

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
Doctorado en Ciencias de la Ingeniería

Tesis Doctoral



Efecto del tratamiento térmico del germen de trigo sobre
sus propiedades físicas y químicas

Autora: Ing. Silvana Patricia MERILES

Director: Dr. Pablo Daniel RIBOTTA

Marzo de 2020

Efecto del tratamiento térmico del germen de trigo sobre sus
propiedades físicas y químicas

Por

Ing. Silvina Patricia MERILES

Dr. Pablo Daniel RIBOTTA

Director

COMISIÓN ASESORA:

Dra. María Cecilia Penci

FCEFyN – UNC

Dra. María Eugenia Steffolani

FCA – UNC

Dr. Pablo Daniel RIBOTTA

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 Doctora en Ciencias de la Ingeniería.

Córdoba, Argentina

Marzo de 2020

Dedicatoria

A las mujeres de mi familia,

Desde las abuelas Catalina y Palmira hasta las más nuevitas, por supuesto mi sobri Selena.

Sé que, en los momentos mas desafiantes de la escritura, cuando el reloj me sonaba en la espalda, ellas me envolvieron e hicieron esto posible. Las sentí cerquita, cumpliendo el sueño de todas. Con esta tesis en ingeniería realizamos esos deseos que tenían de escribir de puño y letra, deseo que postergaron por estar con nosotros, los que veníamos por detrás.

Agradecimientos

Los logros no son personales, siempre hay un equipo sosteniendo y abrazando, aun cuando no sean conscientes de ello. Los años que académicamente quedan pasmados en estas páginas no son la excepción. Extiendo mi más sincero agradecimiento a mi familia. Emanuel. Papá, mamá, Mariel, Manu, y por supuesto Selena ♥.

Gracias también a la familia que elegí, y volvería a elegir una y otra vez: Zai, Nati, Maca, Na, Law, Andi, Chechu, Ralph, Juancito por el aliento y predisposición, por estar siempre poniéndole color a este viaje aun sin saber bien a donde íbamos.

Gracias a los indispensables del camino. Realmente me siento afortunada de haber pertenecido a este grupo. Me impulsaron a cosas que no me hubiese imaginado, siempre con confianza y cariño. Pablo, Gabi P, Beto, Rafa y Ali. Especialmente a Marce y Ceci que me abrazaron desde el PI y no me soltaron más la mano. Guías esenciales en todo esto.

Gracias a las amigas del laboratorio por apapacharme en el día a día. Si disfruto lo que hago es en parte por su presencia y calidez. Gracias Fer, Carito, Sole, Mica, Mari, Popy, Xiu. Gracias Cande, Romi, Pablín, Pala, Euge, Male, Lolu, Agus, Gabi B., Andrés, José, Nico, Pepi por la buena onda y hacer del laboratorio “el lab”, a donde dan ganas de volver, aunque a veces no salgan las cosas.

A la familia extendida, que me apoya y acompaña incondicionalmente. Gracias Mimí, Moisés, Gabi, Pato, Mavita, Cari, Marga, Valen por estar siempre pendiente desde el amor.

Ojalá la vida me permita acompañar también a cada uno de ustedes. Estar en esta instancia es movilizante, estar acompañada, sintiéndolos cerca aún más. Gracias.

Índice

Lista de abreviaturas.....	1
Resumen	2
Summary.....	3
Résumé	4
ANTECEDENTES	5
Generalidades del trigo	5
Estructura del grano de trigo	5
Molienda del grano de trigo.....	6
Relevancia del germen de trigo.....	7
OBJETIVOS	9
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos.....	9
CAPÍTULO 1: Generalidades del germen de trigo.....	12
1.1 INTRODUCCIÓN	12
1.2. MATERIALES Y MÉTODOS	17
1.2.1. Material	17
1.2.2. Composición centesimal	17
1.2.3. Calidad de aceite	17
1.2.3.1. Extracción de aceite	17
1.2.3.2. Acidez (AV)	18
1.2.3.3. Índice de peróxidos (PV)	18
1.2.3.4. Contenido total de tocoferoles (TTC).....	19
1.2.3.5. Perfil de ácidos grasos.....	20
1.2.4. Actividad enzimática	20
1.2.4.1. Lipasa (LI).....	20
1.2.4.2. Lipoxigenasa (LOX)	20
1.2.5. Propiedades de la fracción proteica.....	21
1.2.5.1. Aislado de proteínas.....	21
1.2.5.2. Análisis térmico de las proteínas.....	21
1.2.5.3. Propiedades funcionales	21
1.2.6. Determinación de la capacidad antioxidante <i>in vitro</i>	22
1.2.6.1. Preparación de extractos de polifenoles.....	22
1.2.6.2. Contenido de polifenoles totales	22
1.2.6.3. Capacidad de captura de radicales libres – ABTS ^{•+}	23
1.2.6.4. Poder de reducción antioxidante del ion férrico - FRAP.....	24

1.2.7. Propiedades físicas.....	24
1.2.7.1. Densidad aparente y porosidad	24
1.2.7.2. Color	24
1.2.7.3. Ángulo de reposo	25
1.2.7.4. Actividad de agua	26
1.2.8. Análisis estadístico	26
1.3. RESULTADOS.....	26
1.3.1. Propiedades químicas	26
1.3.1.1. Análisis centesimal	26
1.3.1.2. Calidad de aceite	28
1.3.1.3. Calidad proteica	30
1.3.1.4. Capacidad antioxidante.....	33
1.3.2. Propiedades físicas.....	35
1.3.2.1. Densidad aparente y porosidad	35
1.3.2.2. Ángulo de reposo	36
1.3.2.3. Actividad de agua	36
1.3.2.4. Color	37
1.4. CONCLUSIÓN	37
CAPÍTULO 2: Efecto de los tratamientos térmicos sobre la inactivación de las enzimas y propiedades físicas del germen	39
2.1. INTRODUCCIÓN	39
2.1.1. Estabilización del germen de trigo	39
2.1.1.2. Estabilización térmica.....	39
2.1.2. Estrategias de estabilización analizadas en el trabajo de tesis.....	40
2.1.2.1. Tratamiento con aire caliente	41
2.1.2.2. Calentamiento por microondas	41
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
2.2.1. Muestras	44
2.2.2. Tratamientos térmicos del germen de trigo	44
2.2.3. Evaluaciones sobre el germen de trigo	46
2.2.4. Cinética de actividad enzimática.....	46
2.2.5. Curvas de adsorción y desorción.....	47
2.2.5.1. Modelos de adsorción aplicados.....	48
2.2.6. Análisis de imágenes del germen de trigo	49
2.2.7. Propiedades térmicas y eléctricas.....	51
2.2.7.1. Capacidad calorífica	51

2.2.7.2. Conductividad térmica	51
2.2.7.3. Propiedades dieléctricas	52
2.2.8. Análisis estadístico	53
2.3. RESULTADOS.....	54
2.3.1. Estabilización	54
2.3.1.1. Perfiles temperatura y humedad	54
2.3.1.2. Perfil potencia-tiempo	58
2.3.2. Enzimas.....	59
2.3.2.1. Cinética.....	61
2.3.3. Efecto de las tecnologías sobre propiedades físicas	63
2.3.3.1. Actividad de agua	63
2.3.3.2. Curvas de adsorción y desorción.....	64
2.3.3.3. Color	69
2.3.3.4. Análisis de imágenes del germen de trigo	71
2.3.3.5. Ángulo de reposo	71
2.3.4. Propiedades térmicas y eléctricas.....	72
2.3.4.1. Capacidad calorífica	72
2.3.4.2. Conductividad térmica	73
2.3.4.3. Propiedades dieléctricas	74
2.4. CONCLUSIÓN	75
CAPÍTULO 3: Efecto de los tratamientos térmicos sobre las propiedades químicas y funcionales del germen.....	78
3.1. INTRODUCCIÓN	78
3.1.1. Efecto sobre los lípidos	78
3.1.2. Efecto sobre las proteínas.....	79
3.1.3. Efecto sobre compuestos antioxidantes	80
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	81
3.2.1. Muestras	81
3.2.2. Tratamientos térmicos del germen de trigo	81
3.2.3. Efecto sobre la fracción proteica	81
3.2.3.1. Propiedades funcionales	82
3.2.3.2. Grado de desnaturalización proteica	82
3.2.3.3. Extracción secuencial de proteínas.....	82
3.2.4. Efecto sobre la fracción lipídica	83
3.2.5. Compuestos volátiles	83
3.2.6. Efecto sobre la actividad antioxidante	84

