	0,0121
Henderson and Pabis	RH= a*EXP(-k*t)	65			1,0292	0,014		0,9815
Logarithmic	RH= a*EXP(-kt) + b		1,0391	0,0136	-0,0111		0,9826	0,0375
<b>Midilli</b>	<b>RH= a*EXP(-k*t^n) + bt</b>		<b>0,9991</b>	<b>0,0009</b>	<b>6,9312E-07</b>	<b>1,58</b>	<b>0,9994</b>	<b>0,0075</b>
Wang and Singh	RH= 1 + b*t + a*t^2		1,8303E-06	-0,0034			-0,085	0,2865
Lewis	RH= EXP(-k*t)				0,0138		0,9807	0,037
Modified page	RH= EXP(-(k*t)^n)			0,012		1,5781	0,9994	0,007
Page	RH= EXP(-k*t^n)			0,0009		1,5781	0,9994	0,007

Para una mejor visualización se agruparon a los parámetros y los estadísticos vinculados al modelo de mejor ajuste (Midilli) detallados en la Tabla 5.5. Según Misra y Brooker (1980), la temperatura del aire de secado y la velocidad del aire, son las variables que afectan significativamente el parámetro “k” en la ecuación de secado en capa fina y que el parámetro “n” en la ecuación se comporta en función de la humedad relativa del aire, del contenido de humedad inicial del producto, de la naturaleza del producto y de las condiciones de secado, evidenciando la resistencia interna del producto al proceso de secado.

**Tabla 5.5. Constantes calculadas en el modelo de Midilli**

Midilli	Constantes y coeficientes					R <sup>2</sup>	RMSE
	MR= a*EXP(-k*t^n) + bt	T °C	a	k	c		
0% HPDC	45	1,0191	0,0011	6,0437E-06	1,2978	0,9957	0,0228
	55	1,007	0,0026	6,3331E-06	1,2816	0,9923	0,0262
	65	1,0022	0,0015	9,1736E-06	1,4323	0,9952	0,0205
	T °C	a	k	c	n	R <sup>2</sup>	RMSE
5% HPDC	45	1,023	0,0011	9,2907E-06	1,2743	0,9951	0,0243
	55	0,9973	0,0062	1,1776E-06	1,0562	0,9979	0,0137
	65	1,0007	0,0012	6,6238E-06	1,4816	0,9964	0,018
	T °C	a	k	c	n	R <sup>2</sup>	RMSE
10% HPDC	45	1,0212	0,0015	0,000010402	1,2367	0,9951	0,0237
	55	0,9974	0,0074	1,1201E-06	1,0424	0,9981	0,0129
	65	0,9991	0,0009	6,9312E-07	1,58	0,9994	0,0075

A razón de la elección del mejor ajuste matemático, se compararon las relaciones de humedad (RH) experimentales con las relaciones de humedad predichas por el modelo de Midilli. En la Figura 5.7 se muestra la justificación de la elección del modelo en cada una de las muestras (0, 5 y 10% HPDC) a tres temperaturas de secado. El modelo seleccionado demostró alta capacidad para la descripción de las características del secado de pastas a diferentes temperaturas ya que de acuerdo con la Figura 5.7 se observan los valores de RH que están agrupados a lo largo de la línea recta en las distintas muestras.



**Figura 5.7. Comparación de la relación de humedad experimental vs relación de humedad predicha por Midilli et al. (2002), A: Pastas con 0% HPDC, B: Pastas con 5% HPDC, C: Pastas con 10% HPDC**

### 5.3.3. Velocidad de secado

Con los resultados experimentales de humedad y tiempo fue posible estimar la velocidad de secado ( $V_s$ ). El análisis de los resultados mostró dos etapas: 1) un brusco incremento de la velocidad al inicio (primeras dos horas del secado) y 2) posterior disminución paulatina de la humedad (Figura 5.8). Esta variación en la velocidad se debe a que el contenido de humedad inicialmente fue alto ( $35\% \pm 3$  en la mayoría de las muestras), de este modo la superficie de la pasta al permanecer saturada de agua

en la primera etapa existe mayor evaporación de esta acelerando la velocidad de deshidratación y la superficie de la pasta se evaporó cada vez más a medida que avanzó el tiempo de secado. En cambio, al finalizar este periodo, la transferencia del agua desde el interior fue cada vez más lenta que la vaporización del agua hacia el aire es por eso por lo que la velocidad disminuyó hasta llegar a la humedad de equilibrio (Brennan et al., 1998). De igual forma, se observó que, en todas las condiciones evaluadas, la velocidad de secado estuvo gobernada por la temperatura, siendo mayor a temperaturas del aire mas elevadas.

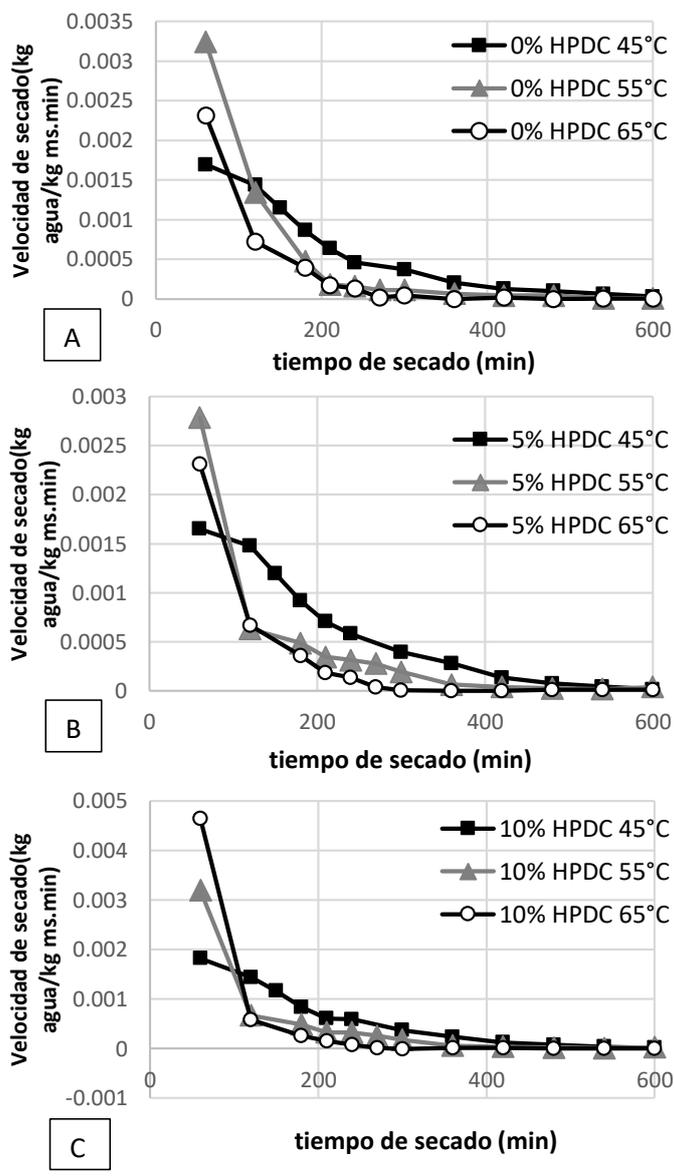
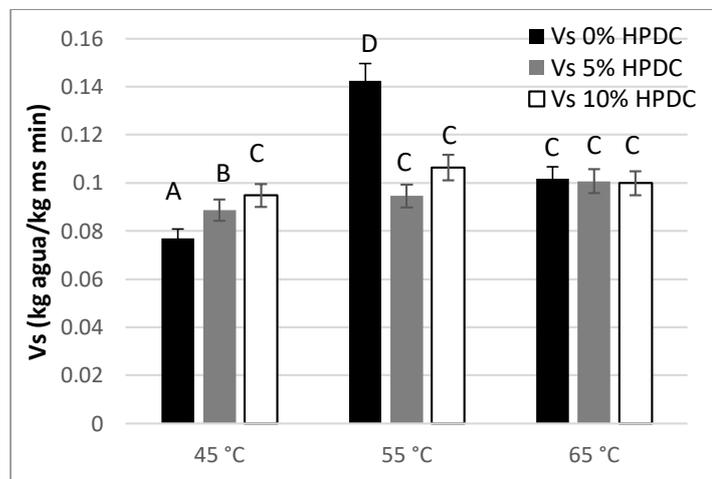


Figura 5.8. Impacto de la temperatura frente a la velocidad de secado experimental en función del tiempo A: 0% HPDC, B: 5% HPDC, C: 10% HPDC

Ogawa y Adachi (2017) obtuvieron que la velocidad de secado de las pastas fue constante a altos contenidos de humedad durante la etapa inicial de secado y la

velocidad de secado luego decreció con la posterior disminución del contenido de humedad. Los autores observaron un comportamiento similar en todas las condiciones de temperatura (30 a 90 °C) y de humedad relativa (0% a 80%). En las pastas ocurre una transformación de un estado gomoso a un estado vítreo con una disminución en el contenido de humedad durante el secado (Xing et al., 2007) caso similar a lo que se observa en el secado de trigo (Cuq et al., 2001), almidón (Liu et al., 2009), tomates (Goula et al., 2008) y frutillas (Moraga et al., 2004).

Para una mejor comprensión y para poder observar de mejor manera la influencia de la incorporación de HPDC en las pastas, se graficaron las velocidades de secado en el punto más alto de cada una de las muestras (Figura 5.9).



**Figura 5.9. Influencia de la incorporación de HPDC sobre la velocidad de secado en el punto más alto de cada una de las muestras**

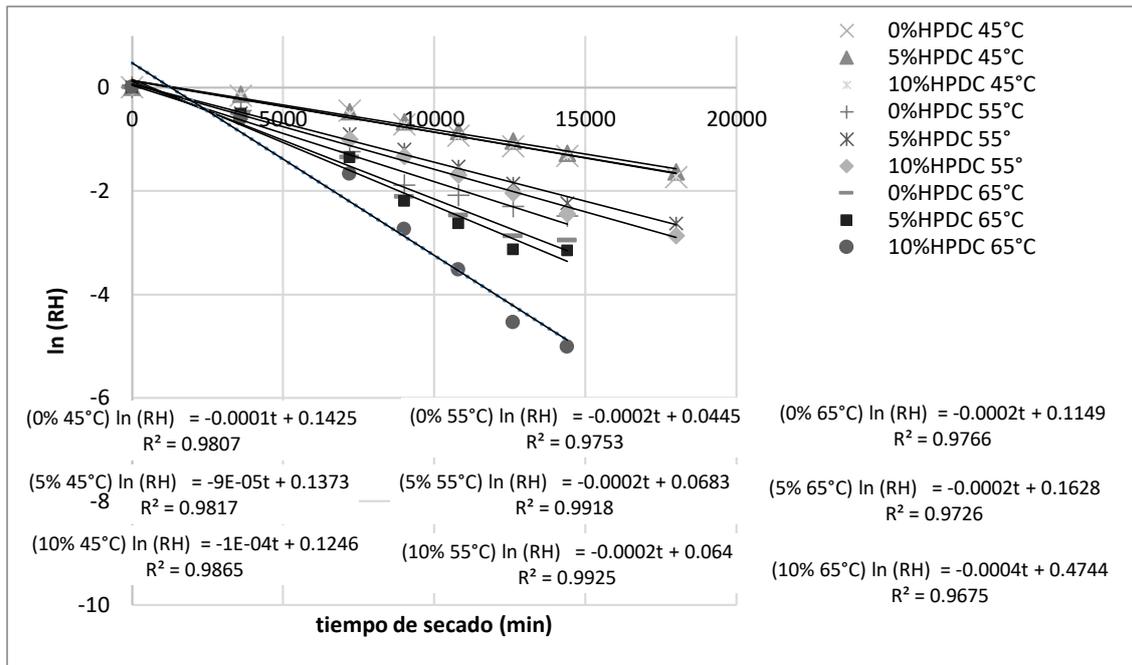
Se puede observar que, la temperatura, a las 2 primeras horas del secado, no jugó un rol tan importante en las pastas con HPDC como se observaba en la Figura 5.8. Solamente se observó un efecto de la incorporación de HPDC en el secado a 45 °C, las pastas suplementadas presentaron Vs mayores a las pastas control permitiendo la liberación del agua retenida y aumentando la liberación de la humedad en el interior de las pastas. No obstante, la HPDC, durante el secado a 65 °C, no afectó significativamente la velocidad de deshidratación en comparación a las pastas control (0%HPDC). En etapas tempranas de secado si la velocidad al inicio del secado es alta, las capas externas de las piezas de pasta se tornan rígidas, la HPDC al absorber agua del medio, es posible que esta se encuentre encapsulada/ligada/atrapada, estando

menos disponible en el sistema y sea más difícil de evaporar, es por eso no sea factible que al incrementar la temperatura a 55 y 65 °C la incorporación de HPDC tenga un efecto distinto a la pasta control. Por el contrario, en pastas sin HPDC fue necesario una temperatura de 55 °C para alcanzar velocidades de deshidratación máximas.

Es notable y esperable que al aumentar la temperatura del aire se incremente la velocidad de secado ( $V_s$ ) y se reduzcan los tiempos de tratamiento como ocurrió en pastas con HPDC aunque sin diferencias. No obstante, el comportamiento de las pastas sin HPDC fue diferente, obteniendo mejores velocidades de secado a 55 °C. Villeneuve et al. (2007) demostraron que el comportamiento del secado de las pastas de grano de trigo entero depende de la temperatura y la humedad relativa en la cámara de secado. De modo que, a temperaturas de secado y humedades relativas (HR) altas (80 °C y 85%, respectivamente), el salvado de trigo aumentó su capacidad de absorción de agua, disminuyendo la deshidratación de la pasta y a temperaturas y HR bajas (40 °C y 65%, respectivamente) el salvado de trigo se comportó de manera opuesta, disminuyendo su capacidad de absorción de agua dando como resultado una deshidratación más rápida de la pasta. No obstante, Ogawa y Adachi (2017) informaron los efectos de la temperatura y la humedad relativa sobre la velocidad de secado durante un período de velocidad constante, junto con el coeficiente de transferencia de masa total durante un período de velocidad decreciente, para pastas de sémola de trigo duro mediante termogravimetría, y demostraron que los parámetros que determinan las características de secado se ven afectados principalmente por la temperatura en lugar de la humedad relativa del aire.

#### **5.3.4. Coeficiente de difusividad efectivo ( $Deff$ )**

El coeficiente de difusividad efectiva de humedad es el parámetro más usado para describir la transferencia de humedad y validar los modelos predictivos en los procesos de secado de los alimentos (Srikiatden y Roberts, 2007). Es por esto por lo que se calculó el coeficiente de difusividad efectivo ( $Deff$ ) para cada muestra frente a las distintas temperaturas evaluadas. Para ello se aplicó la ecuación integrada de la segunda ley de Fick (Ec. 19) para el caso de una lámina fina y considerando largos periodos de tiempo de secado.



**Figura 5.10. Variación de  $\ln(RH)$  vs tiempo de secado**

El coeficiente de difusividad efectivo ( $Deff$ ) promedio se determinó tomando la media aritmética de las  $Deff$  que se estimaron a varios niveles del contenido de humedad durante el proceso de secado. La pendiente de la línea recta resultante de graficar el logaritmo natural ( $\ln$ ) de la relación de humedad ( $RH$ ) en función del tiempo de secado representa la  $Deff$  de cada una de las muestras a diferentes temperaturas. Los ajustes de los valores de la pérdida de humedad a una cinética de primer orden dieron como resultado las pendientes que se muestran en la Figura 5.10, donde se observa que, a 55 y 65 °C la constante cinética de pérdida de humedad de las pastas es mayor.

Los primeros 9 valores de la cinética de pérdida de humedad fueron calculados en función a la ecuación de Crank para una capa fina. En la Tabla 5.3 se observó que los coeficientes de difusividad efectiva de las muestras secadas a 55 °C y 65 °C fueron mayores que los obtenidos a 45 °C. Se constató una clara dependencia del coeficiente de difusión de humedad efectiva con la temperatura de secado debido a que los valores de la  $Deff$  aumentaron significativamente cuando la temperatura de secado fue mayor. El incremento de la temperatura contribuyó a una mayor difusión del agua favoreciendo el proceso de secado. Los resultados de Litchfield y Okos (1992) y da Silva et al. (2010) mostraron la misma tendencia.

Los valores del coeficiente de difusividad encontrados en esta sección ( $10^{-8}$ - $10^{-9}$ ) fueron más bajos comparados con los valores de difusividad encontrados en pastas por otros autores  $3,5 \times 10^{-11}$  m<sup>2</sup>/s (Larrosa et al., 2016) y  $5,2 \times 10^{-10}$  -  $2,6 \times 10^{-11}$  m<sup>2</sup>/s (Mercier et al., 2014). No obstante, los resultados se encontraron dentro del rango observado de  $10^{-12}$  a  $10^{-8}$  para materiales biológicos (Darvishi et al., 2014; Vega y Lemus 2006; Vega Gálvez et al., 2007; Ocampo 2006). Las diferencias en la humedad relativa y las temperaturas en los procesos de secado pueden influir en los coeficientes de difusividad efectiva de las muestras.

**Tabla 5.3. Difusividad efectiva de las distintas muestras**

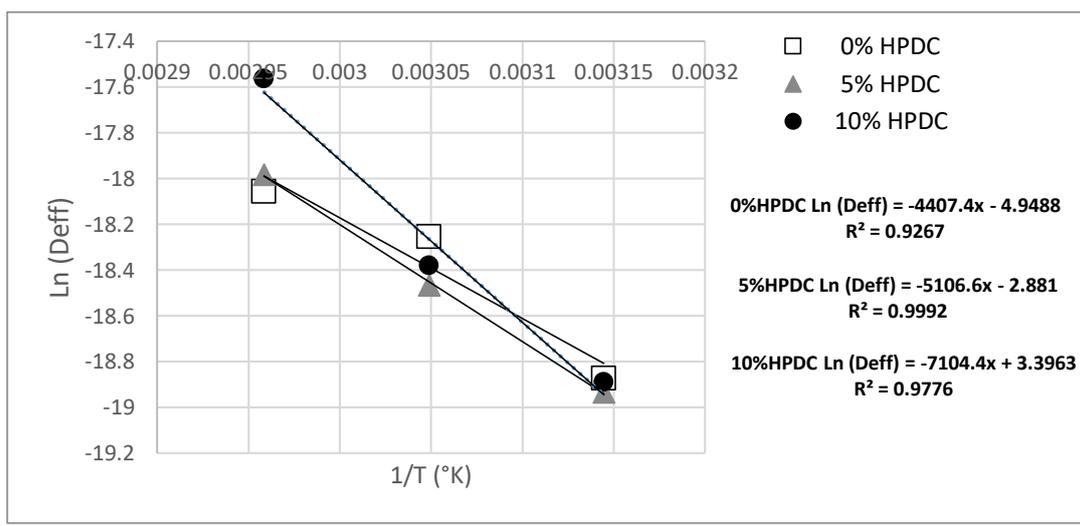
Muestras	Temperatura °C	Deff (m <sup>2</sup> /s)	R <sup>2</sup>
0%HPDC	45	6,361E-09	0,98
5%HPDC		6,263E-09	0,98
10%HPDC		5,998E-09	0,98
0%HPDC	55	1,183E-08	0,97
5%HPDC		1,000E-08	0,99
10%HPDC		1,043E-08	0,99
0%HPDC	65	1,439E-08	0,94
5%HPDC		1,552E-08	0,93
10%HPDC		2,357E-08	0,93

Analizando a las muestras independientemente de la temperatura se pudo observar que los valores de los coeficientes de Deff no se correlacionaron con lo analizado en la velocidad de secado de las pastas en el punto más alto, de modo que los valores de Deff a 45 °C disminuyeron a medida que el contenido de HPDC en la pasta fue mayor debido a su capacidad de retención de agua. No obstante, el comportamiento de la HPDC fue antagónico a lo observado a 45 °C al incrementar la temperatura de secado (55 y 65 °C), las altas temperaturas provocaron una disminución de la capacidad de retención de agua de la HPDC permitiendo la liberación del agua retenida y aumentando la difusión de la humedad en el interior de las pastas.

### 5.3.5. Energía de activación (Ea)

Al representar gráficamente  $\ln(D_{eff})$  vs la inversa de la temperatura  $1/T$  (°K) se obtuvo una línea recta que representa la energía de activación (Ea) del coeficiente de difusividad de humedad efectivo para cada muestra en función a las tres temperaturas (Figura 4.11). La energía de activación para las pastas no suplementadas (0%HPDC) fue de 36,64 kJ/mol con un ajuste de R<sup>2</sup>: 0,92, para pastas con 5% HPDC fue

de 42,45 kJ/mol con un ajuste de  $R^2$ : 0,99 y para pastas con 10% HPDC fue de 59,06 kJ/mol con un ajuste de  $R^2$ : 0,97. Pese a que en los coeficientes de  $De_{eff}$  no se observaron diferencias significativas entre las muestras con y sin HPDC sino unicamente se observaron diferencias por la influencia de la temperatura, en este parámetro ( $E_a$ ) se observó que para pastas con el agregado de HPDC se requirió mayor energía para eliminar el agua de las mismas para un proceso típico de secado a 45, 55 y 65 °C. Otros autores informaron energías de activación en un rango de 18-33 kJ/mol en pastas de trigo duro (Andrieu y Stamatopoulos, 1986; Litchfield y Okos, 1992 ; Waananen y Okos, 1996) y en pastas japonesas (Inazu e Iwasaki, 1999, 2000; Inazu et al., 2002).



**Figura 5.11. Análisis de regresión lineal para Ln (Deff) en función de la inversa de la temperatura absoluta (1/T) °K**

**5.3.6. Análisis textural de imágenes por Matriz de Co-ocurrencia en Escala de Grises (GLCM)**

Las técnicas de procesamiento de imágenes permiten determinar cuantitativamente las características físicas (tamaño y morfología) y propiedades de textura (rugosidad, homogeneidad, uniformidad) de imágenes digitales. La determinación de la textura a través de una imagen es una característica que está representada por el arreglo espacial en niveles de grises de los píxeles de la imagen de interés. De modo que, los píxeles de las imágenes podrían presentar texturas diferentes teniendo una misma distribución de intensidades de los niveles de grises (50 % blancos y 50 % negros).

El efecto de la incorporación de HPDC y de la temperatura en el secado de pastas sobre la microestructura de la superficie y la estructura interna de las mismas se evaluó mediante el análisis textural de imágenes obtenidas por microscopía confocal. Se calcularon diversos parámetros texturales (energía (ASM), homogeneidad (IDM), entropía (ENT) y dimensión fractal (DF) que permitieron caracterizar los cambios en las pastas durante el secado en términos de textura (Tabla 5.4). Las pastas con HPDC secadas a 45 °C mostraron una superficie significativamente más compleja y menos homogénea en comparación a la superficie de la pasta control. Por otro lado, la superficie de pastas suplementadas (5 y 10% HPDC) secadas a 55 y 65 °C no mostraron diferencias significativas en comparación a las muestras control (0% HPDC). Analizando las muestras individualmente, el incremento de la temperatura modificó la textura superficial de cada una de las pastas volviéndolas menos complejas.

En la superficie de las pastas suplementadas (5 y 10% HPDC secadas a 45 °C) se observaron valores de homogeneidad menores que las pastas control. Las imágenes obtenidas por microscopía confocal (Figura 5.12) mostraron una pequeña dilución del gluten observándose una distribución de gránulos de almidón inmersos en la red de proteínas levemente interrumpida. No obstante, estas diferencias no se observaron en pastas con HPDC secadas a 55 y 65 °C comparado a la muestra control. Durante el desarrollo del secado, la superficie de las pastas se vio afectada por acción de temperaturas mayores a 45 °C, la uniformidad de la superficie de estas disminuyó de forma significativa ( $p < 0,05$ ) asociando este cambio a la transferencia de materia, por la evaporación del agua, produciendo la modificación de la textura superficial siendo más compacta y a la vez más compleja.

**Tabla 5.4. Parámetros texturales de superficies y de la estructura interna de pastas secadas a distintas temperaturas**

	Estructura interna (CT)				Superficie					
	ASM	IDM	ENT	DF	ASM	IDM	ENT	DF		
45 °C	0%	0,44 a	0,91 a	0,98 a	1,81 a	0%	0,60 a	0,95 a	0,73 a	1,82 a
	5%	0,45 a	0,91 a	0,96 a	1,85 b	45 °C 5%	0,50 b	0,94 b	0,86 b	1,84 b
	10%	0,42 a	0,90 b	1,02 b	1,88 b	10%	0,54 b	0,94 b	0,82 b	1,85 c
55 °C	0%	0,39 a	0,87 a	1,07 a	1,84 a	0%	0,51 a	0,94 a	0,85 a	1,82 a
	5%	0,42 b	0,90 b	1,01 b	1,8 b	55 °C 5%	0,53 a	0,94 a	0,83 a	1,82 a
	10%	0,43 b	0,90 b	1,00 b	1,78 b	10%	0,50 a	0,93 a	0,87 a	1,84 b
65 °C	0%	0,43 a	0,91 a	0,98 a	1,73 a	0%	0,56 a	0,94 a	0,79 a	1,88 a
	5%	0,43 a	0,91 a	0,99 a	1,77 b	65 °C 5%	0,58 a	0,94 a	0,76 a	1,87 a
	10%	0,42 a	0,90 a	1,01 a	1,77 b	10%	0,55 a	0,93 a	0,81 a	1,91 b

Energía (ASM), homogeneidad (IDM), entropía (ENT) y dimensión fractal (DF), Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

Como se mencionó anteriormente, la dimensión fractal describe cuantitativamente la morfología de materiales con estructuras complejas e irregulares (Perez-Nieto et al., 2010). Las pastas con HPDC secadas a 45, 55 y 65 °C presentaron superficies con valores de DF mayores que los valores encontrados en pastas control. Esto implica que la textura superficial de pastas con HPDC tiende a ser más rugosas, con mayor desorden y mayor deformación superficial.

Analizando el efecto de la temperatura en cada muestra por separado se pudo observar que a 65 °C existió un incremento de la DF en todas las muestras comparadas con los valores obtenidos a 45 y 55 °C, las pastas secadas a 65 °C presentaron un arreglo geométrico de los gránulos de almidón inmersos en una red proteica más compleja y de mayor rugosidad morfológica a consecuencia del secado a mayor temperatura.

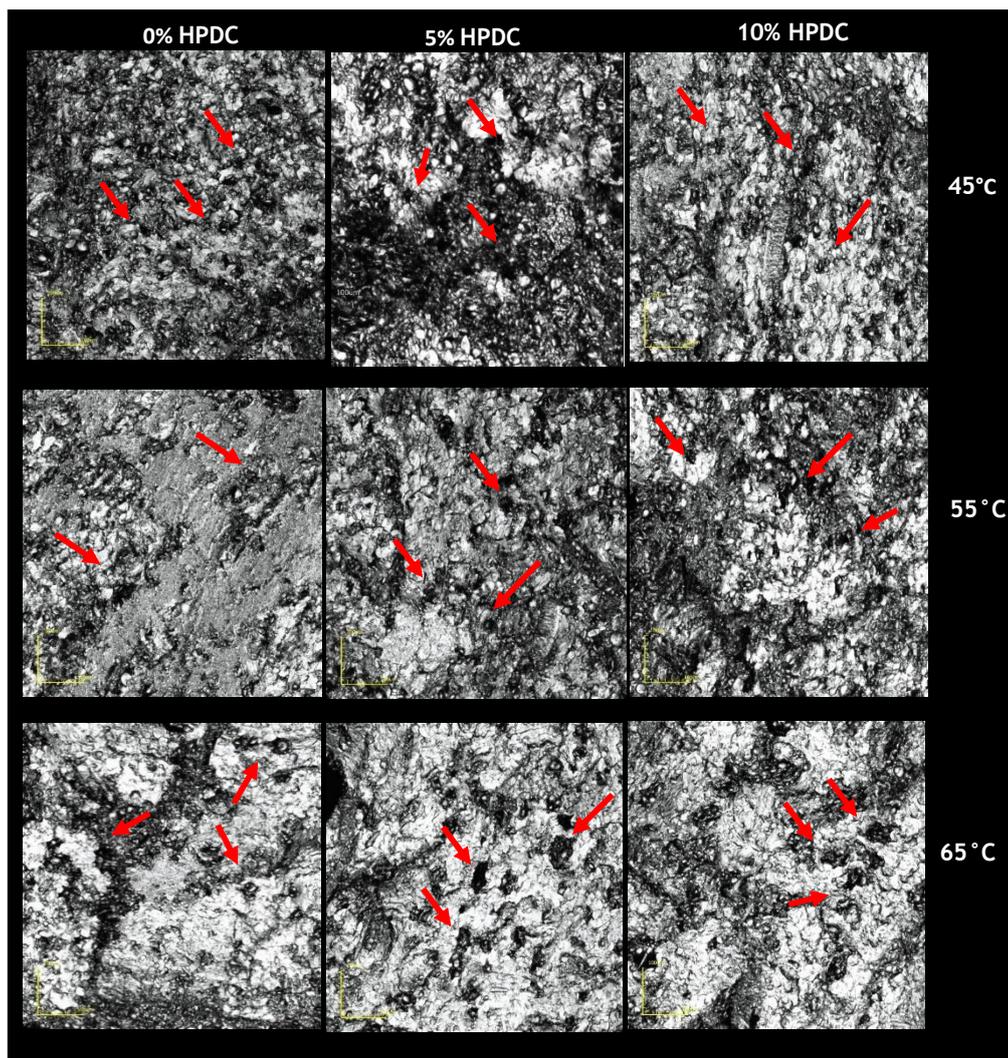
La incorporación de un 10% de HPDC a pastas durante el secado a 45 °C mostró una estructura interna (Tabla 5.4-CT) significativamente más compleja (1,02) y menos homogénea (0,89) en comparación a las estructuras internas que se observaron en pastas control (0,98 y 0,91) y en pastas con 5% HPDC (0,96 y 0,91). Por otro lado, la incorporación de HPDC no afectó significativamente la estructura interna de las pastas secadas a 65 °C; no obstante, se observó que la estructura interna de pastas suplementadas secadas a 55 °C fue significativamente más homogénea, menos compleja y más uniforme en comparación a la pasta control.

En cuanto a los valores obtenidos de DF en el interior de las pastas, se observó la misma tendencia que en el análisis realizado sobre la superficie de las pastas con HPDC secadas a 45 y 65 °C, su incorporación hizo que las estructuras internas sean más tortuosas e irregulares en comparación a pastas control. No obstante, el secado a 65 °C disminuyó los valores de DF y las estructuras internas de cada muestra independiente a altas temperaturas fueron menos tortuosas. Otros autores demostraron que el secado a altas temperaturas (60-100) °C vuelve a la red de proteínas más continua y densa (Mercier et al., 2011). Zweifel et al. (2003) afirmaron que la continuidad de la red de proteína de trigo no se pierde durante el secado a altas temperaturas, sin embargo, ellos mencionaron que el volumen de la red de gluten de la pasta secada a altas temperaturas en contraste con la pasta secada a bajas temperaturas viene dado por un ligero hinchamiento de la fase dispersa (gránulos de almidón) y por la desnaturalización de las proteínas del gluten que implica una contracción de la red.

### 5.3.7. Análisis de la microestructura de las pastas secadas a distintas temperaturas

La determinación de la microestructura se investigó mediante microscopía de láser confocal. Esta técnica microscópica realiza las observaciones mediante un detector de electrones secundarios y no requiere preparación de la muestra, entonces, este análisis microestructural de la superficie (S) y de la estructura interna (CT) de las pastas pudo realizarse sin los efectos derivados del recubrimiento con oro como en la técnica de SEM.

Las imágenes representan las proyecciones de todas las hebras de secciones ópticas de la superficie y de secciones transversales de las pastas secadas a 45, 55 y 65 °C. La Figura 5.12 muestra las microfotografías de la estructura interna de las pastas secadas en diferentes condiciones. A nivel general, se observó en cada una de las microfotografías una estructura abierta y porosa con la presencia de espacios vacíos, indicando evaporación, transporte de agua por capilaridad y reemplazo de esta por aire durante el secado. Estos poros (flechas que identifican los poros-Figura 5.12) aparentan ser de mayor tamaño a medida que la temperatura de secado fue aumentando, esto puede haberse dado debido a que las altas temperaturas podrían provocar un aumento de la presión de vapor de agua dando como resultado una mayor transferencia de masa y crecimiento de estos durante el secado de las pastas. No obstante, en el caso del secado a 55 °C de la pasta control, la estructura interna no parece ser tan porosa sino más bien una estructura lisa, compacta con poros irregulares y casi imperceptibles. Según Thorvaldsson et al (1999) es razonable suponer que el secado a altas temperaturas produce un ligero hinchamiento de la fase dispersa (gránulos de almidón), y una desnaturalización de las proteínas del gluten que implica una contracción de la red. Las microfotografías de las pastas secadas a 65 °C se ven más luminosas demostrando la presencia de una red de proteínas más densa y firme.



**Figura 5.12. Microfotografías de la estructura interna de las pastas secadas a 45, 55 y 65 °C a una magnificación de 428x. Las flechas indican los poros producidos por la evaporación del agua**

La Figura 5.13 muestra las microfotografías de la superficie de las pastas secadas a las tres temperaturas. En ellas en la superficie de las pastas en general, se pueden reconocer claramente gránulos de almidón los cuales se encuentran completamente embebidos por una red proteica densa y continua. No obstante, las diferencias entre las distintas temperaturas observadas a simple vista son muy sutiles. Presumiblemente, en las pastas secadas a bajas temperaturas (45 °C), los gránulos de almidón parecen ser más redondos debido a una menor deshidratación a esa temperatura. En contraste, en las pastas secadas a mayores temperaturas (55 y 65 °C), la fase continua de proteínas aparenta rodear gránulos de almidón ligeramente achatados y largos debido a la mayor deshidratación. Thorvaldsson et al. (1999) y

Zweifel et al. (2003) justificaron la morfología alargada de los gránulos de almidón presentes en pastas secadas a altas temperaturas a que el tratamiento térmico induciría un ligero hinchamiento de los gránulos de almidón y, por lo tanto, una interrupción de la capa de proteína superficial. Villeneuve et al. (2007) mencionaron que, durante el secado a bajas temperaturas la estructura de la pasta está dada principalmente por almidón gelatinizado, en comparación a lo que ocurre en el secado a altas temperaturas donde la estructura de la pasta está gobernada por una red de proteínas coaguladas.

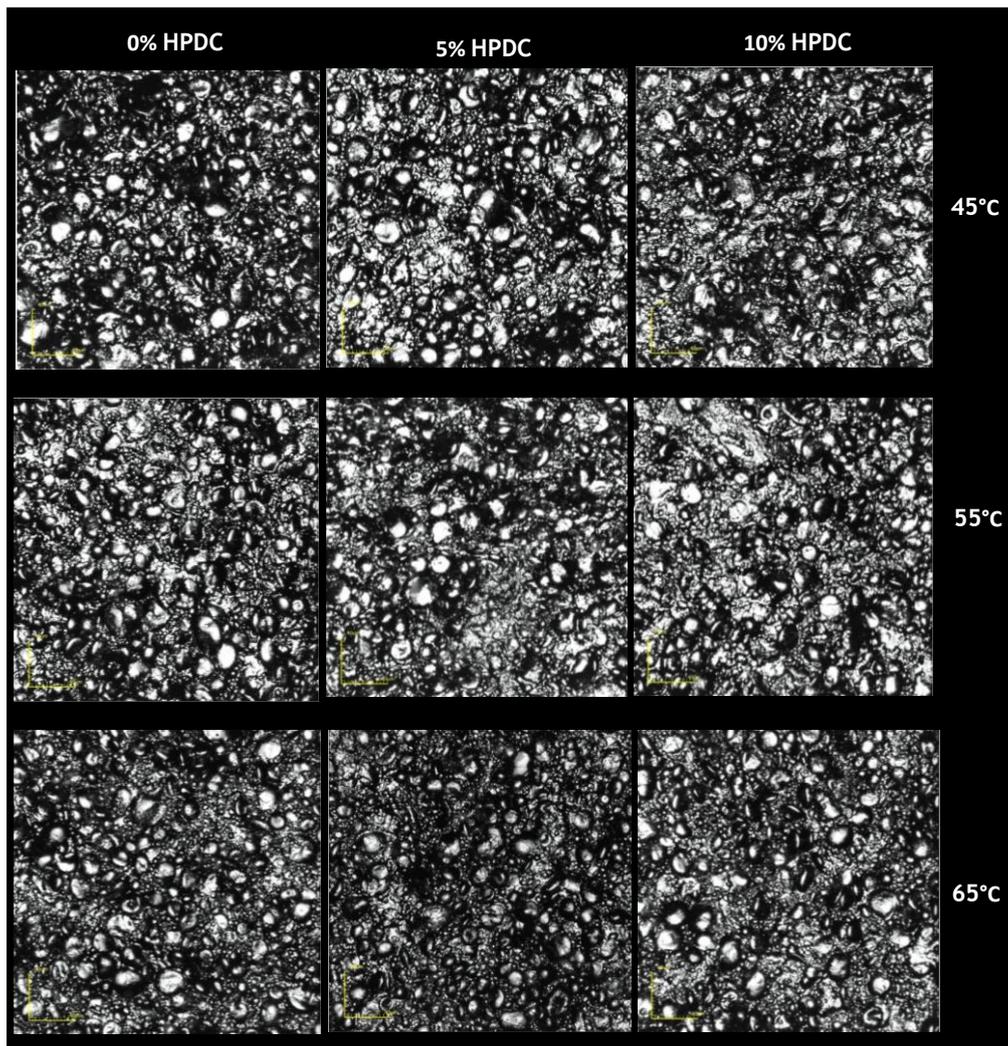


Figura 5.13. Microfotografías de la estructura superficial de las pastas secadas a 45, 55 y 65 °C a una magnificación igual a 1070x

### 5.3.8. Fracturabilidad de las pastas secas

Se conoce que las pastas secas deben ser lo suficientemente fuertes para soportar el transporte y traslado en góndola y llegar al consumidor en perfectas condiciones. La cantidad y calidad de las proteínas que componen el gluten, el contenido de agua, el grado de hinchamiento de los gránulos de almidón y la temperatura de secado son factores de gran importancia en la determinación de la textura final “al dente” de las pastas (Zweifel et al., 2003; Kovacs et al., 2004; Cubadda et al., 2007). La dureza de la pasta seca puede estar influenciada además por variaciones en sus ingredientes, como también por el contenido de humedad de estas. En la Figura 5.14 se muestran los resultados obtenidos del esfuerzo de quiebre como medida de la fracturabilidad de las pastas secadas a distintas temperaturas. Se observó que la incorporación de HPDC debilitó la estructura interna de las pastas secadas a 45 y 55 °C, a su vez las pastas con HPDC se vieron beneficiadas por el secado a altas temperaturas (65 °C) y mostraron más resistentes a la fuerza de quiebre que las pastas control.

La pasta control secada a 55 °C fue la muestra que presentó mayores valores de fuerza de quiebre, lo que indica que fue la muestra más resistente en comparación a las demás muestras, no obstante, no se encontraron diferencias significativas en comparación a los valores encontrados en la pasta control (45 °C) y en las pastas con 5 y 10 % HPDC (65 °C). La escasa porosidad (menor cantidad de poros) de la pasta (0%HPDC) observada en la micrografía de la Figura 5.12, se refleja a que una temperatura de 55 °C provocó que la pasta control forme una matriz de proteínas más consolidada, compacta y densa. Las bajas temperaturas de 45 °C provocaron una evaporación lenta y escaso transporte del agua del interior hacia afuera dando como resultado una estructura con poros más pequeños (Figura 5.12). El secado a temperaturas mayores (65 °C) provocó mayor presión por evaporación del agua interna dando como resultado muestras con una porosidad interna más elevada.

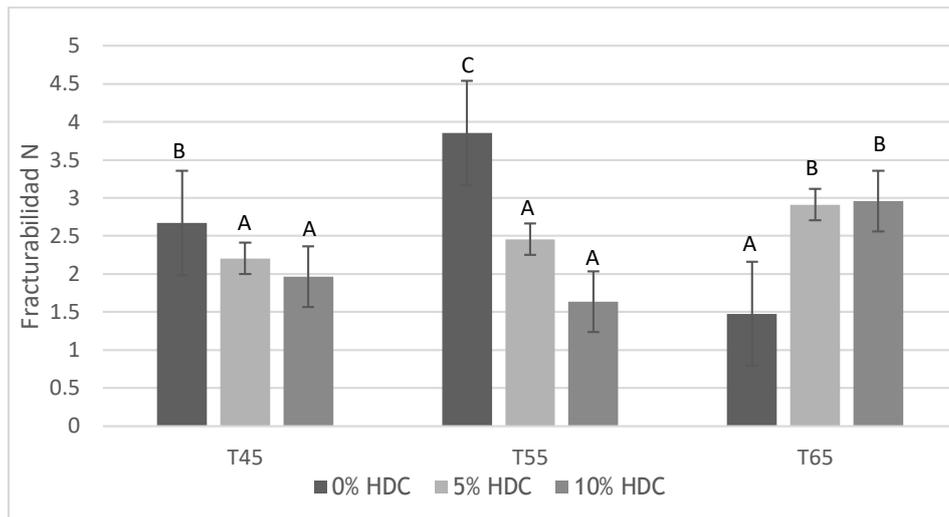


Figura 5.14. Fracturabilidad de pastas secadas a 45, 55 y 65 °C

#### 5.4. Conclusiones

El modelo matemático de Midilli presentó el mejor ajuste a los datos experimentales por lo que se pudo describir el proceso de secado. La cinética de secado de las pastas evaluada a distintas temperaturas confirmó que a mayor temperatura ocurre una mayor transferencia de calor desde la superficie de la pasta hacia el interior acelerando la evaporización de la humedad interna de las pastas. A su vez, se constató que la incorporación de HPDC modificó la cinética de secado (dependiendo de la temperatura del aire) de modo que a temperaturas altas la HPDC atrapa mayor cantidad de agua interfiriendo su migración dentro de la pasta; en cambio, a 45 °C la HPDC permitió la migración del agua dentro de la pasta disminuyendo su capacidad de absorción.

La velocidad de secado y los coeficientes de difusividad de humedad efectiva en las pastas con HPDC, estuvieron gobernadas por las temperaturas de 55 y 65 °C. Al incrementar la temperatura se incrementaron ambos parámetros. Sin embargo, las pastas sin HPDC obtuvieron mejores velocidades de secado a 55 °C. A su vez, pastas con el agregado de 5 y 10% HPDC requirieron mayor energía (42,45 y 59,06 kJ/mol) para eliminar el agua de su interior para un proceso típico de secado en comparación a las pastas control (36,64 kJ/mol). Al hallar dependencia de la  $Deff$  con la temperatura, permite calcular el tiempo de secado a una temperatura dada.

El análisis de imágenes mostró una buena correlación con la pérdida de humedad de las pastas, corroborando una vez más que tanto la temperatura como la

incorporación de HPDC tuvieron gran influencia en la estructura interna del producto final, lo que ayudó a demostrar que la textura superficial de pastas con HPDC tiende a ser más rugosa, con mayor desorden y deformación superficial que las pastas sin HPDC.

Se pudo observar que pastas secadas a temperaturas más altas, parecen presentar mayor porosidad interna (poros de mayor tamaño) mientras que los poros observados en las pastas secadas a menores temperaturas parecen ser de menor tamaño. La incorporación de HPDC debilitó la estructura interna de las pastas secadas a bajas temperaturas, a su vez éstas mejoran sus propiedades de resistencia y microestructura cuando son secadas a 65°C y las pastas no suplementadas presentan mejores propiedades de resistencia observándose más compactas y densas cuando son secadas a 55°C.

## **6. EFECTO DE INCORPORACIÓN DE HPDC EN LA CALIDAD TECNOLÓGICA, NUTRICIONAL, FUNCIONAL Y SENSORIAL DE MUFFINS**

---

## 6. EFECTO DE INCORPORACIÓN DE HPDC EN LA CALIDAD TECNOLÓGICA, NUTRICIONAL, FUNCIONAL Y SENSORIAL DE MUFFINS

### 6.1. Introducción

La popularidad de los productos horneados como el pan, los muffins, las galletitas y bizcochuelos ha aumentado significativamente. Los productos de panadería tienen buena aceptación entre los consumidores, por lo tanto, pueden considerarse vehículos aceptables para la suplementación de nutrientes y el desarrollo funcional de productos alimenticios. Los muffins son productos muy cotizados por su naturaleza (listos para consumir) especialmente preferidos por los niños principalmente por su sabor dulce y textura suave, además, son populares como desayuno o merienda y están disponibles en diferentes variedades y su costo es asequible (Matos et al., 2014).

Los muffins se originan en Inglaterra a partir del año 1703. Su nombre deriva de la palabra original *moofin*, cuyo origen puede deberse a una adaptación de la palabra francesa *moufflet* (pan suave) (Lezcano, 2008). A partir de la década de 1950 se comenzaron a comercializar distintos paquetes de *muffins*, tanto en Inglaterra como en Estados Unidos en cafeterías y pastelerías.

Los muffins son leudados químicamente, poseen una corteza delgada, la parte superior simétrica, con un contorno con forma de hongo champiñón. Los alveolos de la miga son redondos y de tamaño mediano, y las paredes de las celdas muy delgadas. Son ligeros y de miga suave. Son dulces, con alto contenido calórico y altamente apreciados por los consumidores debido a su buen sabor y textura suave (Martínez-Cervera et al., 2012).

El batido de los muffins es una emulsión compleja de distintos ingredientes que interactúan entre sí como la fase continua (grasa-agua-huevo-azúcar-polvo de hornear) y burbujas de dióxido de carbono como la fase discontinua en la que se dispersan las partículas de harina. Otros ingredientes comúnmente utilizados son emulsionantes, conservantes y leche en polvo. Los muffins se caracterizan por una estructura porosa típica de gran volumen que confieren una textura esponjosa donde se requiere un batido estable que aloje muchas pequeñas burbujas de aire, las mismas que se producen durante el batido (Martínez-Cervera et al., 2012). Después de la mezcla de todos los ingredientes y la formación de una emulsión, durante el horneado, las burbujas formadas como núcleos crecen en tamaño a consecuencia del gas de dióxido

de carbono generado por el polvo de hornear (Baixauli et al., 2008). En cambio, el huevo, la clara y en menor medida las proteínas de la leche cumplen la función de estabilizar esta espuma generada durante el batido con el fin de ralentizar la coalescencia de las burbujas de aire. La función de las grasas (manteca o aceite) consiste en otorgar estructura suave al muffin y palatabilidad (Lallemmand Baking, 2000). Lo que termina de establecer la estructura del muffin es la gelatinización del almidón y la desnaturalización de las proteínas durante la cocción.

La sacarosa es otro ingrediente que cumple diversas funciones en este tipo de productos horneados. Además de aportar sabor dulce a los productos, la sacarosa favorece los agregados de cristales grasos, mejorando la estabilización de las burbujas de aire durante el proceso de cocción (Beesley, 1995). Además, de coadyuvar en el volumen de los batidos o masas, retrasa la gelatinización del almidón y la desnaturalización de las proteínas durante la cocción ayudando a mantener húmedos a los productos horneados, dándole tiempo al batido para crecer, con el fin de que las burbujas de aire puedan ser expandidas adecuadamente por el dióxido de carbono y el vapor de agua antes de que el batido se cocine y así crear una textura más fina aireada y voluminosa. Otra de las funciones de la sacarosa (en presencia de proteínas) es contribuir con el pardeamiento no enzimático que se relaciona con el color dorado de la corteza en condiciones no ácidas (Gomes, 2008; Baeva et al., 2003; Rosenthal, 1995).

El comportamiento viscoso de los batidos es otro factor muy importante ya que controla el volumen final del muffin, debido a sus efectos sobre la incorporación y el movimiento de las burbujas de aire (Kim et al., 2001). El aumento brusco de las burbujas de aire en un batido de baja viscosidad puede provocar la pérdida de volumen de este. Por el contrario, batidos con viscosidades más altas ayudan a incorporar mayor cantidad de burbujas de aire en el batido evitando su desaparición brindando al sistema mayor estabilidad (Baixauli et al., 2008).

Una forma de asegurarse que la población consuma cantidades adecuadas de fibra y nutrientes en la dieta es fortificar los alimentos de alto consumo que normalmente no aportan nutrientes ni fibra. Se encontraron numerosos estudios que han informado el efecto de la incorporación de distintas materias primas ricas en nutrientes y fibra en distintos productos, como la incorporación de fibra de manzana y pera (Struck et al., 2016); fibra de cocoa (Martínez-Cervera et al., 2011), inulina (Zahn et al., 2010), nueces (Marchetti et al., 2018) en muffins, no solamente como

aporte de fibra y por sus propiedades nutricionales sino también fueron incorporados como sustitutos de grasa. También se encontraron varios estudios que han informado el efecto de la incorporación de semillas de lino en muffins, galletas, bagels y barras de cereales (Aliani et al., 2011; Chetana et al., 2010; Kaur et al., 2017; Ramcharitar et al., 2005; Shearer y Davies, 2005).

El uso de semillas de chía como nuevo ingrediente alimentario fue autorizado por la Directiva 2009/827 / CE. Teniendo en cuenta el producto de panadería, se permitió un nivel de adición de hasta el 5% (Reglamento 258/97 / CE, válido hasta el año 2012). Recientemente, el límite se incrementó al 10% (Dirección 2013/50 / UE) (Svec et al., 2016). Las semillas de chía también han sido utilizadas para la fortificación de productos alimenticios a base de harina de trigo, como en panes (Verdú et al., 2017; Coelho y Salas-Mellado, 2015), no obstante, no se encontraron estudios que incorporen HPDC en muffins. La chía y sus subproductos son insípidos y, debido a esto, no suelen afectar el perfil sensorial tradicional de los productos a los que se le incorpore. Los productos de panadería con chía se caracterizan por un mayor valor nutricional y una vida útil significativamente prolongada (Peiretti y Gai, 2009; Mohd et al., 2012; Segura-Campos et al., 2013).

La industria alimentaria genera grandes cantidades de subproductos y residuos como desperdicios que conllevan a un problema ambiental. El tratamiento y la eliminación de los subproductos de procesamiento con nuevas estrategias para convertirlos en productos de mayor valor agregado evitarían su eliminación como desechos y aumentarían notablemente la sustentabilidad y la competitividad de los alimentos en todo el mundo. En las secciones anteriores se ha demostrado que la HPDC es un subproducto del proceso de extracción de aceite de chía con características nutricionales muy importantes (Sección 2), tales como alto contenido de fibra, proteínas, polifenoles con actividad antioxidante y que por ende su incorporación en un producto no percedero como las pastas mejora sus propiedades nutricionales y antioxidantes (Sección 3 y 4). En esta sección se buscó evaluar el efecto de la incorporación de la HPDC en una matriz alimentaria con características totalmente distintas como son los muffins, en donde se usan harinas de granos de trigo blandos con una cantidad baja de proteínas (9%) debido a que no se busca el desarrollo de una red proteica fuerte, sinó mas bien su estructura viene dada por todos los otros ingredientes que conlleva su formulación, con el fin de mejorar la calidad nutricional y antioxidante de estos como así evaluar el efecto de su incorporación en la calidad tecnológica y sensorial.

## 6.2. Materiales y métodos

Las materias primas utilizadas en este apartado para la elaboración de muffins fueron: Harina de trigo comercial 0000 refinada y blanca (harina proveniente de trigos blandos), huevos, azúcar, aceite de girasol, leche en polvo descremada, agente leudante (royal) y extracto de vainilla los cuales fueron adquiridos en mercados locales. Se utilizó el mismo lote de HPDC harina parcialmente desgrasada de semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) utilizada en el enriquecimiento de pastas (Sección 3). Todos los productos químicos adquiridos fueron de grado analítico.

### 6.2.1. Elaboración de muffins

Se prepararon 3 lotes de 4 formulaciones de muffins, formulación control con 0% HPDC y tres formulaciones restantes con la incorporación de HPDC en distintos porcentajes (2,5%; 5%; 10%). Las cantidades de cada ingrediente incorporado se detallan en la Tabla 6.1. Las muestras fueron identificadas como MF 0%HPDC, MF 2,5%HPDC, MF 5%HPDC y MF 10%HPDC y fueron incorporadas según el porcentaje correspondiente partiendo de una base de 100 g de harina de trigo.

**Tabla 6.1. Formulación para la elaboración de muffins con HPDC**

Ingredientes (g)	MF 0%HPDC	MF 2,5%HPDC	MF 5%HPDC	MF 10%HPDC
Harina	31,0	31,0	31,0	31,0
Huevos	25,0	25,0	25,0	25,0
Azúcar	21,0	21,0	21,0	21,0
Aceite	15,0	15,0	15,0	15,0
Leche líquida	6,0	6,0	6,0	6,0
Agente leudante	2,0	2,0	2,0	2,0
Vainilla	0,1	0,1	0,1	0,1
*HPDC	0,0	0,78	1,57	3,15

\*Los porcentajes incorporados fueron calculados en base a 100 g de harina de trigo

Se utilizó un proceso estándar de laboratorio para la elaboración de los muffins, el cual se detalla en la Figura 6.1.

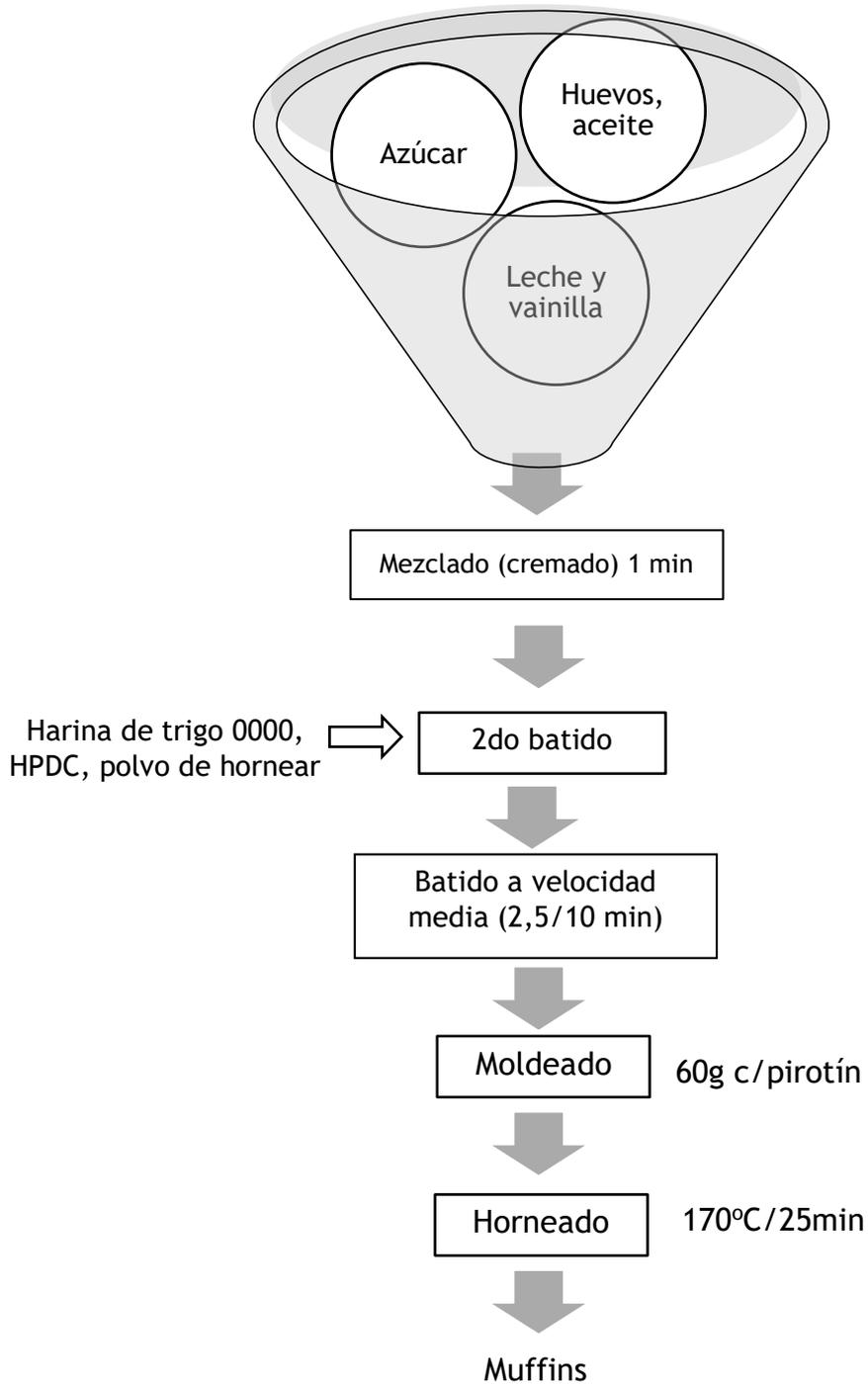


Figura 6.1. Proceso de elaboración de muffins

Los batidos se prepararon con la ayuda de una batidora de mesa (Peabody SMARTCHEF PE-BMP 19R, China, 2,0 HP de potencia), en primera instancia se agitaron los huevos, el azúcar, leche, vainilla y el aceite por 30 segundos a máxima velocidad para formar el cremado, posteriormente se agregó la harina de trigo o mezclas de

harina de trigo-HPDC con el polvo de hornear y se agitó durante 10 min a una velocidad de 2,5 con el fin de obtener un batido suave y homogéneo.

El batido obtenido fue repartido en moldes estándar para muffins, pesando 60 g del batido en cada molde y se hornearon a 170°C en un horno convector eléctrico (PAUNA Beta 21 IPA, Buenos Aires Argentina) durante 25 minutos el cual fue precalentado durante 10 minutos. Finalmente, los muffins se dejaron enfriar a temperatura ambiente, se desmoldaron, se envasaron en bolsas de polietileno y fueron almacenados por 7 y 14 días para posteriormente ser evaluados.

### 6.2.2. Evaluación de la calidad tecnológica de muffins

#### 6.2.2.1. Características físicas de los muffins elaborados

En primera instancia se evaluó las propiedades de viscosidad de las mezclas de harina de trigo-HPDC y previo al horneado se evaluó la viscosidad aparente de los batidos. Después del horneado, se evaluaron las características físicas de los muffins (Figura 6.2), estos se enfriaron durante 4 horas a temperatura ambiente en una rejilla de alambre. Posteriormente, los muffins se pesaron, se envasaron y almacenaron durante 7, 14 y 21 días. Se identificó la pérdida de peso de los productos horneados, el volumen específico, altura-ancho, las propiedades mecánicas instrumentales de textura-firmeza (TPA) de la miga, se realizaron imágenes para determinar la estructura de la miga, se evaluaron las variables de color de la corteza y de la miga. En cada característica evaluada se realizaron 3 determinaciones de cada lote, se informó el valor promedio  $\pm$  desviación estándar de los 3 lotes de cada muestra.

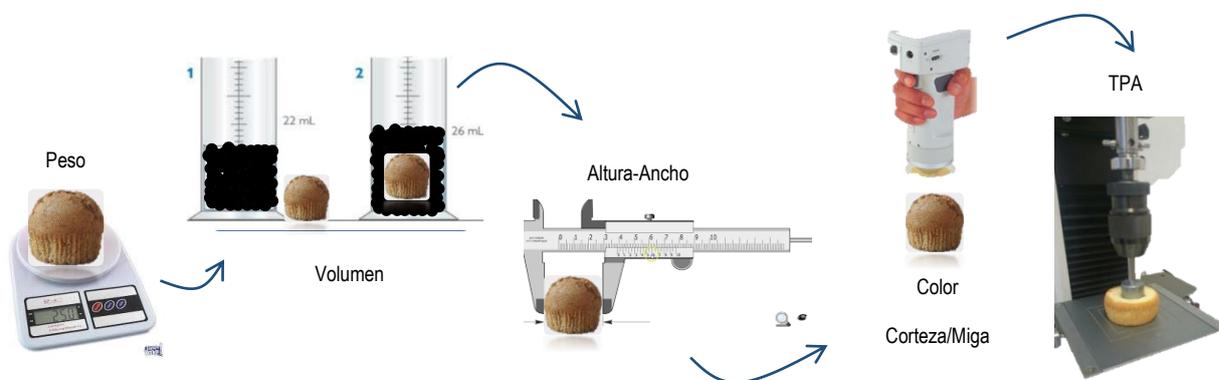


Figura 6.2. Representación gráfica de las características físicas evaluadas a los muffins elaborados

### 6.2.2.1.1. Pérdida de peso

Los batidos fueron pesados antes (peso del batido P1) y los muffins fueron pesados después del horneado (P2) a T° ambiente. La pérdida de peso (PP) de los muffins fue calculada según la siguiente ecuación 24:

$$PP = \frac{(P1 - P2)}{P2} * 100 \quad (\text{Ec. 24})$$

### 6.2.2.1.2. Volumen específico de los muffins (VE)

El volumen específico de los muffins se determinó por desplazamiento de semillas de colza (AACC, 2000) luego de 4 h de horneado. El VE se calculó dividiendo el volumen de cada pieza por su peso y se expresó como g/mL.

### 6.2.2.1.3. Altura-ancho de los muffins

La altura fue tomada desde el punto más alto a la parte inferior del muffin, y el ancho se tomó a la altura de la marca del pirotin, ambas mediciones se realizaron en los muffins almacenados a tiempo 0, 7 y 14 días.

### 6.2.2.1.4. Análisis de textura instrumental de la miga

Los parámetros de textura (Análisis de perfil de textura instrumental-TPA) de los muffins (Figura 6.3) se determinaron utilizando un texturómetro INSTRON (Modelo 3342, Norwood, MA, EE, UU,) según los métodos descritos por Bourne (2002). Las condiciones utilizadas fueron: celda de compresión de 25 kg, velocidad de prueba: 100 mm / min, deformación máxima: 40%, diámetro del émbolo de penetración: 30 mm. El análisis de textura también se evaluó a los muffins a 1, 7 y 14 días de almacenamiento. Se realizó un corte transversal por la mitad de cada muffin de un espesor de 25 mm. El centro de cada corte se sometió a dos ciclos de compresión y descompresión para obtener la curva de fuerza vs tiempo del análisis de perfil de textura instrumental (TPA). Se calcularon la firmeza, la adhesividad, la elasticidad y la masticabilidad de cada muffin.

- **Firmeza:** es la fuerza máxima durante el primer ciclo de compresión (Bourne 1978). Definida también como la fuerza, en gf o newton, necesaria para comprimir una

muestra hasta un 40% del espesor original (AACC Internacional, 2000). En el caso de la miga, se obtuvo para el primer ciclo, un solo pico que coincidió con la dureza o firmeza de esta.

- **Elasticidad:** es una medida de cuanto recupera su altura o forma original el alimento luego de ser sometido a una deformación. Estrictamente se define como la altura que el alimento recupera durante el lapso transcurrido entre el final de la primera mordida y el comienzo de la segunda (Bourne 1978). Se calcula como el cociente entre la distancia 2 (L2) y la distancia 1 (L1). Por lo tanto, la elasticidad =  $L2/L1$ .

- **Masticabilidad:** sensorialmente se define como la fuerza requerida para desintegrar un alimento sólido hasta que esté listo para ser deglutido (Civille y Szczesniak 1973). Se determina como el producto de firmeza x cohesividad (definida como el cociente entre  $Area2/Area1$ ) x elasticidad.

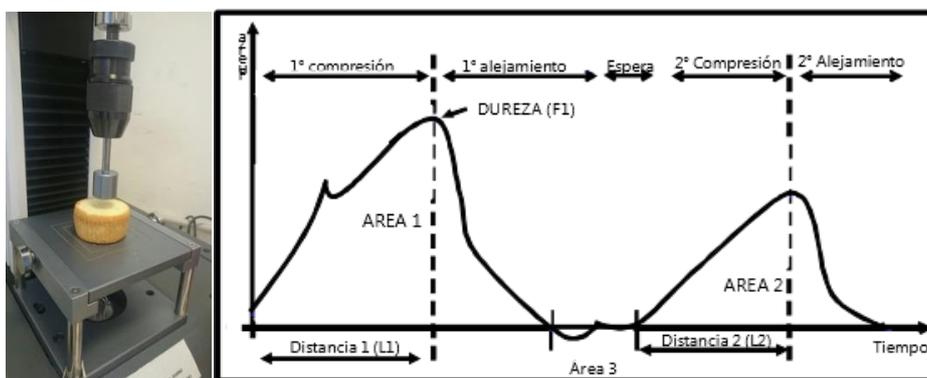


Figura 6.3. Curva característica del Análisis de Perfil de Textura (TPA), F1 (Pico máximo de la primera compresión) = Dureza o Firmeza,  $A2/A1$  (Área 2 / Área 1) = Cohesividad,  $L2/L1$  (Distancia 2 / Distancia 1) = Elasticidad,  $F1 \times A2/A1 \times L2/L1$  (Dureza x cohesividad x elasticidad) = Masticabilidad

#### 6.2.2.1.5. Determinación de la cinética de envejecimiento por el modelo de Avrami

La firmeza de la miga de los muffins también se evaluó a los 21 días de almacenamiento para establecer la cinética del envejecimiento. La ecuación de Avrami (Armero y Collar 1998) se utilizó para ajustar los datos experimentales de firmeza. Este modelo se ha utilizado con éxito en una gran cantidad de procesos y es

un estándar para modelar la recristalización del almidón de una manera sencilla, de acuerdo con la ecuación 25.

La recristalización consiste básicamente en la nucleación de gránulos de almidón libres y el subsiguiente crecimiento hasta que el material está completamente ocupado por gránulos recristalizados. Este modelo se ha utilizado con éxito en un gran número de procesos y es el modelo estándar para modelizar de forma sencilla la recristalización del almidón de acuerdo con la siguiente ecuación (De Cock, 2009).

$$\frac{\theta (T_{\infty} - T_t)}{(T_{\infty} - T_0)} = \exp(-k t^{\eta}) \quad (\text{Ec. 25})$$

Donde:

$\theta$ : es la fracción de cambio en la dureza de la miga del muffin a tiempo  $t$  (1,7,14) días

$T_{\infty}$ : es la firmeza límite,  $T$ : es la firmeza de la miga a tiempo  $t$ ,  $T_0$ : es la firmeza de la miga a tiempo cero o firmeza inicial

$k$ : es la constante de velocidad y es función de las constantes de nucleación y de velocidad de firmeza del muffin

$\eta$ : es el exponente de Avrami e indica el mecanismo de nucleación de los cristales para el tiempo 0 (McIver et al., 1968).

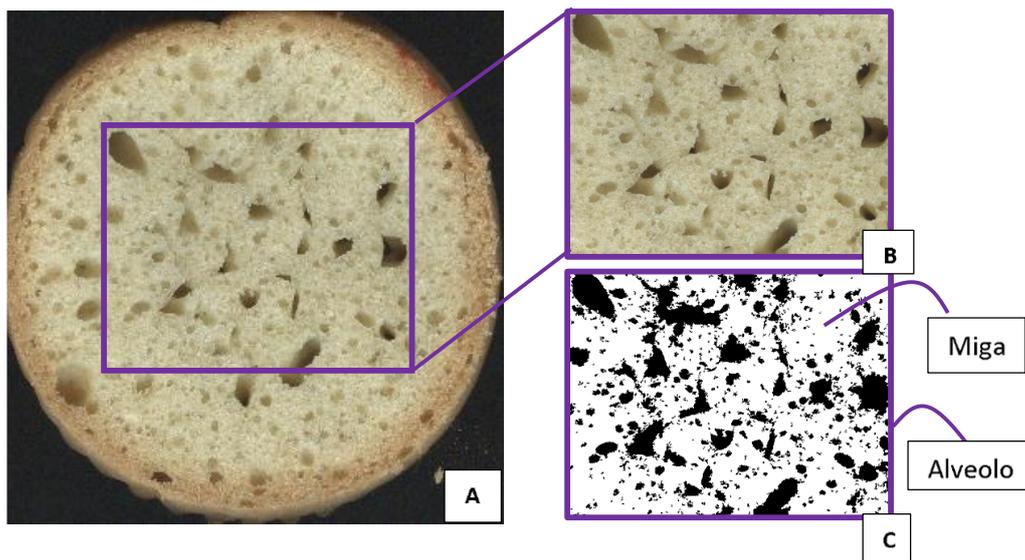
Por lo tanto, la función  $(T_{\infty}-T_t) / (T_{\infty}-T_0)$  indica el alcance de los cambios que sufre el almidón, prescindiendo del nivel de firmeza de la miga inicial, brindando un parámetro para evaluar los cambios del almidón durante el almacenamiento/envejecimiento (Cornford et al., 1964).

El recíproco de la constante de velocidad ( $1/k$ ) es la constante de tiempo. Todos los parámetros se obtuvieron de Kim y D'Appolonia (1997); Armero y Collar, (1998).

#### **6.2.2.1.6. Estudio de la estructura de la miga de los muffins mediante análisis de imágenes**

La estructura de la miga (distribución de las celdas de gas) se estudió mediante un análisis de imagen (Figura 6.4). Para ello se utilizó un escáner fotográfico (HP Scanjet G3010, Palo Alto, CA, EE. UU.) de los muffins cortados transversalmente (2,5 cm) para adquirir las imágenes a analizar. Las mismas en formato de archivo JPEG se analizaron con el programa de análisis de imágenes Image-J2 (Rueden et al., 2017). Se

seleccionó manualmente un área representativa (ROI) de igual tamaño para todos los muffins, la imagen en color se convirtió en una imagen de 8 bits y se analizó en escala de grises (0 en negro para los espacios vacíos, 255 en blanco para las paredes de poros de migas). La segmentación de la imagen (conversión a imagen binaria) fue realizada por el programa mediante la selección automática del valor de umbral. Los parámetros que se obtuvieron del análisis de las imágenes fueron: área ocupada por los poros (%), promedio de tamaño de poro ( $\text{mm}^2$ ), perímetro y circularidad (1 = circularidad máxima, 0 = sin circularidad) y finalmente, se obtuvo la distribución del tamaño de poro.



**Figura 6.4.** A) Pan tipo muffin cortado transversalmente, mostrando el área seleccionada, B) Imagen en escala de grises C) Imagen binarizada con un umbral de 180. Todos los píxeles con un nivel de gris por encima de este valor de umbral son convertidos en blanco (miga de pan), y por debajo del umbral en negro (alveolos)

#### 6.2.2.1.7. Color de la corteza y miga de los muffins

Otro de los atributos de gran importancia a la hora de evaluar las preferencias del consumidor y en cuanto a la calidad tecnológica de panes tipo muffins es el color. El color de la miga y de la corteza de los muffins se evaluó utilizando un colorímetro CM-508d Minolta (Ramsey, NJ, USA). Las mediciones se realizaron según el método 14-22 (AACC, 2000) utilizando 8 mm de apertura de la medición y un iluminador D65. El espectrofotómetro fue calibrado antes de cada ensayo con un plato estándar blanco. Como medida objetiva del color se utilizó el sistema Cie-Lab,  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (rojo-verde) y  $b^*$  (amarillo-azul). Se calcularon un valor de blancura (WV) y un valor

de diferencia de color ( $\Delta E$ ) utilizando los métodos descritos por Hsu et al. (2003) de acuerdo con las siguientes ecuaciones 26 y 27:

$$WV = 100 - [(100 - b^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0,5} \quad (\text{Ec. 26})$$

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5} \quad (\text{Ec. 27})$$

Las determinaciones se efectuaron sobre cuatro muffins (corteza y miga) por lote y se analizaron al menos tres lotes de cada muffin (tiempo 0, 7 y 14 días) y se informó el promedio  $\pm$  desviación estándar. Las mediciones fueron realizadas a temperatura ambiente en una sala controlada para evitar variaciones.

Los resultados de color de la superficie de las muestras de los muffins fueron utilizados para calcular el índice de pardeamiento (BI) según la ecuación 28. (Sakin-Yilmazer et al., 2013)

$$BI = \{100 \times [(at + 1,79Lt / 5,645 Lt + at - 3,012bt) - 0,31]\} / 0,17 \quad (\text{Ec. 28})$$

Donde:

(at: valor color  $a^*$ , bt: valor color  $b^*$ , Lt: valor color  $L^*$ ) en un tiempo definido (t) de almacenamiento.

## 6.2.2.2. Determinación de las propiedades reológicas de los batidos

### 6.2.2.2.1. Viscosidad aparente de los batidos

La viscosidad aparente de los batidos se midió utilizando un viscosímetro rotatorio FungiLab (modelo: VISCOLEAD ADV R 100). Durante la determinación de la viscosidad del batido, el viscosímetro somete a rotación (a velocidad constante) un disco o un cilindro (denominado husillo que depende de la viscosidad del batido en este caso se utilizó un cilindro R7) acoplado al eje de un rotor y a partir de la fuerza de torsión necesaria para hacer girar el husillo sumergido en el fluido/batido se determinó la viscosidad del sistema. El control electrónico del equipo realizó los cálculos correspondientes para obtener el valor de viscosidad asociado a la velocidad de deformación aplicada.

En primera instancia se tomó el peso inicial del agua enrasada en un vaso de precipitado de 150 mL, posteriormente se tomó el peso y la temperatura de los distintos batidos en el mismo recipiente en el que se tomó el peso del agua, se seleccionó el modelo de husillo elegido R7 y la velocidad de rotación (50 rpm). Se sumergió el cilindro en el batido hasta su marca en el vástago y se centró el husillo en el vaso, se inició la medición y cada 30 segundos se tomó el valor de viscosidad (mPas = cP) y el fondo de escala (%). Finalmente se calculó una media de las tres mediciones que se realizaron a cada muestra.

#### 6.2.2.2.2. Análisis de las propiedades de viscosidad de las mezclas de harina de trigo (HT) y HPDC

Las propiedades de viscosidad se determinaron a través de un Analizador Rápido de Viscosidad (RVA series 4500, Perten instruments Suecia), como se detalló en la sección 2 y 3, una dispersión de harina en agua fue calentada, enfriada y sometida a agitación constante (fuerza de corte) bajo condiciones controladas. Durante este ensayo se evaluaron los cambios de viscosidad del sistema en función del tiempo y la temperatura, lo que permite estudiar el perfil de viscosidad y el comportamiento de las mezclas de harina de trigo y HPDC frente a ciclos de calentamiento y enfriamiento.

Las suspensiones de 3,5 g (mezclas de harina de trigo, 2,5%; 5%; 10% HPDC de humedad conocida) y entre 24,93 mL a 25,09 mL de agua destilada se calentaron a 50 °C, mientras se agitó a 160 rpm durante 10 s para la dispersión completa de las mezclas. Las suspensiones se mantuvieron a 50 °C durante 1 min, y posteriormente se calentaron hasta 95 °C a una velocidad de calentamiento de 9,4 °C/min y una velocidad de agitación de 960 rpm. El sistema se mantuvo a 95 °C durante 2,5 minutos, y finalmente se enfrió a 50 °C a una velocidad de enfriamiento de 11,8 °C/min. Los resultados fueron expresados como unidades rápidas de viscosidad (RVU, 1 RVU  $\frac{1}{4}$  12 cP).

De tal modo, se registró la viscosidad y la temperatura en función del tiempo. A partir de estas curvas se obtuvieron cinco parámetros: el pico de viscosidad (PV), la viscosidad media (VM), viscosidad final (VF), “*breakdown*”  $BD=(PV - VM)$  y “*setback*”  $SB=(VF - VM)$ . El pico de viscosidad (PV) es la máxima viscosidad que el sistema puede adquirir, se origina cuando un número suficiente de gránulos de almidón de la harina de trigo se hinchan como consecuencia de la absorción de agua y la temperatura. Luego de alcanzar este valor, la viscosidad del sistema cae levemente debido a la ruptura de

algunos gránulos y a que las moléculas, principalmente de amilosa, liberadas al medio durante la gelatinización se orientan en sentido del flujo, la viscosidad en este punto es denominada viscosidad media (VM). Durante el enfriamiento de la pasta, la viscosidad comienza a aumentar nuevamente hasta lo que se denomina viscosidad final (VF), este incremento en la viscosidad se encuentra relacionado con la reasociación de las moléculas de amilosa. El parámetro “*breakdown*” (PV - VM) es una medida de la facilidad con la que los gránulos hinchados pueden ser desintegrados por acción de las fuerzas de corte. El parámetro “*setback*” (VF - VM) es una medida de la tendencia que poseen las moléculas de amilosa a retrogradar durante el enfriamiento de la pasta formada. Este parámetro depende de la tendencia que tenga la amilosa para formar un gel, o lo que es lo mismo, de la capacidad de gelación de la amilosa (Copeland et al., 2009).

### 6.2.3. Evaluación nutricional y antioxidante de los muffins

El contenido de proteínas y cenizas se midió mediante los métodos oficiales de la AACC (2000). La fibra dietaria total (FDT) se cuantificó utilizando un kit de análisis de fibra dietética total (número K-TDFR100) de Megazyme Inc, basado en el método oficial de la AOAC (2016). Estos análisis ya fueron descritos en las secciones anteriores.

Los muffins horneados se liofilizaron, se molieron en un molinillo de café y se desgrasaron con hexano (1: 2,5 p/v, 25 min). Los polifenoles se extrajeron de un gramo de muffin liofilizados en polvo con 10 mL de una solución de acetona/agua (70:30) durante 7 horas a temperatura ambiente en la oscuridad. Las muestras se centrifugaron a 5000 g por 30 min, se decantó el sobrenadante y se conservaron a -80 °C. Las muestras se prepararon por triplicado.

#### 6.2.3.1. Contenido total de polifenoles (CTP) en los muffins

El CTP de los extractos (acetona: agua-70:30) se midió mediante el método de Folin-Ciocalteu (Orthofer y Lamuelas-Raventos 1999) descrito en las secciones anteriores. Se utilizaron 200 uL del extracto de MF 0% HPDC y 100 uL para los extractos de MF con 2,5; 5 y 10% HPDC. El CTP se calculó usando una curva de calibración construida con ácido gálico. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (AG) por 100 g de muestra. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

### 6.2.3.2. Determinación de la capacidad antioxidante de los muffins

La capacidad antioxidante se determinó mediante dos métodos químicos: la capacidad de reducción férrica del ensayo de plasma (FRAP), para evaluar el poder reductor y por el método ABTS: ensayo de decoloración de cationes radicales para evaluar la actividad de captación de radicales libres. El ensayo de FRAP se realizó de acuerdo con Benzie y Strain (1996). El ABTS se analizó según lo informado por Fares et al., (2010). Los resultados de FRAP y ABTS se expresaron como mg equivalente de Trolox (TEAC)/100 g de muestra. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

### 6.2.3.3. Perfil químico y cuantificación de polifenoles totales de la HPDC y de muffins fortificados con 0 y 5% HPDC

Se realizó un análisis del perfil y el contenido de polifenoles totales por cromatografía líquida de alta presión acoplado a un espectrofotómetro de masa. El perfil se determinó por el patrón de fragmentación de los picos, la masa exacta y el contenido se realizó a través de una curva de calibración usando estándares de estructuras relacionadas cuando no se tuvo el estándar.

La preparación de las muestras para la extracción se realizó de acuerdo con la metodología explicada en la sección 3, se utilizó el mismo lote de la HPDC elegida para la elaboración de las pastas. Se seleccionaron dos muestras de muffins (MF 0%HPDC y MF 5%HPDC) con el fin de poder observar mejor las diferencias, los mismos fueron liofilizados y juntamente con la HPDC se desgrasaron completamente con n-hexano para su posterior análisis.

La extracción de la fracción libre de los compuestos fenólicos se realizó de la misma manera como se describió anteriormente. No obstante, se quiso evaluar un disolvente extractivo amigable con el medio ambiente y en este caso se utilizaron las condiciones extractivas óptimas (OP) de la metodología convencional la cual se detallará minuciosamente en la sección 6. Las condiciones extractivas óptimas fueron (0,44 g, 50 °C, [53:47] etanol/agua por 7 h) de muestras de muffins con 0 y 5% HPDC, para ello 0,44 gramos de harina de chía desgrasada (HPDC), o muffin se suspendieron en 20 mL de la mezcla de solventes. Después de 1 h de agitación en la oscuridad, el sobrenadante se filtró a través de un papel de celulosa. El procedimiento se repitió dos veces para cada muestra. Finalmente, los sobrenadantes recogidos se secaron en un evaporador rotatorio a presión reducida a 50°C y se recuperaron con 5 mL de

metanol (grado HPLC). Las muestras se prepararon por duplicado y se almacenaron a -80 °C hasta su posterior análisis.

#### **6.2.3.3.1. Contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos (HPDC, MF 0% HPDC y MF 5% HPDC)**

El contenido total de polifenoles (CTP) se determinó utilizando el método Folin Ciocalteu tal y como se describió en las secciones anteriores, la cuantificación en esta sección se realizó de los nuevos extractos etanólicos optimizados a diferencia de los extractos acetónicos descritos en el punto 6.2.3.1. Se utilizaron 30 uL del extracto etanólico de la HPDC y 110 uL de los extractos etanólicos de los muffins (0 y 5% HPDC). El CTP se calculó usando una curva de calibración construida con ácido gálico. Los resultados se expresaron igualmente en mg equivalentes de ácido gálico (AG) por 100 g de muestra. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

#### **6.2.3.3.2. Perfil de polifenoles por HPLC-MS de HPDC y de muffins con 0 y 5% HPDC**

Los polifenoles se identificaron por HPLC-MS/MS utilizando un HPLC acoplado a un espectrómetro de masas QTOF con una fuente de ESI (ionización por electrospray), siguiendo el método de Lingua et al., (2018). Se utilizó el mismo equipo detallado en la sección 4, (HPLC Agilent Technologies Serie 1200, equipado con una bomba de gradiente binario Agilent G1312B SL, un desgasificador de solventes Agilent G1379 B y un inyector automático Agilent G1367 D SL+WP). La separación cromatográfica se ejecutó en una columna LUNA (Phenomenex, Torrance, CA, Estados Unidos) de fase reversa C18 (5 µm, 250 mm × 4,60 mm de diámetro interno) a 35° C utilizando el módulo de calentamiento Agilent G1316 B. Se utilizó un flujo de 0,4 mL/min de la fase móvil para la separación cromatográfica y un volumen de inyección de la muestra de 40 µL.

La cuantificación de los polifenoles se basó en curvas de calibración externa de los estándares fenólicos disponibles, para ello se preparó una mezcla de cuantificación en diferentes concentraciones con los siguientes estándares (Ácido cafeico, Ácido ferúlico, isoquercitrina, quercetina, ácido rosmarínico y quínico, kaempferol y miricetina), utilizando las áreas de picos de masa obtenidas a partir de los cromatogramas iónicos extraídos, a concentraciones entre 0,025 y 100 ppm.

Los polifenoles presentes en las muestras se caracterizaron de acuerdo con sus tiempos de retención, masa exacta, espectros MS y MS/MS, que se compararon con los

informes de compuestos tentativos en la literatura o estándares auténticos cuando estuvieron disponibles.

Cuando los estándares correspondientes no se encontraban disponibles, la cuantificación se realizó utilizando un estándar externo con una estructura similar a la del compuesto provisional. Las soluciones de muestra y estándar se filtraron (0,45  $\mu\text{m}$ ) y se inyectaron en el sistema HPLC-MS/MS. Las etapas de purificación y concentración de submuestras digestivas no fueron necesarias. Las muestras se analizaron por triplicado y los blancos de los reactivos también se analizaron para evaluar posibles interferencias. Los resultados se expresaron en mg de equivalente estándar por 100 g de muestra. Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) del método utilizado para cuantificar los compuestos fenólicos se calcularon experimentalmente a partir de las curvas de calibración. La precisión del método se evaluó calculando los coeficientes de variación (CV) de al menos nueve determinaciones que cubren el rango especificado para el procedimiento. LOQ osciló de 0,04 a 0,54 ppm y LOD de 0,01 a 0,16.

#### **6.2.4. Evaluación de la calidad sensorial de muffins**

Una de las metodologías ampliamente utilizadas para medir la experiencia del consumidor relacionada con la calidad intrínseca de un alimento es realizar un análisis sensorial. Cuarenta y tres adultos (panelistas semi-entrenados de 23-50 años) participaron en la evaluación sensorial de los muffins. Cada juez evaluó cuatro muffins (0% HPDC como control, 2,5% HPDC; 5% HPDC; 10% HPDC) y paralelamente en cuanto a su agrado o desagrado dentro de una escala hedónica de nueve puntos (1: me disgusta muchísimo y 9: me gusta muchísimo a), los mismos fueron codificados para su evaluación con tres números elegidos al azar. Los jueces evaluaron los atributos sensoriales de apariencia general, color, aroma, sabor, textura-firmeza y la aceptabilidad general en cuanto a la preferencia de cada una de las muestras.

#### **6.2.5. Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se realizó mediante el programa INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2013). Los resultados se informaron como el valor promedio  $\pm$  desvío estándar. El ANOVA se comparó por DGC para comparar medias con un nivel de significancia con un p valor  $< 0,05$ .