3.2.7. Análisis estadístico	84
3.3. RESULTADOS.....	84
3.3.1. Efecto sobre la fracción proteica	84
3.3.1.1. Contenido de proteínas aislado	84
3.3.1.2. Extracción secuencial de proteínas	86
3.3.1.3. Análisis térmico de las proteínas.....	91
3.3.1.4. Propiedades funcionales	93
3.3.2. Efecto sobre fracción lipídica	96
3.3.2.1. Acidez	96
3.3.2.2. Índice de peróxidos	97
3.3.2.3. Tocoferoles.....	99
3.3.2.4. Composición de ácidos grasos	101
3.3.2.5. Compuestos volátiles	102
3.3.3. Efecto sobre antioxidantes.....	105
3.3.3.1. Cuantificación de polifenoles	105
3.3.3.2. Poder de reducción antioxidante de ion férrico (FRAP).....	106
3.3.3.3. Capacidad de captura de radicales libres (ABTS*+).....	108
3.4. CONCLUSIÓN	109
CAPÍTULO 4: Modelado de la transferencia de calor y masa durante el tratamiento térmico de germen de trigo	111
4.1. INTRODUCCIÓN	111
4.2. MODELO 1: Base experimental	114
4.2.1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	114
4.2.1.1. Velocidad de secado.....	114
4.2.1.1. Cinética de pérdida de agua del germen	114
4.2.1.2. Coeficiente de difusividad efectiva	115
4.2.1.3. Constante cinética de secado.....	115
4.2.1.4. Modelado de pérdida de agua del germen.....	115
4.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	116
4.2.2.1. Variación del contenido de humedad durante el tratamiento térmico.....	116
4.2.2.2. Velocidad de secado.....	117
4.2.2.3. Coeficiente de difusión efectiva	118
4.2.2.4. Cinética de secado.....	119
4.2.2.5. Influencia de la temperatura.....	119
4.2.2.6. Modelado de pérdida de agua del germen.....	120
4.2.3. CONCLUSION	122

4.3. MODELO 2: Base física - balance de energía	122
4.3.1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	122
4.3.1.1. Tratamiento térmico	122
4.3.1.2. Determinación de coeficiente de transferencia de calor.....	123
4.3.1.3. Características del modelo de validación.....	125
4.3.1.4. Supuestos del modelo	125
4.3.1.5. Detalles del modelo.....	126
4.3.1.6. Medidas de precisión del modelo	127
4.3.2. RESULTADOS	127
4.3.2.1. Propiedades utilizadas	127
4.3.2.2. Coeficiente de transferencia de calor	127
4.3.2.3. Validación de las propiedades.....	128
4.3.3. CONCLUSION	130
4.4. MODELO 3: Base física - balance de masa y energía.....	130
4.4.1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	130
4.4.1.1. Desarrollo del modelo	131
4.4.1.2. Supuestos del modelo	131
4.4.1.3. Modelado de la transferencia de calor	132
4.4.1.4. Modelado de la transferencia de masa.....	132
4.4.1.5. Propiedades térmicas.....	133
4.4.1.6. Condiciones de borde.....	134
4.4.1.7. Actividad enzimática	136
4.4.1.8. Actividad de agua	137
4.4.1.9. Parámetros estadísticos	137
4.4.2. RESULTADOS	137
4.4.2.1. Transferencia de calor.....	137
4.4.2.2. Transferencia de masa	139
4.4.2.3. Predicción de actividad de agua.....	141
4.4.2.4. Coeficiente de difusión efectiva.....	141
4.4.2.5. Actividad enzimática	143
4.4.3. CONCLUSIÓN	144
CAPÍTULO 5: Incorporación de germen de trigo estabilizado en galletitas.....	144
5.1. INTRODUCCIÓN	144
5.1.1. Clasificación.....	144
5.1.2. Galletitas como vehículo de fortificación.....	145
5.1.3. Transformaciones durante el procesamiento de las galletitas	147

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS	148
5.2.1. Elaboración.....	148
5.2.2. Reología.....	148
5.2.2.1. Análisis de la consistencia de la masa durante el amasado – Mixolab®	148
5.2.2.2. Ensayo de relajación a un esfuerzo	150
5.2.3. Calidad química	150
5.2.3.1. Análisis Proximal	150
5.2.3.2. Índice de Peróxidos	151
5.2.4. Parámetros físicos de las galletitas	151
5.2.4.1. Pérdida de peso y dimensiones.....	151
5.2.4.2. Textura	151
5.2.4.3. Actividad de agua	152
5.2.4.4. Color	152
5.2.5. Análisis sensorial	152
5.2.6. Análisis estadístico	153
5.3. RESULTADOS	153
5.3.1. Reología.....	153
5.3.1.1. Análisis de la consistencia de la masa durante el amasado – Mixolab®	153
5.3.1.2. Ensayo de relajación del esfuerzo	156
5.3.2. Calidad química	158
5.3.2.1. Composición proximal de las galletitas elaboradas	158
5.3.2.2. Índice de Peróxidos	159
5.3.3. Parámetros físicos de las galletitas	159
5.3.3.1. Pérdida de peso y dimensiones.....	159
5.3.3.2. Textura	160
5.3.3.3. Actividad de agua	161
5.3.3.4. Color	162
5.3.4. Análisis sensorial	163
5.4. CONCLUSIÓN	166
CONCLUSIONES GENERALES	168
REFERENCIAS	170
ANEXO 1	183
Divulgación de resultados y actividades de transferencia	185

Lista de abreviaturas

A: Actividad enzimática	K': Constante de secado
a_w : Actividad de agua	k_c : Coeficiente de transferencia de masa
BI: Índice de pardeamiento	k_o : Factor pre-exponencial de Arrhenius
Cb: Humedad volumétrica	LI: Lipasa
CFT: Contenido de polifenoles totales	LOX: Lipoxigenasa
Cp: Capacidad calorífica	m: Masa
CR: Circularidad	MR: Humedad relativa
D: Coeficiente de difusión	NSI: Índice de solubilidad de nitrógeno
DDeg: Grado de desnaturalización de proteínas	OHC: Capacidad de retención de aceite
D_L : Difusión de vapor de agua a través del aire	PM: Peso molecular
DR: Velocidad de secado	PV: Índice de peróxidos
E_1 : Módulo elástico	R: Constante universal de los gases,
E_a : Energía de activación	RA: Relación de aspecto
FC: Capacidad de formación de espuma	T: Temperatura
FFA: Ácidos grasos libres	Td: Temperatura de pico
FS: Estabilidad de espuma	To: Temperatura de inicio
AV: Acidez del aceite	TTC: Contenido total de tocoferoles
GT: Germen de trigo	t_r : Tiempo de relajación
h: Coeficiente de transferencia calórica de la interfase	V: Volumen
H: Contenido de humedad	W: Ancho de pico a media altura
h_T : Coeficiente de transferencia de masa	WHC: Capacidad de retención de agua
k: Conductividad térmica/ constante de degradación térmica de primer orden	W_m : Contenido de humedad de monocapa
	X: Fracción másica/Fracción molar
	Y: Fracción volumétrica

Símbolos griegos

ΔH : Entalpía de desnaturalización

ρ_L : Densidad de lecho

ρ_P : Densidad de partícula

ε_0 : Porosidad / módulo elástico en el equilibrio

ε' : Constante dieléctrica

ε'' : Factor de pérdida

θ : Ángulo de reposo

λ : Calor latente de vaporización

σ : Esfuerzo

Subíndices

ac: Aceite

ao: Ácido oleico

o: Inicial

s: Sólido

a: Aire

ma: Aire húmedo

eff: Efectivo

f: Fluido

s: Sólido

v: Vapor

L: Lecho

P: Partícula

Resumen

El germen de trigo es el embrión del grano. Los altos volúmenes de producción de este cereal a nivel mundial y local hacen del germen un recurso altamente disponible. La utilización de esta fracción en alimentación resulta positiva desde varios puntos de vista, por un lado, es económicamente rentable, por tratarse de un subproducto industrial actualmente poco aprovechado y, por otra parte, es la fracción nutricionalmente más valiosa del grano y contiene compuestos beneficiosos para la salud. La fracción proteica posee un buen balance de aminoácidos, mientras que la lipídica tiene un elevado porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados. Además, el germen es la fuente vegetal conocida con mayor contenido de vitamina E. Actualmente, la principal limitante para su utilización es la rapidez con la que se desarrollan procesos de deterioro de los lípidos, debido principalmente a la acción de enzimas lipasas y lipoxigenasas.