### 6.3. Resultados y discusión

En la sección 2 se ha demostrado que la HPDC es una fuente rica en proteínas, polifenoles con capacidad antioxidante y fibra dietaria total. Igualmente, otros autores también demostraron que la chía es una buena fuente de estos componentes (Coelho et al., 2015; Marineli et al., 2014) y otros la incorporaron en distintos productos debido a sus propiedades nutricionales y funcionales (Zettel et al., 2018; Muñoz-Tébar et al., 2019). Además, se ha corroborado con los resultados propuestos en las secciones anteriores que la HPDC obtenida es un potencial ingrediente alimentario que podría utilizarse para mejorar la calidad nutricional y la capacidad antioxidante de otros productos. En esta sección el desafío fue incorporar la HPDC en otra matriz alimentaria y evaluar de igual manera el efecto que causa la incorporación de esta en un producto horneado (muffin) y de distintas características que las pastas.

#### 6.3.1. Efecto de la incorporación de HPDC sobre el perfil de viscosidad de las mezclas de harina de trigo/HPDC cuando son calentadas y enfriadas (Rapid Visco Amilograph)

El análisis del comportamiento del almidón y de la interferencia con otros componentes durante el proceso de calentamiento y enfriamiento permite evaluar los cambios de viscosidad que sufre una suspensión de harina en agua al ser sometida a fuerzas de cizalla controladas bajo condiciones variables de velocidad de corte y temperatura. Estas modificaciones se vinculan con la gelatinización y la retrogradación del almidón donde muchos autores han reportado el efecto de esos cambios en las propiedades de expansión de las masas panarias durante el horneado y sobre las características de los panificados durante el almacenamiento.

En la sección 2 -Tabla 2.6, la HPDC sola (100% HPDC) mostró una viscosidad significativamente menor en todo momento durante la prueba en comparación con la muestra con (100% harina de trigo) ya que la viscosidad máxima, promedio y la final fueron significativamente más bajas, donde el perfil de RVA de la HPDC mostró básicamente una curva achatada de cambio de viscosidad. Las transformaciones que se producen durante un RVA en el trigo son gobernadas por las propiedades del almidón. El comportamiento de la HPDC en el RVA y al carecer de almidón en su composición (García-Salcedo et al., 2018), está gobernado por la hidratación de la fibra tanto soluble como insoluble.

Con este antecedente, se evaluaron mezclas de harinas utilizadas para la elaboración de los muffins (harina de trigo y 2,5; 5; 10% HPDC). Sus propiedades de viscosidad se obtuvieron utilizando los perfiles del Analizador Rápido de Viscosidad (RVA) y se resumen en la Tabla 6.3. Las mezclas con 2,5; 5 y 10% HPDC presentaron temperaturas de inicio de gelatinización ( $PT^{\circ}$ ) menores a los valores obtenidos por la harina de trigo sola ( $PT$ , Tabla 6.3). Al incrementarse la temperatura al inicio del ensayo los gránulos de almidón comienzan a absorber agua y se hinchan, de modo que, para alcanzar el máximo hinchamiento, los componentes de la harina de trigo requirieron menor temperatura que las mezclas de harina de trigo con HPDC. Entonces una  $PT$  inferior indica cierta "facilidad" de la pasta formada para aumentar la viscosidad a medida que se calienta. Dado que no se encontró almidón en la composición de la HPDC, algunos otros componentes pueden haber ejercido este efecto. La solubilización de los componentes solubles de la fibra presentes en la HPDC (a menores temperaturas) puedan ser los responsables de este comportamiento.

**Tabla 6.3. Propiedades de viscosidad de las mezclas de harina/HPDC y de los batidos**

% de HDC (base harina)	Vap (mPa)	BD (cP)	VF (cP)	SB (cP)	PT (min)	PT $^{\circ}$ ( $^{\circ}$ C)	PV (cP)
0	16446,26 $\pm$ 4,98a	1359 $\pm$ 2,6a	3494 $\pm$ 0,4a	1642 $\pm$ 0,7a	6 $\pm$ 0,0a	66 $\pm$ 0,6a	3211 $\pm$ 0,3a
2,5	30426,33 $\pm$ 10,39b	1401 $\pm$ 0,4a	3375 $\pm$ 0,2b	1634 $\pm$ 0,7a	5 $\pm$ 0,0b	64 $\pm$ 0,5b	3142 $\pm$ 0,3a
5	32554,00 $\pm$ 9,09b	1487 $\pm$ 3,6a	3398 $\pm$ 0,2b	1679 $\pm$ 0,3b	5 $\pm$ 0,0b	63 $\pm$ 0,0b	3206 $\pm$ 1,4a
10	52886,67 $\pm$ 9,35c	1754 $\pm$ 14,5a	3333 $\pm$ 0,8b	1763 $\pm$ 0,6c	5 $\pm$ 0,1c	63 $\pm$ 0,6b	3424 $\pm$ 6,9a

PV: Viscosidad máxima, BD: Breakdown, VF: Viscosidad final, SB: setback, PT: Tiempo máximo, PT $^{\circ}$ : Temperatura de inicio de gelatinización, Vap: Viscosidad aparente de la masa. Diferentes letras dentro de la misma columna significan que existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ )

A su vez se observó que mientras el sistema fue enfriado, las mezclas con HPDC presentaron viscosidades finales (Tabla 6.3-VF) significativamente menores que la harina de trigo sola. En esta etapa, se establecieron enlaces intermoleculares entre las cadenas de amilosa/amilopectina, amilosa/gránulo de almidón y gránulo de almidón/componentes solubles de la HPDC que interfirieron el proceso de retrogradación en las mezclas harina de trigo y HPDC disminuyendo la VF. Finalmente, la incorporación del 5 y 10% de HPDC a la harina de trigo, permitió una interacción en la reorganización de las cadenas de amilosa de la harina de trigo incrementando los valores de setback (Tabla 6.3-SB) de las mezclas en comparación a la harina de trigo sin reemplazo.

### **6.3.2. Efecto de la incorporación de HPDC sobre la viscosidad aparente de los batidos**

Las viscosidades aparentes ( $V_{ap}$ ) de los batidos con HPDC se muestran también en la Tabla 6.3. Se observó que, a medida que la proporción de HPDC aumentó, la  $V_{ap}$  de los batidos casi se duplicó en los batidos con 2,5% y 5% HPDC, y aumentó 3,2 veces con la incorporación del 10% de HPDC. Estos resultados muestran que la incorporación de HPDC aumenta significativamente la viscosidad de los batidos. Esta importante propiedad física según Martínez-Cervera et al. (2012) está relacionada con la calidad final de un producto horneado aireado. La incorporación y retención de aire, la estabilidad de la burbuja y la generación de flujo convectivo en el batido durante la cocción dependen de la viscosidad inicial del batido y de la evolución de la viscosidad neta durante el calentamiento. Los muffins se caracterizan por una típica estructura porosa con una textura esponjosa y un gran volumen. Estos autores también han demostrado en sus estudios que la incorporación de fibra dietética (HPDC es un material con un alto contenido de fibra) en productos dulces horneados se asocia con un aumento en la viscosidad de los batidos. Este aumento de la viscosidad está relacionado con la alta capacidad de la fibra para unirse al agua (Struck et al., 2016). Shaabani et al. (2018) mencionaron que para la elaboración de muffins de buena calidad es importante una elevada viscosidad del batido porque así podría mantener las burbujas de aire en el batido. Los de baja viscosidad pueden llevar a la formación insuficiente de celdas de gas.

### **6.3.3. Efecto de la incorporación de HPDC sobre la calidad tecnológica de los muffins**

La intensa competencia dentro del sector panadero, combinada con las expectativas cambiantes de los consumidores, particularmente en cuestiones de salud, ha tenido gran influencia en el mercado. Los consumidores de hoy demandan cada vez más mejoras en los productos elaborados, requiriendo características de calidad importantes como sabor, color, crujencia, apariencia, inocuidad, mayor vida útil, y, por supuesto, precios accesibles. En la industria de la panificación, los ingredientes trabajan en manera conjunta para crear la estructura y textura deseada de los productos (Nashat y Abdulla, 2016). Por otro lado, la capacidad de fabricar productos de alta calidad es la base del éxito en la industria altamente competitiva. Este conjunto de cualidades sensoriales (sabor, aroma, color, textura, apariencia, forma) higiénicas y fisicoquímicas hacen que los muffins sean aceptables y estén en condiciones para su consumo.

El efecto de la incorporación de la HPDC sobre el color, las propiedades físicas y el contenido de humedad se detallan en la Tabla 6.4 (parte superior). Se evaluaron el color tanto de la corteza como de la miga.

La diferencia en color se expresa de un modo cuantitativo, mediante el valor numérico  $\Delta E^*$  el cual mide que tan diferentes son los colores comparados. Este parámetro se calculó entre los muffins controles (0% HPDC) y los muffins con 2,5, 5 y 10 % HPDC a tiempo inicial día 1 y luego de 7 y 14 días de almacenamiento. Los valores utilizados para determinar si la diferencia de color total fue visualmente evidente fueron los siguientes (Martínez-Cervera et al., 2012):

- $\Delta E^* < 1$  las diferencias de color no son evidentes para el ojo humano
- $1 < \Delta E^* < 3$  las diferencias de color son menores por lo que no son apreciadas por el ojo humano
- $\Delta E^* > 3$  las diferencias de color son evidentes para el ojo humano

En tal sentido, los resultados del color de la corteza mostraron que el parámetro  $L^*$  disminuye a medida que aumentó la proporción de HPDC en el muffin. Esto indica un ligero efecto de oscurecimiento en el color de la corteza. En cuanto a las diferencias de color ( $\Delta E^*$ , respecto al muffin con 0% HPDC) oscilaron entre 3,4 para MF5% HPDC y 5,9 para MF10% HPDC. Cuanto mayor es el valor de  $\Delta E$ , mayor será la desviación en comparación con el color original (0% HPDC). La literatura dice que valores de  $\Delta E$  mayor a 3,0 indica una diferencia de color detectable para el ojo humano.

Con respecto a los resultados de color de la miga (Tabla 6.4), también indicaron que las migas se oscurecen a medida que las proporciones de HPDC aumentaron, ya que el valor  $L^*$  y el valor de blancura (WV) disminuyeron significativamente. Los valores de  $\Delta E$  en las migas fueron muy altos (por encima de 10) que, como se mencionó anteriormente, significa una diferencia de color detectable por el ojo humano. En general, el efecto de agregar HPDC a los muffins es el oscurecimiento del producto tanto de la corteza como de la miga. Asimismo, Marchetti et al. (2018) indicaron que muffins con la incorporación de harina de nuez presentaron valores de luminosidad y de color amarillo menores comparado a muffins elaborados únicamente con harina de trigo. No obstante, Sharma et al. (2016), confirmaron que muffins con almidón gelatinizado y extrusado fueron más luminosos que muffins sin la incorporación de estos almidones. Con estos resultados podemos decir que el color de la miga de los muffins depende en gran medida de los componentes que componen la formulación de

estos, ya que la temperatura no es lo suficientemente alta como para generar reacciones de Maillard o de caramelización.

En cuanto a otras características físicas de los muffins, se encontró que la adición de HPDC no tuvo ningún efecto sobre el peso de estos (Tabla 6.4). Sin embargo, la altura, el volumen, la pérdida de peso durante la cocción y la firmeza se vieron afectados por dicha incorporación. La altura es una de las características más deseables en un muffin de buena calidad (Sharma et al., 2016). Esta característica fue afectada debido a la incorporación de HPDC a los muffins. La altura de los muffins con HPDC disminuyó a medida que aumentó la proporción de esta. La disminución de la altura y el volumen final de los muffins puede haberse dado probablemente a que las burbujas de aire incorporadas durante el batido, al no ser estables coalescen durante la cocción. Kaur y Kaur (2018) explicaron que esta disminución en la altura de panes se atribuye a un tamaño más pequeño de las celdas de aire y a la pobre capacidad para retener las burbujas de aire durante el batido debido a la estabilidad limitada de las celdas de gas por la dilución del gluten. Ortega-Ramirez et al. (2013) determinaron una disminución de la altura de hasta un 25% contra el control no fortificado, utilizando 5% o 10% de chíá en la formulación de panes.

La textura/firmeza de la miga es otro de los factores de gran importancia en la medición de la calidad de los productos de panadería como así también es un indicador considerable de frescura, envejecimiento y calidad para el consumidor. Los consumidores prefieren muffins con una miga aireada y tierna. Una pérdida de la textura deseada resulta en una disminución notable de la vida útil del producto. La textura se puede determinar por métodos instrumentales o sensoriales. Los métodos instrumentales ofrecen alguna ventaja sobre el análisis sensorial porque son rápidos y objetivos. Baeva et al. (2003) realizaron un estudio sobre la textura (sensorial e instrumental) para comparar tortas control y tortas reducidas en calorías; a su vez Sahi y Alava (2003) estudiaron la estructura de migas de tortas para evaluar el efecto de diferentes emulsionantes. Singh Gujral et al. (2003) estudiaron el efecto del laurilsulfato de sodio a través de un análisis de perfil de textura de la miga de muffins y Kamel y Rasper (1988) investigaron el efecto sobre la firmeza de la miga de un bizcochuelo de bajas en calorías con sorbitol o polidextrosa como reemplazo de azúcar.

El análisis del perfil de textura (TPA) instrumental realizado en los muffins demostró que la incorporación de HPDC afectó significativamente ( $p \leq 0,05$ ) a la textura de la miga (firmeza, Tabla 6.4). Las migas de muffins con HPDC tienden a ser más

firmes (valores más altos de firmeza) en comparación a los muffins sin HPDC. No encontrándose diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) en los valores de adhesividad, elasticidad y gomosidad/masticabilidad (datos no mostrados). Es posible que el incremento de la firmeza de muffins con HPDC puede darse debido a la interacción de la HPDC con el agua, esta la retiene y compite con los otros ingredientes dando como resultado una miga más firme y gomosa. Los estudios relacionados con la textura de muffins con la incorporación de semillas de lino también han demostrado un aumento en la firmeza (Kaur y Kaur, 2018). Ellos presumieron que el endurecimiento de los muffins enriquecidos con fibra podría atribuirse a la dilución del gluten después de la incorporación de esta. Además, Martínez-Cervera et al., (2012) mencionaron que la fibra provoca un aumento en la absorción de agua con la disminución del volumen final y el consiguiente aumento de la dureza. Finalmente, se observó una disminución en el volumen y el volumen específico de los muffins con HPDC (Tabla 6.4).

**Tabla 6.4. Efecto de la adición de HPDC en las características físicas de los muffins**

		(Días 0)			
		%HPDC			
		0,0	2,5	5,0	10,0
Color de la corteza	L*	58,8a	56,8b	56,9b	55,4c
	$\Delta E$	---	4,1	3,4	5,9
	WV	42,9	43,0	43,9	44,6
Color de la miga	L*	80,5a	69,9b	66,2c	58,7d
	$\Delta E$	---	11,1	12,2	10,9
	WV	67,2	63,1	60,5	54,6
Peso	(g)	52,4a	52,3a	52,7a	52,9a
Altura	(cm)	5,35a	5,28a	5,19b	5,14b
Volumen	(mL)	138,57a	127,15b	126,89b	125,94b
Volumen específico	(mL/g)	2,65a	2,44b	2,41b	2,38b
Humedad	(%)	23,14a	22,68a	23,62a	23,99b
Firmeza	(N)	17,11a	19,49b	21,61c	21,57c

\* Muestras con letras diferentes dentro de cada fila representan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ )

#### 6.3.4. Efecto del almacenamiento en las características físicas de los muffins

Durante el almacenamiento de los productos horneados la estabilidad o la vida útil podría definirse como el mantenimiento de las características sensoriales y físicas las cuales están asociadas con la frescura de la miga, la firmeza y la humedad al evitar las alteraciones asociadas con el envejecimiento durante el almacenamiento (Paeschke T., 1997; Guy RCE, 1983). No obstante, los únicos métodos que hacen posible evaluar la aceptación del consumidor son los sensoriales debido a que los consumidores esperan un producto con una miga suave, esponjosa y tierna, pero a la vez que tenga un cierto

grado de resistencia de modo que no se desmorone fácilmente. El almacenamiento de los productos horneados hace que estas características empeoren y, en general, el producto es rechazado por parte del consumidor antes de que cualquier deterioro microbiológico lo haga inadecuado para el consumo humano (Hough et al., 2013). En esta sección se comparó la influencia de la incorporación de proporciones crecientes de HPDC sobre las propiedades físicas de los muffins, recién horneados y almacenados por 7 y 14 días.

Los resultados sobre los cambios en las propiedades físicas de los muffins durante el almacenamiento se muestran en la Tabla 6.5. Los resultados demostraron una pérdida de humedad de 23,14 a 19,50% durante el almacenamiento de los muffins control, se observó una pérdida de humedad de 22,68 a 18,91% para muffins con 2,5% HPDC, de 23,62 a 19,55% para los muffins con 5% HPDC, y finalmente de 23,99 a 19,06% para muffins con 10% HPDC. Al mismo tiempo se observó una disminución significativa del volumen específico (inverso de la densidad).

El envejecimiento en productos horneados está relacionado con dos procesos básicos que ocurren en la miga. Uno es un proceso de aumento intrínseco de la dureza del material de la pared alveolar de las celdas de gas, y el otro es la migración macroscópica de la humedad desde las zonas centrales de la miga a las regiones más secas de la corteza (Fennema, 2010). La densidad de los productos horneados se refiere a la porosidad, suavidad y ligereza, por lo que la preservación de la esponjosidad del muffin durante el almacenamiento es un atributo deseado. Los resultados de los parámetros de color ( $L^*$ ,  $\Delta E^*$  y  $WV$ ) de la corteza y la miga de los muffins almacenados durante 14 días también se informan en la Tabla 6.5. La luminosidad ( $L^*$ ) de la corteza de los muffins no cambió significativamente durante el almacenamiento para cada una de las muestras de muffins (0%; 2,5, 5 y 10% de HPDC). El valor de blancura ( $WV$ ) también se mantuvo sin cambios significativos. Estos resultados, tomados en conjunto, muestran que el color de la corteza no cambia significativamente durante el almacenamiento.

**Tabla 6.5. Efecto del almacenamiento en las características físicas de los muffins**

		%HPDC											
		0,0			2,5			5,0			10,0		
		Días	0	7	14	0	7	14	0	7	14	0	7
Color de la corteza	L*	58,8a	58,6a	58,4a	56,8a	55,5a	56,1a	56,9a	56,3a	56,4a	55,4a	54,2a	54,7a
	$\Delta E$	0,00	1,58	2,50	0,00	1,05	0,90	0,00	1,25	1,46	0,00	0,98	1,24
	WV	42,85	42,35	42,97	43,0	42,8	43,11	43,89	44,88	44,16	44,55	44,48	44,56
Color de la miga	L*	80,5a	77,65b	78,68b	69,9a	69,5a	71,37a	66,20a	67,44a	66,57a	58,73a	61,42a	61,57a
	$\Delta E$	0,00	1,84	1,20	0,00	1,20	2,05	0,00	1,73	1,78	0,00	3,43	3,78
	WV	67,23	67,24	69,01	63,1	62,26	66,98	60,5	61,49	64,04	54,59	58,52	59,3
Peso	(g)	52,4a	52,3a	52,1a	52,3a	52,1b	52,1b	52,7c	52,7c	52,6c	52,9d	52,9d	52,8d
Altura	(cm)	5,35a	5,37a	5,37a	5,28a	5,18b	5,13b	5,19b	5,07c	5,11b	5,14b	5,03c	4,99d
Volumen	(mL)	138,57	127,15	126,89	127,15	126,89	125,94	126,89	125,94	117,42	125,94	125,08	119,33
Volumen específico	(mL / g)	2,65a	2,38b	2,14c	2,44b	2,40b	2,22c	2,41b	2,39b	2,23c	2,38b	2,37b	2,26c
Humedad	(%)	23,14a	19,5b	19,46b	22,68a	18,91b	18,8b	23,62a	19,55b	19,51b	23,99a	19,06b	18,84c
Firmeza	(N)	17,11a	31,61b	33,51b	19,49a	35,9b	40,02c	21,61d	39,43e	43,74f	21,57d	40,12e	46,76g

\* Muestras con letras diferentes dentro de cada fila representan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ )

No obstante, con respecto al color de la miga (Tabla 6.5), se observó que para el muffin control (0% HPDC), la L\* disminuyó durante el almacenamiento, lo que indica un efecto de oscurecimiento a medida que pasan los días. Sin embargo, el ojo humano no pudo apreciar este efecto de oscurecimiento ya que los valores de  $\Delta E$  fueron inferiores a 3. Las muestras con 2,5; 5,0 y 10% HPDC no mostraron cambios en los valores de L\* durante el período de almacenamiento de 14 días ya que los valores de  $\Delta E$  para los muffins con 10% HPDC no estuvieron por encima de 3.

Para evaluar la calidad de los productos panificados, se han considerado características la calidad física, químicas, de textura y atributos sensoriales. La humedad de la corteza y miga, la elasticidad y la sensación en la boca son los atributos de calidad más sensibles que se deterioran significativamente durante el almacenamiento (Besbes et al., 2014).

La Tabla 6.5 también muestra los resultados obtenidos de la firmeza en los muffins con 0; 2,5; 5 y 10% HPDC durante el almacenamiento. La firmeza de la miga aumentó de manera gradual y significativa en todas las muestras, cuanto más largo el tiempo de almacenamiento, más dura fue la miga de los muffins. Bartolozzo et al. (2015) coincidieron con estos resultados debido a que también observaron un aumento en los valores de dureza de los muffins control durante el almacenamiento. Besbes et al. (2014) sugirieron que el aumento en la firmeza de la miga estaba relacionado con la distribución de humedad entre la miga y la corteza lo que significa que existe una

relación entre la tasa de envejecimiento y la tasa de deshidratación. También encontraron que la firmeza en el pan aumenta durante el envejecimiento debido a los cambios estructurales en la amilopectina dentro de los gránulos hinchados y gelatinizados. Sin embargo, hay que señalar que varios factores adicionales podrían influir en el envejecimiento de los muffins. En este caso se podría confirmar que los muffins perdieron humedad durante el almacenamiento y que la dureza aumentó, por lo que esta pérdida (o redistribución de la humedad) podría contribuirse al endurecimiento de las migas de los muffins.

#### 6.3.4.1. Cinética de envejecimiento

Piazza y Masi (1995) realizaron la correlación de la tasa de envejecimiento y la tasa de deshidratación al considerar el fenómeno del transporte de masas involucrado en el proceso y utilizando un modelo matemático. Este modelo se aplicó a la cinética de envejecimiento del pan basada en la entalpía de la retrogradación del almidón (Armero y Collar, 1998) y en la firmeza de la miga. La mayoría de los autores indican que, en el caso de la cinética de envejecimiento del pan, el exponente de Avrami  $\eta$  es cercano a uno (Kim y D'Appolonia, 1977). Sin embargo, otras publicaciones afirman que el exponente  $\eta$  puede tomar valores diferentes; no obstante, la determinación del exponente  $\eta$  a menudo se dibuja para muy pocos puntos de datos y es cuestionable.

Los resultados de la firmeza de la miga de los muffins se modelaron usando la ecuación de Avrami (Tabla 6.6). El exponente de Avrami, relacionado con la nucleación de los cristales y el crecimiento posterior (Haros et al., 2002), estuvo en un rango de 0,56-1,28. Los muffins con 5 y 10% HPDC tuvieron un exponente de Avrami estimado similar ( $\eta$ : 1,28 y 1,24) y una constante de velocidad igual a  $k$ : 0,26 en ambos, presentando la mayor tasa de firmeza entre las muestras. La firmeza limitante ( $F_{\infty}$ ) y la extensión de la firmeza total ( $F_{\infty} - F_0$ ) fueron mayores para todos los muffins suplementados ( $F_{\infty}$ : 42,81; 43,76 y 47,40) en comparación al muffin control ( $F_{\infty}$ : 38,54). La adición del 5 y 10% de HPDC además mostró un efecto de estabilización en los muffins, ya que obtuvieron los mayores valores de constante de velocidad, mientras que los muffins control y con 2,5% HPDC obtuvieron la constante de velocidad más baja (0,10 y 0,15 respectivamente). El tiempo en que una fracción de material dada envejece se llama constante de tiempo ( $1 / k$ ). Cuanto mayor fue la constante de tiempo, más lenta fue la cinética de envejecimiento. Los valores de  $1 / k$  obtenidos para los muffins con HPDC fueron más bajos ( $1 / k$ : 6,59; 3,77 y 3,79) que los obtenidos

por las muestras control (1 / k: 9,66), estos resultados indican que cuanto más alto el contenido de HPDC, más rápida es la cinética de envejecimiento.

**Tabla 6.6. Parámetros de la cinética de envejecimiento de muffins con 0; 2,5; 5, y 10% HPDC**

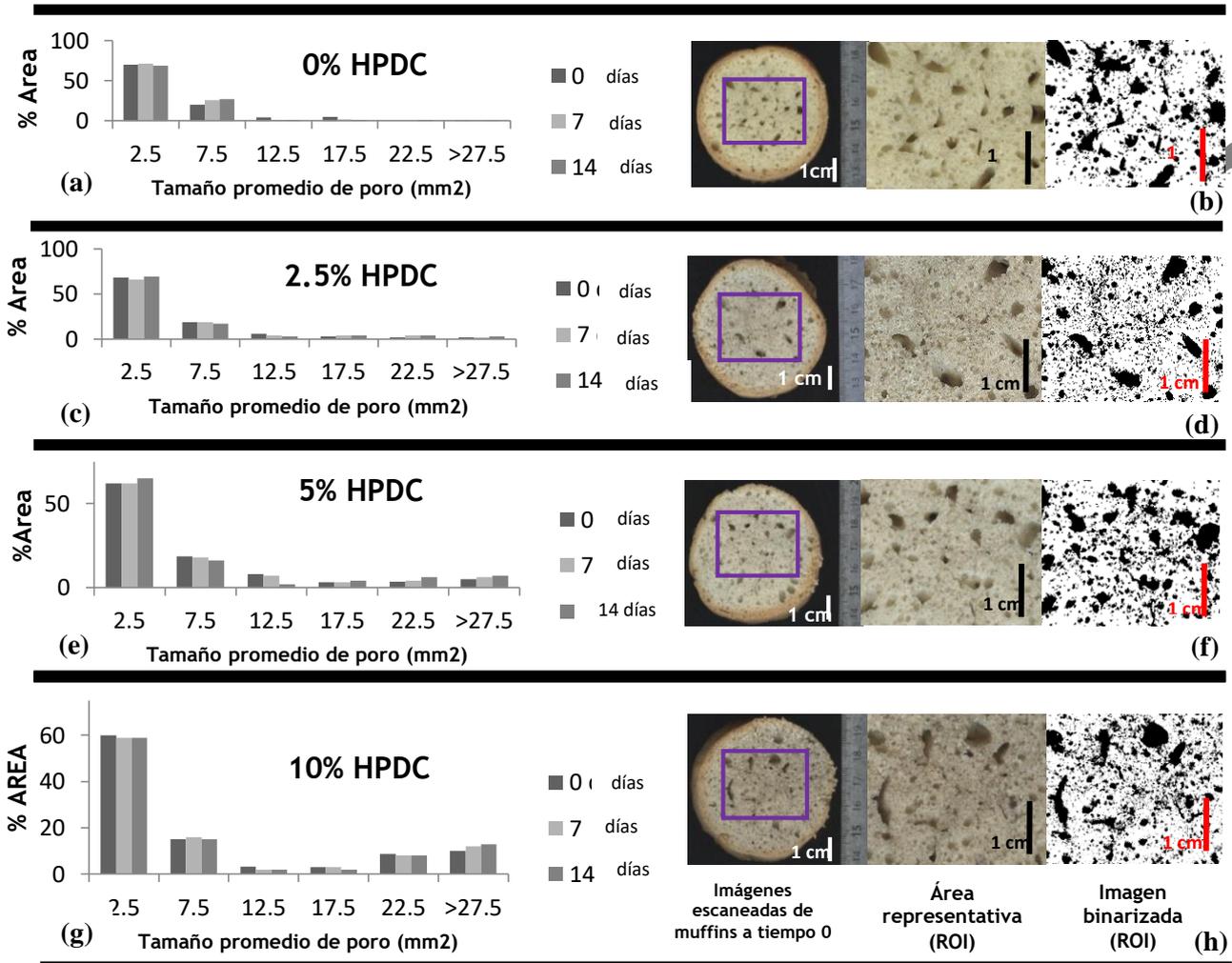
	Porcentaje de HPDC (base harina)			
	0	2,5	5	10
F0 (N)	17,11	19,49	21,61	21,57
F∞	38,54	42,81	43,76	47,4
Constante de velocidad (k)	0,10	0,15	0,26	0,26
Exponente Avrami (η)	0,56	0,76	1,28	1,24
Constante de Tiempo 1/k	9,66	6,59	3,77	3,79

Parámetros de Avrami para la cinética de envejecimiento de las migas de muffins. F0, y F∞: firmeza a tiempo cero e infinito (o valor límite)

### 6.3.5. Análisis de la estructura de la miga de los muffins

El área ocupada por poros aumentó (datos no mostrados) estadística y significativamente de 22% (0% HPDC) a 31% (2,5% HPDC), a 35% (5% HPDC) y 45% (10% HPDC). Básicamente, el área total de poros (área vacía ocupada por poros) se duplicó con la incorporación del 10% de HPDC. Además, el tamaño promedio de los poros aumentó estadísticamente de 0,40 a 0,73 mm<sup>2</sup> (10% HPDC), lo que significa que los poros fueron más grandes a medida que el contenido de HPDC en los muffins fue mayor. Lo que se relaciona con la coalescencia de las burbujas de CO<sub>2</sub> (aumento de tamaño de poros) durante el horneado por la densidad de los batidos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de circularidad (0,76-0,77) en ninguna de las muestras, mientras que el valor del perímetro de cada celda de gas disminuyó de 3,33 mm (control) a 2,82 para las muestras con 10% de HPDC (solo los muffins control 0% HPDC obtuvieron valores de perímetro significativamente más altos). En general, estos resultados indican que el efecto de incorporar HPDC, un material complejo rico en proteínas, fibra y lípidos incrementa el área de cada poro y el área del tamaño promedio de los poros. Marchetti et al, (2018) encontraron que la adición de un residuo de nueces pacana condujo a un aumento del tamaño promedio de los poros. Además, Sciammaro et al. (2018) encontraron que el área ocupada por los poros más grande fue para muffins con mayores cantidades de harina de *Prosopis alba*. Los histogramas de la distribución del tamaño de los poros se muestran en la Figura 6.5. Estos histogramas mostraron claramente que la presencia de HPDC, aumentó la proporción promedio de poros de mayor tamaño. Este efecto se ve como un aumento en la " altura " de esas barras en el lado derecho de los histogramas (mayor tamaño de poro promedio) y la reducción de la " altura " de esas barras en el lado

izquierdo de los histogramas (menor tamaño medio de los poros). Esto indica que muffins con HPDC poseen una estructura más abierta con grandes poros en lugar de muchos poros pequeños.



**Figura 6.5.** Distribución de tamaño de poro (izquierda) Análisis derivados de imágenes de muffins (derecha); (a) 0% HPDC almacenado durante 0, 7 y 14 días; (b) imágenes de muffins con 0% HPDC en el día 0; (c) 2,5% HPDC almacenado durante 0, 7 y 14 días; (d) imágenes de un muffin con 2,5% HPDC a tiempo 0; (e) 5% HPDC almacenado durante 0, 7 y 14 días; (f) imágenes de muffin con 5% HPDC en el día 0; (g) 10% HPDC almacenado durante 0, 7 y 14 días; (h) imágenes muffin con 10% HPDC en el día 0

El efecto del almacenamiento en la estructura del muffin no está del todo claro a partir de los datos que se muestran en la Figura 6.5. Sin embargo, y aunque no es estadísticamente significativo, se pueden deducir algunos cambios. La proporción de poros del tamaño de área pequeña parece disminuir a medida que los muffins se almacenan durante 14 días, mientras que la proporción de poros de mayor tamaño de

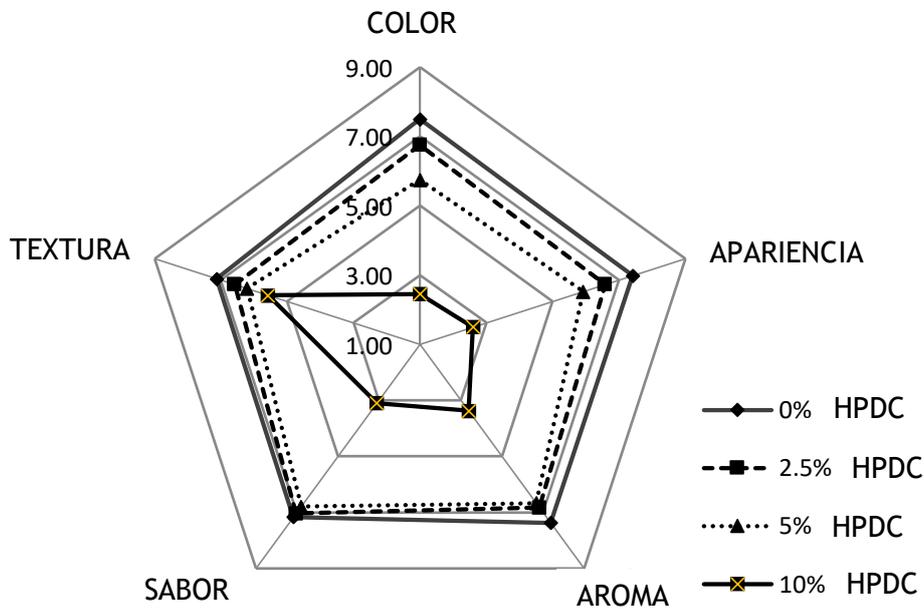
área parece aumentar a medida que pasan los días, la redistribución y disminución de la humedad podría provocar la acentuación de las celdas de gas durante el almacenamiento de las muestras. Los cambios en la distribución del tamaño de los poros que se ven en la Figura 6.5 se relacionan con los cambios en la textura observados como firmeza (Tabla 6.5). La firmeza aumentó a medida que el porcentaje de HPDC era mayor en la formulación de muffins (Tabla 6.4). Además, la incorporación de HPDC en los muffins llevó a productos con menos altura, menos volumen y menos volumen específico (en general, un producto más denso y firme). Al mismo tiempo, se observó un aumento en el área media de los poros relacionado al aumento en el contenido de HPDC. Investigaciones previas (Sharma et al., 2016; Kaur y Kaur, 2018) relacionadas a la textura de los muffins con la incorporación de fibras de diferentes fuentes también han demostrado un aumento en la firmeza. Según Kaur y Kaur (2018), el endurecimiento de los muffins enriquecidos con fibra podría atribuirse a la dilución del gluten después de la incorporación de la fibra. La fibra podría causar un aumento en la absorción de agua con la consiguiente disminución del volumen final y el consecuente aumento de la dureza (Martínez-Cervera et al., 2012). Además, es posible que el aumento de la firmeza sea el resultado de la interacción de la fibra con el agua y la formación de un gel con uniones que fortalecen la red de la matriz, lo que da como resultado una miga más firme y gomosa.

#### **6.3.6. Efecto de la HPDC sobre la calidad nutricional, propiedades antioxidantes y sensoriales de los muffins elaborados**

##### **6.3.6.1. Características sensoriales de los muffins**

La Figura 6.6 es una representación gráfica de los resultados obtenidos de la evaluación de los muffins por panelistas semi-entrenados. Los gráficos de estrellas son una forma útil de mostrar observaciones multivariadas con un número arbitrario de variables (Chambers et al., 2018). La evaluación sensorial es ciertamente una evaluación multivariable en la que el color, el aroma, el aspecto, el sabor y la textura (sensación en la boca) se evalúan en la misma muestra. En un gráfico de estrellas, la longitud de los datos de un radio es proporcional a la magnitud de cada una de las variables de la muestra evaluadas. Dado que los panelistas evaluaron 5 atributos sensoriales (color, aroma, aspecto, sabor y textura), se elaboró un gráfico con 5 radios. Los gráficos de estrellas son útiles porque permiten detectar fácilmente agrupamientos o ejemplos de valores atípicos. Observando la Figura 6.6, es fácil identificar que a medida que aumentó el porcentaje de incorporación de HPDC, la evaluación de las

propiedades sensoriales se inclinó a recibir menos puntuación, ya que a medida que aumenta el contenido de HPDC, las líneas (formadas por la unión de las evaluaciones puntuales de los 5 radios de la estrella) se inclinaron hacia el centro de la estrella, mientras que la línea de la muestra no suplementada se inclinó en el borde exterior de la estrella.



**Figura 6.6. Evaluación sensorial de muffins con 0; 2,5; 5 y 10% HPDC**

Es importante recalcar que hasta un 5% HPDC, la evaluación de todas las muestras en todos los atributos sensoriales (variables) tienden a agruparse, lo que significa que no hubo gran diferencia en el sabor según lo evaluado por los panelistas. Sin embargo, la muestra con 10% HPDC se diferenció claramente del resto, ya que se desacopló fuertemente de las demás muestras (en relación con el color, el sabor, el aspecto y el aroma). No obstante, con respecto a la textura (evaluada por la sensación en la boca), todos los grupos de muestras alrededor del mismo punto indicaron que el contenido de HPDC no afectó la evaluación de la textura por parte de los panelistas.

### 6.3.6.2. Propiedades nutricionales y antioxidantes de los muffins

La Tabla 6.5 muestra las diferentes propiedades nutricionales evaluadas en los muffins. A medida que el contenido de HPDC se incrementó, se observó un contenido significativamente mayor de cenizas, proteínas y fibra dietética total (FDT). Los resultados en la Tabla 6.5 también mostraron que la adición de HPDC aumentó el contenido fenólico total CTP en comparación con el muffin control. Las propiedades

antioxidantes también cambiaron como resultado de la incorporación de HPDC. Muffins con 5% y 10% HPDC obtuvieron valores significativamente más altos de actividad antioxidante por los dos métodos evaluados (FRAP y ABTS) en comparación a los valores encontrados en muffins con 0 y 2,5% HPDC. Estos resultados son consistentes con los obtenidos por otros investigadores (Coelho y Salas-Mellado, 2015; Mesías et al., 2016), quienes también observaron un aumento en las propiedades nutricionales y las propiedades antioxidantes de panes, galletitas y cupcakes con la adición de harina de chía.

**Tabla 6.5. Propiedades nutricionales y antioxidantes de los muffins con 0, 2,5%, 5% y 10% de HPDC**

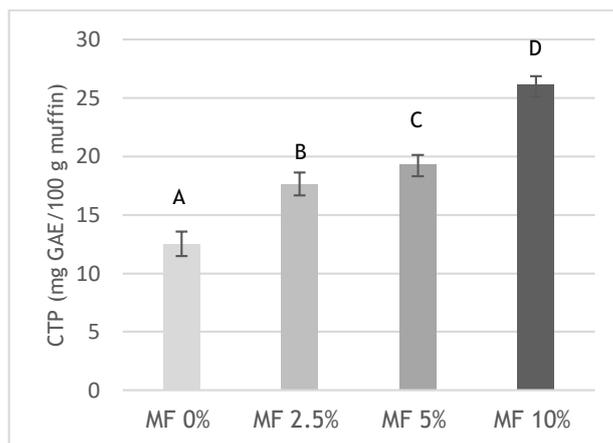
	Porcentaje de HPDC (base harina)			
	0%	2,5%	5%	10%
Contenido de humedad (%)	23,14 ± 2,01a	22,68 ± 1,64a	23,62 ± 1,29a	23,99 ± 1,23a
Cenizas (%)	1,65 ± 0,01a	1,65 ± 0,03a	1,74 ± 0,02b	1,83 ± 0,01c
Grasa (%)	23,79 ± 0,68a	22,72 ± 0,69a	22,66 ± 1,24a	22,52 ± 0,99a
Proteínas (%)	8,37 ± 0,47a	9,36 ± 0,48b	9,38 ± 0,74b	9,70 ± 0,33b
FDT (%)	0,748 ± 0,19a	0,831 ± 0,12a	0,927 ± 0,05b	1,098 ± 0,63b
CTP (mg GAE/100g)	31,69 ± 4,16a	38,90 ± 1,95b	41,28 ± 4,09b	56,78 ± 2,15c
CA (mg ET/100g)	931,56 ± 13,1a	962,85 ± 0,96a	1227,09 ± 9,96b	1475,32 ± 3,04b
PR (mg ET/100g)	11,84 ± 2,95a	21,34 ± 4,78b	49,49 ± 2,05c	79,13 ± 3,06d

\* las muestras con letras diferentes dentro de cada archivo representan diferencias estadísticamente significativas (p <0,05) FDT = fibra dietética total; CTP = Polifenoles totales por el método de Folin; GAE = ácido gálico; CA = capacidad atrapadora de radicales libres; PR= poder reductor, ET = Equivalente Trolox

### 6.3.6.3. Perfil de polifenoles totales de la HPDC y de muffins con 0 y 5% HPDC

Al igual que en las pastas uno de los componentes mayoritarios encontrados en los muffins suplementados, fue la capacidad antioxidante. Teniendo en cuenta que esta propiedad beneficiosa suele estar asociada a los compuestos fenólicos, el siguiente objetivo fue identificar el perfil químico de los polifenoles encontrados en los extractos etanólicos de la HPDC y muffins con 0 y 5% HPDC por HPLC-MS / MS.

Antes de analizar el perfil fenólico, es importante explicar los resultados del contenido fenólico total (CTP) de los diferentes tipos de muffins elaborados (Figura 6.7). Se observó que el contenido fenólico aumentó linealmente con el aumento del contenido de la HPDC en los muffins al igual que se observó en la sección anterior, no obstante, los valores de la extracción etanólica fueron menores que los valores encontrados en la extracción con acetona.



**Figura 6.7. Contenido de polifenoles de extractos etanólicos de los muffins (MF) elaborados**

Con el fin de evaluar los efectos del horneado en los compuestos fenólicos de los muffins con HPDC, se han analizado los extractos de los muffins utilizando un análisis cuantitativo por HPLC-MS. La Tabla 6.6 muestra los compuestos fenólicos cuantificados en cada extracto etanólico de la HPDC y los muffins con 0 y 5% HPDC en  $\mu\text{g/g}$  de muestra.

En la Tabla 6.6, se detalla la caracterización de los compuestos fenólicos encontrados en extractos etanólicos de la HPDC y de muffins con 0 y 5% de HPDC por HPLC-MS / MS. Quince polifenoles, en su mayoría ácidos fenólicos, se han identificado en el extracto etanol:agua (53:47) de la HPDC. El extracto se caracterizó por la abundancia prominente de cuatro compuestos principales identificados como ácido rosmarínico (1700,34  $\mu\text{g/g}$  de HPDC) y su derivado glicosilado salviaflasido I y II (814,88 y 911,83  $\mu\text{g/g}$  de HPDC respectivamente) y el ácido fertarico (594,40  $\mu\text{g/g}$  de HPDC) siendo la suma de ellos cuatro cerca del 86% de la composición total de los polifenoles. Estos compuestos también fueron identificados como mayoritarios en los extractos de acetona/agua detallado en la sección 4. Los compuestos identificados y cuantificados en este trabajo están en concordancia con los reportados previamente en extractos de semillas de chía (Martínez y Paredes, 2014). No obstante, a pesar de que algunas publicaciones reportaron la presencia de flavonoides como quercetina, miricetina, daidzein o kaempferol (Ayerza, 2013; Capitani et al., 2012; Martínez y Paredes, 2014; Marineli et al., 2014; Rahman et al., 2017), en extractos etanólicos de la HPDC tampoco se pudo detectar ninguna de estas estructuras, excepto por una cantidad muy baja de miricetina. Por último, un ácido orgánico y un aminoácido fueron también identificados (ácido quínico y triptófano, respectivamente) en la HPDC. Aunque estos

compuestos no son precisamente polifenoles, algunos autores han comprobado su efecto antioxidante (Nayak y Buttar, 2016; Pero, Lund y Leanderson, 2009).

Las diferencias en los perfiles reportados pueden atribuirse a la mezcla de disolventes utilizada en la obtención de los extractos (Alves et al., 2019; Scapin et al., 2016), en el origen diferencial de las semillas (de Falco et al., 2018) y la metodología utilizada en la identificación de compuestos fenólicos.

**Tabla 6.6. Caracterización de los compuestos fenólicos de HPDC y muffins con HPDC**

	Compuestos	HPDC	MF 5%HPDC	MF 0%HPDC
1	ác. Quínico	95,19	7,82	6,36
2	Danshesu	8,80	0,91	< LoQ
3	ác. Caftárico	105,20	<LoQ	< LoQ
4	Triptófano	26,38	2,66	1,89
5	Hexosido de ác. Cafeico	32,09	< LoQ	< LoQ
6	ác. Salvianólico I/H	38,70	< LoQ	< LoQ
7	áihexósido de miricetina	3,07	< LoQ	< LoQ
8	ác. Fertárico	594,40	< LoQ	< LoQ
9	ác. Salvianolico E/B/L	207,56	< LoQ	< LoQ
10	ác. Cafeico	16,30	< LoQ	< LoQ
11	Salviaflasido isomero I	814,88	18,40	< LoQ
12	Salviaflasido Isomero II	911,83	4,54	< LoQ
13	ác. Rosmarínico Isomero II	1700,34	3,71	< LoQ
14	ác. Salvianolico C	112,50	< LoQ	< LoQ
15	Rosmarinato de metilo	43,48	2,55	< LoQ
	<b>SUMA</b>	<b>4710,72</b>	<b>40,59</b>	<b>8,25</b>

< LoQ, por debajo del límite de cuantificación. Los resultados están expresados en µg de polifenoles por g de material extraído.

Los efectos del proceso de horneado en el perfil fenólico de muffins también fueron evaluados (Tabla 6.6). De los 15 compuestos identificados en la HPDC, un poco menos de la mitad del total de los compuestos (Ácido quínico, dansensu, triptofano, isómeros de salviaflasido I y II, ácido rosmarínico y rosmerinato de metilo) no se vieron afectados por la cocción en muffins con 5% HPDC. No obstante, en muffins sin el agregado de HPDC se identificaron solamente 2 compuestos (ácido quínico y Triptófano). Es importante recordar que el proceso de cocción en las pastas afectó en menor medida ya que doce de los 14 compuestos fenólicos detectados en la HPDC fueron identificados después de la cocción de las pastas, dejando solo dos componentes: la metilquercetina, debido a su baja abundancia, y el hexósido de ácido cafeico, que se detectó de manera deficiente en los extractos de las pastas que podrían

haberse visto afectados por el proceso de manufactura de estas (Sección 4). Esta menor identificación de compuestos en muffins podría atribuirse a las mayores temperaturas de proceso que conlleva el horneado de los muffins (horneado a 180 °C), algunos compuestos que poseen estructuras con enlaces lábiles podrían romperse o degradarse en condiciones de temperaturas mayores a las de ebullición del agua de cocción de las pastas.

Por otro lado, este tipo de compuestos podría interactuar con los componentes de la nueva matriz (en este caso, muffins) como los lípidos y los carbohidratos, haciendo que estos compuestos resulten menos disponibles y dificultando su extracción (Dolinsky et al., 2016; Jakobek, 2015; Kardum y Glibetic, 2018).

Ninguno de estos compuestos de polifenoles se identificó en muffins con 0% HPDC a excepción del ácido quínico y el triptófano, que se encontraron en una concentración (6,36 y 1,89 µg / g, respectivamente). Por lo tanto, es plausible inferir que el ácido quínico y triptófano podrían provenir principalmente de la harina de trigo (Podio et al., 2017).

A pesar de la aparente disminución de la suma de los polifenoles individuales analizados en los muffins suplementados, se evidenció una suma significativamente mayor de polifenoles cuantificados en muffins con 5% HPDC en comparación a los muffins (0% HPDC). Estos resultados están de acuerdo tanto con los valores del contenido fenólico total obtenidos por Folin-Ciocalteu.

#### 6.4. Conclusiones

La adición de la HPDC a una matriz alimentaria distinta (muffins) mejoró el contenido proteínas en un 15%, el contenido de fibra dietética en un 46%, el contenido de minerales en un 10%, el contenido de polifenoles totales en un 85% con una mejor capacidad antioxidante del 58% en comparación a los muffins control. Además se confirmó la presencia de 15 compuestos polifenólicos en los extractos etanólicos de la HPDC, la mayoría derivaron de los ácidos hidroxicinámicos siendo los principales compuestos identificados el ácido rosmarínico, salvaflasido I y II y el ácido fertárico. A su vez, 7 del total de los 15 compuestos no se vieron afectados por la cocción en muffins con 5% HPDC. No obstante, la temperatura (180 °C) del proceso de horneado de los muffins con HPDC afectó en mayor medida la cantidad de compuestos fenólicos identificados en comparación a la cocción de las pastas con HPDC.

La incorporación de la HPDC en la formulación de los muffins modificó las características físicas de los mismos, provocando un aumento de la viscosidad aparente de los batidos, en la firmeza de la miga, oscureció la corteza y la miga, disminuyó la altura y el volumen los muffins. La evaluación de la microestructura reveló que la incorporación de HPDC produce una estructura de miga más abierta y heterogénea en relación con los muffins control.

Durante el almacenamiento los muffins perdieron humedad, aumentaron su firmeza y disminuyeron el volumen específico. A mayor contenido de HPDC, más rápido ocurre el envejecimiento de los muffins. La proporción de poros pequeños disminuye con el tiempo de almacenamiento.

Los resultados muestran que la HPDC puede ser un buen ingrediente nutricional y funcional para ser usado en productos horneados elaborados a base de harina de trigo. Además, la utilización de este ingrediente en formulaciones de alimentos podría agregar mayor valor a la cadena agroalimentaria. Aunque se observaron algunos cambios en la calidad de los productos horneados, se podría proponer una incorporación del 5% de la harina de chía parcialmente desgrasada en muffins para obtener un producto con excelentes propiedades nutricionales, antioxidantes y sensoriales con una calidad tecnológica razonable.

**7. ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL USO  
DE MICROONDAS Y ULTRASONIDO EN LA  
EXTRACCIÓN ASISTIDA DE POLIFENOLES A  
PARTIR DE LA HPDC**

---

## **7. ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL USO DE MICROONDAS Y ULTRASONIDO EN LA EXTRACCIÓN ASISTIDA DE POLIFENOLES A PARTIR DE LA HPDC**

### **7.1. Introducción**

Los compuestos fenólicos han adquirido un renovado interés por parte de muchos investigadores y de la industria alimentaria debido a los posibles efectos positivos que pueden tener sobre la salud humana, atribuidos principalmente a sus actividades antioxidantes (Bucić-Kojić et al., 2011). Los beneficios potenciales de los polifenoles de las plantas se evalúan desde el concepto de estrés oxidativo, el cual surge de un exceso de formas activas del oxígeno, y se relaciona con el envejecimiento, enfermedades cardiovasculares y del sistema nervioso, entre otros (Santos-Buelga et al., 2010).

El proceso de extracción es importante en el aislamiento de los compuestos fenólicos. La capacidad de extracción depende del disolvente, la naturaleza y preparación del material a extraer, la estructura química de los compuestos fenólicos, temperatura, tiempo de extracción, relación sólido-líquido, método de extracción empleado y la posible presencia de sustancias de interferencia (Bucić-Kojić et al., 2011). Las técnicas clásicas de extracción de compuestos bioactivos se basan en el uso de diferentes solventes (o una mezcla de disolventes) y el uso de calor (Soxhlet, maceración e hidrodestilación). Estos métodos tradicionales presentan limitaciones en términos del tiempo de procesamiento, el costo y cantidad de disolventes que pueden ser utilizados. También existe el problema del efecto de la temperatura del solvente sobre compuestos termolábiles. Estas limitantes han dado paso al desarrollo de tecnologías novedosas como la asistida por microondas o la asistida por ultrasonido (Radrigán et al., 2017) que podrían ser utilizadas para la extracción de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de chía para su posterior utilización en el desarrollo de alimentos funcionales.

La extracción asistida por ultrasonido (S) es mucho más rápida que los métodos tradicionales debido a la elevada superficie de contacto entre la fase sólida y líquida, y a la reducción del tamaño de partículas (Casazza et al., 2010). Además, la cavitación acústica produce la ruptura de las paredes celulares, intensificando la transferencia de masa y mejorando el efecto de penetración del disolvente en el tejido vegetal y capilar (Da Porto et al., 2013).

La extracción asistida por microondas (MW) se utiliza en una amplia variedad de materiales vegetales. Ofrece una rápida entrega de energía al volumen de disolvente y matriz vegetal, con un posterior calentamiento de ambos de manera eficiente y homogénea, debido a la rotación del dipolo del solvente. Dado que el agua dentro de la matriz vegetal absorbe la energía del microondas, se provoca la ruptura celular por sobrecalentamiento interno, lo que facilita la absorción de los productos químicos de la matriz, mejorando la recuperación de nutraceuticos (Wang et al., 2006).

El presente estudio tiene como finalidad investigar dos métodos alternativos a la extracción convencional (C) como ser: la extracción asistida por ultrasonido (S) y la extracción asistida por microondas (MW), sobre el rendimiento del proceso de extracción de polifenoles usando el mismo residuo remanente de la extracción del aceite de semillas de chía que se utilizó durante las anteriores secciones.

## **7.2. Polifenoles**

El creciente interés de los consumidores se ha elevado a una serie de "súper alimentos" motivada por su alto contenido de polifenoles (Panza et al., 2008; Dreosti, 2000). Estos compuestos constituyen un grupo heterogéneo de moléculas, que se diferencian según su estructura química (Manach et al., 2004), y debido a la considerable diversidad de sus estructuras, los polifenoles se consideran aún más eficiente que otros antioxidantes. El principal motivo del interés de científicos y consumidores por los polifenoles es el reconocimiento de sus propiedades antioxidantes, su gran abundancia en nuestra dieta, y su probable papel en la prevención de diversas enfermedades asociadas con estrés oxidativo, como el cáncer y enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Scalbert et al., 2005).

### **7.2.1. Beneficios que se obtienen de una dieta rica en polifenoles**

Numerosos son los estudios que han mostrado que los polifenoles poseen propiedades antioxidantes, que inhiben la peroxidación lipídica y que tienen capacidad de capturar radicales libres hidroxilos, supéroxido y alcoxi (Sichel et al., 1991). Además, los polifenoles protegen de la oxidación a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) desempeñando un papel clave en la prevención de la arteriosclerosis. También pueden prevenir la trombosis, inhibiendo la agregación plaquetaria, la permeabilidad y fragilidad capilar (Mazza, 2000). Son considerados reguladores del sistema inmune y

como antiinflamatorios, probablemente debido a la modulación del metabolismo del ácido araquidónico, reduciendo los niveles de tromboxano. Modulan la actividad enzimática de la ciclooxigenasa, lipoxigenasa, fosfolipasa A2, hialuronidasa, e inhiben la acción de la angiotensina convertasa, mieloperoxidasa (que produce el hipoclorito y otros prooxidantes) y xantinoxidasa (que produce los radicales superóxidos). Hay que destacar el potencial anticarcinógeno, ya que pueden estimular el bombeo de ciertos agentes cancerígenos hacia el exterior de las células o bien activar a las enzimas de detoxificación (Mazza, 2000).

### 7.2.2. Extracción de polifenoles

La extracción de polifenoles es una etapa importante para el aislamiento de estos. Debido a la tremenda complejidad y variabilidad entre compuestos fenólicos en términos de polaridad, estructura química, cantidades relativas en la muestra y complejidad de las matrices, no existe un protocolo de extracción estandarizado.

Comúnmente, la extracción de polifenoles de plantas se ha realizado utilizando técnicas de extracción convencionales como la extracción sólido-líquido (C) y extracción líquido-líquidos (LLE). Estas técnicas están asociadas al uso de alto volumen de solventes, largos tiempos de extracción o baja selectividad, y reproducibilidad (Herrero et al., 2013). Sin embargo, se han desarrollado nuevas técnicas avanzadas de extracción para mejorar los aspectos negativos de los métodos de extracción de polifenoles convencionales. Las principales extracciones avanzadas propuestas para lograr la extracción de polifenoles han sido extracción asistida por ultrasonido (S), extracción asistida por microondas (MW), extracción líquida presurizada (PLE), extracción con agua caliente a presión (PHWE), extracción por fluido supercrítico (SFE), dióxido de carbono-etanol expandido (CXE), extracción por alta presión hidrostática (HHPE), y técnicas de extracción no térmicas.

### 7.2.3. Extracción convencional (C)

Las técnicas de extracción convencionales siguen siendo las más utilizadas para recuperar polifenoles de matrices naturales. Entre las técnicas de extracción convencionales, la extracción sólido líquido es la más utilizada para extraer polifenoles de matrices sólidas. La muestra se pone en contacto con un solvente o una mezcla de solventes donde se disuelven los analitos objetivo. Las condiciones óptimas de extracción de los polifenoles dependen de su solubilidad en el disolvente. Hay muchos

estudios relacionados con esta metodología de extracción de compuestos fenólicos de diferentes matrices como las cáscaras de mango, sorgo o melón, entre otras (Mallek-Ayadi et al., 2017; Kang et al., 2016; Shaheen et al., 2017).

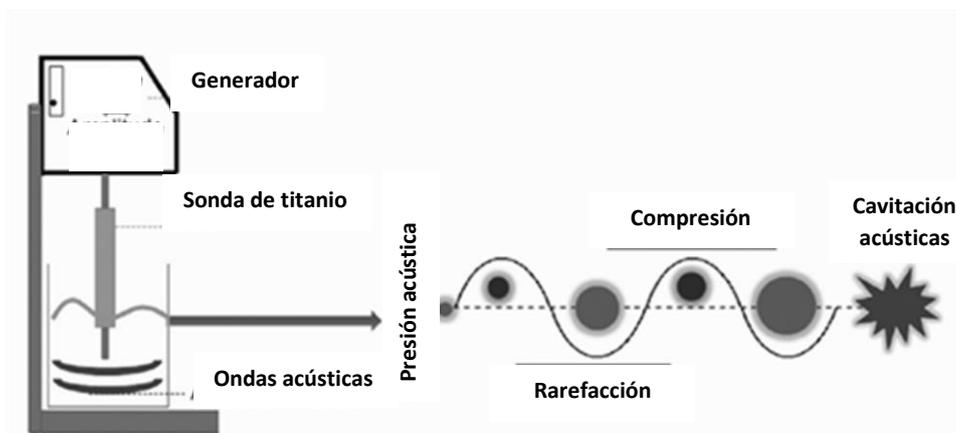
Este tipo de extracción se lleva a cabo mediante agitación, calentamiento y reflujo a diferentes temperaturas y tiempos de extracción. Diferentes estudios mostraron que los tiempos de extracción, temperaturas y solventes más comunes fueron de 15 min a 72 h a temperatura ambiente hasta 70 ° C empleando soluciones compuestas de agua, etanol/agua y metanol/agua como disolventes en diferentes porcentajes (Chiang et al., 2017; Gontijo et al., 2017; Mallek-Ayadi et al., 2017; Parikh y Patel, 2017; Sharma et al., 2017),

#### **7.2.4. Metodologías novedosas de extracción**

##### **7.2.4.1. Extracción asistida por ultrasonido (S)**

La extracción asistida por ultrasonido se usa comúnmente hoy en día en la tecnología de alimentos como un sustituto de la técnica de extracción convencional, para mejorar la recuperación de compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales (Chemat y Khan, 2011). Esta técnica se ha aplicado en varios alimentos o subproductos ricos en polifenoles, como las uvas (Carrera et al., 2012), espinacas (Altemimi et al., 2015), granos de café (Al-Dhabi et al., 2017), duraznos y calabazas (Altemimi et al., 2016). La extracción asistida por ultrasonido consiste en la transmisión de radiación de ultrasonido en diferentes tipos de dispositivos como baños de agua, sondas, sonoreactores y bocinas de microplacas (Tadeo et al., 2010). La energía derivada de las ondas de sonido que se propagan en los medios líquidos (con frecuencias por encima de 20 kHz) facilita la extracción de compuestos bioactivos de la muestra (Carrera et al., 2012). Tras la propagación de las ondas ultrasónicas, ocurren dos ciclos alternativamente, un ciclo de alta presión (llamado compresión) y el segundo de baja presión (llamado expansión), luego la serie de esos ciclos crea una presión acústica (Figura 7.1) (Wu et al., 2012). Durante el ciclo de expansión, aparecen burbujas en el líquido, y cuando estas burbujas aumentan drásticamente y alcanzan un volumen para el cual ya no pueden absorber energía, se someten durante un ciclo de alta presión a un colapso implosivo llamado cavitación (Kim y Zayas, 1989; Vardanega et al., 2014). Durante la implosión de las burbujas de cavitación, el principal efecto físico y mecánico del ultrasonido es la producción de microjets dirigidos a alta velocidad a una superficie sólida (Chemat y Khan, 2011). Además, durante la implosión, se alcanzan

localmente temperaturas muy altas (5000 °C) y presiones de 2000 atm. Todos estos parámetros (alta temperatura, alta presión y la turbulencia mejoran la transferencia de masa a través de las membranas celulares (Wang et al., 2008). La aplicación de la extracción asistida por ultrasonido se caracteriza por un aumento de los rendimientos de extracción, reducción del tiempo de extracción y una disminución en el consumo de disolvente al mejorar el área de contacto superficial entre la matriz y el solvente de extracción (Samaram et al., 2014).



**Figura 7.1. Mecanismo de acción de la extracción por ultrasonido**

En los últimos años, la extracción por ultrasonido ha sido la técnica de extracción avanzada más empleada para la recuperación de polifenoles de fuentes naturales. Esta técnica consiste en la formación de cavitaciones acústicas a través de ultrasonidos, ayudando a la penetración del solvente en la matriz, así como a la liberación de polifenoles debido a alteraciones producidas en la pared celular de la matriz por cavitación de burbujas (Formación de cavidades llenas de vapor o de gas en el seno de un líquido en movimiento) (Corbin et al., 2015).

Los parámetros más importantes involucrados son la frecuencia e intensidad de la radiación, el tiempo de extracción, la temperatura y la composición del disolvente. En este sentido, una baja intensidad de ultrasonidos no proporciona alteraciones en las propiedades físicas y químicas de la pared celular de la matriz. No obstante, los ultrasonidos de alta intensidad aumentan la presión y temperatura debido a la cavitación de la burbuja, que produce una ruptura en la pared celular de la matriz con la posterior liberación de polifenoles (Herrero et al., 2012). Por lo general, la potencia y la frecuencia empleadas para la extracción de polifenoles suelen ser de 50 a 400 W y 20 a 60 kHz. La potencia de ultrasonido es muy importante para garantizar

una extracción óptima, ya que la potencia excesiva causa pequeñas burbujas que disminuyen el rendimiento de extracción (Al-Dhabi et al., 2017).

Las principales ventajas de esta metodología son los menores tiempos de extracción y temperaturas en comparación a las técnicas de extracción convencionales (C). De hecho, la temperatura más utilizada la extracción por ultrasonido es la temperatura ambiente (López-Cobo et al., 2016; Medina et al., 2017; Tian et al., 2017; Yahia et al., 2017). Sin embargo, la temperatura de la muestra aumenta con el tiempo de extracción.

Aunque la mayoría de los estudios no han tenido en cuenta la temperatura, debe controlarse para evitar la degradación térmica de los polifenoles. Es por eso que diferentes investigadores regularon este parámetro, utilizando temperaturas entre 40 y 65 ° C para prevenir la degradación de los fenólicos (Arend et al., 2017; Espada-Bellido et al., 2017; Medina et al., 2017; Valadez-Carmona et al., 2017).

#### **7.2.4.2. Extracción asistida por microondas (MW)**

Las microondas son ondas electromagnéticas ubicadas en el espectro entre 300 y 300,000 MHz (Motasemi y Afzal, 2013). El calentamiento por microondas está basado en la polarización dipolo. El contacto de las microondas con las moléculas polares induce el mecanismo de rotación del dipolo. La alineación de los dipolos con el campo eléctrico de las microondas provoca fricciones moleculares que liberan calor (Kostas et al., 2017). A diferencia de las técnicas de calentamiento convencionales, donde el calor se transfiere a un material mediante convección o conducción, en el calentamiento por microondas, la energía electromagnética se convierte en calor dentro del propio material. Esto explica la reducción en el tiempo de calentamiento debido al efecto de calentamiento instantáneo (Farhat, 2010). La efectividad de la extracción asistida por microondas en polifenoles puede depender de la potencia, el tamaño de partícula y el tiempo de irradiación (Bouras et al., 2015).

La extracción asistida por microondas se ha aplicado a diferentes matrices para extraer polifenoles (Routray y Orsat, 2014). Esta técnica de extracción permite una alta difusión de fluidos porque se está aplicando energía de microondas en combinación con alta temperatura y presión controlada. Eso se basa en las interacciones de las moléculas polares en el medio por rotación de dipolo y conducción iónica inducida por microondas, que causan el calentamiento del disolvente. En este sentido, el calor

facilita la difusividad de los compuestos fenólicos desde la matriz hasta el solvente (Routray y Orsat, 2014). Para que el solvente o la matriz puedan absorber las microondas, tiene que contener moléculas dipolo. El efecto de microondas depende en gran medida de la naturaleza tanto del solvente como de la matriz (Flórez et al., 2015).

Varios parámetros deben seleccionarse cuidadosamente para extraer polifenoles con éxito, como la composición del disolvente, la relación sólido-líquido, la temperatura de extracción, la potencia del microondas, el tiempo de extracción, entre otros. Los tiempos de extracción usualmente empleados son de 1 a 3 min. Sin embargo, el tiempo y el volumen del solvente, dependen de la matriz y del tipo de polifenoles (Belwal et al., 2017).

Las principales ventajas de usar microondas para la extracción de polifenoles son los tiempos de extracción más cortos y volúmenes más bajos de solvente que las técnicas de extracción convencionales (Dahmoune et al., 2014; Herrero et al., 2012). En general, el etanol, el metanol, el agua, la acetona y sus combinaciones son los disolventes más utilizados para la extracción de polifenoles por microondas (Dahmoune et al., 2014; Moreira et al., 2017; M'hiri et al., 2015). Estos disolventes se emplean debido a su mayor poder de disipación con respecto a los disolventes no polares como el hexano (Belwal et al., 2017). La temperatura de extracción es un parámetro relacionado con la potencia del magnetrón del equipo de microondas, porque la temperatura del solvente y la muestra aumentan con la aplicación de la energía. Generalmente se aplican potencias de hasta 500-900 W para extraer compuestos fenólicos. Alta potencia de microondas durante largos tiempos de extracción puede provocar la degradación de los compuestos fenólicos más sensibles.

#### **7.2.5. Contenido de polifenoles**

Se han desarrollado varios métodos espectrofotométricos para la cuantificación de compuestos fenólicos a partir de subproductos de plantas y alimentos, así como para medir la capacidad antioxidante de sus extractos. Los ensayos espectrofotométricos son adecuados para el análisis de polifenoles como el espectro UV-Vis se atribuye a las transiciones electrónicas que tienen lugar dentro de los grupos OH-fenólicos. La aparición de las transiciones es característica de las diferentes clases de compuestos fenólicos (Sanna et al., 2014). Estos métodos se basan en la determinación de diferentes grupos estructurales presentes en compuestos fenólicos

para proporcionar el contenido total de polifenoles. Además, estos ensayos tienen la ventaja de ser simples, de bajo costo y relativamente rápidos. Las desventajas son la poca información en cuanto a qué tipos de compuestos fenólicos hay en la muestra y la veracidad real de los datos. Otra desventaja es que los ensayos no están estandarizados, lo que dificulta la comparación de los datos de la literatura.

#### **7.2.5.1. Determinación de compuestos fenólicos totales**

El método de Folin-Ciocalteu (FC) o Folin-Denis es el ensayo más utilizado para cuantificar el total de compuestos fenólicos presentes en una muestra. El ensayo de FC se basa en la reacción redox de compuestos fenólicos con una mezcla de tungsteno y molibdeno en un medio alcalino para crear un complejo de color azul que se puede cuantificar a 760 nm (Zhang et al., 2006). El reactivo FC reacciona fuertemente con compuestos que fácilmente donan electrones como los fenólicos mono y dihidroxilados. Luego, los resultados obtenidos en estas mediciones se expresan como mg de equivalente de ácido gálico/g de extracto seco o muestra mg GAE/g en sólidos y/o mg de equivalente de ácido gálico/L (mg GAE/L) en muestras líquidas.

El principal inconveniente de este método se debe a la capacidad de otros compuestos que pueden estar presentes en la muestra para donar electrones, lo que provoca una sobreestimación de las propiedades reductoras y dificulta la comparación directa de muestras con diferentes tipos de compuestos fenólicos (Alexandre-Tudo et al., 2017; Everette et al., 2010). Por esta razón, el ensayo de FC se considera un ensayo no específico para compuestos fenólicos y, por lo tanto, no debe considerarse un método preciso para la determinación del contenido fenólico total (Magalhaes et al., 2008).

#### **7.2.5.2. Optimización de la extracción de polifenoles**

La búsqueda de mejorar el rendimiento de los sistemas, diseñar un proceso que sea eficaz reduciendo los costos y el tiempo, optimizar el resultado para un sistema, es el propósito y desafío principal de la industria de los alimentos (Baş y Boyacı, 2007). Para la optimización en los procesos alimentarios se solía investigar el efecto de los cambios de un parámetro en una respuesta, mientras que todos los demás se mantenían en un nivel constante (Bezerra et al., 2008).

Para mejorar el rendimiento y eficiencia de un proceso, los estudios de optimización pueden llevarse a cabo utilizando métodos estadísticos multivariados. La metodología de superficie de respuesta (MSR) es la técnica estadística multivariable más utilizada en la optimización de procesos alimentarios (Baş y Boyacı, 2007). La MSR es una colección de métodos estadísticos y matemáticos establecidos en el ajuste de un modelo polinomial a los datos que deben describir el comportamiento de un conjunto de datos con el propósito de hacer predicciones estadísticas. El enfoque es útil para optimizar, diseñar, desarrollar y mejorar procesos en los que una respuesta o respuestas se ven afectadas por varias variables (Ghorbannezhad et al., 2016; Kaushik et al., 2006). Antes de utilizar el enfoque MSR, se debe seleccionar el diseño experimental correcto que designará qué tratamientos se deben realizar en la región experimental que se está estudiando (Bruns et al., 2006).

Box (1950) desarrolló el enfoque de la MSR. Su mayor ventaja es el reducido número de experimentos que se requieren para evaluar múltiples parámetros con sus interacciones (Bruns et al., 2006; Ge et al., 2002). El término Metodología de Superficie de Respuesta se derivó de la vista gráfica creada después de ajustar el modelo matemático. MSR describe el efecto de las variables independientes en las variables dependientes. Además, el enfoque también genera un modelo empírico. “El diseño experimental” es el campo experimental que se investigará, que se define por los límites máximo y mínimo de las variables independientes. “El diseño experimental” es un sistema específico de experimentos definidos por una matriz creada con las diferentes combinaciones de niveles de las variables independientes (Bezerra et al., 2008).

Los procesos de la industria alimentaria atraviesan una amplia gama de factores que los afecta; por lo tanto, la evaluación del efecto individual de cada factor es imposible debido al alto costo y la cantidad de corridas necesarias. Para evitar esto, el investigador puede optar por utilizar primero un diseño de detección para reconocer aquellos factores que tienen grandes efectos en la respuesta. De hecho, la proyección es el primer paso de la optimización. Este paso se puede hacer utilizando diseños factoriales completos o diseños fraccionados o diseños de Plackett-Burman. En tales diseños, solo se estiman los efectos principales (Lundstedt et al., 1998; Myers et al., 2016).

Una vez identificados los factores importantes que afectan a un proceso, comúnmente son necesarias corridas adicionales para desarrollar la localización de las condiciones óptimas de los factores. Puesto que “óptimo” implica a menudo un mínimo o un máximo, los diseños para la optimización implican por lo menos tres niveles por cada factor para poder estimar la curvatura. En STATGRAPHICS, diferentes tipos de diseños son populares para la optimización de la respuesta y se han agrupado todos como Diseños de Superficie de Respuesta. Estos incluyen:

- Diseño Central Compuesto: consiste en un factorial completo con puntos al centro o un diseño factorial fraccionado con resolución V, más agregar puntos estrella usados para modelar la curvatura con respecto a cada factor.

Un tipo popular de experimento para optimización empieza con un diseño factorial estándar a dos niveles y agrega dos corridas adicionales para cada factor. Las corridas adicionales, llamadas puntos estrella, son localizadas en distancias pequeñas abajo del nivel bajo de un factor y a la misma distancia arriba del nivel alto, esto permite la estimación de la curvatura con respecto a ese factor. Mientras cada factor se empieza variándose, los otros factores son fijados en sus valores centrales.

- Diseño Factorial a Tres-Niveles: consiste en combinaciones de 3 niveles de cada factor experimental.

El diseño central compuesto implica cinco niveles de cada factor experimental. Diseños más simples pueden realizarse usando solamente tres niveles por cada factor, un nivel bajo (-), nivel central (0), y un nivel alto (+). Los diseños factoriales a tres niveles generan corridas en cada combinación de estos tres niveles.

- Diseño Box-Behnken: consiste en diseños a 3 niveles incluyendo un subconjunto de corridas de un factorial completo a tres niveles.

Un tipo de diseño que presenta ser una alternativa razonable contra el central compuesto fue inventado por Box y Behnken para situaciones cuando el experimentador desea evaluar solamente 3 niveles de los factores, pero se quiere que el diseño también sea rotatable. Mientras el diseño central compuesto con puntos al centro de cara centrada también tiene 3 niveles, este coloca la

mayoría de los puntos del diseño en las esquinas de la región experimental. Si esa región define las condiciones viables para el proceso, el central compuesto con cara centrada es una opción natural. Sin embargo, si al comienzo del análisis de una combinación particular de factores y se está buscando simplemente las mejores condiciones, un arreglo más esférico de los puntos del diseño resultaría más eficiente.

- Diseño Draper-Lin: Un Diseño central compuesto más pequeño en el cual una porción central del diseño es menor que una resolución V ( $2^{[(k-1) - (p-1)]}$ ). (STATGRAPHICS - Rev. 9/14/2006).

Cuando los costos de experimentación son altos, el experimentador desearía reducir el número de corridas lo más pequeño posible. El diseño Draper-Lin del catálogo de diseño en STATGRAPHICS es un diseño compuesto reducido que consiste en un factorial fraccionado o Plackett-Burman con menor resolución V ( $2^{[(k-1) - (p-1)]}$ , más unos puntos estrella (corridas adicionales) (STATGRAPHICS - Rev. 9/14/2006 2006)

A fin de seguir sacando provecho de las bondades de la HPDC en cuanto a sus propiedades antioxidantes, el objetivo de esta sección fue optimizar y evaluar si la aplicación de distintas tecnologías novedosas, con la utilización de un solvente amigable con el ambiente, optimizan el proceso de extracción de polifenoles totales a partir de la HPDC.

### 7.3. Materiales y métodos

#### 7.3.1. Extracción de polifenoles totales CTP

Muchos autores han propuesto diferentes métodos de extracción, solventes y condiciones para obtener un mayor rendimiento de extracción de compuestos fenólicos de fuentes naturales entre ellas la chía y evaluaron la efectividad de cada metodología (Reyes-Caudillo et al. 2008; Kim et al., 2006; Kosbar et al., 2005; Naczki y Shahidi, 2004). En tal sentido, se realizó una revisión exhaustiva en cuanto a los parámetros que otros autores utilizaron para la extracción de compuestos polifenólicos y se identificaron los máximos y los mínimos de cada parámetro de acuerdo a bibliografía consultada (Diaz et al. 2017; Chew et al. 2011; Bampouli et al. 2014; Corona-Jimenez

et al. 2016; Alves et al. 2019; Routray y Orsat, 2014), se realizó un estudio preliminar con el fin de optimizar la extracción de polifenoles para cada metodología (extracción convencional sólido-líquido, por ultrasonido y microondas) por separado con sus propios parámetros a fin de identificar la eficiencia entre las distintas metodologías en cuanto a los tiempos de extracción utilizados.

En la Tabla 7.1 se detallan algunos ejemplos relacionados a la extracción de compuestos fenólicos a partir de matrices naturales:

**Tabla 7.1. Ejemplos sobre la extracción y el análisis de polifenoles a partir de matrices naturales**

Fuente	Compuesto de interés	Metodologías de extracción y parámetros	Referencia
Tomate	Ácidos fenólicos y flavonoides	S. Solvente: 48% de metanol con 0,1% de hidroxitolueno butilado. Frecuencia: 60 Hz. Tiempo: 177 min.	Martí et al. (2017)
Terminalia chebula Retz	Compuestos fenólicos totales y análisis de ácidos fenólicos.	S. Solvente: 65% de etanol. Potencia: 400 W. Tiempo: 1 h.	Zou et al. (2016)
Manilkara hexandra	Compuestos fenólicos totales y análisis de ácidos fenólicos y flavonoides.	C. Solvente: metanol al 80%. Tiempo: 90 minutos. Temperatura ambiente.	Parikh y Patel (2017)
Nuez	Ácidos fenólicos y flavonoides.	C. Solvente: Desengrasante con hexano. Tiempo: 30 min. Temperatura: ambiente. S. Solvente: 80% de etanol.	Gómez-Caravaca et al. (2008)

Temperatura: 40 ° C.  
Tiempo: 30 min (x2).

Frutos de olivo ( <i>Olea europaea</i> L.)	Compuestos fenólicos totales y análisis de ácidos fenólicos y flavonoides.	<p><b>S.</b></p> <p>Solvente: 80% de metanol.</p> <p>Potencia: 240 W. Temperatura: 47 ° C. Tiempo: 30 min.</p> <p><b>C.</b></p> <p>Solvente: 80% de metanol.</p> <p>Temperatura: 50 ° C. Tiempo: 4.7 h.</p>	Deng et al. (2017)
Hojas de arándanos	Compuestos fenólicos totales y antocianinas	<p><b>C.</b></p> <p>Solvente: etanol al 30% con 2,4 mL de ácido cítrico 1,5 M.</p> <p>Tiempo: 24 h. Temperatura: ambiente.</p> <p><b>S.</b></p> <p>Solvente: etanol al 30% con 2,4 mL de ácido cítrico 1,5 M en un volumen final de 80 mL.</p> <p>Frecuencia: 40 kHz. Tiempo: 1 h.</p> <p><b>MW.</b></p> <p>Solvente: combinación de etanol al 30% y ácido cítrico 1,5 M en una proporción 97: 3 (v/v).</p> <p>Potencia: 800 W. Frecuencia: 2450 MHz.</p> <p>Tiempo: 24 min.</p>	Routray y Orsat (2014)
Pistacia lentiscus L.	Compuestos fenólicos totales y flavonoides.	<p><b>C.</b></p> <p>Solvente: etanol al 60%. Temperatura: 60 ° C. Tiempo: 2 h.</p> <p><b>S.</b></p> <p>Solvente: 46% de etanol. Frecuencia: 20</p>	Dahmoune et al. (2014)

kHz. Temperatura: 27 °

C. Tiempo: 15 min.

**MW.**

Solvente: 46% de  
etanol. Tiempo: 1 min.

Densidad de potencia:  
17,86 W / mL.

---

C: extracción convencional (sólido-líquido), S: extracción asistida por ultrasonido,  
MW: extracción asistida por microondas

206

### 7.3.2. Optimización del rendimiento por superficie respuesta

La eficacia del protocolo de extracción de polifenoles provenientes de la HPDC con la utilización de un solvente amigable con el ambiente (etanol:agua) a través del método de extracción convencional sólido/líquido (C), se comparó con la extracción asistida por ultrasonido (S) y por la extracción asistida por microondas (MW).

Con el fin de identificar la mejor combinación de variables para un proceso extractivo de polifenoles de alto rendimiento se planteó un diseño experimental (Compuesto reducido de Draper-y-Lin) mediante el programa estadístico STARTGRAPHICS, en el cual se estudiaron los efectos de 4 factores/variables en 18 corridas para cada metodología de extracción.

#### 7.3.2.1. Extracción sólido/líquido asistida por calentamiento convencional (C)

El tratamiento de extracción por el método convencional (C) se llevó a cabo en un baño de acero inoxidable con agitación y control de temperatura marca Vicking Dufnoff 5002, Argentina. Se aplicó un diseño experimental reducido de Draper-Lin donde se estudiaron los efectos de 4 variables independientes (relación muestra/solvente, concentración del solvente, temperatura y tiempo de extracción) sobre el rendimiento de la extracción de polifenoles como variable respuesta. Se realizaron 18 corridas experimentales, con una muestra para ser tomada en cada ejecución. El modelo por defecto fue cuadrático con 15 coeficientes e identificó 2 puntos centrales.

Para la preparación de los extractos se pesaron entre 0,5 g y 0,8 g de HPDC según corresponda para cada ejecución, en 10 mL de una solución de etanol:agua (entre 50 a 80% etanol y 50 a 20% agua), las mezclas fueron llevadas a agitación constante en un

baño en una variación de temperatura entre 30 y 50 °C durante 2 a 7 h bajo oscuridad. Posteriormente, las soluciones fueron centrifugadas a 10000 g/15 °C por 30 min y finalmente se extrajo el sobrenadante por filtración y se almacenaron los extractos a -80 °C hasta su posterior análisis. En la tabla 7.2 se muestran los factores y niveles propuestos para la extracción por el método convencional (C).

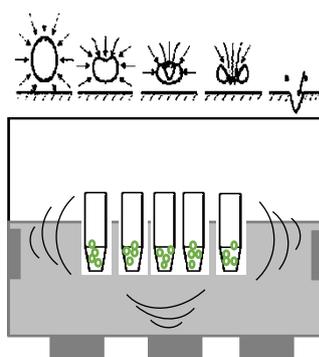
**Tabla 7.2. Factores y niveles propuestos para la extracción de polifenoles por extracción sólido-líquido (C) mediante MSR por Draper-Lin.**

Factores	Nivel mínimo	Nivel máximo
Proporción muestra/solvente (g/mL)	0,05	0,08
Temperatura (°C)	30,0	50,0
Etanol:agua	50:50	80:20
Tiempo (h)	2,0	7,0

Los datos experimentales se ajustaron al modelo propuesto utilizando un software comercial (Statgraphics). Las diferencias significativas entre los resultados se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). El rendimiento de extracción de polifenoles se definió como la relación porcentual sobre el total del contenido de polifenoles equivalentes de ácido gálico extraídos por 100 g de HPDC.

### 7.3.2.2. Extracción asistida por ultrasonido (S)

Para la extracción de compuestos fenólicos asistida por ultrasonido (S) se utilizó un baño ultrasónico marca Cleanson Argentina a temperaturas controladas (no superiores a 35 °C) a una potencia de 400W. La Figura 7.2 es una representación gráfica de la disposición de las muestras en el baño ultrasónico.



**Figura 7.2 Representación gráfica del baño ultrasónico**

Se aplicó el mismo diseño experimental reducido de Draper-Lin donde se estudiaron los efectos de 4 variables independientes (relación muestra/solvente, concentración del solvente, tiempo de extracción), sobre el rendimiento de la extracción de polifenoles como variable respuesta. En esta metodología se incorporó una nueva variable independiente (cantidad de emulsionante) ya que se ha demostrado (Delgado y Castro 2013) que los aditivos pueden mejorar la extracción cuando la misma es asistida por ultrasonido. Los emulsionantes que pertenecen a la clase de sustancias tensioactivas (tensioactivos) se adsorben en la interfaz entre dos fases debido a su estructura molecular, por lo que pueden estabilizar las gotas anfifílicas de la fase dispersa de una emulsión. Para ello se realizaron 18 corridas experimentales, con una muestra para ser tomada en cada ejecución. El modelo por defecto fue cuadrático con 15 coeficientes e identificó 2 puntos centrales.

Para la preparación de los extractos se pesó entre 0,5 a 1 g de HPDC en 10 mL de una solución etanol:agua que osciló entre 60 y 80% de etanol (v/v) con 40 y 20% de agua en la cual se disolvió entre 0,04 a 0,15 g de emulsionante SSL (Estearoil Lactilato de Sodio) con un homogeneizador Ultraturrax (T-25, IKA, Staufen, Alemania) durante 1 minuto. Los ensayos se llevaron a cabo bajo las ondas del baño ultrasónico por 10 a 30 minutos en oscuridad. Los extractos se separaron por centrifugación (1000 g/ 15°C durante 30 min) y fueron almacenados a -80°C hasta su medición. En la Tabla 7.3, se muestran los factores y niveles propuestos para la extracción por ultrasonido (S).

**Tabla 7.3. Factores y niveles propuestos para la extracción de polifenoles por extracción asistida por ultrasonido (S) mediante MSR por Draper-Lin**

Factores	Nivel mínimo	Nivel máximo
Proporción muestra solvente (g/mL)	0,05	0,1
Etanol:agua	60:40	80:20
Tiempo (min)	10,0	30,0
Emulsionante g/10 mL	0,04	0,15

### 7.3.2.3. Extracción asistida por microondas (MW)

Para la extracción de compuestos fenólicos por la metodología de microondas, la potencia osciló entre 0 y 550 Wats según la temperatura de trabajo en cada ejecución (Figura 7.3). Al inicio del sistema se requiere un pulso máximo para llegar a

la temperatura deseada lo más rápido posible y después cambia a una potencia mínima para mantener constante la temperatura.