En el presente trabajo de tesis doctoral se evaluó la utilización de dos tecnologías para estabilizar el germen de trigo: tratamiento con aire caliente y microondas. En una primera etapa se evaluaron las principales características del germen de trigo provenientes de dos empresas molineras de la provincia de Córdoba. Seguidamente, se midieron parámetros asociados a los efectos de los procesos térmicos sobre las propiedades físicas y la efectividad en la inactivación de lipasas y lipoxigenasas. Luego, se evaluó la influencia sobre los componentes nutricionales y estructurales del germen, haciendo hincapié en la fracción proteica, lipídica y compuestos bioactivos. Posteriormente se ajustaron modelos de base empírica y física al secado de germen de trigo por aire caliente, lo que permitió predecir la evolución del contenido de humedad y la temperatura de la muestra, que luego se vinculó a la actividad de agua y actividad enzimática remanente del producto. Por último, se analizó el efecto de la adición de germen de trigo a un producto horneado, logrando galletitas con una buena calidad nutricional y sensorial.

En general, el tratamiento con aire caliente demostró efectividad para inactivar ambas enzimas, mientras que con microondas solo se alcanzó a la inactivación total de las lipasas, lo que se atribuyó principalmente a la diferencia en las temperaturas de ensayo (150-200 °C para aire caliente y 50-70 °C para microondas). Se observó que ambas tecnologías afectaron en forma diferente la calidad química y física del germen de trigo, pero en ambos casos las muestras conservaron una buena calidad de aceite y funcionalidad de las proteínas y un importante contenido de tocoferoles. Los resultados permiten concluir que las tecnologías aplicadas permiten mejorar las posibilidades de aprovechamiento de este subproducto como un ingrediente para la formulación de alimentos.

Summary

Wheat germ is the embryo of the grain. The high production of this cereal worldwide and locally makes the germ a highly available resource. The use of this fraction in food products is positive from several points of view, on the one hand, it is economically profitable, as it is an industrial by-product which has not yet been fully exploited and, on the other hand, it is the most nutritious fraction of the grain and contains health-beneficial compounds. The protein fraction has a good amino acid balance, while the lipid fraction has a high percentage of polyunsaturated fatty acids. In addition, wheat germ contains remarkable levels of tocopherols. Currently, the main limiting factor for its use is the high deterioration rate of the lipid fraction, mainly due to the action of lipases and lipoxygenases enzymes.

This doctoral thesis evaluated the use of two technologies to stabilize wheat germ: hot air and microwave treatment. In a first stage, the main characteristics of wheat germ from two milling companies located in the province of Córdoba were evaluated. Next, parameters associated with the effects of thermal processes on physical properties and the effectiveness on enzyme inactivation (lipase and lipoxygenase) was measured. Then, the influence on the nutritional and structural components of the germ was evaluated, with particular emphasis on the protein fraction, lipid and bioactive compounds. In addition, a physics-based model was developed to describe thermal treatment of wheat germ, which was then linked to the water activity and enzymatic activity of the product. Finally, the effect of adding wheat germ to a baked product was evaluated, achieving crackers with good nutritional and sensory quality.

In general, hot air treatment proved to be effective in inactivating both enzymes, whereas only total lipase inactivation was achieved with microwaves, which was mainly attributed to the difference in tested temperatures (150-200 °C for hot air and 50-70 °C for microwaves). It was observed that both technologies had different consequences on chemical and physical quality of wheat germ, but in all cases the samples retained good oil parameters, protein functional properties, and significant tocopherol contents. The results showed that the applied technologies allow us to improve the possibilities of using this by-product as an ingredient for food formulation.

Résumé

Le germe de blé est l'embryon du grain. La production mondiale et locale en grande quantité de cette céréale fait de ce germe une ressource hautement disponible. Il existe plusieurs raisons pour montrer que l'utilisation de cette fraction dans les produits alimentaires est positive: d'une part, elle est économiquement rentable, c'est un sous-produit industriel qui n'a pas encore été pleinement exploitée et, d'autre part, c'est la partie plus nutritive du grain et contient des composés associés à la santé.

La fraction protéique présente un bon équilibre en acides aminés, tandis que la fraction lipidique présente un pourcentage élevé d'acides gras polyinsaturés. En outre, le germe de blé contient des niveaux remarquables de tocophérols. Actuellement, le principal facteur limitant de son utilisation est le taux de détérioration élevé de la fraction lipidique, principalement dû à l'action des enzymes lipases et lipoxygénases.

Cette thèse a évalué l'utilisation de deux technologies pour stabiliser le germe de blé: l'air chaud et le traitement par micro-ondes. Au début, les principales caractéristiques du germe de blé provenant de deux sociétés meunière situées dans la province de Córdoba ont été évaluées. L'étape suivante c'était de déterminer et mesurer les paramètres associés aux effets des processus thermiques sur les propriétés physiques et l'efficacité sur l'inactivation des enzymes (lipase et lipoxygénase). Ensuite, l'influence sur les composants nutritionnels et structurels du germe a été évaluée, avec un accent et concentration particulier sur la fraction protéique, les lipides et les composés bioactifs. Par la suite, des modèles empiriques et physiques ont été ajustés au séchage du germe de blé à l'air chaud, ce qui a permis de prédire l'évolution du taux d'humidité et de la température de l'échantillon, qui a ensuite été liée à l'activité de l'eau et enzymatique restant dans le produit. Enfin, l'effet de l'ajout de germe de blé à un produit de boulangerie a été évalué pour obtenir des biscuits cracker de bonne qualité nutritionnelle et sensorielle.

En général, c'était montré que le traitement à l'air chaud est une méthode efficace pour inactiver les deux enzymes, alors que seule l'inactivation totale de la lipase était obtenue avec des micro-ondes, ce qui était principalement attribué à la différence de températures testées (150-200 °C pour l'air chaud et 50-70 ° C pour les micro-ondes). Il a été observé que les deux technologies ont des conséquences différentes sur la qualité chimique et physique du germe de blé, mais dans les deux cas, les échantillons conservent de bons paramètres d'huile, des propriétés fonctionnelles des protéines et une teneur significative en tocophérol. Les résultats ont montré que les technologies appliquées nous permettent d'améliorer les possibilités d'utilisation de ce sous-produit comme ingrédient pour l'enrichissement des aliments.

ANTECEDENTES

Generalidades del trigo

El trigo (*Triticum aestivum* L.) es uno de los tres cereales más cultivados globalmente junto al maíz y el arroz. Argentina, un país tradicionalmente cerealero, se encuentra entre los principales productores de trigo y cuenta con un 2,4% de participación a nivel mundial (USDA, 2017). La producción primaria de trigo en Argentina fue de 19,4 millones de toneladas en la campaña 2018/19 (Secretaría de Agroindustria, 2019), concentrando Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe el 80% del volumen de producción a nivel nacional. Como es de esperar, en estas mismas zonas también se centralizan los establecimientos que realizan la molienda del cereal.

La molienda del trigo para la obtención de harina es el primer eslabón de transformación industrial que provee distintos tipos de harinas y subproductos a las industrias de segunda transformación para la fabricación de panes, fideos o galletitas entre otros productos. Durante el proceso de molienda se realiza una separación de las partes del trigo en busca de la conservación de sus propiedades tecnológicas. El producto principal de la molienda de trigo pan es la harina del tipo “000” y “0000”, mientras que las sémolas, harina “00”, harina “0” y “1/2 0” son de menor importancia. En promedio, los molinos de harina de trigo obtienen cada 100 kg de trigo 50 kg de harina “000” y 25 kg de harina “0000”, esta última de mayor valor por contener menos cenizas que la primera (Gómez Pallarés, León, & Rosell, 2007). El trigo que se cultiva en Argentina en su mayoría (98,5%) es *Triticum aestivum* L. o *Triticum vulgare*, denominado trigo pan destinado a panificación (Secretaría de Agroindustria, 2019).