**Figura 7.3. Microondas (Monowave 300, Anton Paar)**

Las condiciones de extracción por microondas se seleccionaron siguiendo el mismo diseño experimental reducido de Draper-Lin que se mencionó anteriormente para la extracción por el método convencional y por ultrasonido. También se estudiaron los efectos de 4 variables independientes (relación muestra/solvente, concentración etanol:agua, temperatura y tiempo de extracción) sobre el rendimiento de la extracción de polifenoles como variable respuesta. Se realizaron 18 corridas experimentales, con una muestra para ser tomada en cada ejecución. El modelo por defecto fue cuadrático con 15 coeficientes e identificó 2 puntos centrales.

Para la preparación de los extractos se utilizó una relación muestra solvente entre 0,3 g y 0,5 g de HPDC en 10 mL de una solución etanol:agua que osciló entre 50:50 a 70:30 (v/v). Los ensayos se llevaron a cabo entre 40 y 80 °C durante 2 a 5 minutos en el microondas bajo oscuridad. Los extractos se separaron igualmente por centrifugación (1000 g/15 °C durante 30 min) y fueron almacenados a -80 °C hasta su posterior análisis. En la Tabla 7.4 se muestran los factores y niveles propuestos para la extracción por el método de microondas (MW).

**Tabla 7.4. Factores y niveles propuestos para la extracción de polifenoles por microondas (MW) mediante MSR por Draper-Lin.**

Factores	Nivel mínimo	Nivel máximo
Proporción muestra /solvente (g/mL)	0,03	0,05
Etanol:agua	50:50	70:30
Temperatura ( ° C)	40,0	80,0
Tiempo (min)	2,0	5,0

### 7.3.3. Determinación del contenido de polifenoles de los extractos etanólicos obtenidos

El contenido total de polifenoles (CTP) de los extractos se midió mediante el método de Folin-Ciocalteu descrito ya en las secciones anteriores, con el fin de determinar la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Molibdeno Mo (VI) a Molibdeno Mo (V), como resultado de tal reacción, el reactivo de color amarillo pasa a un color azul (intenso) que se mide cuantitativamente con un espectrofotómetro. El mecanismo básico del ensayo es una reacción redox. El reactivo de color amarillo contiene ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico que actúan como oxidantes, y se reducen en presencia de los compuestos fenólicos de las muestras a ensayar. La transferencia de electrones a pH básico reduce estos ácidos a óxidos de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ) de color azul intenso que tienen un máximo de absorbancia a 750 nm (Agudo Medina, 2010).

Para ello se mezclaron 30 uL de cada extracto con 1680 uL de agua ultrapura, 300 uL de carbonato de sodio acuoso (20%) y 80 uL de agua. Después se agregaron 100 uL de reactivo de Folin-Ciocalteu, se agitó en un vortex por 30 segundos y se dejó incubar por 120 min bajo oscuridad a temperatura ambiente. La lectura de las absorbancias fue a 750 nm, frente a un blanco sin muestra. El CTP se calculó mediante regresión lineal utilizando ácido gálico como estándar. Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de muestra. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

### 7.3.4. Análisis estadístico

Los métodos de extracción de polifenoles fueron optimizados con la metodología de superficie de respuesta (MSR) aplicando un diseño experimental reducido de Draper-Lin mediante el software estadístico STATGRAPHICS utilizando diferentes niveles de factores de acuerdo con resultados preliminares. El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo mediante el software estadístico INFOSTAT (InfoStat, 2019). Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) y se compararon significativamente con la prueba de DGC con un nivel de significancia de 0,05.

#### 7.4. Análisis y discusión de resultados

Una vez realizadas las corridas experimentales correspondientes a la etapa de extracción con las tres metodologías mencionadas (extracción convencional sólido-líquido (C), extracción asistida por ultrasonido (S) y extracción asistida por microondas (MW)), se determinó para cada una de las muestras obtenidas el contenido de polifenoles en mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 gramos de HPDC.

Los resultados obtenidos mostraron importantes variaciones en el contenido de polifenoles con valores mínimos cercanos a 543,1 mg GAE/100g de HPDC hasta valores máximos de 1425,1 mg GAE/ 100g de HPDC.

El análisis de los resultados mediante la aplicación de la metodología de superficie de respuesta (MSR) mostró en su análisis de varianza, la significancia estadística del efecto de los cuatro parámetros de proceso ensayados para cada metodología extractiva, con un grado de confianza del 95 %.

##### 7.4.1. Extracción convencional sólido/líquido (C)

La relación muestra solvente, el tipo/concentración del solvente, el tiempo y la temperatura, son factores que inciden en gran medida en la eficacia de la extracción de compuestos fenólicos. En la Tabla 7.5 se muestran los resultados obtenidos en cuanto al contenido de polifenoles extraídos mediante la metodología convencional en las condiciones generadas por el diseño experimental (proporción muestra solvente (g/mL), temperatura (°C), concentración etanol:agua y tiempo (min)). Se pudo observar que la extracción más baja de polifenoles totales se alcanzó a una concentración etanol:agua de [90:10] correspondiente a la muestra 2C con (579,81 mg GAE/100 g HPDC). A su vez se observó un incremento del contenido de polifenoles cuando la relación etanol:agua se redujo a [50:50], obteniendo la mayor concentración de compuestos fenólicos en un periodo de 7 h (10C: 1082,15 mg GAE/100 g HPDC).

**Tabla 7.5. Contenido de polifenoles extraídos por las diferentes condiciones de proceso mediante extracción sólido líquido**

Muestras	g HPDC/ mL	Temperatura		tiempo (h)	CTP (mg GAE/100 g)	
		°C	[etanol:agua]		±	
1C	0,05	50	80:20	7	770,35	± 18,01
2C	0,065	40	90:10	4,5	579,81	± 72,36
3C	0,09	40	65:35	4,5	764,64	± 26,63
4C	0,04	40	65:35	4,5	951,21	± 39,28
5C *	0,065	40	65:35	4,5	909,12	± 27,65
6C	0,05	30	80:20	2	828,37	± 37,17
7C	0,065	40	65:35	8	889,75	± 65,26
8C	0,08	50	50:50	2	856,99	± 15,29
9C	0,065	56	65:35	4,5	901,13	± 6,36
10C	0,05	50	50:50	7	1082,15	± 102,83
11C *	0,065	40	65:35	4,5	894,43	± 56,31
12C	0,065	23	65:35	4,5	885,98	± 35,70
13C	0,08	50	80:20	2	747,84	± 22,02
14C	0,08	30	50:50	7	851,30	± 55,96
15C	0,05	30	50:50	2	885,44	± 47,42
16C	0,08	30	80:20	7	705,26	± 18,63
17C	0,065	40	65:35	0,3	877,99	± 22,44
18C	0,065	40	40:60	4,5	717,41	± 120,00

\*Puntos centrales. Los promedios seguidos por las mismas letras no difieren según la prueba DGC ( $p < 0,05$ ). CTP: compuestos fenólicos totales; GAE: equivalentes de ácido gálico. HPDC: Harina desgrasada de chí. (C): Extracción convencional sólido-líquido. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

El valor máximo predicho para el contenido de polifenoles totales fue determinado usando el paquete estadístico Statgraphics Centurion, de acuerdo con el análisis del gráfico de superficie de respuesta. La Tabla 7.6 muestra que la combinación de variables definida por la optimización del modelo fue: una proporción de HPDC del 0,04, una temperatura de 50,2 °C, una concentración de [etanol:agua] de 52,8:47,2 y un tiempo de extracción de 6,9 horas, cuyo valor máximo estimado fue igual 1086,8 mg EAG/100 g HPDC. El valor de la corresponde a la extracción que se llevó a cabo de manera experimental y fue similar al valor de la OPC-P, que corresponde a la extracción de polifenoles predicho por el programa, por lo tanto, la capacidad predictiva del modelo es adecuada ya que la diferencia entre ambos óptimos (OPC-E y OPC-P) fue menor al 15%.

**Tabla 7.6. Valores óptimos de las variables independientes y de la respuesta (extracción de polifenoles) correspondiente para la extracción convencional sólido/líquido (C).**

Muestras	(g HPDC/ mL)	Temperatura (°C)	Etanol:agua	Tiempo (h)	Polifenoles (mg GAE/100 g HPDC)	(OPC-E) - (OPC-P)/OPC-P (%)
OPC-E	0,04	50,2	53:47	6,9	1082,10	
OPC-P	0,04	50,2	53:47	6,9	1086,81	0,42

OPC-P: Óptimo predicho para la metodología convencional. OPC-E: óptimo realizado experimentalmente por la metodología convencional.

Estos resultados son consistentes con los valores encontrados por otros autores (Fernandez Agulló et al., 2013; Alves, M. et al., 2019) quienes realizaron extracciones por el método convencional utilizando diferentes mezclas de solventes (etanol, acetona, agua). Chew et al., (2011) usaron también etanol como solvente debido a que es más seguro para la manipulación en comparación con otros disolventes orgánicos, además de ser apto para su uso en alimentos.

La Tabla 7.7 muestra la variabilidad de la respuesta (extracción de polifenoles) explicada para cada factor a través de un ANOVA, de modo que prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. Se observó que los efectos que tuvieron un P-valor menor a 0,05 fueron: la concentración etanol:agua (denominado: C) con un p-valor de 0,03 y la interacción cuadrática del etanol (CC) con un valor de 0,02. El  $R^2$  indicó que el modelo, así ajustado, explicó el 95,08% de la variabilidad en el contenido de polifenoles totales, con un  $R^2$  (ajustado) de 72,14%, confirmando que estos resultados pueden ser predecibles.

**Tabla 7.7. Análisis de varianza (ANOVA) para la metodología de extracción de polifenoles asistida por el método convencional sólido-líquido (C)**

Factor	Suma de cuadrados	p-valor	Coefficiente de regresión
Constante			-486,043
A: Proporción	17409,8	0,1105	-5425,45
B: Temperatura	217,123	0,8183	3,39775
C: Etanol	53718,0	<b>0,0291</b>	46,5833
D: Tiempo	351,373	0,7708	85,6402
AA	2,76499	0,9792	2145,74
AB	17,0737	0,9484	-16,2609
AC	1618,8	0,5429	63,2222
AD	936,443	0,6387	-454,335
BB	2191,82	0,4841	0,138179
BC	5929,61	0,2816	-0,1815
BD	94,0198	0,8795	-0,2142
CC	66486,6	<b>0,0220</b>	-0,332734
CD	10628,8	0,1778	-0,972
DD	1643,41	0,5401	2,13154
Total error	10371,5		
Total (corr.)	210991,0		

La ecuación (28) del modelo ajustado en base a los coeficientes de regresión mostrados en la Tabla 7.7 fue:

$$\text{Contenido de polifenoles totales} = -486,04 - (5425,45*A) + (3,39775*B) + (46,58*C + 85,64*D) + (2145,74*A^2) - (16,26*A*B) + (63,22*A*C) - (454,33*A*D) + (0,138*B^2 - 0,18*B*C) - (0,21*B*D) - (0,33*C^2) - (0,97*C*D) + (2,13*D^2) \quad (\text{ecuación-28})$$

Donde:

A: Proporción muestra solvente (g/mL)

B: Temperatura (°C)

C: Etanol:agua

D: Tiempo (h)

Según el diagrama de Pareto que arrojó el diseño (Figura 7.4) mostró el efecto significativo de los factores evaluados y se pudo observar que la concentración [etanol:agua] y su interacción cuadrática fueron los factores que tuvieron incidencias significativas en la extracción de polifenoles por el método convencional (C). Mientras menor fue el % de etanol mayor fue la extracción. Los otros factores (proporción muestra/solvente, temperatura y tiempo) tuvieron una incidencia menor, es decir sus variaciones no afectaron significativamente y de manera directa a la extracción de polifenoles.

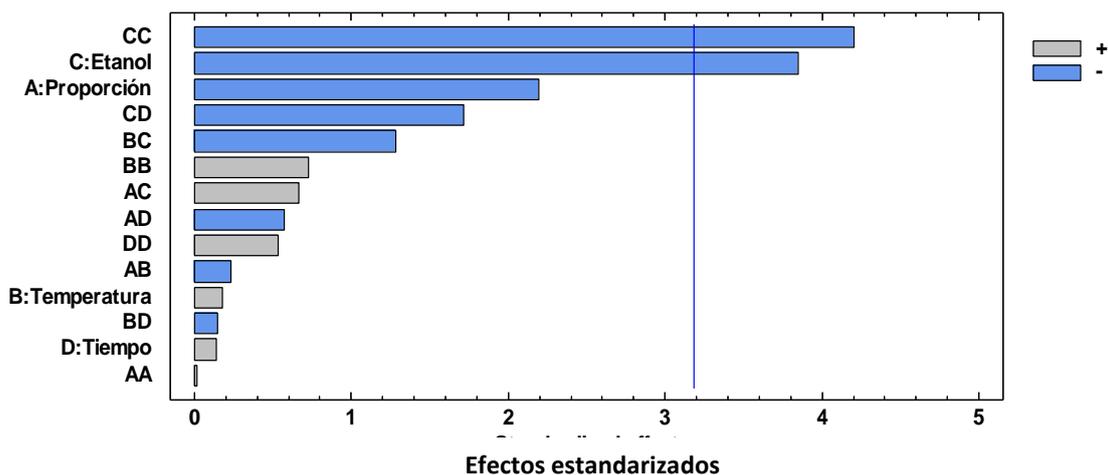
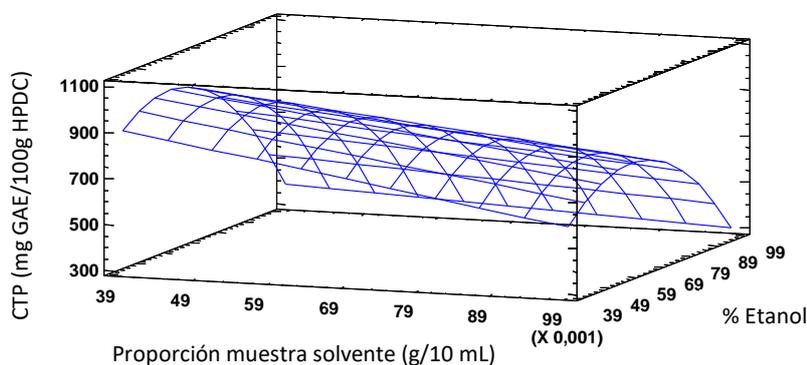


Figura 7.4. Diagrama de Pareto para efectos estandarizados correspondiente a la extracción de polifenoles de HPDC por la metodología (C)

El gráfico de superficie respuesta (Figura 7.5) muestra los efectos sobre la cantidad de polifenoles obtenidos a 40,0 °C y 4,5 h con variaciones en la concentración etanol:agua y la proporción muestra/solvente (factores con mayor incidencia en la extracción). Una concentración etanol:agua [50:50] fue la que extrajo mayor cantidad de polifenoles, mientras que a medida que disminuía o aumentaba esa cantidad, la

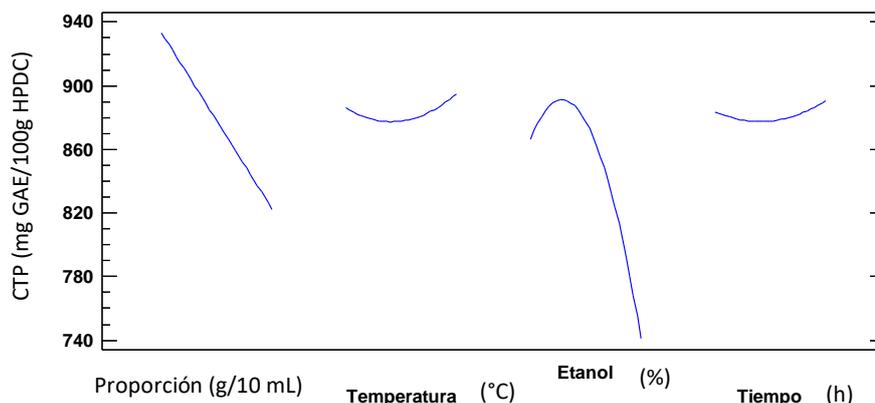
extracción comenzó a disminuir. Con respecto a la proporción de la muestra (HPDC), mientras menor cantidad de muestra, mayor extracción de polifenoles se obtuvo, la muestra al tener mayor superficie de contacto con el solvente, la extracción se volvió más efectiva.



**Figura 7.5. Gráfico de superficie de respuesta en función del %etanol y relación muestra solvente (g/10 mL) (temperatura fija: 40 °C y tiempo fijo:4,5 h de CTP GAE g / 100 HPDC para la metodología convencional (C)**

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Moreira et al. (2017) donde encontraron que el contenido de polifenoles totales de la corteza de residuos de madera de manzano aumentó significativamente (2 veces más) con un porcentaje de etanol del 50%. Por otro lado, Yang et al. (2009), optimizaron la concentración de etanol para la recuperación de polifenoles de la corteza de *Phyllanthus emblica L.* e informaron que una concentración de etanol superior al 70% extrajo una mayor cantidad de materiales liposolubles, dificultando el proceso de purificación. A su vez Bouras et al. (2015) y Alara et al. (2018), encontraron que las mezclas de etanol/agua fueron más eficientes en la extracción de compuestos fenólicos que la extracción por un solo componente debido al aumento de la permeabilidad en la membrana del material lignocelulósico.

La Figura 7.6 muestra los efectos principales para polifenoles extraídos por el método convencional. Se confirmó el comportamiento lineal del factor proporción muestra/solvente y la concentración etanol:agua (C) (único factor con influencia significativa). La temperatura y el tiempo demostraron una línea sin pendiente, corroborando una baja influencia de estos factores en la extracción de polifenoles.



**Figura 7.6. Gráfica de los efectos principales para la extracción de polifenoles por extracción convencional sólido-líquido (C)**

**7.4.2. Extracción por ultrasonido (S):**

La tabla 7.8, muestra la cantidad de polifenoles extraídos por ultrasonido mediante diferentes condiciones extractivas (relación muestra solvente g/10 mL, concentración etanol:agua, tiempo de sonicación en minutos y proporción de emulsionante). Se pudo observar que la extracción más baja de polifenoles totales se alcanzó a una relación muestra solvente de 0,1 g/mL y a porcentajes bajos de emulsionante (0,4% SSL) correspondiente a la muestra 7S (408,05 mg GAE/100 g de HPDC). A su vez se observó que a medida que se redujo la cantidad de muestra y se incrementó el porcentaje de emulsionante, la cantidad de polifenoles aumentó significativamente cuando las muestras fueron tratadas por 20 min bajo las ondas ultrasónicas, siendo la muestra 9S la que extrajo mayor cantidad de polifenoles (871,2 mg GAE/100 g de HPDC).

**Tabla 7.8. Cantidad de polifenoles extraídos por ultrasonido (S)**

Muestras	g HPDC/mL	Etanol:agua	Tiempo (min)	% SSL	CTP (mg GAE/100 g)
1 S	0,075	87:13	20	1,0	458,99 ± 7,61
2 S	0,1	80:20	30	0,4	518,16 ± 11,66
3 S	0,075	70:30	20	0	612,55 ± 8,76
4 S	0,075	70:30	3	1,0	672,54 ± 35,68
5 S	0,075	70:30	20	1,9	748,54 ± 4,79
6 S	0,075	70:30	37	1,0	623,00 ± 9,25
7 S	0,1	80:20	10	0,4	408,05 ± 25,06
8 S *	0,075	70:30	20	1,0	564,88 ± 55,35
9 S	0,030	70:30	20	1,0	871,26 ± 1,24
10 S	0,051	80:20	10	1,5	554,46 ± 86,85
11 S	0,051	60:40	30	0,4	631,68 ± 79,48
12 S	0,075	53:47	20	1,0	600,52 ± 65,45
13 S *	0,075	70:30	20	1,0	639,71 ± 10,91
14 S	0,1	60:40	10	1,5	570,83 ± 7,06
15 S	0,1	60:40	30	1,5	591,04 ± 59,65
16 S	0,050	60:40	10	0,4	717,23 ± 31,30
17 S	0,050	80:20	30	1,5	654,50 ± 70,30
18 S	0,12	70:30	20	1,0	543,15 ± 16,60

\*Puntos centrales, (SSL) emulsionante, CTP: contenido de polifenoles totales

Estos resultados son mayores pero comparables a los resultados obtenidos por Corona-Jimenez et al. (2016), no obstante, ellos obtuvieron mejores rendimientos de extracción de polifenoles en extractos metanólicos de semillas de chía con la utilización de la energía del ultrasonido por 15 min (194,06 mg de GAE/100 g de chía) en comparación a los valores encontrados por la metodología convencional. La potencia ultrasónica generó mayor cavitación, lo que facilitó la penetración del solvente en la matriz causando leves rupturas en la pared celular, permitiendo de esta manera que el solvente llegue hasta los ácidos fenólicos que se encuentran esterificados en la pared celular, logrando de esta forma aumentar la eficiencia de la extracción (Priego y Luque, 2004).

Las ventajas destacadas en la extracción asistida por ultrasonido en comparación con las técnicas de extracción convencionales son los menores tiempos de extracción y temperaturas. De hecho, la temperatura más utilizada en la extracción por ultrasonido es la temperatura ambiente (López-Cobo et al., 2016; Medina et al., 2017; Tian et al., 2017; Yahia et al., 2017). No obstante, la temperatura de la muestra tiende a aumentar con el tiempo de extracción por lo tanto debe controlarse para evitar la degradación térmica de los polifenoles. Es por eso por lo que diferentes autores regularon este parámetro utilizando temperaturas entre 40 y 65 °C (baños ultrasónicos con control de temperatura) para prevenir la degradación de los compuestos fenólicos (Arend et al., 2017; Espada-Bellido et al., 2017; Medina et al.,

2017; Valadez-Carmona et al., 2017). En este trabajo la temperatura no fue un factor que se utilizó como variable en las corridas ya que el baño ultrasónico empleado no tenía para regular esa condición. Sin embargo, se controló con un termómetro que ninguna de las muestras superara la temperatura entre 25 y 35 °C.

Los tiempos de extracción por ultrasonido empleados en este caso fueron entre 10 y 30 min, coincidiendo con estudios que utilizaron tiempos de extracción por ultrasonido entre 5 y 34 min, siendo más cortos que los utilizados por las técnicas de extracción convencionales (López-Cobo et al., 2016; Al-Dhabi et al., 2017; Tian et al., 2017; Villanueva-Bermejo et al., 2017; Yahia et al., 2017).

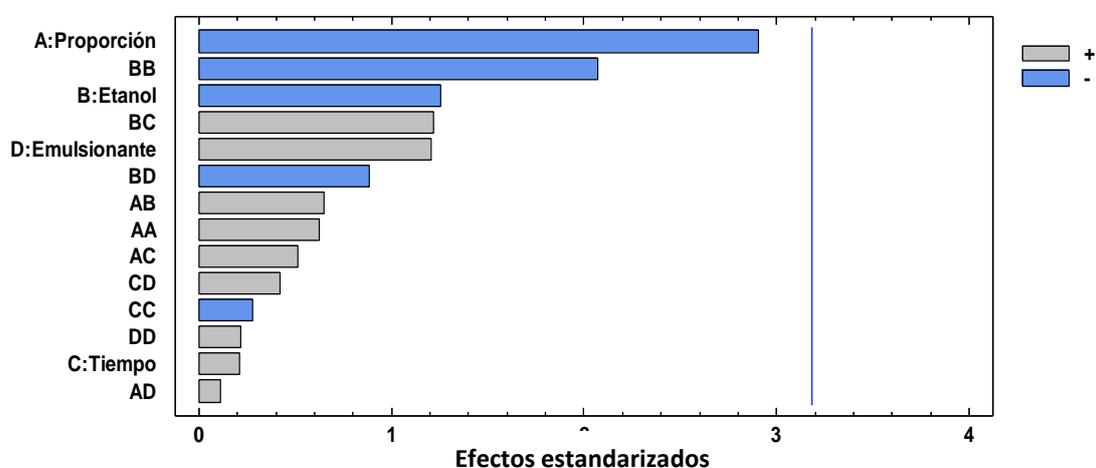
El etanol fue también empleado por otros autores como un solvente “compatible con el ambiente” para extraer polifenoles por ultrasonido de distintas matrices. Por ejemplo, el agua y el etanol se utilizaron para la extracción de compuestos fenólicos en arándanos (Tao et al., 2014), zarzamora (Routray y Orsat, 2014), olivas y *Sambucus nigra L.* (Roselló-Soto et al., 2015; Oniszczuk et al., 2016 respectivamente), en hojas de arándanos (Medina et al., 2017), orujo de manzana (Medina et al., 2017) y cereza (Machado et al., 2017).

La Tabla 7.7 presenta la variabilidad de la respuesta (extracción de polifenoles) por la técnica de ultrasonido explicada por cada factor. En este tipo de modelo ninguno de los factores fue significativo, es por eso por lo que no se mostró la combinación de variables predicha por la optimización. Por lo tanto, es posible concluir que este modelo no describió de manera eficiente el proceso de extracción de polifenoles asistido por ultrasonido. No obstante, con el propósito de corroborar lo anteriormente expuesto, se decidió forzar el programa con los datos experimentales disponibles.

**Tabla 7.9. Análisis de varianza (ANOVA) para extracción por ultrasonido de polifenoles de HPDC**

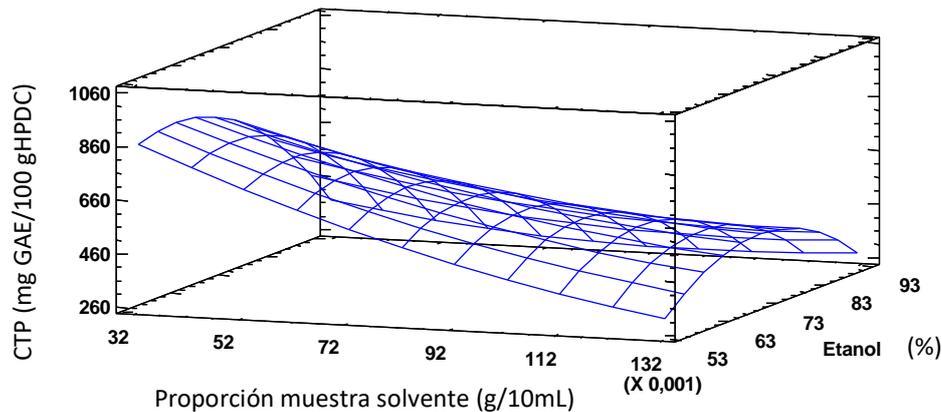
Factores	Suma de los cuadrados	p-valor
A: Proporción	40,0913	0,9392
B: Etanol	4683,59	0,4364
C: Tiempo	692,255	0,7533
D: Emulsionante	1286,44	0,6708
AA	3487,24	0,4959
AB	3057,17	0,5216
AC	1385,93	0,6595
AD	291,811	0,8374
BB	23290,6	0,1397
BC	9585,23	0,2901
BD	3999,37	0,4685
CC	165,783	0,8769
CD	653,38	0,7600
DD	983,624	0,7090
Total error	17511,9	
Total (corr.)	189986,7	

Según el diagrama de Pareto mostrado en la Figura 7.7, se pudo observar que ninguno de los factores (proporción muestra solvente, % emulsionante, concentración etanol:agua y tiempo) tuvieron una influencia significativa sobre la extracción de polifenoles asistida por ultrasonido, las variaciones en los valores se dan debido a la combinación de estas condiciones.



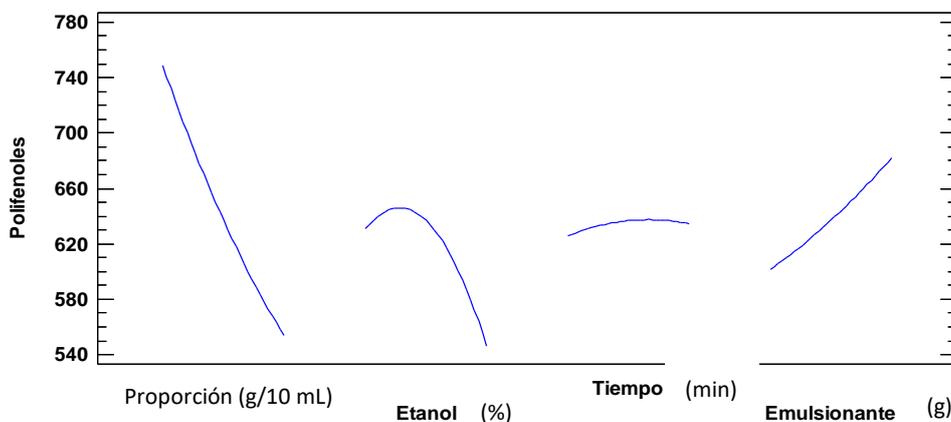
**Figura 7.7. Diagrama de Pareto para efectos estandarizados para extracción de polifenoles por (S)**

Según el gráfico de superficie respuesta (Figura 7.8) se pudo apreciar que la extracción de polifenoles a 20,0 min con 0,095g de emulsionante, con variaciones en la concentración etanol:agua y la proporción de HPDC (factores con mayor incidencia, pero no significativa en la extracción), que una concentración etanol:agua de 70:30 fue la que extrajo mayor cantidad de polifenoles, mientras que a medida que disminuyó o aumentó esa cantidad, la extracción fue menos eficiente. Con respecto a la cantidad de muestra, la eficiencia de la extracción por ultrasonido fue mejor cuando se pesó menos cantidad de muestra.



**Figura 7.8.** Gráfico de superficie de respuesta en función del %etanol y relación muestra solvente (g/10 mL) (tiempo fijo:20 min y Emulsionante fijo 0,095 g de CTP GAE g / 100 HPDC por ultrasonido (S))

A pesar de que ninguno de los factores resultó estadísticamente significativo, en la Figura 7.9 se puede observar que cada uno de ellos muestra una tendencia y un comportamiento que podrían ser potencialmente significativos en el proceso de extracción si se modificaran los rangos de los factores experimentales.



**Figura 7.9.** Gráfica de efectos principales para la extracción de polifenoles por ultrasonido(S)

### 7.4.3. Extracción asistida por microondas (MW)

La Tabla 7.10, muestra la cantidad de polifenoles extraídos por microondas mediante diferentes condiciones (proporción muestra/solvente, concentración etanol:agua, temperatura y tiempo de exposición a las microondas). Se pudo observar que la muestra 18MW extrajo la menor cantidad de polifenoles totales (834,52 mg GAE/100 g de HPDC) siendo una de las muestras en la que se utilizó mayor cantidad de muestra (0,05 g HPDC/mL). Por el contrario, los resultados mostraron que la concentración más alta de CTP (1425,1 mg GAE/100 g de HPDC) se alcanzó con una concentración etanol:agua de [60:40] a 60 °C, con 0,2 g de HPDC por 3,5 minutos (muestra 12MW).

**Tabla 7.10. Extracción asistida por microondas (MW)**

muestras	g HPDC/ mL	Etanol:agua	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Potencia (W)	CTP(mg GAE/100 g HPDC)
1MW	0,03	50:50	40	5	95	991,52 ± 107,67
2MW *	0,04	60:40	60	3,5	400	1163,66 ± 112,61
3MW	0,04	40:60	60	3,5	230	1311,06 ± 105,16
4MW	0,04	60:40	30	3,5	0	1004,85 ± 162,86
5MW	0,04	80:20	60	3,5	200	950,23 ± 50,25
6MW	0,04	60:40	60	1	200	1083,59 ± 53,98
7MW	0,05	50:50	80	5	400	1199,94 ± 46,16
8MW	0,03	70:30	80	5	400	1168,99 ± 83,96
9MW	0,03	50:50	80	2	550	1423,73 ± 117,47
10MW	0,03	70:30	40	5	100	1149,98 ± 72,80
11MW	0,05	70:30	80	2	300	995,75 ± 21,76
12 MW	0,02	60:40	60	3,5	200	1425,20 ± 143,32
13MW *	0,04	60:40	60	3,5	220	1064,07 ± 64,21
14MW	0,04	60:40	60	6	200	1201,82 ± 63,59
15MW	0,04	60:40	90	3,5	550	1308,87 ± 48,70
16MW	0,03	50:50	40	2	50	1113,81 ± 104,30
17MW	0,05	70:30	40	2	50	988,66 ± 17,37
18MW	0,05	60:40	60	3,5	200	834,52 ± 6,88

\*Puntos centrales

El valor máximo predicho para el contenido de polifenoles de acuerdo con el análisis del gráfico de superficie de respuesta muestra que las condiciones óptimas sugeridas fueron: una proporción de HPDC del 0,2, una concentración de etanol:agua del [47:53], un tiempo de 3 minutos y una temperatura 88,7 °C cuyo valor máximo predicho fue igual OPMW-P: 1823,91 mg GAE/100 g HPDC (Tabla 7.11). Estos resultados no pudieron ser corroborados experimentalmente debido a problemas técnicos con el equipo de microondas (Tabla 7.11).

**Tabla 7.11. Valores óptimos de las variables independientes y de la respuesta (extracción de polifenoles) correspondiente a la extracción asistida por microondas (MW)**

Muestra	Proporción (g HPDC/ mL)	Etanol:agua	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	(mg GAE/100 g HPDC)
OPMW-P	0,02	47:53	88,7	3,02	1823,91

OPMW-P: Óptimo predicho para microondas.

Estudios realizados en residuos de la industria vitivinícola mostraron que la concentración más alta de polifenoles totales se alcanzó también con el calentamiento selectivo del microondas ( $2400 \pm 0,01$  mg GAE/100 g muestra) en menores tiempos de extracción comparado a la extracción por calentamiento convencional ( $2200 \pm 0,1$  mg GAE/100 g muestra) (Meirielly et al., 2019).

La Tabla 7.12 muestra la variabilidad de la respuesta (extracción de polifenoles) en piezas separadas para cada uno de los efectos. Donde prueba la significancia estadística de cada factor comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 5 efectos tuvieron un p-valor menor a 0,05, indicando que fueron significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0%. El  $R^2$  indica que el modelo, así ajustado, explica el 98,3% de la variabilidad de la respuesta (extracción de polifenoles). El estadístico  $R^2$  ajustado, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, fue del 90,38%.

**Tabla 7.12. Análisis de varianza (ANOVA) para extracción por microondas de polifenoles de HPDC**

Factores	Suma de cuadrados	p-valor	Coefficiente de regresión
constante			-22,96
*A: Proporción	174404,0	0,0037	-22057,7
*B: Etanol	65088,3	0,0149	14,77
*C: Temperatura	81602,2	0,0109	23,82
D: Tiempo	6997,44	0,1961	540,24
AA	6,86677	0,9619	-7640,92
AB	4443,96	0,2783	366,21
AC	1607,44	0,4851	-70,87
AD	9677,67	0,1464	-3602,78
BB	2,72395	0,9760	-0,0048
*BC	30282,6	0,0410	-0,31
*BD	27147,1	0,0470	-6,03
CC	907,062	0,5928	0,02
CD	1003,52	0,5748	-0,37
DD	167,971	0,8140	1,68
Total error	7643,64		
Total (corr.)	450384,0		

\*p-valores menores a 0,05

La ecuación (29) del modelo ajustado en base a los coeficientes de regresión mostrados en la Tabla 7.12 fue:

$$\begin{aligned} \text{Contenido de polifenoles totales} = & -22,9608 - (22057,7*A) + (14,7794*B) + (23,8296*C) \\ & + (540,248*D) - (7640,92*A^2) + (366,208*A*B) - (70,875*A*C) - (3602,78*A*D) - \\ & (0,00481*B^2) - (0,31*B*C) - (6,03412*B*D) + (0,0219546*C^2) - (0,373333*C*D) + \\ & (1,67959*D^2) \quad (\text{ecuación 29}) \end{aligned}$$

Donde:

A: Proporción muestra solvente (g/10 mL)

B: Etanol:agua

C: Temperatura (°C)

D: Tiempo (min)

Según el diagrama de Pareto que se muestra a la derecha de la Figura 7.10 la relación muestra/solvente, la temperatura y la concentración etanol:agua influyeron significativamente en la extracción de polifenoles asistida por MW, mientras que el tiempo de exposición a las microondas no tuvo influencia significativa. Concluyendo que a menor relación muestra/solvente y menor % de etanol, mayor rendimiento de extracción de polifenoles.

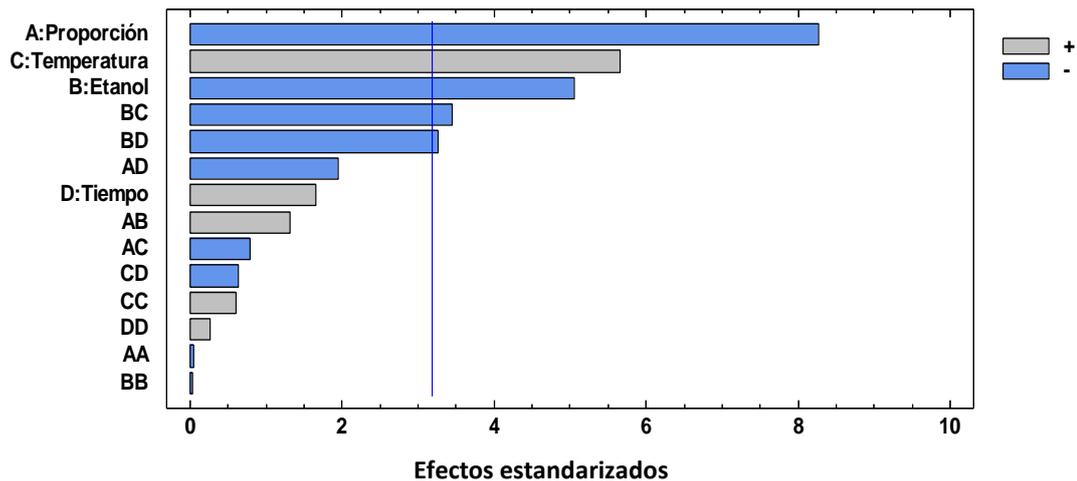


Figura 7.10. Diagrama de Pareto para efectos estandarizados, para la metodología de extracción por MW

Según el gráfico de superficie respuesta que se muestra en la Figura 7.11, se pudo apreciar la extracción de polifenoles a 3,48 min y concentración etanol:agua 60:40 con variaciones en la proporción muestra solvente y la temperatura (factores con mayor incidencia en la extracción de acuerdo al diagrama de pareto). A medida que la cantidad de muestra aumentó, la extracción de polifenoles disminuyó, mientras que, a mayor temperatura, la eficiencia de extracción fue mayor.

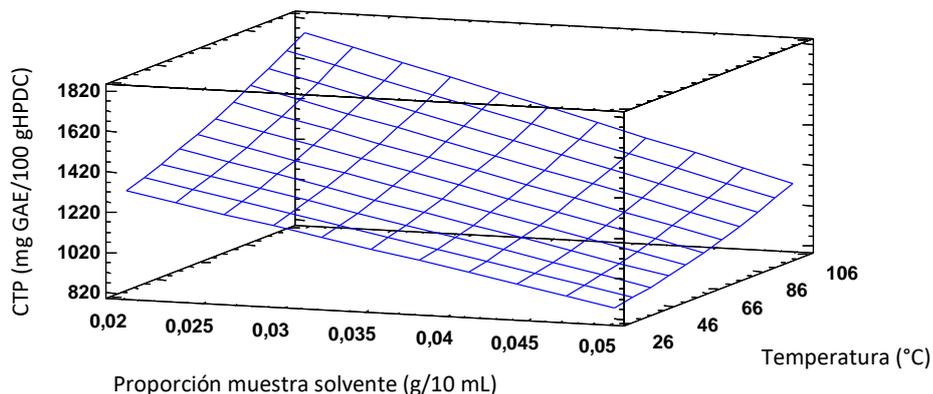
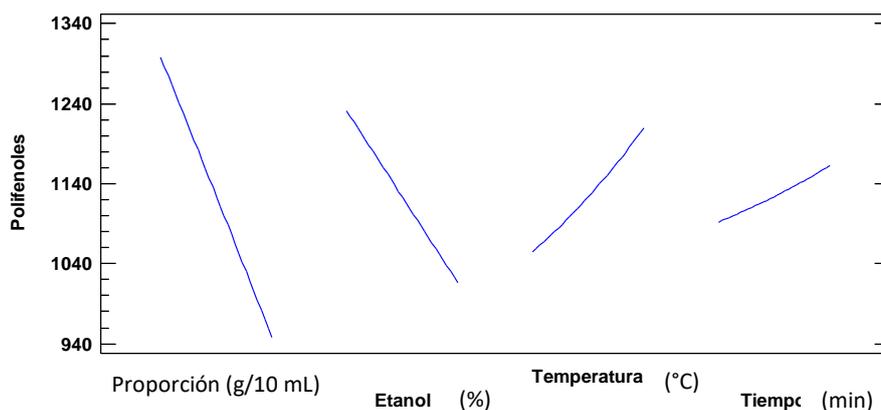


Figura 7.11. Gráfico de superficie de respuesta en función de la relación muestra solvente (g/10 mL) y temperatura (°C) de CTP GAE g / 100 HPDC por (MW). %Etanol:60 y 3,5 min

La Figura 7.12 confirma lo analizado anteriormente, se muestra el comportamiento de los factores y se puede observar que la proporción de HPDC, la concentración etanol:agua y la temperatura fueron los factores que incidieron significativamente en el rendimiento de extracción de polifenoles.



**Figura 7.12. Gráfica de efectos principales para la extracción de polifenoles por microondas (MW)**

Estos resultados coincidieron con los resultados de otros autores en donde la extracción asistida por MW también generó mayores rendimientos de polifenoles a partir de diferentes matrices (*P. pinaster*, corteza de *Pinus radiata* y *Quercus*) en comparación a las técnicas de extracción convencionales como la extracción sólido-líquido o Soxhlet (Aspé y Fernández, 2011; Bouras et al., 2015; Chupin et al., 2015). En contraste, otros autores obtuvieron menores rendimientos de extracción de compuestos fenólicos de la corteza de *P. radiata* por MW en comparación a los valores alcanzados mediante el uso de las ondas ultrasónicas (Aspé y Fernández, 2011).