Estructura del grano de trigo

En la Figura I se presenta la estructura general del grano de trigo, donde se observan las 3 partes principales: el salvado o parte externa, el germen o embrión y el endospermo, que representan el 13-17%, 2-3% y 80-85% del grano en masa, respectivamente (Boukid, Folloni, Ranieri, & Vittadini, 2018).

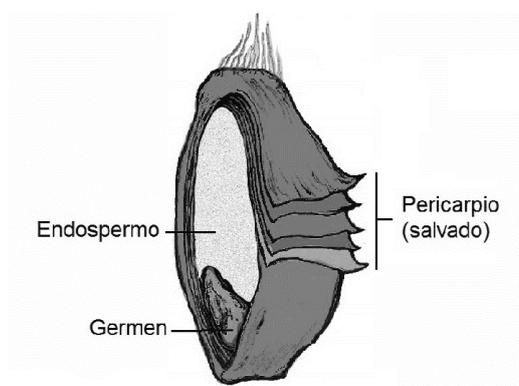


Figura I. Estructura simplificada del grano de trigo

El pericarpio y la testa, junto con la capa de aleurona conforman el salvado de trigo, que envuelve a la semilla y está compuesto por numerosas capas ricas en vitaminas, minerales, proteínas y fibras. El germen de trigo es la parte del grano responsable del desarrollo de una nueva planta, por lo que posee una elevada proporción de proteínas de importancia metabólica, lípidos no saturados, minerales y vitaminas del grupo B y E. Por último, el endospermo almacena las proteínas de reserva y el almidón (Gómez Pallarés et al., 2007). Durante la molienda se pretende separar el endospermo del germen y salvado ya que éstos últimos limitan la vida útil y disminuyen su calidad al dar aspectos menos blanquecinos y uniformes e impartir sabores y olores no deseados al producto por enranciamiento.

Los granos de trigo varían ampliamente en la textura y color. La variación en textura, aparentemente está relacionada a las fuerzas de unión en el endospermo. El color de la semilla, usualmente blanco o rojizo, se relaciona a los pigmentos presentes en las capas externas. Se conocen semillas púrpuras o negras, pero son poco comunes (Delcour & Hosney, 2010).

Molienda del grano de trigo

El principal producto derivado del grano de trigo es la harina, que se obtiene por un sistema de molturación que mantiene los mismos principios técnicos desde el siglo XIX, cuando se introdujo el sistema húngaro de molturación por cilindros, que luego con el correr del tiempo experimentó mejoras significativas en eficiencia (Gómez Pallarés et al., 2007). La molienda del grano consiste básicamente en la reducción del tamaño de partícula y separación mecánica del endospermo de las capas externas y el germen. El proceso se inicia con una etapa de limpieza y purificación del grano mediante canales de aspiración, zarandas, separadores a disco, mesa densimétrica y clasificadoras en la que se eliminan los elementos extraños y granos defectuosos. La corriente limpia pasa luego a un sector de acondicionamiento donde se humectan los granos de manera controlada hasta llegar a un 15-17% humedad y se dejan en reposo entre 10 y 30 horas. Ello hace que el salvado sea menos quebradizo aumentando la facilidad de separación y mejorando la disgregación del endospermo para que la harina sea más fácil de cernir. De este punto en adelante la molienda es gradual o sucesiva y continua, es decir, se inicia rompiendo el grano y luego por medio de varios ciclos de raspado y tamizado se logra la separación de sus componentes (Gómez Pallarés et al., 2007).

Como se mencionó anteriormente, el pericarpio, el germen y la capa de aleurona del trigo son ricos en vitaminas y minerales, por lo que productos de cereales refinados perdieron parte de esos nutrientes durante el procesado. El enriquecimiento de alimentos a base de cereales propone la adición de minerales (hierro y zinc) y vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico) perdidos durante la molienda. En 64 países la fortificación de alimentos a base de cereales se establece por ley (Doblado-Maldonado, Pike, Sweley, & Rose, 2012). Argentina se encuentra entre ellos desde el

año 2003, cuando a través de la Ley N° 25.630 se transformó en obligatorio el enriquecimiento con hierro y vitaminas del producto destinado al mercado interno argentino, tanto la harina que es comercializada en envase para consumo hogareño como la destinada a las industrias demandantes: panaderil, fideera o galletera, entre otras (Secretaría de Agroindustria, 2019).

Relevancia del germen de trigo

El rendimiento aproximado de germen de trigo durante la molienda, se estima entre 0,2-1%, valor que depende del nivel de contaminación con otras partes del grano, el método de separación utilizado, el contenido de humedad durante la molienda, la variedad de trigo molido entre otros factores (Shurpalekar & Rao, 1977). Aunque este valor parezca muy bajo, los altos volúmenes de producción a nivel global hacen del germen de trigo un recurso altamente disponible. Algunos autores estiman que mundialmente se producen 25 millones de toneladas anuales de germen de trigo (Rizzello, Nionelli, Coda, De Angelis, & Gobetti, 2010).

En años recientes, se incrementaron los esfuerzos para valorizar los “desechos” de las industrias, lo cual mejoró la apreciación del germen de trigo convirtiéndolo de un material de descarte a un subproducto altamente valorado (Boukid et al., 2018). El consumo de germen de trigo actualmente es limitado, pero la disponibilidad de productos que lo contienen es cada vez mayor. Aplicaciones típicas se encuentran en panes enriquecidos con germen, snacks y suplementos de cereales de desayuno (Mahmoud, Mohdaly, & Elneairy, 2015). Sin embargo, hoy en día la mayor cantidad de germen se destina a alimentación animal y fabricación de cosméticos.

El germen representa la parte del grano nutricionalmente más valiosa. Al comparar el porcentaje en peso del germen con respecto a la harina (compuesta principalmente por endospermo), se puede afirmar que el germen posee un contenido tres veces superior de proteínas de alto valor biológico, siete veces más lípidos con preponderancia de ácidos grasos insaturados y seis veces mayor contenido de minerales (Mohamed, Ramadan, & Showky, 2008). Además, el contenido de tocoferoles (vitamina E) es remarcable, poseyendo también tiamina, riboflavina y niacina (vitamina B1, B2 y B3, respectivamente) (Shurpalekar & Rao, 1977).

La presencia de compuestos bioactivos del germen de trigo no es despreciable (U. Krings, Johansson, Zorn, & Berger, 2006; Teslić et al., 2019), y se los asocia a diferentes beneficios nutricionales y de salud, como por ejemplo la de reducción de niveles de colesterol en plasma e hígado, mejoramiento en la resistencia física y retraso de efectos de envejecimiento (Boukid et al., 2018; Ghafoor et al., 2017).

La principal restricción para la utilización del germen de trigo es el desarrollo de rancidez en un tiempo corto, alrededor de 15 días luego de la molienda debido a la degradación oxidativa de los

ácidos grasos y la hidrólisis de triglicéridos por parte de enzimas endógenas. Consecuentemente, para extender la vida útil del germen de trigo y preservar sus nutrientes es necesario aplicar técnicas que tengan como principal objetivo la inactivación de las lipasas y lipoxigenasas.

En base a lo expuesto hasta aquí, resulta importante concentrar esfuerzos en revalorizar el germen de trigo para favorecer su consumo. La elevada disponibilidad, el bajo costo y la necesidad de nuevas fuentes naturales proteicas, de fibras y compuestos bioactivos hacen del germen de trigo un recurso prometedor. El germen cumple con los requisitos para convertirse en un importante recurso de suplementación de alimentos en la medida que se controle su estabilidad química durante un tiempo considerable que permita su transformación, distribución y consumo.

La presente Tesis Doctoral profundizó en el conocimiento de técnicas para lograr extender la vida útil del germen de trigo estudiando el impacto sobre las propiedades físicas y nutricionales, y los efectos en alimentos que lo contengan.

OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar y caracterizar el germen de trigo e incrementar su período de conservación mediante tratamientos térmicos con el fin de conseguir su incorporación en la formulación de alimentos, considerando aspectos tecnológicos, nutricionales y sensoriales asociados al germen y a los productos que lo contengan.

Objetivos específicos

- Caracterizar los componentes fundamentales del germen de trigo.
- Evaluar el efecto de los tratamientos térmicos sobre la cinética de inactivación enzimática y las propiedades nutricionales del germen de trigo.
- Analizar la influencia de los tratamientos térmicos sobre los cambios estructurales, físicos y químicos del germen de trigo.
- Caracterizar la fracción proteica del germen y evaluar los efectos del tratamiento en sus propiedades funcionales y nutricionales.
- Modelar la transferencia de calor y masa durante los tratamientos térmicos.
- Evaluar el efecto de la incorporación de germen de trigo sobre las propiedades físicas, nutricionales y sensoriales de galletitas cracker.

CAPÍTULO 1

Generalidades del germen de trigo



CAPÍTULO 1: Generalidades del germen de trigo

1.1 INTRODUCCIÓN

El germen de trigo (GT) obtenido por molienda del grano está compuesto principalmente por proteínas (30%), lípidos (11%), carbohidratos (azúcares y fibras) (53%) y minerales (4%), que son responsables de su alto valor nutritivo (Boukid et al., 2018). La calidad nutricional del GT radica en 3 aspectos fundamentales: las proteínas, el aceite y los compuestos bioactivos.

La fracción proteica del GT es abundante en proteínas metabólicamente activas debido a su rol funcional dentro del grano. De acuerdo a la clasificación de las proteínas de Osborne (1924), el GT está conformado principalmente por albúminas y globulinas que conforman el 34 y 16,5% del total de proteínas, respectivamente (Gómez Pallarés et al., 2007). Asimismo, muchos autores sostienen que la proteína del germen de trigo es de buena calidad (Hassan, Afify, Basyiony, Ahmed, & Ghada, 2010; Hettiarachchy, Griffin, & Gnanasambandam, 1996; K. X. Zhu, Zhou, & Qian, 2006). La evaluación de la calidad de éstos compuestos tiene como objetivo determinar la capacidad de las fuentes alimentarias para satisfacer los requerimientos de proteína y nitrógeno amínico de los aminoácidos esenciales, es decir, para satisfacer las necesidades metabólicas de aminoácidos y nitrógeno (FAO/WHO, 2013). Uno de los índices más usados para medir la calidad de una proteína es el porcentaje de aminoácidos esenciales sobre aminoácidos totales, que para el germen de trigo es 40,5% (Zhu et al., 2006), siendo 36% el valor mínimo recomendado por la FAO (FAO/WHO, 1973). Otro método para evaluar la eficiencia de una proteína para cubrir los requerimientos biológicos es la puntuación de los aminoácidos (*amino acid score*), en el que básicamente se compara la composición de aminoácidos con un patrón de referencia. En la práctica se sugiere como “ideal” la proteína del huevo entero o proteína de leche (valor biológico próximo a 100). El germen de trigo deslipidizado tiene una puntuación de 68,5 (Zhu et al., 2006), valor intermedio entre la soja (74) y el maní (65), mientras que el sésamo y el grano entero de trigo tienen valores de 50 y 53, respectivamente (FAO/WHO, 1973). Al tener un valor relativamente alto en ambos parámetros, algunos autores sostienen que la calidad de las proteínas del germen de trigo es comparable a la de proteína de huevo o leche (Arshad, Anjum, & Zahoor, 2007; Ge, Sun, Ni, & Cai, 2000; Hassan et al., 2010).

Según lo dicho hasta aquí se puede sostener que las proteínas de alto valor biológico del GT lo posicionan como una fuente prometedora de proteínas vegetales.

El aceite del germen es la fracción económicamente más rentable. Actualmente se utiliza en productos alimenticios, farmacéuticos, formulaciones cosméticas y control biológico de insectos (Boukid et al., 2018). Por su elevado contenido de vitamina E puede ser considerado como candidato para preparaciones industriales (Mohamed et al., 2008). Está compuesto principalmente por ácido linoleico, palmítico, oleico y α -linolénico, con abundancias relativas de 59, 18, 16 y 6%, respectivamente. Dos aspectos son remarcables en cuanto a ésta composición: por un lado la elevada proporción de ácidos grasos poliinsaturados (63%), que se asocian a beneficios para la salud (Caballero, 2003) y por otro lado la relación omega-6/omega-3, que es de 8. Simopoulos et al. (2002) sostienen que una relación omega-6/omega-3 de al menos 5:1 produce cambios benéficos en personas asmáticas, y una proporción 4:1 ayuda a prevenir enfermedades cardiovasculares hasta un 70%. Sin embargo, el consumo habitual de éstos aceites se encuentra en la relación de 10:1 a 25:1 (Gelmez, Kincal, & Yener, 2009).

El germen de trigo contiene compuestos bioactivos, principalmente antioxidantes y esteroides. Los antioxidantes del germen de trigo incluyen vitamina E (α -, β -, γ -, δ -tocoferol, y α -, β -, γ -, δ -tocotrienol), fenoles y carotenoides (Gelmez et al., 2009). Resulta en la fuente vegetal más rica de tocoferoles (Schwartz, Ollilainen, Piironen, & Lampi, 2008).

Los esteroides de fuente vegetal, o fitoesteroides, son de interés nutricional por su potencial de disminuir el colesterol, ya que actúan bloqueando su absorción en el intestino. El aceite de GT es una fuente importante de esteroides, siendo sitoesterol el más abundante en su composición. Otras oleaginosas de menor concentración son colza y maíz (Schwartz et al., 2008).

Los principales fenoles encontrados en germen son los ácidos felúrico, vanílico y formas libres de glicoflavonas, mientras que los carotenoides son principalmente luteína, zeaxantina y β -caroteno (Gelmez et al., 2009). Krings et al. (2000) encontró además que el tostado del germen de trigo no solo mejora la estabilidad del producto al prevenir la autooxidación de ácidos grasos insaturados, sino que también mejora la actividad antioxidante y tiene propiedades protectoras de ADN (U. Krings et al., 2006).

El contenido de tocoferoles es importante ya que normalmente el germen de trigo posee entre 2.500 y 3.800 ppm de tocoferoles totales. Particularmente, el isómero α - es el preponderante en el aceite de germen de trigo (45% en masa) y el que manifiesta mayor actividad antioxidante (Frankel, Evans, & Cooney, 1959). Los tocoferoles representan un micronutriente esencial y su consumo en niveles óptimos se asocia a beneficios sobre la salud (Simopoulos, 2002). El rol principal que cumplen los tocoferoles, es romper la cadena oxidativa y preservar la integridad de las membranas celulares, lo que permite por ejemplo retrasar la progresión de una gran variedad de enfermedades

degenerativas, reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer (Galli et al., 2017; Magariño, Mateo, & Nolasco, 2015; Schwartz et al., 2008). El consumo recomendado de vitamina E según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) es de 13 mg/día (para un hombre adulto), pero según revisiones sistemáticas, el consumo de α -tocoferol y otras formas de vitamina E se encuentran por debajo de las recomendaciones oficiales, tanto en los países en desarrollo como en los centrales (Galli et al., 2017). Además, el germen de trigo obtenido por el proceso de molienda contiene un elevado contenido de carbohidratos, representando cerca de un 45% del total, siendo los principales almidón azúcares y fibra (20, 17 y 1,5-13%, respectivamente) (Brandolini & Hidalgo, 2012; Jurkovic & Colic, 1993; Ling, Ouyang, & Wang, 2019). Los azúcares mayoritarios identificados son sacarosa y rafinosa con presencia en menores proporciones de arabinosa, glucosa, fructosa y maltosa (Rizzello et al., 2010). Asimismo, es destacable el contenido de minerales del germen de trigo, siendo los preponderantes fósforo, potasio, y magnesio (Shurpalekar & Rao, 1977).

Debido a la estructura flexible que presenta el germen, al atravesar los rodillos tiende a aplastarse modificando su estructura original. Inmediatamente después de atravesar los rodillos, las partículas de germen y salvado son extraídas del proceso mediante un sistema de tamices y separadores aprovechando las diferencias de tamaño y densidad de las partículas.

En trabajos previos se analizó el efecto de la molienda sobre la microestructura del germen de trigo (Gili, 2018a) mediante microscopía confocal con tinción específica. El análisis mostró diferencias entre la estructura del germen obtenido manualmente a partir del grano de trigo y aquel producido industrialmente. El primero presentó una compartimentalización de las estructuras que contienen los cuerpos de aceite, mientras que el segundo mostró una fase lipídica dispersa en la matriz. Estos cambios se relacionaron con el proceso de molienda, particularmente con los esfuerzos de compresión y cizalla a los cuales son sometidas las partículas durante su paso por los rodillos de trituración y compresión, que provocan daño sobre las estructuras que contienen el aceite y colapsan permitiendo su dispersión en toda la matriz.