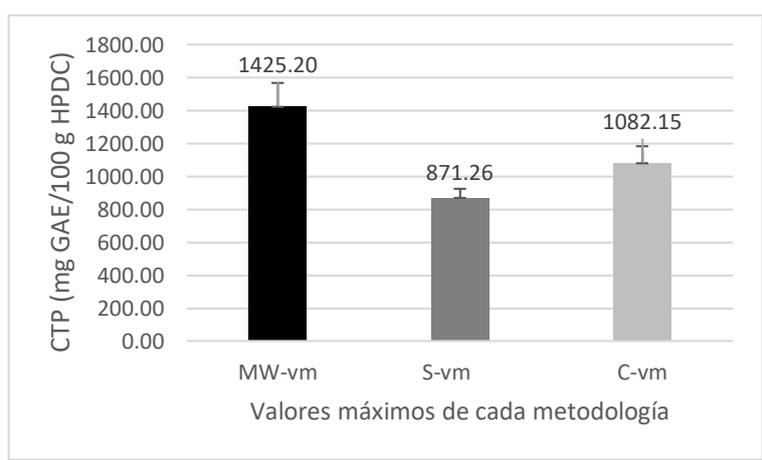
Khoddami et al. (2013) postularon como una técnica alternativa la extracción por microondas asistida por ultrasonido (S). Ellos utilizaron esta técnica para la extracción de compuestos fenólicos de *Satureja macrostema* (Alonso-Carrillo et al., 2017) observando recuperaciones más altas de compuestos fenólicos con respecto a un método de reflujo. Lou et al. en 2010 también aplicaron microondas con extracción ultrasónica y maceración para extraer compuestos fenólicos de hojas de bardana. El método final optimizado dio un rendimiento fenólico de 9 mg /g mientras que se logró menos de 0.5 mg /g usando solo maceración. En otro estudio llevado a cabo por Xiao-Lan et al. (2011) los rendimientos de los flavonoides de *Spatholobus suberectus* obtenidos por combinada de microondas y ultrasonido se compararon con los métodos de extracción por microondas, ultrasonido, Soxhlet y de reflujo calentado en condiciones optimizadas. El rendimiento más alto obtenido para la técnica combinada (microondas y ultrasonido) fue después de 7,5 minutos con una relación de disolvente-muestra de 20 mL/g, mientras que, para las otras extracciones, los rendimientos

óptimos dependieron de una mayor relación de disolvente-muestra (40-120 mL / g) y un tiempo más prolongado (30-30000) min.

Lianfu y Zelong en 2008 llevaron a cabo un estudio para extraer el licopeno de pasta de tomate por EMAU y EAU. El tiempo optimizado necesario para el mayor rendimiento de extracto (97,4% de licopeno) con EMAU fue de 367 segundos, mientras que el tiempo correspondiente para EAU fue de 1,74 segundos y dando como resultado un rendimiento menor (89,4% de licopeno).

#### 7.4.4. Comparación de los rendimientos máximos de polifenoles entre las distintas metodologías utilizadas

En la Figura 7.13 se pueden observar los valores que obtuvieron el mayor rendimiento de extracción por las distintas metodologías aplicadas en este estudio. Se observó que la extracción asistida por microondas puede considerarse como el método más deseable y eficiente para la extracción de polifenoles (1425,20 mg GAE/100 g HPDC) comparado a 871,26 mg GAE/100 g HPDC para la extracción asistida por ultrasonido y 1082,15 mg GAE/100 g HPDC para el método convencional sólido-líquido.



**Figura 7.13. Comparación de extracción de polifenoles por distintos métodos de extracción (MW-vm: valor máximo obtenido por microondas, C-vm: valor máximo obtenido por el método convencional, S-vm: valor máximo obtenido por ultrasonido)**

Cabe recalcar que pese a que la extracción asistida por ultrasonido fue la metodología que no tuvo diferencias significativas entre sus muestras (posiblemente con la variable temperatura si lo haya) y fue la que obtuvo menores rendimientos de

extracción de polifenoles, se consideró que fue más eficiente que la extracción convencional porque se emplearon tiempos considerablemente menores de extracción. Con estos resultados se corrobora lo que Rombaut et al. (2014); Vinatoru et al. (2017) confirmaron acerca de las desventajas de la técnica convencional desde un punto de vista industrial, debido a los mayores tiempos de extracción, lo que resulta en un alto consumo de energía. No obstante, al comparar los distintos factores que influyen en las metodologías de extracción, la metodología de extracción asistida por microondas mejoró el mecanismo de extracción, disminuyó la cantidad de solvente, permitiendo mayores rendimientos de extracción en cortos periodos de tiempo (3,5 min) comparado a 20 min para la extracción por ultrasonido y 7 h para la extracción por el método convencional.

Con respecto a la concentración etanol:agua, todos los métodos de extracción usaron concentraciones entre 50:50 y 70:30, no encontrándose por lo tanto grandes diferencias entre los mismos. La proporción de HPDC incidió en todas las extracciones con el mismo comportamiento; a menor proporción de muestra, mayor extracción. Por último, la temperatura óptima tanto en la extracción convencional sólido-líquido como en la asistida por microondas fue muy similar (50 °C y 60 °C respectivamente), mientras que, en la extracción asistida por ultrasonido, la temperatura no fue un factor definido ya que el equipo de ultrasonido empleado no tenía para regular ese parámetro; sin embargo, se controló que no superara los 35 °C.

## 7.5. Conclusiones

En esta sección se logró optimizar el rendimiento de la extracción de compuestos fenólicos (CTP) a través de tres técnicas de extracción: convencional, ultrasonido y por microondas empleando mezcla de solventes que son seguros, ecológicos y aptos para alimentos como el etanol y el agua. Se confirmó la validez y la adecuación del diseño de optimización para cada metodología a excepción de la metodología asistida por ultrasonido.

Las distintas metodologías empleadas y las variaciones de los factores experimentales influyeron considerablemente en la cantidad de polifenoles encontrados en la harina parcialmente desgrasada de chía (HPDC). La proporción de HPDC/solvente y la concentración etanol:agua fueron los factores que influyeron en mayor medida sobre los métodos llevados a cabo.

La aplicación tanto de microondas como ultrasonido redujeron significativamente el tiempo de extracción comparado a la metodología convencional de horas a minutos mejorando los rendimientos de extracción, siendo las condiciones extractivas más eficientes para la utilización de la energía del microondas: 0,02 g HPDC/mL, etanol:agua [60:40], 60° C por 3,5 min.

Con este estudio se puede afirmar que la aplicación de tecnologías alternativas mejora el rendimiento del proceso de extracción de polifenoles de la harina parcialmente desgrasada de chía (HPDC), no obstante, es necesario indagar en mayor profundidad un modelo que pueda explicar de mejor manera las diferencias de los factores utilizados en especial relacionados a la técnica de ultrasonido que permitan emplear la temperatura como variable independiente.

La extracción de polifenoles de la HPDC contribuye a darle un valor agregado a este residuo y poder utilizarlo como extracto puro en alimentos mejorando su perfil nutricional y brindando más opciones de consumo.

## **8. CONCLUSIONES GENERALES**

---

## 8. CONCLUSIONES GENERALES

Los subproductos y desechos de la industria alimentaria seleccionados específicamente por el alto contenido de compuestos bioactivos específicos son fuentes potencialmente valiosas de ingredientes funcionales adecuados para su incorporación en alimentos. La harina parcialmente desgrasada de chía (HPDC), un abundante residuo remanente obtenido en el proceso de extracción de aceite es destinado principalmente a la alimentación animal. Sin embargo, en este trabajo de tesis se buscó contribuir al estudio y a la revaloración comercial y nutricional de la HPDC mediante la evaluación de las características tecnológicas, sensoriales, nutricionales, perfiles químicos característicos y propiedades antioxidantes de los productos alternativos elaborados con ella, con el fin de proporcionar nuevas formulaciones de alimentos a base de harina de trigo.

Para la optimización de la obtención de HPDC en el proceso de extracción de aceite por prensado a escala piloto, se estudió y determinó la mejor combinación de variables con mayor influencia en el proceso, lo que permitió obtener un aceite y, al mismo tiempo un residuo (harina desgrasada de chía, HPDC) de buena calidad. La HPDC fue caracterizada en cuanto a su perfil químico, capacidad antioxidante y funcional para poder aprovecharlo como ingrediente en la elaboración de productos elaborados a base de harina de trigo. Se pudo concluir que no existen condiciones drásticas que conlleven a un deterioro significativo de la calidad química del aceite ni de las características antioxidantes del residuo de extracción (HPDC). El rendimiento en aceite, única variable afectada por el proceso de extracción puede ser mejorado ajustando el contenido de humedad de las semillas a 10,32% y trabajando a 58°C. No obstante, para la obtención de un aceite con una buena calidad química y oxidativa como así un residuo (HPDC) con las mejores características antioxidantes, se obtuvo una optimización de las variables de proceso de 10% de humedad de las semillas a una temperatura de 88°C.

Después de elegir las mejores condiciones del proceso para la obtención de la HPDC, se caracterizó al residuo y se demostró mejores propiedades nutricionales de la HPDC (proteína, fibra, ácidos grasos esenciales, cenizas y propiedades antioxidantes) en comparación a la harina de trigo comercial. En este sentido, tanto las semillas de chía como la HPDC demostraron tener características funcionales positivas en cuanto

a su capacidad de absorber agua, capacidad de gelificar y de brindar un entorno viscoso en presencia de agua.

Habiendo corroborado que la HPDC es un ingrediente alimentario con propiedades gelificantes y con un gran potencial para mejorar la calidad nutricional y la capacidad antioxidante de productos alimenticios se evaluó el efecto de la incorporación de esta sobre la calidad nutricional, sensorial y tecnológica de pastas alimenticias. Los resultados de este trabajo llevaron a concluir que las pastas con diferentes niveles de HPDC presentaron una evidente mejora en la calidad nutricional (proteínas, FDT, cenizas, relación omega 3/omega 6) y en las propiedades antioxidantes de las mismas en comparación a la pasta no suplementada. Debido a que la mejora nutricional de productos en base a la utilización de mezclas de ingredientes funcionales puede modificar la calidad tecnológica de los productos elaborados, se analizó el efecto de la incorporación de la HPDC en la formulación de las pastas sobre los principales parámetros de calidad de estas.

La presencia de la HPDC interfirió en el retículo proteico, oscureciendo y opacando a las pastas secas. Por microscopia confocal se observaron estructuras más abiertas y menos resistentes a la fuerza de quiebre. En cuanto a la determinación de la calidad de las pastas después de la cocción, la incorporación de HPDC provocó una disminución en los tiempos óptimos de cocción de estas. No obstante, las proteínas y las propiedades de la fibra soluble de la HPDC contribuyeron a la formación de una estructura tipo gel y reforzaron la firmeza de las pastas. Un contenido de hasta un 5% HPDC se consideró viable para obtener pastas con una mejor calidad nutricional y funcional y con una calidad tecnológica y sensorial aceptable.

En una siguiente etapa se analizó la influencia del almacenamiento (12 meses) de las pastas elaboradas sobre las propiedades físicas, nutricionales y sensoriales de las pastas elaboradas. Los resultados demostraron que después de los 12 meses, hubo redistribución de humedad en las mismas y las pastas conservaron sus propiedades nutricionales. El almacenamiento de estas disminuyó el contenido de polifenoles totales y su actividad antioxidante. A su vez, la calidad tecnológica de las pastas se vio también modificada a causa del almacenamiento. Se encontró que las pastas fueron más frágiles, presentaron estructuras más débiles y con menores tiempos óptimos de cocción. La microscopía de las pastas almacenadas constató que los gránulos de almidón son más pequeños y compactos. También se observó una estructura más

abierta con huecos en su interior lo que se relaciona con la fragilidad y menores tiempos de cocción evaluados en la calidad tecnológica.

Se ha demostrado que la actividad antioxidante está asociada con el contenido de compuestos fenólicos. En una siguiente etapa se buscó estudiar la composición fenólica de la HPDC y de las pastas elaboradas, con el fin de entender las propiedades antioxidantes benéficas de las pastas suplementadas. Además, teniendo en cuenta que la pasta se consume después de la cocción y que el perfil químico de estos componentes puede verse afectado por las altas temperaturas, se analizaron los efectos de los procesos de cocción y digestión sobre el perfil químico de los compuestos fenólicos de las pastas elaboradas. Se identificaron 14 compuestos fenólicos en la HPDC. Los principales componentes aportados fueron el ácido rosmarínico y su glucósido. Se constató que el aumento del contenido de HPDC mejoró las propiedades antioxidantes en pastas crudas y cocidas. Por otro lado, los niveles de ácido rosmarínico y su glucósido no se vieron fuertemente afectados por el proceso de cocción. El estudio de la estabilidad y bioaccesibilidad de los compuestos antioxidantes en las pastas cocidas durante los diferentes pasos de un modelo experimental simulado de la digestión gastrointestinal *in vitro* y posterior absorción, mostró que solo una pequeña proporción de los polifenoles libres estudiados pudieron ser absorbidos en el intestino delgado para llegar a los tejidos, mientras que algunos compuestos permanecieron sin absorber en esta etapa continuando hacia el colon, siendo otro proceso de digestión que involucra a la microflora. Uno de los componentes más bioactivos y principales de las semillas de chía, el ácido rosmarínico y su glucosido, se encontraron biodisponibles en ambas vías de entrada.

En otra etapa se estudió el impacto de diferentes temperaturas (45, 55 y 65 °C) y la influencia de la incorporación de la HPDC sobre la cinética de secado de pastas alimenticias. Se describió dicho comportamiento a través del modelo de Midilli et al. y se pudo concluir que la temperatura tuvo gran influencia en el secado de pastas, de modo que, a temperaturas de secado más altas ocurre una mayor transferencia de calor hacia su interior acelerando la evaporización de la humedad interna de las mismas. Al mismo tiempo, se concluyó que la incorporación de HPDC modificó la cinética de secado de las pastas (dependiendo de la temperatura del aire) de modo que, a temperaturas altas la HPDC interfirió en la eliminación del agua dentro de la pasta. A su vez se corroboró dependencia del coeficiente de difusividad de humedad efectiva con la temperatura del aire de secado, lo que permite calcular el tiempo de

secado a una temperatura dada. Al mismo tiempo se necesitó mayor energía de activación para el secado de las pastas suplementadas. El análisis de imágenes permitió visualizar los cambios producidos por el secado de las pastas a distintas temperaturas. La textura superficial de pastas con HPDC tiende a ser más rugosa. Las pastas secadas a mayores temperaturas presentaron poros de mayor tamaño que las pastas secadas a bajas temperatura. Las propiedades de resistencia a la fuerza de rotura de las pastas suplementadas mejoraron cuando fueron secadas a 65 °C. No obstante, en pastas no suplementadas los mejores resultados en cuanto a sus propiedades de resistencia y microestructura se observaron con el secado a 55 °C.

También se decidió evaluar el efecto de la incorporación de la HPDC en una nueva matriz alimentaria. Para ello se elaboraron muffins con HPDC y se estudiaron los cambios en las propiedades tecnológicas, sensoriales y nutricionales de los mismos a 0, 7 y 14 días de almacenamiento. La determinación de la calidad nutricional de los muffins indicó que la adición de la HPDC mejoró el contenido de proteínas, fibra dietética, cenizas, capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles. La incorporación de la HPDC en la formulación de los muffins modificó las características físicas de los mismos, provocando un aumento de la viscosidad aparente de los batidos, en la firmeza de la miga, oscureció la corteza y la miga, disminuyó la altura y el volumen los muffins. La evaluación de la microestructura reveló que la incorporación de HPDC produce una estructura de miga más abierta y heterogénea en relación con los muffins control. La incorporación de hasta un 5% de HPDC no provocó cambios negativos en la aceptabilidad sensorial. Los muffins durante el almacenamiento presentaron cambios en sus propiedades físicas. Se demostró pérdida de humedad, aumento de la firmeza y disminución en el volumen específico de todas las muestras. A su vez, cuanto más alto el contenido de HPDC, más rápida es la cinética de envejecimiento de los muffins. La proporción de poros pequeños parece disminuir a medida que los muffins se almacenan.

El perfil de polifenoles evaluado en los extractos etanólicos de la HPDC confirmó la presencia de 15 compuestos polifenólicos, la mayoría también fueron derivados de los ácidos hidroxicinámicos, siendo los principales compuestos identificados el ácido rosmarínico, salvafiasido y el ácido fertarico. Por otro lado, el aumento del contenido de HPDC mejoró el perfil de polifenoles de los muffins donde los niveles de ácido rosmarínico y su glucósido no se vieron fuertemente afectados por el proceso de cocción.

Por último, se procedió a realizar un estudio preliminar de extracción de polifenoles empleando mezcla de solventes que son seguros, amigables al ambiente y aptos para el uso en alimentos como el etanol y el agua, a través de métodos novedosos alternativos a la extracción convencional sólido/líquido (C) como la extracción asistida por ultrasonido (S) y por microondas (MW). Se concluyó que la aplicación de estas técnicas novedosas modificó el rendimiento de extracción de los polifenoles, siendo la técnica más eficiente (mayor rendimiento de polifenoles) la extracción asistida por microondas reduciendo el tiempo de extracción comparado a la metodología convencional de horas a minutos.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo demostraron que la HPDC es un ingrediente alimenticio valioso que posee propiedades nutricionales importantes significando un aporte considerable en el estudio de las pastas alimenticias y muffins como alimentos funcionales, a través de su incorporación en sus formulaciones. Siendo sus propiedades antioxidantes las más destacadas durante esta investigación. Además, la utilización de este producto en formulaciones de alimentos podría agregar mayor valor a la cadena agroalimentaria. Aunque se observaron algunos cambios en la calidad tecnológica y sensorial de los productos elaborados, se podría proponer un uso seguro del 5% de la harina de chía parcialmente desgrasada logrando productos de calidad aceptable con una mejora en el perfil nutricional de los productos elaborados con ella. No obstante, se requiere la comprensión completa de las estructuras químicas frente a los cambios durante el procesamiento de los alimentos elaborados con la HPDC, su metabolismo, biodisponibilidad y los efectos que aportan en la salud del consumidor con el fin de poder entender cómo estos compuestos bioactivos presentes en la HPDC ejercen su efecto benéfico sobre el organismo humano.

## BIBLIOGRAFIA

- AACC, (2000, 2001). Métodos 08-01, 16-50, 32-05, 32-10, 32-26, 32-40, 44-15, 44-19, 46-30 y 56-11. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th Edition. The Association. St., Paul, Minnesota, USA. 46, 112-126.
- Abecassis J., Abbou R., Chaurand M., Morel M.H., Vernoux P., (1994). Influence of Extrusion Conditions on Extrusion Speed, Temperature, and Pressure in the Extruder and on Pasta Quality, *American Association of Cereal Chemists*. 71, 247-253.
- Abecassis J., Faure J., Feillet P., (1989). Improvement of cooking quality of maize pasta products by heat treatment. *Journal of Food Science and Food Agriculture*. 47, 475-485.
- Acosta E.B., Gutiérrez U.J., Serna S.S.O., (2014). Bound phenolics in foods, a review, *Food Chemistry*. 152, 46-55.
- Agrawal Y.C., Singh R.D., (1977). Thin layer drying studies for short grain rice. *Transactions of the American society of Agricultural and Biological Engineers, (USA)*. 77, 1-13.
- Agudo Medina, L., (2010). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. *Revista online Autodidacta*. 37, 27-34
- Aguilera, J.M., (2003). Drying and dried products under the microscope. *International of Food Science and Technology*. 9, 137-143.
- Ahmed M., Ting I.P., Scora R.W., (1994). Leaf oil composition of *Salvia Hispanica* L., from three geographical areas. *Journal of Essentials Oil*. 6, 223-228.
- Alara, O.R., Abdurahman, N.H., Olalere, O.A., (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using response surface methodology. *Foods and Bioproducts Processing*. 107, 36-48.
- Al-Dhabi, N.A., Ponmurugan, K., Jeganathan, P.M., (2017). Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics Sonochemistry*. 34, 206-213.
- Alexandre T.J.L., Buica A., Nieuwoudt H., Aleixandre J.L., du Toit W., (2017). Spectrophotometric analysis of phenolic compounds in grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65, 4009-4026.
- Aliani M., Ryland D., Pierce G.N., (2011). Effect of flax addition on the flavor profile of muffins and snack bars. *Food Research International*. 44, 2489-2496.
- Alonso C.N., Aguilar S.M.A., Vernon C.E.J., Jiménez A.R., Cruz S.F., Román G.A., (2017). Extraction of phenolic compounds from *satureja macrostema* using microwave-ultrasound assisted and reflux methods and evaluation of their antioxidant activity and cytotoxicity. *Industrial Crops and Products*. 103, 213-221.
- Altamirano E.B., Iñaguazo T.J.J., Lozano B.C., (2015). Efecto del consumo de chía (*Salvia hispánica* L.) sobre los síntomas de estreñimiento presentados por

estudiantes de una universidad privada en Lima Este. *Revista Científica de Ciencias de la Salud*. 8, 19-24.

Altemimi A., Choudhary R., Watson D.G., Lightfoot D.A., (2015). Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrasonics Sonochemistry*. 24, 247-255.

Altemimi A., Watson D.G., Choudhary R., Dasari M.R., Lightfoot D.A., (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *Plos One*. 11, 1-20.

Álvarez Ch.L.M., Valdivia L.M. A., Aburto J.M.L., Tecante A., (2008). Chemical characterization of the lipid fraction of Mexican chia seed (*Salvia Hispanica* L.). *International Journal of Food Properties*. 11, 687-697.

Alves A.M., de Lima Brito Polari I., de Albuquerque M.B.R.L., de Lima A.E. A., da Silva Junior J.C., de Andrade Vieira É., Albuquerque dos Santos N., de Magalhães C. A.M.T., (2019). Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. *Food Chemistry*. 275, 489-496.

Andrieu J., Stamatopoulos, A.A., (1986). Durum wheat pasta drying kinetics. *LWT Food Science and Technology*. 19, 448-456.

Antognelli C., (1980). The manufacture and applications of pasta as a food and as a food ingredient: a review. *LWT Food Science and Technology*. 15, 121-145.

AOAC (2016). Official methods of analysis of the AOAC International (20th Ed.), USA.

AOCS (1991, 2009). Official Methods and Recommended Practices. American Oil Chemists' Society. (5th Ed.) Methods Ce 1-62, Ce 2-66, Ce 1b-89.

Aranibar C., Pedrotti F., Archilla M., Vázquez C., Borneo R., Aguirre A., (2019), "Storage and preservation of dry pastas into biodegradable packaging made from triticale flour", *Journal of Food Science and Technology*. 19, 01-30.

Aravind N., Sissons M.J., Fellows C.M., Blazek J., Gilbert E.P., (2012). Effect of insoluble dietary fibre addition on technological, sensory, and structural properties of durum wheat spaghetti. *Food Chemistry*. 132, 993-1002.

Araya H., Pak N., Vera G., Alviña M., (2003). Digestion rate of legume carbohydrates and glycemic index of legume-based meals. *International of Journal of Food Science and Nutrition*. 54, 119-126.

Arend G.D., Adorno W.T., Rezzadori K., Di Luccio, M., Chaves, V.C., Reginatto, F.H., Cunha Petrus J.C., (2017). Concentration of phenolic compounds from strawberry (*Fragaria X ananassa* Duch) juice by nanofiltration membrane. *Journal of Food Engineering*. 201, 36-41.

Armero E., Collar C., (1998). Crumb firming kinetics of wheat breads with antistaling additives. *Journal of Cereal Science*. 28, 165-174.

Arts M.J.T.J., Sebastiaan D.J., Voss H.P., Haenen G.R.M.M., Bast A., (2003). A critical appraisal of the use of the antioxidant capacity (TEAC) assay in defining optimal antioxidant structures. *Food Chemistry*. 80, 409-414.

- Aspé E., Fernández K., (2011). The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and antiradical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. *Industrial Crops and Products*. 34, 838-844.
- Astiasarán I., Martínez A., (1999). Alimentos, Composición y Propiedades. *Mc.Graw-Hill. Interamericana*. España, 1ª edición. 25, 5-364.
- Ávila M., (2002). Incorporación del Rapid Visco Analyzer (RVA) para la determinación de la calidad culinaria de arroz. Fundación para la Investigación Agrícola, *Boletín Informativo*, Enero/Marzo: Año VII, N° 3.
- Awika J.M., Rooney L.W., Wu X., Prior R.L., Cisneros Z.L., (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 6657-6662.
- Ayaz A., Akyol A., Inan E.E., Kabasakal C.A., Samur G., Akbiyik F., (2017). Chia seed (*Salvia hispanica* L.) added yogurt reduces short-term food intake and increases satiety: Randomised controlled trial. *Nutrition Research and Practice*. 11, 412-418.
- Ayerza R., Coates W., (1998). Commercial Production of chia in northwestern Argentina. *Journal of The American Oil Chemists Society*. 75, 1417-1420.
- Ayerza R.J., (1995). Oil Content and fatty acid composition of chia (*Salvia Hispanica* L.) from five northwestern locations in Argentina. *Journal of American Oil Chemists Society*. 72, 1079-1081.
- Ayerza R., Coates W., (2000). Dietary levels of chia: influence on yolk cholesterol, lipid content and fatty acid composition, for two strains of hens. *Poultry Science*. 78, 724-739.
- Ayerza R., Coates W., (2001a). Chia seeds: natural source of omega-3 fatty acids. *The Annual Meeting of The Association for the Advancement of Industrial Crops*. 17, 1-18.
- Ayerza R., Coates W., (2001b), Chia seeds: New source of omega-3 fatty acids, natural antioxidants and dietetic fiber. *Southwest Center for Natural Products Research and Commercialization*, Office of Arid Lands Studies. Tucson, Arizona, USA.
- Ayerza R., Coates W., (2004). Composition Of Chia (*Salvia Hispanica* L) Grown in Six Tropical and Subtropical Ecosystems of South America. *Tropical Science*. 44, 131-135.
- Ayerza R., Coates W., (2005). Chía. Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs (1st ed.). The University of Arizona Press, Tucson, USA, 197.
- Ayerza R., y Coates W., (2007). Seed yield, oil content, and fatty acid composition of three botanical sources of w-3 fatty acid planted in the Yungas ecosystem of tropical Argentina, *Tropical Science*. 47, 183-187.
- Ayerza R., Coates, W., (2009a). Algunos componentes de calidad de cuatro genotipos de chía (*Salvia hispanica* L.) cultivados en condiciones de ecosistema de desierto costero tropical. *Asian Journal of Plant Sciences*. 8, 301-307.

- Ayerza R., Coates W., (2009b). Influence of environment on growing period and yield, protein, oil and  $\alpha$ -linolenic content of three chia (*Salvia hispanica* L.) selections. *Industrial Crops and Products*. 30, 321-324.
- Ayerza R., Coates W., (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products*. 34, 1366-1371.
- Ayerza R., (2013). Seed composition of two chia (*Salvia hispanica* L.) genotypes which differ in seed color. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 25, 495-500.
- Badui S.D., (1984). Química de los Alimentos. Editorial Alhambra. México. 315 - 317.
- Baeva M.R., Terzieva V.V., Panchev I.N., (2003). Structural development of sucrose-sweetened and sucrose-free sponge cakes during baking. *Food Nahrun*. 47, 154-160.
- Baixauli R., Salvador R., Fiszman S.M., (2008). Muffins with resistant starch: Baking performance in relation to the rheological properties of the batter. *Journal of Cereal Science*. 47,502-509.
- Bampouli A., Kyriakopoulou K., Papaefstathioub G., Loulia V., Krokida M., Magoulas K., (2014). Comparison of different extraction methods of Pistacia lentiscus var. chia leaves: Yield, antioxidant activity and essential oil chemical composition. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 12. 1-11.
- Baquero C., Bermúdez S.A., (1998). Los residuos vegetales de la industria de jugo de maracuyá como fuente de fibra dietética. En: Temas de Tecnología de alimentos, Vol. 2 Fibra Dietética; Editado por Lajolo, M. y E. Wenzel, CYTED Instituto Politécnico Nacional, México. 207-214.
- Barba de la Rosa A.P., Herrera A., Utsumi S., Paredes López O., (1996). Molecular characterization, cloning and structural analysis of a cDNA encoding an amaranth globulin. *Journal Plant Physiology*. 149, 527-532.
- Bartolozzo J., Borneo R., Aguirre A., (2015). Effect of triticale-based edible coating on muffin quality maintenance during storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 10, 88-95.
- Baş D., Boyacı I.H., (2007). Modeling and optimization I: usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*. 78,836-845.
- Bath D.E., Shelke K., Hosney R.C., (1992). Fat replacers in high ratio layer cakes. *Cereal Foods World*. 37, 495-500.
- Beesley P.M. (1995). Sugar functionality reviewed. *Food Technology International Europe*. 1, 87-89.
- Bellisle R., Diplock A.T., Hornstra G., (1998). Functional food science in Europe. *British Journal and Nutrition*. 80, 3-193.
- Belwal T., Bhatt I.D., Rawal R.S., Pande V., (2017). Microwave-assisted extraction (MAE) conditions using polynomial design for improving antioxidant phytochemicals in Berberis asiatica Roxb. ex DC. leaves. *Industrial Crops and Products*. 95, 393-403.

- Benzie I.F., Strain J.J., (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*. 239, 70-6.
- Bergman C., Gualberto D., Weber C., (1994). Development of high-temperature-dried soft wheat supplemented with cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) Cooking quality, color and sensory evaluation. *Cereal Chemistry*. 71, 523-527.
- Besbes E., Jury V., Monteau J.Y., Le Bail A., (2014). Effect of baking conditions and storage with crust on the moisture profile, local textural properties and staling kinetics of pan bread, *LWT Food Science and Technology*. 58, 658-666.
- Betancur A.D., Peraza M.G., Moguel O.Y., Fuertes B.S., (2004). Physicochemical characterization of Lima bean (*Phaseolus lunatus*) and Jack bean (*Canavalia ensiformis*) fibrous residues. *Food Chemistry*. 84, 287-295.
- Betchel W., (1955). A review of bread staling research. *Cereal Chemistry*. 13,108-121.
- Bezerra M.A., Santelli R.E., Oliveira E.P., Villar L.S., Escalera L.A., (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 76, 965-977.
- Biglari F., Alkarkhi A.F.M., Easa A.M., (2008). Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran, *Food Chemistry*. 107, 1636-1641.
- Biney K., y Beta T., (2014). Perfil fenólico y digestibilidad de carbohidratos del espagueti duro enriquecido con harina de trigo sarraceno y salvado. *LWT Food Science and Technology*. 57, 569-579.
- Björck I., Granfeldt Y., Liljeberg H., Tovar J., Asp N., (1994). Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*. 59, 699S-705S.
- Bodoira R.M. Penci C., Ribotta P., Martínez M., (2017). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *LWT Food Science and Technology*. 75,107-113.
- Borderías A.J., Sánchez A.I., Pérez M. M., (2005). New applications of fibres in foods: Addition to fishery products. *Trends in Food Science and Technology*. 16, 458-465.
- Bordin A.B., Roque S.B., (2012). The effects of adding soy fiber to wheat spaghetti. *Food Processing Research Center Bulletin*. 2, 177-184.
- Borneo R., y Aguirre, A. (2011). Effect of Wheat Varieties on Pasta Quality. Food Quality: Control, Analysis and Consumer Concerns. *Nova Science Publishers*. 16, 1-13.
- Borneo R., Aguirre A., (2008). Chemical composition, cooking quality, and consumer acceptance of pasta made with dried amaranth leaves flour. *LWT Food Science and Technology*. 41,1748-1751.

- Borneo R., Aguirre A., León A.E., (2010). Chia (*Salvia hispanica* L.) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *Journal of American Dietetic Association*. 110, 946-949.
- Bouras M., Chadni M., Barba F.J., Grimi N., Bals O., Vorobiev E., (2015), Optimización de la extracción asistida por microondas de polifenoles de la corteza de *Quercus*, *Industrial Crops and Products*. 77, 590-601.
- Box G.E.P., (1950). Problems in the Analysis of Growth and Wear Curves. *Biometrics*, 6, 362-378.
- Brand W.W., Cuvelier M.E., Berset C., (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*. 28, 25-30.
- Brennan J.G., Butters J.R., Cowell N.D., Lilly A.E.V., (1998). Dehydration in food engineering operations, *Elsevier Science Publishing*. 3, 371-415.
- Brennan C.S., y Tudorica C.M., (2008). Evaluation of potential mechanisms by which dietary fibre additions reduce the predicted glycaemic index of fresh pastas. *International Journal of Food Science and Technology*. 43, 2151-2162.
- Brennan C., Brennan M., Derbyshire E., Tiwari B.K., (2011). Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. *Trends of Food Science and Technology*. 22, 570-575.
- Brunel C., Pareyt B., Brijs K., Delcour J.A., (2010). The impact of the protein network on the pasting and cooking properties of dry pasta products. *Food Chemistry*. 120, 371-378.
- Bruns R.E., Scarminio I.S., Barros N. B., (2006). Statistical design-chemometrics and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems, *Journal of Chromatography*. 1158, 2-14.
- Bucić Kojić, A., Planinić, M., Srećko, T., Jokić, S., Mujić, I., Bilić, M., Velić, D., (2011). Effect of Extraction Conditions on the Extractability of Phenolic Compounds from Lyophilised Fig Fruits (*Ficus Carica* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 61, 195-199.
- Bueno M., Di Sapia O., Barolo M., Busilacchi H., Quiroga M., Severin C., (2010). Quality tests of *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae) fruits marketed in the city of Rosario (Santa Fe province, Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe. Medicinal and Aromatic Plants Research Journals*. 9, 221-227.
- Buitimea Cantúa, N.E. Antunes Ricardo M., Villela Castrejón J., Gutiérrez Uribe J., (2019). Changes in cellular antioxidant and anti-inflammatory activity after 12 months storage of roasted maize-based beverages supplemented with nejayote solids. *Journal of Cereal Science*. 89, 1-8.
- Burkart A., (1979). Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina). *Colección Científica INTA*, Buenos Aires, Argentina. 6, 1-606.
- Bushuk W., (1998). Wheat breeding for end product use. *Euphytica*. 100, 137-145.

- Bushway A.A., Belyea P.R., Bushway R.J. (1981). Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. *Journal of Food Science*. 46, 1349-1350.
- Busilacchi H., Questa T., Zuliani S., (2015). La chía como una nueva alternativa productiva para la región pampeana. Artículo de divulgación, *Agromensajes*. 41,37-46.
- Bustos M.C., (2011). Utilización de la harina integral de cañahua en la elaboración de pastas, tesis de *Maestría en Tecnología de Alimentos*, Universidad Católica de Córdoba, Argentina.
- Bustos M.C., Pérez G.T., León A.E. (2011). Effect of four types of dietary fiber on the technological quality of pasta. *International of Food Science and Technology*. 17, 213-21.
- Bustos M., Vignla B., Paesani C., León A., (2019). Berry fruits enriched pasta: Effect of processing and in vitro digestion on phenols and its antioxidant activity, bioaccessibility and potential bioavailability. *International Journal of Food Science and Technology*. 8, 1-9.
- CAA, (2018), Alimentos farináceos, cereales, harinas y productos derivados. Capítulo IX, *Productos de fideería*.
- Cahill J., (2003). Ethnobotany of Chía, *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae), *Economic Botany*. 57, 604-618.
- Calvelo A., (2008). Material del curso Tecnología de elaboración de pastas secas. Universidad Nacional de La Plata. Maestría en tecnología de los alimentos. Argentina.
- Campos B.E., Dias R.T., da Silva S.M.R., Madrona G.S., Bergamasco R., (2016). Optimization of the mucilage extraction process from chia seeds and application in ice cream as a stabilizer and emulsifier. *LWT Food Science and Technology*. 65, 874-883.
- Capitani M.I., Ixtaina V.Y., Nolasco S.M., Tomás M.C., (2013). Microstructure, chemical composition and mucilage exudation of chia (*Salvia hispanica* L.) nutlets from Argentina. *Journal Science of Food Agriculture*. 93, 3856-3862.
- Capitani M.L., Sportono V., Nolasco S.M., Tomás M.C., (2012). Physicochemical and functional characterization of by-products from chía (*Salvia Hispanica* L.) seeds of Argentina. *LWT Food Science and Technology*. 45, 94-102.
- Capriles V.D., dos Santos F.G., Alfredo G.J.A., (2016). Gluten-free breadmaking: Improving nutritional and bioactive compounds, *Journal of Cereal Science*. 67, 83-91.
- Carbonera F., Montanher P.F., Figueiredo I.L., Bonafé E.G., Santos J.O.O., Sargi, S.C., (2016). Lipid composition and antioxidant capacity evaluation in tilapia fillets supplemented with a blend of oils and vitamin E. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 93, 1255-1264.
- Carini E.C.E., Cassotta F., Najm N.E.O, Vittadini E., (2014). Physico-chemical properties of ready to eat, shelf-stable pasta during storage. *Food Chemistry*, 144, 74-79.

- Carrera C., Ruiz Rodríguez A., Palma M., Barroso C., (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*. 732, 100-104.
- Casazza A., Aliakbarian B., Mantegna S., Cravotto G., Perego P., (2010). Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non conventional techniques. *Journal of Food Engineering*. 100, 50-55.
- Cavalcanti R.N., Santos D.T., Meireles M.A.A., (2011). Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. *Food Reserch International*. 44, 499-509.
- CBI-MFA (CBI Ministry Foreign Affairs), (2015). CBI Tailored Intelligence: Chia from Bolivia. A modern super seed in a classic pork cycle, *CBI Market Intelligence*. The Hague, Netherlands.
- CFR, (2010). Code Federal Regulation Health claims: fiber-containing products, fruits and vegetables and cancer. 101.76.
- Chambers J., Cleveland W.S., Kleiner B., Tukey P., (2018). Graphical Methods for Data Analysis, *CRC Press*. 7, 118.
- Chandra S., Singh S., Kumari D., (2015). Evaluación de las propiedades funcionales de las harinas compuestas y los atributos sensoriales de la galleta de harina compuesta, *Journal of Food Science Technology*. 52, 3681-3688.
- Chang Y.K., Martínez F.H.E., (2004). Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*. Campinas. 24, 487-493.
- Chang W.C., Kuo P.L., Chen C.W., Wu J.S.B., Shen S.C., (2015). Caffeic acid improves memory impairment and cerebral glucose metabolism by improving insulin and brain leptin signaling pathways in hyperinsulinemic rats induced by a high fat diet. *Food Research Internacional*. 77, 24-33.
- Chavan V., Gadhe K., Dipak S., Hingade S., (2017). Studies on extraction and utilization of chia seed gel in ice cream as a stabilizer. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 6, 1367-1370.
- Chemat F., Khan M.K., (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18, 813-835.
- Chen C.H., Bushuk W., (1970). Nature of proteins in Triticale and its parental species I. Solubility characteristics and amino-acid composition of endosperm proteins. *Canadian Journal of Plant Science*. 50, 9-14.
- Chetana M. L., Begum K., Ramasarma P.R., (2010). Nutritional characteristics of linseed/flaxseed (*Linum usitatissimum*) and its application in muffin making. *Journal of Texture Studies*. 41, 563-578.
- Chew K., Khoo M.Z., Ng S.Y., Thoo Y.Y., Wan A.W.M., Ho C.W., (2011). Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *International Food Research Journal*. 18,1427-1435.

- Chiang P.S., Lee D.J., Whiteley C.G., Huang, C.Y., (2017). Extracting antioxidant phenolic compounds from compression-puffing pretreated *Pinus morrissonicola*: effects of operational parameters, kinetics and characterization. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 75, 70-76.
- Chillo S., Ranawana D.V., Pratt M., Henry C.J.K., (2011). Glycemic response and glycemic index of semolina spaghetti enriched with barley  $\beta$ -glucan. *Nutrition*. 27, 653-658.
- Chillo S., Laverse J., Falcone P., Del Nobile M., (2008). Quality spaghetti in base amaranthus whole meal flour added with quinoa broad bean and chickpea. *Journal of Food Engineering*. 84, 101-107.
- Chhinnan M.S. (1984). Evaluation of selected mathematical models for describing thin-layer drying of in-shell pecans. *Transactions American Society Agricultural and Biological Engineers*. 27, 610-615.
- Chupin L., Maunu, S. L., Reynaud S., Pizzi A., Charrier B., Charrier E.B.F., (2015). Microwave assisted extraction of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark: impact of particle size and characterization. *Industrial Crops and Products*. 65, 142-149.
- Clydesdale F., (1997). A proposal for the establishment of scientific criteria for health claims for functional foods. *Nutrition Reviews*. 55. 413-22.
- Coates W., (2011). Whole and ground chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, chia oil - effects on plasma lipids and fatty acids. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. 34, 1366-1371.
- Codex Alimentarius commission (2008). Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos Buenos Aires. Actualizado por Resolución 110/95. Incorporación Resoluciones del Grupo Mercado Común del MERCOSUR, *Ministerio de Salud y Acción Social*.
- Coelho M.S., y Salas Mellado M.M., (2015). Effects of substituting chia (*Salvia hispanica* L.) flour or seeds for wheat flour on the quality of the bread. *LWT Food Science and Technology*. 60, 729-736.
- Colonna P., Barry J.L., Cloarec D., Bornet F., Gouiloud S., Galmiche J.P., (1990). Enzymic susceptibility of starch from pasta. *Journal of Cereal Science*. 11, 59-70.
- Coorey R., Tjoe A., Jayasena V., (2014). Gelling properties of chia seed and flour. *Journal of Food Science*. 79, 859-866.
- Coorey R.A., Grant A., Jayasena V., (2012). Effect of chia flour incorporation on the nutritive quality and consumer acceptance of chips. *Journal of Food Research*. 4, 85-95.
- Copeland L., Blazek J., Salman H., Chiming Tang M., (2009). Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*. 23, 1527-1534.
- Corbin C., Fidel T., Leclerc E.A., Barakzoy E., Sagot N., Falguières A., Renouard S., Blondeau J.P., Ferroud C., Doussot J., Lainé E., (2015). Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds

- from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry fatty acid as a main ingredient*. 26, 176-185.
- Cornford S.J., Axford D.W., Elton G.A., (1964). The elastic modulus of bread crumb in linear compression in relation to staling. *Cereal Chemistry*. 41, 216-229.
- Corona Jimenez, Martínez Navarrete N., Ruiz Espinosa H., Carranza Concha J., (2016). Ultrasound-assisted extraction of phenolics compounds from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and their antioxidant activity. *Agrociencia*. 50, 403-412.
- Cortés M., Chiralt A., Puente L., (2005). Alimentos funcionales: Una Historia con mucho presente y futuro. *Vitae, Revista de la Facultad de química*. Medellín, Colombia. 12, 5-14.
- Costantini L., Lukšić L., Molinari R., Kreft I., Bonafaccia G., Manzi L., Merendino N. (2014). Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chemistry*. 165, 232-240.
- Cruz M., (2002). Caracterización fisicoquímica, fisiológica y funcional de residuos fibrosos de cascara de maracuyá (*Pasiflora edulis*) Tesis. *Facultad de Ingeniería Química*, Universidad Autónoma de Yucatán, México.
- Cuq B., Verniere C., (2001). Characterisation of glass transition of durum wheat semolina using modulated differential scanning calorimetry. *Journal of Cereal Science*. 33, 213-221.
- Cvetkovikj I., Stefkov G., Acevska J., Petreska S.J., Karapandzova M., Stefova M., Kulevanova S., (2013). Caracterización polifenólica y métodos cromatográficos para la evaluación rápida de especies de *Salvia* culinarias del sudeste de Europa. *Revista de cromatografía*. 1282, 38-45.
- Da Porto C., Porretto E., Decorti D., (2013). Comparison of ultrasound assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20, 1076-1080.
- Da Silva W.P., Precker J.W., Silva M.D.P.S., Palmeira Gomes J., (2010). Determination of effective diffusivity and convective mass transfer coefficient for cylindrical solids via analytical solution and inverse method: Application to the drying of rough rice. *Journal of Food Engineering*. 98, 302-308.
- da Silva Marineli R., Moraes E., Alves Lenquiste S., Teixeira Godoy A., Nogueira Eberlin M., Maróstica M., (2014). Chemical Characterization and Antioxidant Potential of Chilean Chia Seeds and Oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT - Food Science and Technology*. 3, 1-7.
- Dahmoune F., Spigno G., Moussi K., Remini H., Cherbal A., Madani K., (2014). Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds: microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products*. 61, 31-40.
- Darvishi H., Abbas Rezaie A., Ali A., Mohsen A., Gholamhassan N., Jalal K., (2014). Study of the drying kinetics of pepper. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 13, 1-9.