Esta redistribución de la fase lipídica en las partículas obtenidas industrialmente, favorece la acción de las enzimas hidrolíticas presentes en el germen sobre los triglicéridos del aceite lo que puede explicar el aumento de acidez del aceite y la reducción de la vida útil.

La principal limitante para la utilización de germen de trigo en la producción de alimentos es la baja estabilidad debida principalmente a la actividad enzimática y la composición del aceite altamente insaturado. Las enzimas endógenas responsables de catalizar reacciones de hidrólisis y oxidación de los lípidos del germen son las lipasas y lipoxigenasas.

Las lipasas (LI) o triacilglicerol acilhidrolasas (EC 3.1.1.3) son enzimas que catalizan la hidrólisis de triacilglicerol produciendo diacilglicerol, monoacilglicerol, glicerol y ácidos grasos libres en la interfase entre fases acuosas y orgánicas, por lo que la liberación de ácidos grasos no esterificados se relaciona a la actividad lipásica. Dado que las lipasas son fisiológicamente necesarias para los organismos vivos en el metabolismo de los lípidos, pueden encontrarse de diversas fuentes como animal, vegetal y microbiano. La lipasa presente en los cereales tiene la particularidad de estar ligada a membrana, poseer una masa de 142 kDa, y una actividad máxima a pH 8 y 37 °C (Shiiba, Negishi, Okada K, & Nagao, 1991). La lipasa del trigo también es sensible al contenido de humedad de la muestra, exhibiendo máxima actividad cuando el contenido de humedad es del 17%, sin embargo, cuando esta desciende a 10-13% (contenido de humedad común en harinas y germen de trigo), tiene una actividad del 50%, lo que hace de las lipasas, enzimas únicas entre las enzimas hidrolíticas, ya que requiere una cantidad catalítica para actuar, mientras que cantidades excesivas de agua la inhiben (Doblado-Maldonado et al., 2012). En general, las lipasas muestran alta resistencia térmica por lo que se requieren tratamientos específicos para su inactivación total o parcial.

En la mayoría de las grasas y aceites, la presencia de ácidos grasos libres no es perceptible por el ser humano, por lo que no se considera que van en detrimento del *flavor* del alimento que los contenga. Las grasas de la leche son una excepción, ya que contienen esteres del ácido butírico que una vez hidrolizado imparte el olor desagradable típico de manteca rancia (Rahnan, 2002).

La elevada actividad de LI trae como consecuencia una degradación de las propiedades sensoriales, ya que la formación de ácidos grasos libres precede al proceso de oxidación (Figura 1.1), en los que se liberan compuestos volátiles de 3-12 átomos de carbono de muchas clases que pueden producir rancidez y ser percibidos, como aldehídos, cetonas, alcoholes o hidrocarburos (Rahnan, 2002).

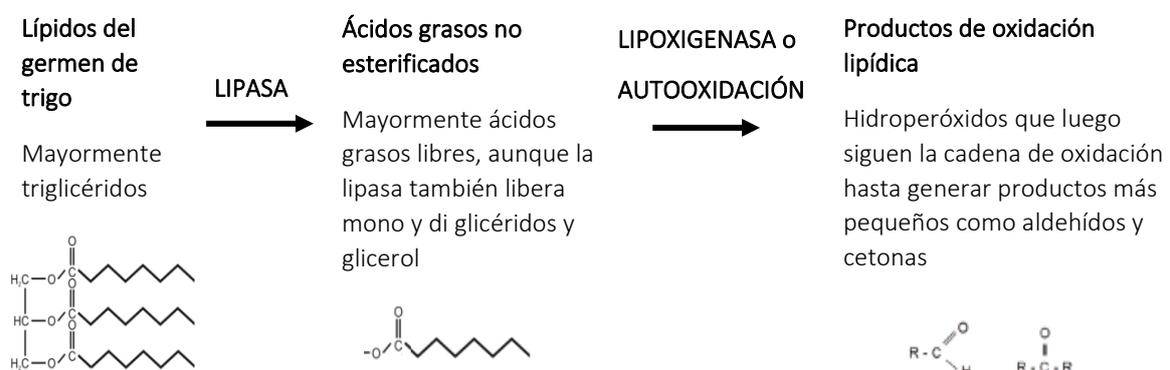


Figura 1.1. Esquema de la oxidación lipídica y rol de las principales enzimas involucradas

Sus efectos no son siempre indeseados, ya que también es frecuente la utilización de la LI como aditivo en productos de panadería, bebidas y quesos, donde ayudan al desarrollo de sabores particulares (Gurrieri, 2004).

Los lípidos del grano de trigo pueden oxidarse enzimáticamente o por autooxidación. La oxidación lipídica a través de enzimas ocurre mediante la acción de lipoxigenasas (LOX) (EC 1.13.11.12). La LOX se encuentra tanto en el salvado como en el germen, al igual que la LI. LOX comprende un grupo de isozimas con una masa molecular de 110 kDa y un pH óptimo entre 4,5 y 6 (Doblado-Maldonado et al., 2012). LOX ataca el grupo metileno entre dos dobles enlaces en ácidos grasos poliinsaturados, preferentemente ácidos grasos no esterificados. La autooxidación puede ocurrir por reacción no enzimática de lípidos de granos con oxígeno atmosférico. En ambos mecanismos, la oxidación de lípidos involucra la adición de oxígeno a ácidos grasos poliinsaturados, formando hidroperóxidos, seguido por el rompimiento de la cadena de carbono en moléculas más pequeñas como epoxialdehidos, cetonas, lactonas y furanos (Doblado-Maldonado et al., 2012).

Los efectos indeseables que se asocian a la actividad LOX son: destrucción de clorofila y carotenos, desarrollo de *off flavors* y aromas, daño oxidativo a vitaminas y proteínas y oxidación de ácidos grasos esenciales (Gurrieri, 2004).

A pesar de que la oxidación es un proceso más lento que la hidrólisis, durante el almacenamiento la oxidación de lípidos puede contribuir significativamente a la pérdida de calidad del producto ya que, a diferencia de la LI, LOX exhibe una pequeña actividad a contenidos de humedad típicos de almacenamiento de estos productos (Doblado-Maldonado et al., 2012).

Numerosas estrategias se han puesto en práctica para inactivar las enzimas del germen de trigo, desde remoción de la fracción oleosa (Ge et al., 2000; Hassan et al., 2010) hasta procesos térmicos, mecánicos, químicos o biológicos (Boukid et al., 2018). Las tecnologías informadas en bibliografía incluyen procesos con vapor (Srivastava, Sudha, Baskaran, & Leelavathi, 2007), vapor en combinación con una etapa de secado (Bansal & Sudha, 2011), fluidización con aire caliente (Gili, Penci, Irigoyen, Giner, & Ribotta, 2018b; Yöndem-Makascioğlu, Gürün, Dik, & Kincal, 2005), radiación gamma (Jha, Kudachikar, & Kumar, 2013), infrarroja (Gili et al., 2017a) o de microondas (Vetrimani, Jyothirmayi, Haridas Rao, & Ramadoss, 1992; Xu et al., 2013). El tratamiento con aire caliente tiene una efectividad comprobada sobre la inactivación enzimática, disminuyendo el contenido de humedad y la peroxidación lipídica (Mohamed et al., 2008; Zou, Gao, He, & Yang, 2018).

En el presente capítulo se caracterizó el germen de trigo proveniente de empresas molineras locales, identificando las propiedades físicas y químicas relevantes del material crudo.

1.2. MATERIALES Y MÉTODOS

1.2.1. Material

El germen de trigo fue suministrado por empresas molineras de la provincia de Córdoba. José Minetti y Cia. Ltda. S.A.C.I, de la ciudad de Córdoba, campaña 2015-2016 (Molino A) y Molinos Marimbo S.A.C.I, de la ciudad de La Carlota, Córdoba, campaña 2017 (Molino B).

Las muestras de germen de trigo fueron recibidas en el laboratorio dentro de las 48-72 h de obtenidas. A su llegada, el material fue tamizado utilizando un vibrador de tamices (EJR 2000, Zonytest®) para separar el germen de restos de harina y salvado. Las partículas fueron retenidas en malla 20 ASTM (0,841 mm) (germen de trigo usado para los diferentes ensayos) se separaron y se almacenadas a -18 °C en un envase de polietileno de alta densidad al resguardo de la luz hasta su uso.

1.2.2. Composición centesimal

- Proteínas: El contenido de nitrógeno de las muestras se determinó por medio del método de micro-Kjeldahl modificado para ácido bórico (AACC, 2000). Se realizó una mineralización de 100 mg de muestra molida con ácido sulfúrico a 400 °C en un bloque de digestión MB-6, Raypa (R. Espinar SL, España). El amonio resultante se destiló (Destilador UDK 126, Velp Scientifica SRL, Italia) sobre ácido bórico y se tituló con HCl. El contenido de proteínas totales se calculó como porcentaje de nitrógeno (%N) utilizando un factor de conversión de 5,45 (Zhu et al., 2010).

- Humedad: El contenido de humedad se determinó por diferencia de peso en 2 g de muestra exactamente medidos antes y después de calentar en estufa a 105 °C a presión atmosférica normal en estufa de circulación de aire forzado, hasta peso constante. Los resultados se expresaron como porcentaje en base seca (AACC, 2000).

- Cenizas: El contenido de cenizas se determinó por diferencia de peso en 2 g de harina exactamente medidos, antes y después de calentar en mufla a 600 °C hasta peso constante (AACC, 2000).

- Lípidos: El contenido de lípidos totales se realizó mediante extracción continua sólido-líquido en equipo Soxhlet de acuerdo a la metodología estándar de la AOCS (AOCS, 2009). La extracción se realizó durante 8 h utilizando hexano como solvente. El contenido de lípidos se expresó en porcentaje en base seca.

Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.3. Calidad de aceite

1.2.3.1. Extracción de aceite

La extracción de aceite para la determinación de la calidad lipídica se realizó en frío utilizando hexano en 2 etapas, según la metodología propuesta por Gili et al. (2018b). Se extrajo a partir de material

entero a temperatura ambiente y al resguardo de la luz en cada etapa. El hexano grado analítico se adicionó a las muestras en una proporción 1:3 p/v en la primera etapa y 1:2 p/v en la segunda etapa. Luego de la adición del solvente se colocó en un agitador orbital mecánico a 150 rpm durante 30 min en cada caso. Posteriormente el sobrenadante se centrifugó (5 min, 1.000xg) para eliminar los sólidos en suspensión. Luego los sobrenadantes se colectaron en un balón y se evaporó el solvente a presión reducida a 40 °C. Para la determinación de la acidez las muestras de aceite se obtuvieron el mismo día, mientras que para determinación de índice de peróxidos y tocoferoles las muestras se almacenaron en frascos de vidrio color ámbar con atmósfera de nitrógeno a -18 °C.

1.2.3.2. Acidez (AV)

La determinación de la acidez de las muestras de aceite se realizó según el método oficial (AOCS, 2009) con algunas modificaciones. Se pesó una muestra de aceite (200-500 mg), y se le agregaron 3,5 mL de una solución de etanol desnaturalizado (1:10 metanol:etanol), a los que posteriormente se agregaron 3,5 mL de éter etílico, utilizando como indicador una solución etanólica de fenolftaleína al 1% p/v (0,3 mL por muestra). La acidez se determinó mediante titulación con una mezcla de solución etanólica de KOH (0,02 N). Dicha solución fue previamente estandarizada con ftalato ácido de potasio, patrón primario. La acidez se expresó como porcentaje (p/p) de ácido oleico de acuerdo (% ác. oleico) a la siguiente ecuación:

$$AV = \frac{(V_{KOH} PM_{ao} N_{KOH}) 100}{m_{ac}}$$

Donde V_{KOH} son los mL de solución de KOH utilizados durante la titulación, PM_{ao} es el peso molecular de ácido oleico (282 g/mol), N_{KOH} es la normalidad de la solución de KOH y m_{ac} es el peso de la muestra de aceite (mg). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.3.3. Índice de peróxidos (PV)

Dado que los peróxidos son productos de oxidación primaria, es decir uno de los productos que se forman durante la primera etapa de la oxidación, la determinación del índice de peróxidos de un aceite es un parámetro importante de calidad.

La determinación de índice de peróxidos se desarrolló según el método espectrofotométrico publicado por Shantha & Decker (1994). Este método se basa en la capacidad de los peróxidos lipídicos de oxidar iones ferrosos (Fe^{2+}). La oxidación resultante se cuantifica utilizando un compuesto que al acomplejarse con el ion férrico (Fe^{3+}) produce un cambio en su coloración que puede ser medido espectrofotométricamente.

La solución de cloruro de hierro (II) se preparó disolviendo 0,4 g de $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ en 50 mL de agua. Esta solución se adicionó lentamente y con agitación constante a una solución de sulfato de hierro (II) (0,5 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ disuelto en 50 mL de agua). A la solución resultante se adicionaron 2 mL de

HCl 10 N. La solución de BaSO₄ fue filtrada para lograr una solución clara de hierro (II). Esta solución se mezcló en iguales volúmenes con una solución de NH₄SCN al 30% p/v. La solución del complejo Fe⁺² se almacenó en botella color ámbar y en oscuridad hasta su utilización.

Para determinar el PV, 100 µL de aceite (0,06-0,08 g) se mezcló en un tubo de ensayo con 10 mL de una solución de cloroformo: metanol (70:30, v/v), agitando vigorosamente durante 10 s. Luego se agregaron 50 µL de la solución de Fe(II) (0,035M) y se agitó nuevamente por 10 s. Luego de 5 min de incubación a temperatura ambiente, la absorbancia de la muestra se determinó a 510 nm. El blanco de reacción se realizó con todos los reactivos, utilizando 50 µL de agua destilada acidificada (HCl 0,058% v/v) en vez de la muestra.

La curva de calibración de concentración de Fe⁺³, se realizó con una solución estándar de cloruro de hierro (III) (10 µg Fe/mL) para concentraciones comprendidas entre 10 y 80 µg/mL Fe⁺³, con una pendiente de 0,028 (R²= 0,9848).

El PV se calculó de la siguiente forma:

$$PV = \frac{(A_{muestra} - A_{blanco})}{55,84 m_{ac} c}$$

Donde $A_{muestra}$ es la absorbancia de la muestra, A_{blanco} es la absorbancia del blanco, 55,84 es el peso molecular del hierro, m_{ac} es el peso del aceite en gramos, y c es la pendiente de la curva de calibración. PV se expresó en miliequivalentes de oxígeno cada 1 kg de muestra (meq. O₂/kg ac). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.3.4. Contenido total de tocoferoles (TTC)

El contenido de tocoferoles se determinó de acuerdo a la metodología utilizada por Gili et al. (2017a) mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La fase móvil fue hexano: acetato de etilo (70:30 v/v), con un caudal de 1 mL/min. Muestras de aceite (600 - 800 mg) se disolvieron con 0,9 mL de hexano en un tubo eppendorf al resguardo de la luz. Luego de 10 s de agitación vigorosa se filtró la solución utilizando membranas de 0,22 µm. Una alícuota de esta solución se inyectó en un equipo HPLC Shimadzu (Shimadzu, Japón), equipado con una bomba LC-20AT, un detector de arreglo de diodos modelo SPD-M20A y un inyector con un loop de muestra de 20 µL, usando una columna Supelco HPLC (Supelcosil LC - NH₂ - NP, 250x4,6 mm ID 5 mm). Se cuantificaron los diferentes isómeros a 295 nm, utilizando curvas de calibración con estándares α-, β-, γ- y δ-tocoferol (Sigma Aldrich Co., EUA). El contenido de tocoferoles se expresó como mg/kg de aceite (ppm). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.3.5. Perfil de ácidos grasos

Las características fisiológicas y biológicas de los aceites están influenciadas por los tipos y proporciones de los ácidos grasos, así como por su posición en el radical glicerol, por lo que un análisis de los ácidos grasos presentes en el aceite resulta relevante desde el punto de vista nutricional e industrial (Ahmed et al., 2016).