- De Falco B., Amato M., y Lanzotti V., (2017). Chia seeds products: an overview, *Phytochemistry Reviews*. 16, 745-760.
- De Falco B., Fiore A., Bochicchio. R., Amato M., y Lanzotti V., (2018). Metabolomic analysis by UAE-GC MS and antioxidant activity of *Salvia hispanica* L. seeds grown under different irrigation regimes. *Industrial Crops and Products*. 112, 584-592.
- De Hombre R., Castro E., (2003). Análisis de la textura de Spaghetti de diferentes marcas comerciales en Chile. Santiago, Chile.
- De Noni I., y Pagani M.A., (2010). Cooking properties and heat damage of dried pasta as influenced by raw material characteristics and processing conditions, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 50, 465-472.
- De Stefanis E., Sgrulletta E., (1990). Effects of high temperature drying on technological properties of pasta. *Journal of Cereal Science*. 12, 97-104.
- De Temmerman J., Verboven B.N., Ramon H., (2007). Modelling of transient moisture concentration of semolina pasta during air drying. *Journal of Food Engineering*. 80, 892-903.
- Decker E.A., (1997). Phenolics: prooxidants or antioxidants. *Nutritional Reviews*. 55, 396-398.
- Delgado M. y Castro M.D.L.D., (2013). Ultrasound-assisted analytical emulsification-extraction. *Trends in Analytical Chemistry*. 45, 1-13.
- Dendy D.A.V. y Dobraszczyk B.J., (2004). Cereals and Cereal Products. Aspen Publishers Inc., Gaitsburg, Maryland, USA., *Chemistry and Technology*. 3, 263-75.
- Deng J., Xu Z., Xiang C., Liu J., Zhou L., Li T., Yang Z., Ding Z., (2017). Comparative evaluation of maceration and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fresh olives. *Ultrasonics Sonochemistry*. 37, 328-334.
- Dexter J.E. y Matsuo R.R., (1979). Changes in spaghetti protein solubility during cooking. *Cereal Chemistry*. 56, 394-398.
- Dexter J.E., Matsuo R.R., Dronzek B.L., (1979). A scanning electron microscopy study of Japanese noodles. *Cereal Chemistry*. 56, 202-208.
- Dexter J.E., Dronzek B.L., Matsuo R.R., (1978). Scanning electron microscopy of cooked spaghetti. *Cereal Chemistry*. 55, 23-30.
- Dexter J.E., Matsuo R.R., y Macgregor A.W., (1985). Relationship of instrumental assessment of spaghetti cooking quality to the type and the amount of material rinsed from cooked spaghetti. *Journal of Cereal Science*. 3, 39-53.
- Di Rienzo J.A., Guzmán A.W., Casanoves F., (2002). A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal Agricultural Biological and Environmental Statistics*. 7, 129-142.
- Di Sapio O., Bueno M., Busilacchi H., Severin C., (2008). Chía: Importante Antioxidante Vegetal. *Revista Agro mensajes*, Publicación cuatrimestral de la

Facultad de Ciencias Agrarias UNR Distribución gratuita, Rosario Argentina, 9, 221-227.

- Dias T.R., Alves M.G., Casal S., Oliveira P.F., Silva B.M., (2017). Promising potential of dietary polyphenolic compounds in the prevention and treatment of diabetes mellitus. *Current Medicinal Chemistry*. 24, 334-354.
- Diaz M., Luján Gonzales V., Ramirez L. Olano M., Vargas A., Rojas M.L., Linares G., (2017). Fenólicos a partir de residuos de café: Optimización del proceso de extracción. *Journal of High Andean Research*. 19, 405-410.
- Ding Y., Lin H.W., Lin Y.L., Yang D.J., Yu Y.S., Chen J.W., (2018). Nutritional composition in the chia seed and its processing properties on restructured ham-like products. *Journal of Food and Drug Analysis*. 26, 124-134.
- Dolinsky M., Agostinho C., Ribeiro D., De Souza G., Barroso S. G., Ferreira D., Souza G.De., (2016). Effect of different cooking methods on the polyphenol concentration and antioxidant capacity of selected vegetables. *Journal of Culinary Science and Technology*. 14, 1-12.
- Dreosti I.E., (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*. 16, 692-694.
- Durán L., y Valenzuela A., (2010). La Experiencia Japonesa Con Los Alimentos FOSHU ¿Los Verdaderos Alimentos Funcionales?, *Revista Chilena de Nutrición*. 37, 717-751.
- EC (2009). Commission Decision. Authorising the Placing on the Market of Chia seed (*Salvia hispanica*) as novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Union*. 294, 14-15.
- EFSA, (2009). Opinion on the Safety of Chia Seeds (*Salvia Hispanica* L.) and Ground Whole Chia Seeds" as a Food Ingredient. Scientific Opinion of the Panel on Dietetic Products, *Nutrition and Allergies*. 996, 1-26.
- Espada Bellido E., Ferreira González M., Carrera C., Palma M., Barroso C.G., Barbero, G.F., (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. *Food Chemistry*. 219, 23-32.
- Espín J.C., Soler-Rivas C., Wichers H., (2000). Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oils fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 648-656.
- Esposito F., Arlotti G., Bonifati A.M., Napolitano A., Vitale D., y Fogliano V., (2005). Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by products. *Food Research International*. 38, 1167-1173.
- Ezhilarasi P.N., Indrani D., Jena B.S., y Anandharamakrishnan C., (2014). Microencapsulation of Garcinia fruit extract by spray drying and its effect on bread quality. *Journal of Science and Food Agriculture*. 94,1116-1123.

- Fang K., Khalil K., (1996). Pasta containing regrinds: effect of high temperature drying on product quality. *Cereal Chemistry*. 73, 317-322.
- Fares C., Platani C., Bianco A., Menga V., (2010). Effect of processing and cooking on phenolic acid profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta enriched with debranning fractions of wheat. *Food Chemistry*. 119,10-29.
- Fares C., Codianni P., Nigro F., Platani C., Scazzina F., y Pellegrini N., (2008). Processing and cooking effects on chemical, nutritional and functional properties of pasta obtained from selected emmer genotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88, 2435-2444.
- Fares C., Platani C., Bianco A., Menga V., (2010). Effect of processing and cooking on phenolic acid profile and antioxidant capacity of durum wheat pasta enriched with debranning fractions of wheat. *Food Chemistry*. 119, 1023-1029.
- Farhat A., (2010). Vapordiffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application Ph.D. dissertation. Université d'Avignon, France.
- Feillet P., (1998). Protein and enzyme composition of durum wheat. *Durum wheat: chemistry and technology*. 1, 93-119.
- Feillet P., Ait Mouh O., Kobrehel K., Autran J.C., (1989). The role of low molecular weight glutenin proteins in the determination of cooking quality of pasta products: An overview. *Cereal Chemistry*. 66, 26-30.
- Feldman P., Santín C., Etcheverry S., (2001). Eje. Centro de Información sobre alimentos, Febrero, Chile. 1, 2-50.
- Fennema O., (2010). Damodaran Srinivasan. *Food Chemistry*. 3rd edition, CRC Press, NY, USA.
- Fernández Agulló, Pereira E., Freire M.S., Valentão P., Andrade P.B., González A J., y Pereira J., (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops solvent mixtures such as and Products*. 42, 126-132.
- Ferrari L., Piazza N., Mondelli G., (2014) Drying pasta technology in a simple format. *Professional Pasta*. L1N11P058, 10-23.
- Ferreira M., Wang S., Souza P., Ramírez J., (2004). Qualidade de cozimento de massas de trigo e soja pré-cozidas por extração. *Pesquisa Agropecuária de Brasil*. 39, 501-507.
- Figuerola F., Hurtado M.L., Estevez A. Chiffelle I., Asenjo F., (2005). Fiber concentrates from Apple pomace and citrus peel as potential fiber sources for food enrichment. *Food Chemistry*. 91, 395-401.
- Flórez N., Conde E., Domínguez H., (2015). Microwave assisted water extraction of plant compounds. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 90, 590-607.
- Fongaro L., y Kvaal K., (2013). Surface texture characterization of an Italian pasta by means of univariate and multivariate feature extraction from their texture images, *Food Research International*. 51, 693-705.

- Fu B.X., (2008), Asian noodles: History, classification, raw materials, and processing, *Food Research International*. 41, 888-902.
- Gallegos I.J.A., Rocha G.N.E., Gonzalez L.R.F., Ochoa M.L.A., Corzo N., Bello P.L.A., Medina T.L., Peralta A.L.E., (2010). Quality of spaghetti pasta containing Mexican common bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.), *Food Chemistry*. 119, 1544-1549.
- Gálvez M., Flores A., González A., (2006). Proteínas. En: Química de los Alimentos. Editorial Pearson Education, México. 3, 119-235.
- García Salcedo Á.J., Torres Vargas O.L., del Real A., Contreras Jiménez B., Rodríguez García M.E., (2018). Pasting, viscoelastic, and physicochemical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) flour and mucilage, *Food Structure*. 16, 59-66.
- Ghorbannezhad P., Bay A., Yolmeh M., Yadollahi R., Moghadam J.Y., (2016). Optimization of coagulation-flocculation process for médium density fiberboard (MDF) wastewater through response surface methodology. *Desalination and Water Treatment*. 38, 1-16.
- Giese J., (1992). Pasta: new twists on an old product. *Food and Technology*. 46, 118-126.
- Goff A., Renard C., Bonnin E., y Thibault J., (2001). Extraction, purification and chemi-cal characterization of xylogalacturonans from pea hulls. *Carbohydrate Polymers*. 45, 325-334.
- Gómez Caravaca A.M., Verardo V., Segura Carretero A., Caboni M.F., Fernández-Gutiérrez A., (2008). Development of a rapid method to determine phenolic and other polar compounds in walnut by capillary electrophoresis-electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography*. 1209, 238-245.
- Gómez Pallarés M., León A.E., Rosell C.M., (2007). De tales harinas, tales panes. Granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica. 1ra Edición. Córdoba, Argentina. 19-33.
- Gomez M., (2008). Low-sugar and low-fat sweet goods. *Food engineering aspects of baking sweet goods*. 1, 245-273.
- Gontijo D.C., Brandão G.C., Gontijo P.C., Braga de Oliveira A., Nogueira Diaz M.A., Gomes Fietto L., Viana Leite J. A., (2017). Identification of phenolic compounds and biologically related activities from *Ocotea odorifera* aqueous extract leaves. *Food Chemistry*. 230, 618-626.
- Gosselin R., Duchesne C., Rodrigue D., (2008). On the characterization of polymer powders mixing dynamics by texture analysis. *Powder Technology*. 183, 177-188.
- Goswami D., Gupta R.K., Mridula D., Sharma M., Tyagi S.K., (2015). Barnyard millet based muffins: Physical, textural and sensory properties. *LWT Food Science and Technology*. 64, 374-380.

- Goula A.M., Karapantsios T.D., Achilias D.S., Adamopoulos K.G., (2008). Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering*. 85, 73-83. 108.
- Granfeldt Y., y Björck I., (1991). Glycemic response to starch in pasta: a study of mechanisms of limited enzyme availability. *Journal of Cereal Science*. 14, 47-61.
- Granito M., Ascanio V., (2009). Desarrollo y Transferencia tecnológica de pastas funcionales extendidas con leguminosas, *Archivos latinoamericanos de nutrición*. 101, 202-211.
- Guha M., Zakiuddin A.S., y Bhattacharya S., (1998). Effect of barrel temperature and screw speed on rapid viscoanalyser pasting behaviour of rice extrudate, *International Journal of Food Science and Technology*. 3, 259-266.
- Guiotto E.N., Ixtaina V.Y., Tomas M.C.M., and Nolasco S. M., (2013). Moisture-dependent engineering properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, *Food Industry*. 1, 381-397.
- Guy R.C.E., (1983). Factors affecting the staling of madeira slab cake. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 34, 477-491.
- Handleman A.R., Conn J.F., Lyons J.W., (1961). Bubble mechanics in thick foams and their effects on cake quality. *Cereal Chemistry*. 38, 294-305.
- Haros M., Rosell C.M., Benedito C., (2002). Improvement of flour quality through carbohydrases treatment during wheat tempering, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 4126-30.
- Heck R.T., Vendruscolo R.G., de Araújo Etchepare M., Cichoski A.J., de Menezes C.R., Barin J.S., (2017). Is it possible to produce a low-fat burger with a healthy n-6/n-3 pufo ratio without affecting the technological and sensory properties? *Meat Science*. 130, 16-25.
- Hemery Y., Rouau X., Lullien Pellerin V., Barron C., Abecassis J., (2007). Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality, *Journal of Cereal Science*. 46, 327-347.
- Henderson S.M., (1974). Progress in developing the thinlayer drying equation. *Transactions American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 17, 1167-1172.
- Henriquez P., Castro E., (2002). Propiedades Viscoelásticas de pastas de harina de trigo. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. *Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química*. Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Hepler P.K., Gunning B.E.S., (1998). Confocal fluorescence microscopy of plant cells. *Protoplasma*. 201, 121-157.
- Hernández Gómez J.A., Miranda Colin S., y Peña Lomeli A., (2008). Cruzamiento natural de chíá (*Salvia Hispanica* L.), *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 14, 331-337.

- Herrero A.M., Ruiz Capillas C., Pintado T., Carmona P., Jimenez Colmenero F., (2017). Infrared spectroscopy used to determine effects of chia and olive oil incorporation strategies on lipid structure of reduced-fat frankfurters. *Food Chemistry*. 221, 1333-1339.
- Herrero M., Plaza M., Cifuentes A., Ibáñez E., (2012). Extraction techniques for the determination of phenolic compounds in food. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*. 4, 159-180.
- Hooper L., Thompson R., Harrison R., Summerbell C., Ness A., Moore H., Worthington H., (2006). Risks and benefits of omega-3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer, systematic Review. *British Medical Journal*. 332, 752-755.
- Hoseney R.C., (1994a). Pasta and noodles, principles of cereal science and technology, Second Edition. *American Association of Cereal Chemists*. 4, 321-334.
- Hoseney R.C., (1994b). Gluten proteins. Principles of Cereal Science and Technology. *American Association of Cereal Chemists*. 2, 197-211.
- Hoseney R.C., (1994c). Soft Wheat Products. Principles of Cereal Science and Technology, second ed. *American Association of Cereal Chemistry*. 2, 275-305.
- Hough G., Langohr K., Gómez G., Curia A., (2013). Survival analysis applied to sensory shelf-life of products. *Journal of Food Science*. 68,359-362.
- Howell R.W., y Collins F.I., (1957). Factors affecting linolenic and linoleic acid content of soybean. *Agronomy Journal*. 49, 593-597
- Hu J.L., Nie S.P., Min F.F., Xie M.Y., (2013). Artificial simulated saliva, gastric and intestinal digestion of polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L., *Carbohydrate Polymers*. 92, 1143-50.
- Hui Y.H., (2007). Handbook Food Products Manufacturing, *Wiley Interscience John Wiley and Sons Inc*. 1, 1017-1028.
- Iglesias Puig E., y Haros M., (2013). Evaluation of performance of dough and bread incorporating chia (*Salvia hispanica* L.). *European Food Research and Technology*. 237, 865-874.
- Inazu T., Iwasaki K. (1999). Effective moisture diffusivity of fresh Japanese noodle (udon) as a function of temperature. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 63, 638-641.
- Inazu T., Iwasaki K., (2000). Mathematical evaluation of effective moisture diffusivity in fresh Japanese noodles (Udon) by regular regime theory. *Journal of Food Science*. 65, 440-444.
- Inazu T., Iwasaki K., Furuta T. (2002). Effect of temperature and relative humidity on drying kinetics of fresh Japanese noodle (Udon). *LWT Food Science and Technology*. 35, 649-655.
- Infostat (2019). Infostat statistical software. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>. Accessed January.

- Inglett G.E., Chen D., Liu S., (2014). Physical properties of sugar cookies containing chia-oat composites. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 3226-3233.
- Inglett G.E., Chen D., Liu S.X., Lee S., (2014). Pasting and rheological properties of oat products dry-blended with ground chia seeds. *LWT Food Science and Technology*. 55, 148-156.
- IPO (International Pasta Organisation), (2012). The world pasta industry, Roma. Disponible en: <http://www.internationalpasta.org/resources/extra/file/IPO%20AGM%202012/IPOreport2012fin2stat.pdf>.
- Ixtaina V.Y., (2010). Caracterización de Semillas y Aceite de Chía (*Salvia Hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos, Tesis doctoral, *Universidad Nacional de la Plata*.
- Ixtaina V.Y., Martínez M. L., Spotorino V., Mateo C. M., Maestri D. M., Diehl B. W.K., et al., (2011). Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24, 166-174.
- Ixtaina V.Y., Nolasco S.M., Tomás M. C., (2008a). Physical properties of Chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Industrial Crops and Products*. 28, 286-293.
- Ixtaina, V.Y., Nolasco, S.M., Tomas, M.C., (2008b). Physicochemical characterization of chia (*Salvia hispanica*) seed oil from Yucatan, Mexico. *Industrial Crops and Products*. 28, 220-226.
- Jakobek L., (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins, *Food Chemistry*. 175, 556-567.
- Jamboonsri W., Phillips T., Geneve R., Cahill J., Hildebrand D., (2012). Extending the range of an ancient crop, (*Salvia hispanica* L.) a new omega-3 source. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 59,171-178.
- Jayanthi G. y Subramanian S. (2014). El ácido rosmarínico, un polifenol, mejora la hiperglucemia al regular las enzimas clave del metabolismo de los carbohidratos en una dieta alta en grasas: la diabetes mellitus experimental inducida por STZ. *Biomedicina y Nutrición Preventiva*. 4, 431-437.
- Jenkins D.J., Wolever T.M., Taylor R.H., Barker H., Fielden H., Baldwin J.M., Bowling A.C., Newman H.C., Jenkins A.L., Goff D.V., (1981). Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *American Journal of Clinical Nutrition*. 34, 362-366.
- Jenkins D.J.A., Jenkins A.L., Wolever T.M.S., Collier G.R., Rao A.V., Thompson L.U., (1987). Starchy foods and fiber: reduced rate of digestion and improved carbohydrate metabolism. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 22, 131-141.
- Jenkins A. L., Brissette C., Jovanovski E., Au Yeung, F., Ho H.V.T., Zurbau A., (2016) Effect of salba-chia (*salvia hispanica* l), an ancient seed, in the treatment of overweight and obese patients with type 2 diabetes: A double-blind, parallel, randomized controlled trial. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. 30, 126-128.

- Jiménez F.G., Beltrán Orozco M.C., Martínez M.V., (2010). La capacidad antioxidante y el contenido fenólico de la chía (*Salvia hispánica* L.). semilla integral y aceite. *Revista de Biotecnología*. 150, 315-320.
- Joshi P., y Brimelow C., (2002). Colour measurement of food by colour reflectance. En: *Colour in food. Woodhead Publishing in Food Science and Technology*. 40, 80-110.
- Joshi A.U., Liu C., Sathe S.K., (2015). Functional properties of select seed flours. *LWT Food Science and Technology*. 60, 325-331.
- Julianti E., Rusmarilin H., Yusraini E., (2017). Functional and Rheological Properties of Composite Flour from Sweet Potato, Maize, Soybean and Xanthan gum., *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 16, 171-177.
- Kamel B.S., Rasper V.F., (1988). Effects of emulsifiers, sorbitol, polydextrose and crystalline cellulose on the texture of low calorie cakes. *Journal of Texture Studies*. 19,307-320.
- Kasarda D.D., Bernardin J., Nimmo C., (1976). Wheat proteins, in *Advances in Cereal Science and Technology, American Association of Cereal Chemists*. 1, 158-236.
- Kaur R., Kaur M., (2018). Microstructural, physicochemical, antioxidant, textural and quality characteristics of wheat muffins as influenced by partial replacement with ground flaxseed, *LWT Food Science and Technology*. 91, 278-285.
- Kaur R., Kaur M., Gill B.S., (2017). Phenolic acid composition of flaxseed cultivars by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities: Effect of sand roasting and microwave heating. *Journal of Food Processing and Preservation*. 41,13-181.
- Kaushik R., Saran S., Isar J., Saxena R., (2006). Statistical optimization of medium components and growth conditions by response surface methodology to enhance lipase production by *Aspergillus carneus*, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 40, 121-126.
- Kaymak Ertekin F., (2002). Drying and Rehydrating Kinetics of Green and Red Peppers, *Journal of Food Science*. 67, 168-175.
- Kerdpi boon S., y Devahastin S., (2007). Fractal characterization of some physical properties of a food product under various drying conditions. *An International Journal of Drying Technology*. 25, 135-146.
- Khan M.K., Abert Vian M., Fabiano Tixier A.S., Dangles O., Chemat F., (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from Orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*. 119, 851-858.
- Khoddami A., Wilkes M., Roberts T., (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*. 18, 2328-2375.
- Khouryieh H., Herald T., Aramouni F., (2006). Quality and sensory properties of fresh egg noodles formulated with either total or partial replacement of egg substitutes. *Journal of Food Science*. 71,433-5437.
- Kill R.C., (2004). *Tecnología de la Elaboración de pasta y sémola*. España. Acribia S.A.

- Kill R.C., y Turnbull K., (2001). Pasta and Semolina Technology. UK. *Blackwell Science*. 0-632-05349-6.
- Kill R.C., y Turnbull K., (2006). Tecnología de la elaboración de pasta y sémola. Zaragoza: *Acribia*. 201 y 202.
- Kim E.H., Petrie J.R., Motoi L., Morgenstern M.P., Sutton K.H., Mishra S., Simmons L.D., (2008). Effect of structural and physicochemical characteristics of the protein matrix in pasta on in vitro starch digestibility. *Food Biophysics*. 3, 229-234.
- Kim S.K., D'Appolonia B.L., (1997). Bread staling studies, Effect of protein content on staling rate and bread crumb pasting properties, *Cereal Chemistry*. 54, 207-215.
- Kim H.Y., Hyeon W.Y., Lim H.S., Lim S.T., (2001). Replacement of shortening in yellow layer cakes by corn dextrins. *Cereal Chemistry*. 78, 267-271.
- Kim K.H., Tsao R., Yang R., Cui S.W., (2006). Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. *Food Chemistry*. 95, 466-473.
- Kim S.M., Zayas J.F., (1989). Processing parameters of chymosin extraction by ultrasound. *Journal of Food Science*. 54, 700-703.
- Kindt M., Lercker G., Mazzaracchio P., Barbiroli G., (2006). Effects of lipids on the quality of commercial frozen ready pasta meals. *Food Control*. 17, 847-855.
- Kindt M., Mazzaracchio P., Barbiroli G., (2008). Quality factors and grades for the classification and standardisation of complex ready pasta meals. *International Journal of Food Science and Technology*. 43, 1645-1656.
- Kinsella J.E., (1984). Milk protein: physicochemical and functional properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 21, 197-262.
- Klimczak I., Maecka M., Szlachta M., Gliszczynska Swigo A., (2007). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20, 313-322.
- Kosbar M., Dorman H.J.D., Hiltunen R., (2005). Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected species of Lamiaceae. *Food Chemistry*. 91, 525-533.
- Kostas E.T., Beneroso D., Robinson J.P., (2017). The application of microwave heating in bio-energy: a review on the microwave pre-treatment and upgrading technologies for biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 77, 12-27.
- Kris Etherton P., y Harris Appel L., (2002). Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation. American Heart Association*. 74, 2747-2757.
- Kwee J. K., (2016). Yin and yang of polyphenols in cancer prevention: A short review. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 16, 832-840.

- Lafka T.I., Sinanoglou V., Lazos E.S., (2007). On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chemistry*. 104,1206-1214.
- Laignelet B., Kobrehel K., Feillet P., (1972). Le probleme dela coloration des pates alimentaires. *Industries Agricoles et Alimentaires*. 89, 413-427.
- Lallemand Baking Update, (2000). Cakes and Muffins, *Cake Process and Ingredients*, 2, 1-17.
- Landete J.M., (2012). Updated knowledge about polyphenols: Functions, bioavailability, metabolism, and health. *Critical Reviews in Food Science and nutrition*. 52, 936-948.
- Larrosa V., Lorenzo G., Zaritzky N., Califano A., (2015). Dynamic rheological analysis of gluten-free pasta as affected by composition and cooking time. *Journal of Food Engineering*. 160,11-18.
- Lauritzen L., Hansen H.S., Jorgensen M.H., Michaelson K.F., (2001). The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Progress in Lipid Research*.40, 1-94.
- Lemanska K., Szymusiak H., Tyrakowska B., Zielinski R., Soffer A.E.M.F., Rietjens I.M.C.M., (2001). The influence of pH on the antioxidant properties and the mechanisms of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radical Biology and Medicine*. 31, 869-881.
- León A., y Rosell C.M., (2007). De Tales Harinas, Tales Panes, Granos, Harinas y Productos de Panificación en Iberoamérica, 1ra Edición, Argentina.
- Lepage M., y Sims R.P.A., (1968). Carotenoid of wheat flour: Their identification and composition. *Cereal Chemistry*. 45, 600-604.
- Lezcano E.P., (2008). Galletitas y bizcochos, perfiles productivos. *Alimentos Argentinos*.52,17-32.
- Lianfu Z., Zelong L., (2008). Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrasononic Sonochemistry*. 15, 731-737.
- Lingua M. S., Wunderlin D. A., Baroni M.V., (2018). Effect of simulated digestion on the phenolic components of red grapes and their corresponding wines. *Journal of Functional Foods*. 44, 86-94.
- Lindsay M.P., y Skerritt J.H., (1999). The glutenin macropolymer of wheat flour dough: structure - function perspectives. *Trends in Food Science and Technology*. 10, 247 253.
- Litchfield B., y Okos M.R., (1992). Moisture Diffusivity in Pasta During Drying Temperature or heat transfer Wetting. *Journal of Food Engineering*. 17, 117-142.
- Liu P., Yu L., Liu H., Chen L., Li L., (2009). Glass transition temperature of starch studied by a high-speed DSC. *Carbohydrate Polymers*. 77, 250-253.
- López C.A., Gómez C.A.M., Pasini F., Caboni M.F., (2016). HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS and HPLC-FLD-MS as valuable tools for the determination of phenolic and other

polar compounds in the edible part and by-products of avocado. *LWT Food Science and Technology*. 73, 505-513.

Lopez M.L.X., Oliart R.R. M., Valerio Alfaro G., Lee C.H., Parkin K.L., Garcia H.S., (2009). Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT Food Science and Technology*, 42, 1187-1192.

Lucas González R., Viuda Martos M., Pérez Álvarez J.A., Fernández López J., (2018). Changes in bioaccessibility, polyphenol profile and antioxidant potential of flours obtained from persimmon fruit (*Diospyros kaki*) co-products during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*. 256, 252-258.

Lucisano M., Cappa C., Fongaro L., Mariotti M., (2012). Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: Evaluation of the cooking behavior. *Journal of Cereal Science*, 56, 667-675.

Luna Pizarro P., Almeida E.L., Sammán N.C., Chang Y.K., (2013). Evaluación de harina de chía entera (*Salvia hispanica* L.) y grasa vegetal hidrogenada en bizcocho. *LWT Food Science and Technology*. 54, 73-79.

Lundstedt T., Seifert E., Abramo L., Thelin B., Nyström Å., Pettersen J., Bergman R., (1998). Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 42, 3-40.

Maestri D., Labuckas D., Guzman G., Giorda L., (1998). Correlation between Seed Size, Protein and Oil Contents, and Fatty Acid Composition in Soybean Genotypes. *International Journal of Fats and Oils*, 49, 450-453.

Magalhaes L.M., Segundo M. A., Reis S., Lima J.L.F.C., (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*. 613, 1-19.

Mallek Ayadi S., Bahloul N., Kechaou N., (2017). Characterization, phenolic compounds and functional properties of Cucumis melo L. peels. *Food Chemistry* 221, 1691-1697.

Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L., (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79, 727-747.

Manser J., (1980). High temperature drying of pasta products. *Buhler Diagram*, 69, 11-12.

Manthey F.A., y Schorno A. L., (2002). Physical and cooking quality of spaghetti made from whole wheat durum. *Cereal Chemistry*. 79, 504-510.

Marchetti L., Califano A.N., Andrés S.C., (2018). Partial replacement of wheat flour by pecan nut expeller meal on bakery products, Effect on muffins quality, *LWT Food Science and Technology*. 95, 85-91.

Marconi E., Carcea M., (2001). Pasta from non-traditional raw materials, *Cereal Foods World*. 46, 522-530.

Marineli R.S., Moraes E.A., Lenquiste S.A., Godoy A.T., Eberlin M.N., y Maróstica M.R., (2014). Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean

- chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). *LWT Food Science and Technology*. 59, 1304-1310.
- Marti A., Pagani M.A., Seetharaman K., (2014). Textural attributes of wheat and gluten free pasta. *Food Texture Design and Optimization*. 1, 222-244.
- Martí R., Valcárcel, M., Herrero Martínez J.M., Cebolla Cornejo J., Roselló S., (2017). Simultaneous determination of main phenolic acids and flavonoids in tomato by micellar electrokinetic capillary electrophoresis. *Food Chemistry*. 221, 439-446.
- Martínez Cruz O., y Paredes López O., (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia Hispanica* L.) by ultra high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 1346, 43-48.
- Martínez M. L., Marín M., Salgado Faller C.M., Revol J., Penci M.C., y Ribotta P.D. (2012). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. *LWT Food Science and Technology*, 47, 78-82.
- Martínez M. L., Mattea M. A., Maestri D. M., (2008). Pressing and supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil. *Journal of Food Engineering*, 88, 399-404.
- Martínez M.L., Marín M.A., Salgado Faller C., Revol J., Penci M.C., Ribotta P.D., (2012). Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. *LWT Food Science and Technology*. 47, 78-82.
- Martínez M.L., y Maestri D.M., (2008). Oil chemical variation in walnut genotypes grown in Argentina. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110, 1183-1189.
- Martínez Cervera S., Sanz T., Salvador A., Fiszman S.M., (2012). Rheological, textural and sensorial properties of low-sucrose muffins reformulated with sucralose/polydextrose, *LWT Food Science and Technology*. 45, 213-220.
- Martínez Cruz O., y Paredes López O., (2014). Phytochemical profile and nutraceutical potential of chia seeds (*Salvia hispanica* L.) by ultra-high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography*, 1346, 43-48.
- Martínez Maqueda D., Miralles B., Recio I., Hernández Ledesma B., (2012). Antihypertensive peptides from food proteins: a review. *Food and function*, 3, 350-361.
- Matos M. E., Sanz T., Rosell C. M. (2014). Establishing the function of protein on the rheological and quality properties of rice-based gluten free muffins. *Food Hydrocolloids*. 35, 150-158.
- Matsuo R.R., Dexter J.E., Boudreau A., Daun J.E., (1986). The role of lipids in determining spaghetti cooking quality. *Cereal Chemistry*. 63, 484-489.
- Matsuo R.R., Dexter J.E., Dronzek B.L., (1978). Scanning electron microscopy study of spaghetti processing. *Cereal Chemistry*. 55, 744-753.
- Mazza G., (2000). Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado. Zaragoza. Editorial Acribia S.A. España.
- Medina S., Collado González J., Ferreres F., Londoño Londoño J., Jiménez Cartagena C., Guy A., Durand T., Galano J.M., (2017). Quantification of phytoprostanes -

bioactive oxylipins - and phenolic compounds of *Passiflora edulis* Sims shell using UHPLC-QqQ-MS/MS and LC-IT-DAD-MS/MS. *Food Chemistry*, 229, 1-8.

Meleán L., Rosana Nava V., Yuneska, (2007). Estrategias empresariales aplicadas en el proceso productivo de las industrias de pastas alimenticias de estado de Zulia, *Revista Venezolana de Gerencia*, 39,12-39.

Meleán Romero, Rosana A., (2004). Estrategias para gerenciar costos de producción en industrias de pastas alimenticias. Trabajo Especial de Grado. División de Estudios para Graduados. Facultad de Ciencias Económicas y Sociales. Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela. ISSN 1315-9984, 12-39.

Mendoza F., Dejmek P., Aguilera J.M., (2007). Colour and image texture analysis in classification of commercial potato chips. *Food Research International*, 40, 1146-1154.

Menga V., Amato M., Phillips T., Angelino D., Morreale F., Fares C., (2017). Gluten free pasta incorporating chia (*Salvia Hispanica* L.) as thickening agent: An approach to naturally improve the nutritional profile and the in vitro carbohydrate digestibility, *Food Chemistry*. 221, 1954-1961.

Mercado G., De la Rosa Carrillo L., Wall M.A., López Díaz J.A. y Álvarez E., (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México, Departamento en Ciencias Químico Biológicas, Departamento en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Chihuahua. México, *Nutrición Hospitalaria*. 28,36-46.

Mercier S., Sébastien V., Mondor M., Des Marchais L.P, (2011), Evolution of porosity, shrinkage and density of pasta fortified with pea protein concentrate during drying, *LWT Food Science and Technology*. 44,883-890.

Mercier S., Marcos B., Moresoli C., Mondor M., Villeneuve S., (2014). Modeling of internal moisture transport during durum wheat pasta drying. *Journal of Food Engineering*. 124, 19-27.

Mercier S., Mondor M., Moresoli M., Villeneuve S., Marcos B., (2016), Drying of Durum Wheat Pasta and Enriched Pasta: A Review of Modeling Approaches, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56, 1146-1168.

Mesías M., Holgado F., Márquez Ruiz G., Morales F.J. (2016). Risk/benefit considerations of a new formulation of wheat-based biscuit supplemented with different amounts of chia flour. *LWT Food Science and Technology*, 73, 528-535.

Mestres C., Matencio F., Faure J., (1990). Optimizing process for making pasta from maize in admixture with durum wheat. *Food Science of Food Agriculture*. 51. 355-368.

Mhiri N., Ioannou I., Boudhrioua N.M., Ghoul M., (2015). Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. *Food and Bioproducts Processing*. 96, 161-170.

Migliori M., Gabriele D., De Cindio B., Pollini C.M., (2005). Modelado de secado de pasta de alta calidad: modelo matemático y validación. *Revista de Ingeniería de Alimentos*. 69, 387-397.

- Miskelly D.M., (1984). Flour components affecting paste and noodle colour. *Journal of Science Food Agriculture*. 35, 463-471.
- Misra M. K., y Brooker D.B., (1980). Thin-Layer Drying and Rewetting Equations for Shelled Yellow Corn. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 23, 1254-1260.
- Mohd Ali N., Yeap S.K., Ho W.Y., Beh B.K., Tan S.W., Tan S.G., (2012). The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 17, 19-56.
- Montgomery D., (2005). Design and analysis of experiments. New York: *John Wiley and Sons Inc.* 1-26.
- Moraga G., Martinez Navarrete N., Chiralt A., (2004). Water sorption isotherms and glass transition in strawberries: Influence of pretreatment. *Journal of Food Engineering*. 62, 315-321.
- Moreira M. M., Barroso M. F., Boeykens A., Withouck H., Morais S., Delerue Matos C., (2017). Valorization of apple tree wood residues by polyphenols extraction: comparison between conventional and microwave-assisted extraction. *Industrial Crops and Products*. 104, 210-220.
- Moreira R., Chenlo F., Torres M.D., (2013). Effect of chia (*Sativa hispanica* L.) and hydrocolloids on the rheology of gluten-free doughs based on chestnut flour. *LWT Food Science and Technology*, 50, 160-166.
- Moreira R., Chenlo F., Prieto D.M., Torres M.D., (2010). Water Adsorption Isotherms of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1077-1082.
- Moreira, R., Chenlo, F., Torres, M., y Vallejo, N. (2008). Thermodynamic analysis of experimental sorption isotherms of loquat and quince fruits. *Journal of Food Engineering*. 88, 514-521.
- Morrison W.R., Law R.V., Snape C.E., (1993). Evidence for inclusion complexes of lipids with V-amylose in maize, rice and oat starches. *Journal of Cereal Science*. 18, 107-109.
- Motasemi F., y Afzal M.T., (2013). A review on the microwave-assisted pyrolysis technique. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 28, 317-330.
- Mourot J., Thuvenot P., Couet C., Antoine J.M., Krobicka A., Debry G., (1988). Relationship between the rate of gastric emptying and glucose and insulin responses to starchy foods in young healthy adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 48, 1035-1040.
- Muñoz L.A., Aguilera J.M., Rodriguez T.L., Cobos A., Diaz O., (2012). Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*. 111, 511-518.
- Muñoz L.A., Cobosa A., Diaza O., Aguilera J.M., (2012). Chia seeds: Microstructure, mucilage extraction and hydration. *Journal of Food Engineering*. 108 216-224

- Muñoz L.A., Cobos A., Diaz O., Aguilera J. M., (2013). Chia seed (*Salvia hispanica* L.): An ancient grain and a new functional food. *Food Reviews International*, 29, 394-408.
- Muñoz T.N., De la Vara J.A., Ortiz de Elguea C.G., Cano E.L., Molina A., Carmona M., Berruga M. I., (2019). Enrichment of sheep cheese with chia (*Salvia hispanica* L.) oil as a source of omega-3. *LWT Food Science and Technology*. 108, 407-415.
- Myers R.H., Montgomery D.C., Anderson C.C.M., (2016). Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. *John Wiley Sons*. 978,118-128.
- Nacz M., y Shahidi F., (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.
- Nayak B.N., y Buttar H.S., (2016). Evaluation of the antioxidant properties of tryptophan and its metabolites in in vitro assay. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*. 13, 129-136.
- Niba L.L., Bokonga M.M., Jackson E.L., Schlimme D.S., Li B.W., (2001). Physicochemical properties and starch granular characteristics of flour from various *Manihot esculenta* (cassava) genotypes. *Journal of Food Science*. 67, 1701-1705.
- Nunes S., Madureira A, R., Campos D., Sarmiento B., Gomes A, M., Pintado M., Reis, F., (2017). Therapeutic and nutraceutical potential of rosmarinic acid—Cytoprotective properties and pharmacokinetic profile, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 57, 1799-1806.
- Nutrition Data, (2008). Seeds, chia seeds, dried. <http://www.nutrition-data.com>  
Consultado: 3 de junio.
- Ocampo A., (2006), Modelo cinético del secado de la pulpa de mango. *EIA Escuela de Ingeniería de Antioquia*. 5, 119-128.
- Ogawa T., y Adachi S., (2017). Drying and rehydration of pasta. *An International Journal of Drying Technology*. 35, 1919-1949.
- Ogawa T., Kobayashi T., Adachi S., (2012). Prediction of pasta drying process based on a thermogravimetric analysis. *Journal of Food Engineering*. 111, 129-134.
- Olayanju T.M.A., Akinoso R., Oresanya M.O., (2006). Effect of Wormshaft Speed, Moisture Content and Variety on Oil Recovery from Expelled Beniseed, *Agricultural Engineering International*. 8. 1-8.
- Oliveira M.R, Ercolani N.M., Pires S.C., Kubota E., Severo da Rosa C., (2015). Evaluation of replacing wheat flour with chia flour (*Salvia hispanica* L.) in pasta, *Semina. Ciências Agrarias*, 36, 2545-2554.
- Oliveira S., Reyes F., Sgarbieri V., Areas M., Ramalho A., (1991). Nutritional attributes of a sweet corn fibrous residue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 740-743.
- Oliveira Alves S.C., Vendramini Costa D.B., Betim Cazarin C.B., Maróstica Júnior M.R., Borges Ferreira J.P., Silva A.B., Bronze M.R., (2017). Characterization of

phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil, *Food Chemistry*. 232, 295-305.

- Olivera D.F., y Salvadori V.O., (2012). Kinetic modeling of quality changes of chilled ready to serve lasagna. *Journal of Food Engineering*. 110, 487-492.
- Olivera D.F., y Salvadori V.O., (2009). Effect of freezing rate in textural and rheological characteristics of frozen cooked organic pasta. *Journal of Food Engineering*. 90, 271-276.
- Olivera D.F., y Salvadori V.O., (2011). Instrumental and sensory evaluation of cooked pasta during frozen storage. *International Journal of Food Science and Technology*. 46, 1445-1454.
- Olivos Lugo B.L., Valdivia López M.Á., Tecante A., (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.), *Food Science and Technology International*. 16, 89-96.
- Ortega Ramirez R., Leyva García D.I., Sanchez Robles R.M., Morales Ortega A., (2013). Effect of addition of amaranth, chia and wheat bran on bread: Impact on antioxidant activity. *Book of Abstracts of CyE Spring Meeting: Unlocking the Full Potential of Cereals: Challenge for Science Based Innovation*. 32. 127-138.
- Orthofer R., Lamuelas-Raventos R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagents, *Methods in Enzymology*. 29, 152-178.
- Osborne T.B., (1907). Proteins of the wheat kernel. *Publication of the Carnegie Institution Washington*. 84, 1-119.
- Owens G., (2001). Cereals processing technology. *Woodhead Publishing*. London UK. 1, 1-231
- Ozdemir M., Devres Y.O., (1999). The thin layer drying characteristics of hazelnuts during roasting. *Journal of Food Engineering*. 42, 225-233.
- Paeschke T., (1997). Shelf life extension of reduced-fat baked goods using fruit powders, *Cereal Foods World*. 42. 391-395.
- Panza V.S., Wazlawik E., Schutz R.G., Comin L., Hecht K.C., Da Silva E.L., (2008). Consumption of green tea favorably affects oxidative stress markers in weight-trained men. *Nutrition*. 24, 433-442.
- Parikh B., Patel V.H., (2017). Quantification of phenolic compounds and antioxidant capacity of an underutilized Indian fruit: Rayan (*Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard). *Food Science and Human Wellness*. 6, 10-19.
- Parker R., y Ring S. G., (2001). Aspects of the physical chemistry of Starch. *Journal of Cereal Science*. 34, 1-17.
- Parker, J., Schellenberger, A., Roe, A., Oketch-Rabah, H., y Calderón, A. (2018). Therapeutic perspectives on chia seed and its oil: A review. *Planta Medica*. 84, 606-612.

- Pedreschi F., Mery D., Mendoza F., Aguilera J.M., (2004). Classification of Potato Chips Using Pattern Recognition. *Journal of Food Science*. 69, 264-270.
- Peiretti P.G., y Gai F., (2009). Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Animal Feed Science and Technology*. 148, 267-275.
- Peiretti P.G., y Meineri G., (2008). Effects on growth performance, characteristics, and the fat and meat fatty acid profile of rabbits fed diets with Chía (*Salvia hispanica* L.) seed supplements. *Meat Science*. 80, 1116-1121.
- Pellegrini M., Lucas G.R., Sayas B.E., Fernández L.J., Pérez Á.J.A., Viuda M.M., (2018). Bioaccessibility of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds, *Plant Foods for Human Nutrition*. 73, 47-53,
- Pellegrini N., y Agostoni C., (2015). Nutritional aspects of gluten-free products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95, 2380-2385.
- Peraza G., (2000). Caracterización de los residuos fibrosos de *Canavalia ensiformis* L. y *Phaseolus lunatus* L. y su incorporación a un producto alimenticio. Universidad Autónoma de Yucatán- Facultad de Ingeniería Química. México.
- Perez Nieto A., Chanona Perez J.J., Farrera Rebollo R.R., Gutierrez Lopez G.F., Alamilla Beltran L., Calderon Dominguez G., (2010). Image analysis of structural changes in dough during baking, *LWT Food Science and Technology*. 43, 535-543.
- Pero R.W., Lund H., Leanderson T., (2009). Antioxidant metabolism induced by quinic acid. Increased urinary excretion of tryptophan and nicotinamide. *Phytotherapy Research*. 23, 335-346.
- Petitot M., Abecassis J., y Micard V., (2009). Structuring of pasta components during processing: impact on starch and protein digestibility and allergenicity. *Trends in Food Science and Technology*. 20, 521-532.
- Piazza L., y Masi P., (1995). Moisture redistribution throughout the bread loaf during staling and its effect on mechanical properties. *Cereal Chemistry*. 72, 320-325.
- Pintado T., Herrero A.M., Jiménez Colmenero F., Pasqualin Cavalheiro C., Ruiz Capillas C., (2017). Chia and oat emulsion gels as new animal fat replacers and healthy bioactive sources in fresh sausage formulation. *Meat Science*. 135, 6-13.
- Pizarro P.L., Almeida E.L., Sammán N.C., y Chang Y.K., (2013). Evaluation of whole chia (*Salvia hispanica* L.) flour and hydrogenated vegetable fat in pound cake. *LWT Food Science and Technology*. 54, 73-79.
- Pocklington W.D. y Dieffenbacher A., (1988). Determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils and fats by high performance liquid chromatography: results of a collaborative study and the standardised method. *Química pura y aplicada*. 60, 877-892.
- Podio N.S., (2015). Huella dactilar de trigo argentino: Evaluación de la trazabilidad química y las características antioxidantes de trigo, harina y derivados, Tesis

doctoral, Departamento de Química Orgánica, Instituto en Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

Podio N.S., López Froilán R., Ramirez Moreno E., Bertrand L., Baroni M.V., Pérez Rodríguez M.L., Sánchez Mata M.C., Wunderlin D.A., (2015). Matching in Vitro Bioaccessibility of Polyphenols and Antioxidant Capacity of Soluble Coffee by Boosted Regression Trees, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63, 9572-9582.

Podio N.S., Baroni M.V., Wunderlin D.A., (2017). Relation between polyphenol profile and antioxidant capacity of different Argentinean wheat varieties, A Boosted Regression Trees study, *Food Chemistry*. 232, 79-88.

Podio N.S., Baroni M.V., Pérez G, T., Wunderlin D.A., (2019). Assessment of bioactive compounds and their in vitro bioaccessibility in whole-wheat flour pasta, *Food Chemistry*. 293, 408-417.

Polizzoto L.M., Tinsley A.M., Weber C.W., Berry J.W., (1983). Dietary fibres in muffins. *Journal of Food Science*. 48, 111-118.

Porras Loaiza P., Jiménez Munguía M.T., Sosa Morales M.E., Palou E., Lopez Malo A., (2014). Physical properties, chemical characterization and fatty acid composition of Mexican chia (*Salvia hispanica* L.) sedes. *Journal of Food Science and Technology*. 49, 571-577.

Poudyal H., Panchal S.K., Waanders J., Ward L., Brown L., (2012). Lipid redistribution by  $\alpha$ -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl-CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet-induced obese rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 23, 153-162.

Prabhasankar P., Ganesan P., Bhaskar N., Hirose A., Stephen N., Gowda L. R., Hosokawad M., Miyashita K., (2009). Edible Japanese seaweed, wakame (*Undaria pinnatifida*) as an ingredient in pasta: Chemical, functional and structural evaluation. *Food Chemistry*. 115, 501-508.

Prior R.L., Wu X., Schaich K., (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 4290-302.

Quevedo R., Jaramillo M., Diaz O., Pedreschi F., Aguilera J.M., (2010). Quantification of enzymatic browning in apple slices applying the fractal texture Fourier image, *Journal of Food Engineering*. 95, 285-290,

Quevedo R., Lopez C.G., Aguilera J.M., Cadoche L., (2002). Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis, *Journal of Food Engineering*. 53, 361-371.

Radrigán R., Aqueveque P., Ocampo M., (2017). Extraction and Use of Functional Plant Ingredients for the Development of Functional Foods, Extraction and Use of Functional Plant Ingredients for the Development of Functional Foods. *Handbook of Food Bioengineering*. 4, 275-306.

Rahman M.J., de Camargo A.C., Shahidi F., (2017). Phenolic and polyphenolic profiles of chia seeds and their in vitro biological activities, *Journal of Functional Foods*. 35, 622-634.

- Ramcharitar A., Badrie N., Mattfeldt Beman M., Matsuo H., Ridley, C., (2005). Consumer acceptability of muffins with flaxseed (*Linun usitatissimum*). *Journal of Food Science*. 70, 504-507.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice Evans C., (1999), Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine*. 26, 1231-1237.
- Redmond G.A., Gormley T.R., Butlerb F., (2005). Effect of short- and long-term frozen storage with MAP on the quality of freeze-chilled lasagne. *LWT Food Science and Technology*. 38, 81-87.
- Rendón Villalobos R., y Flores Huicochea E., (2016). Chia as a food ingredient, En *Salvia Hispanica L. Properties, Applications and Health*, *Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI) Instituto Politécnico Nacional*. 9, 257-277.
- Rendón Villalobos J.R., Ortiz Sánchez A., Flores Huicochea E., (2018). Nutritionally Enhanced Foods Incorporating Chía Seed. *Therapeutic Foods*. 8, 257-281.
- Rendón Villalobos R., Ortiz Sánchez A., Solorza Feria J., Trujillo Hernández C., (2012). Formulation, physicochemical, nutritional and sensorial evaluation of corn tortillas supplemented with chía seed. *Journal of Food Sciences*. 30, 118-125.
- Resmini P., Pagani M., (1983). Ultrastructure studies of pasta. A review, *Food Microstructure*. 1,12- 51.
- Reyes Caudillo E., Tecante A., Valdivia López M.A., (2008). Dietary fibre content and antioxidant activity of phenolic compounds present in Mexican chia (*Salvia hispanica L.*) seeds, *Food Chemistry*. 107, 656-663.
- Rice Evans C.A., Packer L., (1998). Flavonoids in health and disease. *Flavonoids in Health and Disease*. 26, 1231-1237.
- Riernerman C.N., y María R.A., (2016). Whole chia flour as yield enhancer, potential antioxidant and input of n-3 fatty acid in a meat product. *Food and Nutrition Sciences*. 7, 855-865.
- Rizvi S.S.H., (2005). Thermodynamic Properties of Foods in Dehydration. *Engineering Properties of Foods*. 1, 239-326.
- Rocha J., Eduardo Figueira M., Barateiro A., Fernandes A., Brites D., Bronze M.R., Sepodes B., (2015). Antiinflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 116, 398-413.
- Rodríguez U., (2013). Chía, Quinoa y Maca: Las Nuevas Estrellas Latinoamericanas. *Miradas al Sur*. 23, 1-15.
- Rombaut N., Tixier A.S., Bily A., Chemat F., (2014). Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 8, 530-544.
- Rosenthal A.J., (1995). Application of aged egg in enabling increased substitution of sucrose by litesse (polydextrose) in high-ratio cakes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 68,127-131.

- Routray W., Orsat V., (2014). MAE of phenolic compounds from blueberry leaves and comparison with other extraction methods. *Industrial Crops and Products*. 58, 36-45.
- Rueden C.T., Schindelin J., Hiner M.C., De Zonia B., Walter A.E., Arena E.T., Eliceiri K.W., (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data, *BMC Bioinformatics*. 18,529-538.
- Sabanis D., y Dokastakis G., (2004). New formulations for the production of pasta (lasagna) products enriched with chickpea flour. *Journal Science of Food Agriculture*. 63,66-73.
- Sagar B., Kedare R., Singh P., (2011). Genesis and development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *Journal of Food Science and Technology*. 48, 412-422.
- Sahi S.S., Alava J.M., (2003). Functionality of emulsifiers in sponge cake production. *Journal Science of Food Agriculture*. 83,1419-1429.
- Saito M., (2007). Role of FOSHU (Food for Specified Health Uses) for healthier life. *The Pharmaceutical Society of Japan*. 127, 407-416.
- Salgado Cruz M.P., Calderón Domínguez G., Chanona Pérez J.J., Farrera Rebollo R. R., Méndez Méndez J.V., Díaz Ramírez M., (2013). Caracterización de la liberación de mucílago de semilla de chía (*Salvia hispanica* L.). Un estudio de análisis microestructural y de imagen. *Cultivos y productos industriales*, 51, 453-462.
- Samaram S., Mirhosseini H., Ping Tan C., Mohd Ghazali H., (2014). Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: crystallization and thermal behavior, saturation degree, color and oxidative stability. *Industrial Crops and Products*. 52, 702-708.
- Sandoval Oliveros M.R., Paredes López O., (2013). Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61, 193-201.
- Sanna R., Piras C., Marincola F.C., Lecca V., Maurichi S., Scano P., (2014). Multivariate statistical analysis of the UV-vis profiles of wine polyphenolic extracts during vinification. *Journal of Agricultural Sciences*. 6, 152-162.
- Santos Buelga C., Escribano Bailon M.T., Lattanzio V., (2010). Recent Advances in Polyphenol Research. Willey Black Well. British Library. 2,1-16.
- Saphier O., Silberstein T., Kamer H., Ben Abu Y., y Tavor D., (2017) Chia seeds are richer in polyphenols compared to flax seeds Integrative Food, *Nutrition and Metabolism*. 4, 43-50.
- Sargi S., Silva B., Santos H. M., Montanher P., Boeing J., Santos Junior O., Souza N., Visentainer J., (2013). Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in Omega 3: chia, flax, and perilla. *Food Science and Technology*, 33, 541-548.
- Scalbert A., Manach C., Morand C., Rémésy C., Jiménez L., (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45, 287-306.

- Scapin G., Schmidt M.M., Prestes R.C., Rosa C.S., (2016). Phenolics compounds, flavonoids and antioxidant activity of chia seed extracts (*Salvia hispanica*) obtained by different extraction conditions, *International Food Research Journal*. 23, 2341-2346,
- Scapin G., Schimdt M.M., Prestes R.C., Ferreira S., Silva A.F.C., da Rosa C.S., (2015). Effect of extract of chia seed (*Salvia Hispanica L.*) as an antioxidant in fresh pork sausage. *International Food Research Journal*. 3, 1195-1202.
- Sharaf Eldeen, O.; Blaisdell, Y.I.; Spagna, G. (1980). A model for ear corn drying. *Transactions American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 23,1261-1271.
- Schneider M., (2001). Phospholipids for functional food. *European Journal of Lipids Science Technology*. 103, 98-101.
- Sciammaro L.P., Ferrero C., Puppo M.C., (2018). Gluten-free baked muffins developed with *Prosopis alba* flour, *LWT Food Science and Technology*. 98, 568-576.
- Seguezzo M.L., (2014). Calidad en Trigo Candeal, Laboratorio de calidad industrial de granos, Chacra Experimental integrada Barrow, Argentina- Buenos Aires. 978, 987, 521-615.
- Segura Campos M.R., Salazar Vega I.M., Chel Guerrero L.A., Betancur Ancona D.A., (2013). Biological potential of chia (*Salvia hispanica L.*) protein hydrolysates and their incorporation into functional foods. *LWT Food Science and Technology*. 50, 723-731.
- Shaabani S., Saeid M., Kiami M., Zahra E.D., (2018). The effect of chickpea protein isolate in combination with transglutaminase and xanthan on the physical and rheological characteristics of gluten free muffin and batter based on millet flour, *LWT Food Science and Technology*. 90, 362-372.
- Shaheen N., Lu Y., Geng P., Shao Q., Wei Y., (2017). Isolation of four phenolic compounds from *Mangifera indica L.* flowers by using normal phase combined with elution extrusion two-step high speed countercurrent chromatography. *Journal of Chromatography*. 1046, 211-217.
- Sharma S., Singh N., Katyal M., (2016). Effect of gelatinized-retrograded and extruded starches on characteristics of cookies, muffins and noodles, *Journal of Food Science and Technology*. 53, 2482-2491.
- Shearer A.E.H., y Davies, C.G.A., (2005). Physicochemical properties of freshly baked and stored whole - wheat muffins with and without flaxseed meal. *Journal of Food Quality*. 28, 137-153.
- Shewry P.R., Halfors N.G., Tatham A.S., (1992). High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*. 15, 105-120.
- Shi Q., Zheng Y., Zhao Y., (2013). Mathematical modeling on thin-layer heat pump drying of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) slices. *Energy Conversion and Management*. 71, 208-216.

- Shotton D.M., (1989). Confocal scanning optical microscopy and its applications for bi-ological specimens. *Journal of Cell Science*. 94, 175-206.
- Sichel G., Corsaro C., Scalia M., De Bilio A.J., Bonomo R.P. (1991). In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against O<sub>2</sub>. *Free Radical Biology of Medicine Journal*. 11, 1-8.
- Simopoulos P.A., (2004). Omega-6/Omega-3 Essential Fatty Acid Ratio and Chronic Diseases. *Food Reviews International*. 20, 77-90.
- Singh P., (1997). Introducción a la ingeniería de los alimentos. Quinta Edición. Zaragoza: Acribia Editorial. ISBN 9788420011240.
- Singh Gujral H., Rosell C.M., Sharma S., Singh S., (2003). Effect of Sodium Lauryl Sulphate on the Texture of Sponge Cake, *International of Food Science and Technology*. 9,89-93.
- Singh J., Dartois A., Kaur L., (2010). Starch digestibility in food matrix: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 21, 168-180.
- Sissons M.J., Egan N.E. Gianibelli M.C., (2005). New insights into the role of gluten on durum pasta quality using reconstitution method. *Cereal Chemistry*. 82, 601-608.
- Sissons M.J., Abecassis J., Marchylo B., Carcea M., (2012). Durum Wheat, Couscous technology: raw material, agglomeration mechanisms and processing. *Chemistry and Technology*, 2nd edition, AACC, ISBN 978-1-891127-65-6.
- Sissons M.J., y Fellows C.M., (2014). Sensory, Technological, and Health Aspects of Adding Fiber to Wheat-Based Pasta, ELSEVIER, *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health*. 130, 299-309.
- Sozer N., Dalgiç A.C., Kaya A., (2007). Thermal, textural and cooking properties of spaghetti enriched with resistant starch. *Journal of Food Engineering*. 81, 476-484.
- Srikiatden J., y Roberts, J.S., (2007). Moisture transfer in solid food materials: A review of mechanisms, models, and measurements. *International Journal of Food Properties*, 10,736-777.
- Steffolani E., Martinez M.M., León A.E., Gómez M., (2015). Effect of pre-hydration of chia (*Salvia hispanica* L.), seeds and flour on the quality of wheat flour breads. *LWT Food Science and Technology*. 61, 401-406.
- Steglich T., Bernin D., Moldin A., Topgaard D., Langton M., (2015). Bran particle size influence on pasta microstructure, water distribution and sensory properties. *Cereal Chemistry*. 92, 617-623.
- Stephenson C., (1983). World's best pasta. *Macaroni Journal*. 65, 4-8.
- Struck S., Gundel L., Zahn S., Rohm H., (2016). Fiber enriched reduced sugar muffins made from iso-viscous batters, *LWT - Food Science and Technology*. 65, 32-38,
- Syeda Shaista F., y Shruti K. (2017). Effect of incorporating different amounts of chia to develop a nutritious kulfi. *International Journal of Science and Research*. 6, 1411-1413.

- Tadeo J.L., Sánchez Brunete C., Albero B.I., García Valcárcel A., (2010). Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *Journal of Chromatography*. 1217, 2415-2440.
- Taga M.S., Miller E.E., Pratt D.E., (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 61, 928-931.
- Thomson C., Bloch A., Hasler C.M., (1999). Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *Journal of American Diet Association*. 99, 1278-1285.
- Thorvaldsson S., Standing M., Nilsson K., Kidman S., Langton M., (1999). Rheology and structure of heat-treated pasta dough: Influence of water content and heating rate. *LWT Food Science and Technology*. 32,154-161.
- Tian Y., Liimatainen J., Alanne A. L., Lindstedt A., Liu P., Sinkkonen J., Kallio H., Yang B., (2017). Phenolic compounds extracted by acidic aqueous ethanol from berries and leaves of different berry plants. *Food Chemistry*. 220, 266-281.
- Torres A., Rodríguez M., Guerra M., Granito M., (2009). Factibilidad tecnológica de incorporar germen desgrasado de maíz en la elaboración de pasta corta, Venezuela, 22,1-30.
- Toscano L.T., Silva C.S.O., Toscano L.T., Almeida A.E.M., Cruz Santos A., y Silva A.S., (2014). La suplementación con harina de chía reduce la presión sanguínea en sujetos hipertensos. *Alimentos vegetales para la nutrición humana*. 69, 392-398.
- Tosco G., (2004). Los beneficios de la chía en humanos y animales. Nutrientes de la semilla de chía y su relación con los requerimientos humanos diarios, *Actualidades Ornitológicas*. 119-150.
- Trocconi A., Borrelli G.M., DeVita P., Fares C., Di Fonzo N., (2000). Durum wheat quality: a multidisciplinary concept. *Journal of Cereal Science*. 32, 99-113.
- Tuberoso C., Kowalczyk A., Sarritzu, E., Cabras P., (2007). Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chemistry*. 103, 1494-1501.
- Tudorica C.M., Kuri V., Brennan C.S., (2002). Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50, 347-356.
- UIFRA Unión de los Industriales Fideeros de la República de Argentina, (2015). La Industria Argentina de Pastas Secas-Guía práctica, Argentina.
- Ulbricht C., Chao W., Nummy K., Rusie E., Tanguay Colucci S., Iannuzzi C., Plammoottil J.B., Varghese M., Weissner W., (2009). Chia (*Salvia hispanica* L.): A systematic review by the natural standard research collaboration. *Reviews on Recent Clinical Trials*. 4, 168-174.
- Ullah R., Nadeem M., Khaliq A., Imran M., Mehmood S., Javid A., Hussain J., (2015). Nutritional and therapeutic perspectives of chia (*Salvia hispanica* L.): A review. *Journal of Food Science and Technology*. 16, 1-34.

- UN.A.F.P.A. (2015). Unión de Asociación de Fabricantes de Pastas Alimentarias de la Unión Europea. Publicado en Internet, <http://www.pasta-unafpa.org/>.
- United States Department of Agriculture - USDA, (2002). Nutrient Database for Standard Reference. Release 15, Nutrient. Data Laboratory, Beltsville Research Center, US Department of Agriculture, Pennsylvania, USA.
- Valadez Carmona L., Plazola Jacinto C.P., Hernández Ortega M., Hernández Navarro M.D., Villarreal F., Necochea Mondragón H., Ortiz Moreno A., (2017). Effects of microwaves, hot air and freeze-drying on the phenolic compounds, antioxidant capacity, enzyme activity and microstructure of cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 41, 378-386.
- Vansteelandt J., Delcour J.A., (1998). Physical behavior of durum wheat starch (*Triticum durum*) during industrial pasta processing. *Journal of Agriculture of Food Chemistry*. 46, 2499-2503.
- Vardanega R., Santos D.T., Meireles M.A.A., (2014). Intensification of bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation. *Pharmacognosy Reviews*. 8, 88-95.
- Vázquez Ovando A., Rosado Rubio G., Chel Guerrero L., Betancur Ancona D., (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.), *LWT Food Science and Technology*. 42, 168-173.
- Vega Gálvez A., Tello Ireland C., Lemus Mondaca R., (2007). Simulación matemática del proceso de secado de la gracilaria chilena (*gracilaria chilensis*). *Revista Chilena de Ingeniería*. 15, 55-64.
- Vega A., Fito P., (2005). Modelado de la cinética de secado del pimiento Rojo (*Capsicum annum* L.). *Información Tecnológica* (Chile). 16, 3-11.
- Vega A.A., Lemus R.A., (2006). Modelado de la Cinética de Secado de la Papaya Chilena (*Vasconcellea pubescens*). *Información Tecnológica*. 17, 23-31.
- Veraverbeke W. S. y Delcour J. A., (2002). Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Food Science and Nutrition*. 42, 179-208.
- Verardo V., Arráez-Román D., Segura Carretero A., Marconi E., Fernández Gutiérrez A., Caboni M.F., (2011). Determination of free and bound phenolic compounds in buckwheat spaghetti by RP-HPLC-ESI-TOF-483 MS: Effect of thermal processing from farm to fork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59, 7700-7707.
- Verdú S., Vasquez F., Ivorra E., Sanchez A.J., Barat J.M., Grau R., (2015). Physicochemical effects of chia (*Salvia hispanica*) seed flour on each wheat bread-making process phase and product storage, *Journal of Cereal Science*. 65 67-73.
- Vernière C.I., y Feillet P., (1999). Effects of mixing conditions on pasta dough development and biochemical changes. *Cereal Chemistry*. 76, 558-565.

- Villeneuve S., y Gelinas P., (2007). Drying kinetics of whole durum wheat pasta according to temperature and relative humidity. *LWT - Food Science and Technology*. 40, 465-471.
- Vinatoru M., Mason T.J., Calinescu I., (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 97, 159-178.
- Vinson J.A., Su X., Zubik L., Bose P., (2001). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 5315-5321.
- Virtucio L., (2003). Oriental noodles, present and future perspectives. *Tecnica Molitoria International*. 54, 146-154.
- Vitaglione P., Napolitano A., Fogliano V., (2008). Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Food Science Technology*. 19, 451-463.
- Vuksan V., (2010). *Salvia hispanica* L. (chia) in the management and treatment of cardiovascular diseases, diabetes and associated risk factors. *United States patent application publication*. 01, 851- 991.
- Waananen K.M., y Okos, M.R., (1996). Effect of porosity on moisture diffusion during drying of pasta. *Journal of Food Engineering*. 28,121-137.
- Wagner M., Morel Marie Helene, Bonicel J., Cuq B., (2011). Mechanisms of Heat-Mediated Aggregation of Wheat Gluten Protein upon Pasta Processing, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 59, 3146-3154.
- Wandee Y., Uttapap D., Pucha-Arnon S., Puttanlek C., Rungsardthong V., Wetprasit N., (2015). Quality assessment of noodles made from blends of rice flour and canna starch. *Food Chemistry*. 179, 85-93.
- Wang H., Cao G., Prior R.L., (1996). Total Antioxidant Capacity of Fruits. *Journal Agricultural Food Chemists*. 44, 701-705.
- Wang J., Sun B., Cao Y., Tian Y., Li X., (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chemistry*. 106, 804-810.
- Wang L., y Weller C. L., (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology* 17., 300-312.
- Weber C.W., Gentry H.S., Kohlhepp E.A., McCrohan P.R., (2010). The nutritional and chemical evaluation of chia seeds. *Ecology of Food and Nutrition*. 26, 119-125.
- West R., (2012). Whole Grain Pasta: A Physicochemical and Sensory Study. Dissertation. University of Guelph.
- Westerman P.W., White G.M., Ross I.J., (1973). Relative humidity effect on the high temperature drying of shelled corn. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 16, 1136-1139.
- Whilster R., Daniel J., (1984). Molecular structure of Starch. *Starch Chemistry and Technology*. 15, 153-182.

- Wu T.Y., Guo N., Yang T.C., Wen J.X., (2012). Advances in Ultrasound Technology for Environmental Remediation. Green Chemistry for sustainability. Springer Science and Business Media.
- Xiao Lan C., Jin Yi W., Ping L., Lian Wen Q., (2011). Ultrasonic/microwave assisted extraction and diagnostic ion filtering strategy by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for rapid characterization of flavonoids in *Spatholobus suberectus*. *Journal of Chromatography*. 1218, 5774-5786.
- Xing H., Takhar P.S., Helms G., He B., (2007). NMR imaging of continuous and intermittent drying of pasta. *Journal of Food Engineering*. 78, 61-68.
- Yagcioglu A., Degirmencioglu A., Cagatay F., (1999). Drying characteristics of laurel leaves under different drying conditions. *7th international congress on agricultural mechanization and energy*. 35, 565-569.
- Yahia E.M., Gutiérrez Orozco F., Moreno Pérez M.A., (2017). Identification of phenolic compounds by liquid chromatography mass spectrometry in seventeen species of wild mushrooms in Central Mexico and determination of their antioxidant activity and bioactive compounds. *Food Chemistry*. 226, 14-22.
- Yamada K., Sato Mito N., Nagata J., Umegaki K., (2008). Health claim evidence requirements in Japan. *Journal of Nutrition*. 138, 1192-1198.
- Yang L., Jiang J.G., Li W.F., Chen J., Wang D.Y., Zhu L., (2009). Optimum extraction Process of polyphenols from the bark of *Phyllanthus emblica* L. based on the response surface methodology. *Journal of Separation Science*. 32, 1437-1444.
- Yang S.Y., Hong C.O., Lee G.P., Kim C.T., Lee K.W. (2013). The hepatoprotection of caffeic acid and rosmarinic acid, major compounds of *Perilla frutescens*, against t-BHP-induced oxidative liver damage. *Food and Chemical Toxicology*. 55, 92-99.
- Zettel V., y Hitzmann B., (2018). Applications of chia (*Salvia hispanica* L.) in food products. *Trends in Food Science and Technology*. 80, 43-50.
- Zettel V., y Hitzmann B. (2016). Chia (*Salvia hispanica* L.) as fat replacer in sweet pan breads. *International Journal of Food Science and Technology*. 51, 1425-1432.
- Zahn S., Pepke F., Rohm H., (2010). Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins. *International Journal of Food Science and Technology*. 45, 2531-2537.
- Zou D., Chen T., Li H.M., Chen C., Zhao J.Y., Li Y.L., (2016). Separation of three phenolic high-molecular-weight compounds from the crude extract of *Terminalia chebula* Retz. by ultrasound assisted extraction and high speed counter current chromatography. *Journal of Separation Science*. 39, 1278-1285.
- Zoulias, E. I., Piknis, y Oreopoulou, V. (2000). Effect of sugar replacement by polyols and acesulfame-K on properties of low-fat cookies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 80, 2049-2056.

- Zhang Q., Zhang J., Shen J., Silva A., Dennis D.A., Barrow C.J., (2006). A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*. 18, 445-450.
- Zhao J.H., Manthey F., Chang K., Hou H., Yuan H., (2005). Quality characteristics of spaghetti as affected by green and yellow pea, lentil and chickpea, flours. *Journal of Food Science*. 70, 371-376.
- Zhou L., Zhang X., Xu W.Z., Ma X.N., Jia Z., Zheng Y.M., You S., (2011). Studies on the Stability of Salvianolic Acid B as Potential Drug Material. *Phytochemical Analysis*. 22, 378-384.
- Zweifel C., Handschin S., Escher F., Conde Petit B., (2003). Influence of high temperature drying on structural and textural properties of durum wheat pasta. *Cereal Chemistry*. 80, 159-167.

**ANEXO: PUBLICACIONES CIENTÍFICAS CON REFERATO DERIVADOS DE ESTA INVESTIGACIÓN**

- Carolina Aranibar, Natalia B. Pigni, Marcela Martinez, Alicia Aguirre, Pablo Ribotta, Daniel Wunderlin, Rafael Borneo\*, (2018), “Utilization of a partially-deoiled chia flour to improve the nutritional and antioxidant properties of wheat pasta”, LWT - Food Science and Technology, Volume 89, March 2018, Pages 381-387, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.003>
- Carolina Aranibar, Alicia Aguirre, Rafael Borneo\*, (2019), “Utilization of a by-product of chia oil extraction as a potential source for value addition in wheat muffins”, JFST- Journal of Food Science and Technology, <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04102-z>
- Carolina Aranibar, Florencia Pedrotti, Mariela Archilla, Carolina Vázquez, Rafael Borneo, Alicia Aguirre\*, (2019), “Storage and preservation of dry pastas into biodegradable packaging made from triticale flour”, JFST- D-19-01301, Journal of Food Science and Technology, <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03889-1>
- Natalia B. Pigni\*, Carolina Aranibar, Agustín Lucini Masa, Alicia Aguirre, Rafael Borneo, Daniel Wunderlin and M. Verónica Baroni, (2020), “Chemical profile and bioaccessibility of polyphenols in wheat pasta supplemented with partially-deoiled chia flour”, LWT-D-19-03034 - Food Science and Technology, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109134>



## Utilization of a partially-deoiled chia flour to improve the nutritional and antioxidant properties of wheat pasta



Carolina Aranibar<sup>A,1</sup>, Natalia B. Pigni<sup>A,C,1</sup>, Marcela Martínez<sup>A</sup>, Alicia Aguirre<sup>A,B</sup>, Pablo Ribotta<sup>A,B</sup>, Daniel Wunderlin<sup>A,C</sup>, Rafael Borneo<sup>A,B,\*</sup>

<sup>A</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICTA-COCONICYT-UNC), Av. J. B. Alberdi 218, Ciudad Universitaria, CP 5000BHA, Córdoba, Argentina

<sup>B</sup> Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Centro de Química Aplicada, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Vélez Sarsfield 1400, Ciudad Universitaria, CP 5000BHA, Córdoba, Argentina

<sup>C</sup> Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Haya de la Torre Médica Allende, 5017, C.A. 14, Lab. 011 - Ciudad Universitaria, CP 5000BHA, Córdoba, Argentina

<sup>\*</sup> Author Corresponding E-mail: [borneo@conicet.gov.ar](mailto:borneo@conicet.gov.ar) (R. Borneo)

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Pasta

Chia

Antioxidants

FRAP

DPPH

Antioxidant capacity

### ABSTRACT

Pasta is a popular staple food. Today there is a trend to consume less processed foods. Products fortification with certain properties, such as antioxidant potential and dietary fiber, represent an added value. Chia is an ancient grain, that contains exceptional proportions of polyunsaturated fatty acids ( $\omega$ -3/ $\omega$ -6). After oil extraction, a residue, termed partially-deoiled chia flour (PDChF), high in protein content, dietary fiber, and phenolic compounds, remains as a by-product. The main goal of this work was to evaluate the nutritional and technological quality of pasta supplemented with PDChF at different proportions (2.5%, 5% and 10%). Parameters such as texture, color, microstructure, protein and fiber content, polyphenol content and antioxidant activity (FRAP and DPPH) were analyzed. A sensory evaluation has been also performed. Our results demonstrate that the addition of PDChF improves the antioxidant capacity with respect to a non-supplemented pasta (0% PDChF). The acceptance of pasta by semi-trained judges was also good. As a concluding remark, the study confirms the feasibility to introduce this food product, and also lead us to consider a profitable application of a by-product of the chia oil extraction process.

### 1. Introduction

Pasta is a popular staple processed food all over the world. It is manufactured with wheat semolina and flour as the primary ingredient. Its high content of complex carbohydrates makes it a valuable source of energy in human nutrition. Conventional pasta is usually high in starch but low in dietary fiber, minerals, vitamins, and bioactive compounds (Sorokki et al., 2011). Fortification, defined as the addition of one or more components for the purpose of enriching and/or enhancing a biological activity of newly designed food products, has been proposed as a strategy to improve the nutritional quality of traditional cereal-based products (Swieca, Szczyk, Gawlik-Drzki, & Drzki, 2014). Many ingredients have been applied in pursuit of this goal for pasta products, such as buckwheat (Binay & Bata, 2014), sorghum flour (Shan, Younif, Johnson, & Gerlach, 2013), algae wakame (Frohmann et al., 2009), oregano and carrot leaves (Sorokki et al., 2011), artemis leaves (Borneo & Aguirre, 2008), pea flour (Pudalino et al., 2014), and

parsley leaves (Szczyk, Swieca, Gawlik-Drzki, Luty, & Cysz, 2016). These studies have demonstrated the feasibility of pasta fortification, although some changes in the pasta technological quality and consumer acceptability do occur.

Chia (*Salvia hispanica* L.), belonging to the Lamiaceae plant family, was a very important food for Mesoamericans in pre-Columbian times and it has been cultivated in Central America since those times (Sandoval-Olivares and Parado-López, 2013). This crop has been successfully introduced and developed in Argentina, mostly in the northern part of the country, where it has been turned into a very important economic activity (Martínez et al., 2012). Chia seeds are one of the best natural sources of poly-unsaturated fatty acid (PUFA)  $\alpha$ -linolenic [ALA; 18:3 (n-3)] showing a highly beneficial proportion of  $\omega$ -3/ $\omega$ -6 (Menga et al., 2017). The oil content of these seeds is around 30% and the protein content is between 19 and 27% (Menga et al., 2017) with a very good balance of essential aminoacids, especially methionine and cysteine. Additionally, the dietary fiber content is significant ranging

\* Corresponding author.

E-mail: [borneo@conicet.gov.ar](mailto:borneo@conicet.gov.ar) (R. Borneo).

<sup>1</sup> These authors contributed equally to first authorship.

*Utilization of a by-product of chia oil extraction as a potential source for value addition in wheat muffins*

**Carolina Aranibar, Alicia Aguirre & Rafael Borneo**

Journal of Food Science and Technology

ISSN 0022-1155

J Food Sci Technol  
DOI 10.1007/s13197-019-03889-1



 Springer

*Storage and preservation of dry pasta  
into biodegradable packaging made from  
triticale flour*

**Carolina Aranibar, Florencia Pedrotti,  
Mariela Archilla, Carolina Vázquez,  
Rafael Borneo & Alicia Aguirre**

**Journal of Food Science and  
Technology**

ISSN 0022-1155

J Food Sci Technol  
DOI 10.1007/s13197-019-04102-z



 Springer



## Chemical profile and bioaccessibility of polyphenols from wheat pasta supplemented with partially-deoiled chia flour



Natalia B. Pigni<sup>a,b,\*</sup>, Carolina Aranibar<sup>a</sup>, Agustín Lucini Mas<sup>a,b</sup>, Alicia Aguirre<sup>a,c</sup>, Rafael Borneo<sup>a,c</sup>, Daniel Wunderlin<sup>a,j</sup>, M. Verónica Baroni<sup>a,j</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICTAC-CONICET), Av. E. Pelly 5/6, Ciudad Universitaria, CP 5000BHA, Córdoba, Argentina

<sup>b</sup> Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Eje de la Tierra y Medina Allende, 501. Co. B, Ciudad Universitaria, CP 5000BHA, Córdoba, Argentina

<sup>c</sup> Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Córdoba de Química Aplicada, Universidad Nacional de Córdoba, Av. Viter Biondini 2606, Ciudad Universitaria, CP 5000BHA, Córdoba, Argentina

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Salvia Hispanica L.  
Rosmarinic acid  
Phenolic compounds  
HPLC-MS  
Digestion

### ABSTRACT

The by-product obtained after the oil extraction from chia seeds has been used to produce supplemented wheat pasta, generating a food product with improved nutritional quality. In a previous work, we have demonstrated its technological feasibility, as well as its good acceptance by semi-trained judges. One of the enhanced nutritional properties of the supplemented pasta was its antioxidant capacity. In the present work, we characterize the phenolic composition of partially-deoiled chia flour and the supplemented pasta by HPLC-MS. Fourteen polyphenols, mostly phenolic acids, have been identified in the acetone/water (4:1) extract. The two major components were rosmarinic acid and its glycoside (salvianoside). The study of the effects of cooking on the phenolic profile showed that many bioactive components of chia seeds remain stable at the moment of intake. Finally, the bioaccessibility of the polyphenols has been assessed through an *in vitro* simulation of human gastrointestinal digestion.

### 1. Introduction

Chia seeds (*Salvia hispanica* L., Lamiales) are a popular and ancient food from Central America, being widely known by their high oil content (25–30%) rich in poly-unsaturated fatty acids (Martínez et al., 2012). During the oil extraction process, a residual by-product is generated. Some interesting nutritional characteristics have been attributed to this partially-deoiled portion, including protein and fiber content, as well as antioxidant components (de Falso, Amato, & Lorenzi, 2017). The use of chia flour has been significantly increased during recent years and it also has demonstrated to be valuable in the elaboration of gluten-free products (Manga et al., 2017; Morera, Chenlo, & Torres, 2012). Altogether, these properties make this by-product a noteworthy ingredient of supplemented food products.

The knowledge of food composition is important for industry and consumers (Cabero-Ibanez, Peñaflor, & Maquet, 2014). Besides the interest in avoiding food fraud, there is also a tendency to understand the potential effects of foods on health and nutrition (Eckhardt & Meyer, 2010). Additionally, the assessment of stability of bioactive components

throughout the manufacturing, cooking and digestive processes is fundamental to have an insight of the metabolites that remain bioavailable to exert their biological effects.

Wheat pasta is a very popular food, widely considered as a target to be fortified. Previously, we demonstrated the technological feasibility of using partially-deoiled chia flour (PDCF) in the manufacture of pasta. We evaluated a number of quality indicators and the antioxidant capacity of pasta supplemented with PDCF in different proportions (2.5%, 5% and 10%). Our results showed the improvement of nutritional properties and the enhancement of antioxidant capacity (Aranibar et al., 2018).

Antioxidant activity is generally associated with the content of phenolic compounds. It is widely accepted that even the simplest methods of food preparation can modify the composition of the bioactive ingredients of a food (Fares et al., 2008; Fares, Hattar, Bataine, & Manga, 2010; Verardo et al., 2011). In the case of whole-wheat pasta, for instance, the cooking process causes an increase in the total free polyphenols attributed to the release of bound polyphenols (Pedro, Baroni, Pigni, & Wunderlin, 2019). Thus, the main goal of the

\* Corresponding author. ICTAC-CONICET - Universidad Nacional de Córdoba, Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Medina Allende y Eje de la Tierra, Ciudad Universitaria, 5000BHA, Córdoba, Argentina.  
E-mail address: [npigni@icq.unc.edu.ar](mailto:npigni@icq.unc.edu.ar) (N.B. Pigni).

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109134>

Received 30 July 2019; Received in revised form 3 February 2020; Accepted 7 February 2020

Available online 08 February 2020

0023-6416/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## TRABAJOS PUBLICADOS EN EXTENSO EN LIBROS DE CONGRESOS

- Aranibar C., Martinez M, Aguirre A, Borneo R, “*Analysis of chia flour pasta drying kinetics*”, II International Conference of the ValSe-Food Network Development of Food Ingredients from Iberoamerican Ancestral Crops INSA 21 - 22 October, Lisbon - Portugal, Modalidad de poster (2019).
- Aranibar C, Aguirre A, Borneo R. “*Efecto del almacenamiento en pastas elaboradas con harina parcialmente desgrasada de chia (Salvia hispánica)*”, VII Congreso en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba-Argentina. Modalidad de poster (2018).
- Aranibar C, Aguirre A, Borneo R. “*Estudio de las propiedades físicas durante el almacenamiento de muffins con harina parcialmente desgrasada de chia*”. VII Congreso en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba-Argentina. Modalidad de poster (2018).
- Aranibar C, Aguirre A, Borneo R. “*Características fisicoquímicas, microestructurales, texturales y antioxidantes de muffins con harina parcialmente desgrasada de chia*”. VII Congreso en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba-Argentina. Modalidad de poster (2018).
- Aranibar, C., Borneo, R., Aguirre A., Pigni N., Martínez M., “*Propiedades físicas y texturales de muffins con harina parcialmente desgrasada de chia*”, RED CHIA LINK, Mendoza, Argentina. Modalidad de poster (2017).
- Pigni, N. B.; Aranibar, C.; Martinez, M.; Ribotta, P.; Borneo, R.; Baroni, V.; Wunderlin, D., “*Actividad antioxidante y perfil químico de compuestos fenólicos en pastas de trigo suplementadas con chia desgrasada*”, RED CHIA LINK, Mendoza, Argentina. Modalidad de poster (2017).
- Natalia B. Pigni, Carolina Aranibar, Agustín Lucini, Federico Brigante, Pablo Ribotta, Rafael Borneo, Verónica Baroni, Daniel Wunderlin. “*Chemical profile of phenolic compounds in wheat pasta supplemented with chia*”, “Assuring the integrity of the food chain: Fighting food fraud, Modalidad de poster, (FOODINTEGRITY 2017).
- Aranibar C., Quiroga F., Ribotta P., Aguirre A., Borneo R., (2016), “*Calidad Tecnológica, Nutricional, y Sensorial de Pastas Elaboradas con Harina Desgrasada de Chia (Salvia Hispanica)*”, VI Congreso Internacional Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba. Argentina. Modalidad de Oral. (2016).
- Aranibar C., Pigni N., Martinez M., Aguirre A., Borneo R., Ribotta P., Wunderlin D, (2016), “*Influencia del Proceso de Extracción sobre la Calidad Química del aceite de Chia y la Capacidad Antioxidante del Expeller*”, VI Congreso Internacional Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba. Argentina. Modalidad poster. (2016).
- Aranibar C., Pigni N., Martinez M., Aguirre A., Borneo R., Ribotta P., Wunderlin D, (2016), “*Mejora de la Capacidad Antioxidante de Pastas por la Incorporación de Harina Desgrasada de Chia*”, VI Congreso Internacional Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba. Argentina. Modalidad poster. (2016).

- Aranibar C., Pigni N., Martinez M., Aguirre A., Borneo R., Ribotta P., Wunderlin D, “*Use of defatted chia seeds to enhance the nutritional quality of wheat pasta*”, Assuring the integrity of the food chain: Fighting food fraud (FOODINTEGRITY 2016), Praga. Modalidad poster (2016).
- Aranibar, C, Aguirre, A, Borneo, R. “*Uso de un derivado de chía (salvia hispanica) para el mejoramiento de la capacidad antioxidante y de la calidad nutricional de pastas*”. V Congreso Internacional Ciencia y Tecnología de Alimentos. Córdoba. Argentina. Modalidad poster (2014).