Para la identificación y cuantificación de ácidos grasos del aceite se utilizó cromatografía gaseosa (CG). En una primera etapa los aceites (0,5 g) se saponificaron con 30 mL de solución de KOH 1N en metanol mediante reflujo durante 45 min. El material insaponificable se extrajo con n-hexano (3x30 mL). Los ácidos grasos hidrolizados se esterificaron con 50 mL de solución de H₂SO₄ 1 N en metanol mediante reflujo durante 45 min. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se extrajeron con n-hexano (3 porciones de 40 mL). La solución resultante se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y concentró en evaporador rotatorio a 40 °C. La mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos se analizó en un cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama (FID). La separación se realizó en una columna de fase Supelcowax-10 (30 m de longitud, 0,25 mm diámetro interno y 0,25 µm de espesor de fase, Varian, EUA). Se empleó nitrógeno como gas portador (1 mL/min) y el siguiente programa de temperatura: temperatura inicial 180 °C, con un aumento de 4 °C/min hasta 240 °C (10 min). El contenido de cada uno de los ácidos grasos identificados se expresó como valor porcentual en relación al contenido total de los mismos (Maestri et al., 2015).

1.2.4. Actividad enzimática

1.2.4.1. Lipasa (LI)

A medida que la acción hidrolítica de las lipasas (LI) del germen de trigo generan ácidos grasos libres (FFA) a partir de triglicéridos, el incremento de los FFA en el tiempo se consideró proporcional a la acción de las lipasas. La determinación de la actividad lipásica se efectuó tal como lo describió Gili et al (2018a). El incremento del valor de acidez (AOCS, 2009) luego de 48 h de incubación a 40 ± 1 °C se tomó como medida de la actividad y se expresó como % ácido oleico. Las determinaciones se realizaron al menos por duplicado.

1.2.4.2. Lipoxigenasa (LOX)

La actividad de la enzima lipoxigenasa se estimó de acuerdo a Xu et al. (2013) con modificaciones. Brevemente, se preparó el extracto enzimático al mezclar 1 g de germen de trigo con 10 mL de buffer acetato (pH 4,5, 0,1 M) durante 10 min a 4 °C y luego centrifugado a 12.000xg durante 30 min. El sobrenadante se diluyó 20 veces con buffer acetato (pH 4,5, 0,1 M) para la determinación de la actividad enzimática. La solución sustrato se preparó con 0,05 M de fosfato de sodio dibásico, ácido linoleico (concentración aproximada de 2,53 mM) y 0,08% p/v de Tween 20. EL sistema de reacción se preparó mezclando 2.350 µL de buffer fosfato (pH 6,5, 0,1 M), 100 µL de solución sustrato y 250

μl de extracto enzimático diluido. La velocidad inicial de reacción se calculó por regresión lineal de los datos registrados entre 30 y 210 s de la curva de reacción. Una unidad de actividad de LOX se definió como el incremento en absorbancia de 0,01 a 234 nm por minuto por mg de proteína en las condiciones de ensayo. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.5. Propiedades de la fracción proteica

1.2.5.1. Aislado de proteínas

El material de partida utilizado fue el germen deslipidizado obtenido de la extracción de aceite según metodología detallada previamente. Se obtuvo el aislado proteico por solubilización en medio alcalino (pH 9,5) seguido de precipitación isoelectrica (pH 4), según el método descrito por Zhu et al. (2006). Luego, el precipitado se dispersó en agua destilada (20% p/v), se neutralizó y se dializó con agua destilada. Por último, se liofilizó y se guardó el material obtenido a -18 °C.

1.2.5.2. Análisis térmico de las proteínas

Se evaluaron las propiedades térmicas de los aislados de proteínas de germen mediante un calorímetro diferencial de barrido (DSC-821e, Mettler Toledo, Suiza). Se pesó el aislado de proteínas directamente en la cápsula de aluminio (~10 mg), luego se agregó buffer fosfato (0,01 M, pH 7,5) en una proporción 20% p/v, y se las dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente para permitir la redistribución del agua. Las cápsulas selladas se calentaron de 30 a 120 °C a una velocidad de 10 °C/min. La temperatura de inicio (T₀), la temperatura de desnaturalización (T_d), el ancho de pico a media altura (W) y la entalpía de desnaturalización (ΔH) se obtuvieron usando el software STARE version 9.0x (Mettler Toledo, Suiza). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.5.3. Propiedades funcionales

1.2.5.3.1. Índice de solubilidad de nitrógeno (NSI)

El NSI se determinó siguiendo el método propuesto por Zhu et al. (2010). La muestra (125 mg) se dispersó en 25 mL de agua destilada y el pH fue ajustado en un rango de 2-10. La solución se agitó durante 30 min a temperatura ambiente, y luego se centrifugó (6.000xg, 20 min). El contenido de proteínas se determinó mediante el método micro-Kjeldahl (Nx5,45). El índice de solubilidad de nitrógeno (NSI) se calculó de la siguiente manera:

$$NSI (\%) = \frac{\text{Cantidad de nitrógeno en sobrenadante}}{\text{Cantidad de nitrógeno en la muestra}} * 100$$

Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.5.3.2. Capacidad de retención de agua (WHC) y de aceite (OHC)

Se evaluaron WHC y OHC mediante el método de Zhu et al. (2010) con pequeñas modificaciones. Se suspendió el aislado de proteínas de germen de trigo en agua o aceite al 10% p/v. La suspensión se

agitó, se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 min y luego se centrifugó (9.880xg, 20 min). WHC y OHC se calcularon por diferencia de peso por gramo de muestra seca, de la siguiente manera:

$$\text{WHC o OHC} = \frac{m2 - m1}{m1}$$

Donde $m1$ es el peso de la muestra seca y $m2$ es el peso del sedimento. Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.5.3.3. Capacidad de formación de espuma (FC) y estabilidad de espuma (FS)

Se utilizó la metodología propuesta por Zhu et al. (2010) para el cálculo de FC y FS. En primer lugar, se preparó una dispersión de aislado proteico de concentración 2% p/v en buffer fosfato (0,05 M, pH 7). Una alícuota de esta dispersión (50 mL) se homogeneizó con una batidora de mano de inmersión (Braun MQ 700, Polonia) durante 1 min a temperatura ambiente y fue transferido inmediatamente a una probeta graduada de 100 mL. Se registró el volumen total a los 0, 10, 30 y 60 min. FC y FS se calcularon de la siguiente manera:

$$FC = \frac{V_c - V_o}{V_o} * 100$$

$$FS = \frac{FC}{FC_o} * 100$$

Donde V_o es el volumen original (50 mL), V_c es el volumen luego del batido (ml) y FC_o es la capacidad de formación de espuma inicial (a tiempo 0). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.6. Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro*

1.2.6.1. Preparación de extractos de polifenoles

Se utilizó el método propuesto por Zhu et al. (2011). La extracción se realizó a partir de 5 g de germen de trigo deslipidizado. Se realizó en dos etapas utilizando una solución de etanol al 70% v/v. En la primera etapa se utilizaron 50 mL y se agitó durante 3 h, mientras que en la segunda se agregaron 25 mL y se agitó durante 1 h a temperatura ambiente y al resguardo de la luz. Los periodos de extracción se siguieron de etapas de centrifugación (10.000 rpm, 4 °C, 20 min) para obtener el sobrenadante. El sobrenadante resultante de ambas etapas se combinó y concentró al vacío a 50 °C. Luego se liofilizó y se almacenó a -18 °C hasta su utilización. Las determinaciones subsiguientes se realizaron sobre diluciones (0,4-2 mg/mL) del extracto liofilizado.

1.2.6.2. Contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu, según Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós (1999). El mecanismo básico involucra una reacción redox en el que ciertos componentes del reactivo de Folin-Ciocalteu (ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico) se reducen en presencia de los compuestos polifenólicos de la muestra. Éstos

compuestos reducidos (óxido de tungsteno y molibdeno) se cuantificaron espectrofotométricamente a 750 nm. Para la determinación del contenido de polifenoles totales se colocaron 1.680 µL de agua ultra pura, 90 µL de metanol, 20 µL de muestra diluida, y 100 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu. Luego de 1 min se agregaron 300 µL de Na₂CO₃ al 20% p/v agitando vigorosamente antes y después. La muestra se incubó durante 120 min a temperatura ambiente y al resguardo de la luz. Por último, se midió la absorbancia de la solución a 750 nm contra un blanco de reactivos. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

El contenido de polifenoles totales se determinó mediante una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar. El rango de linealidad utilizado fue de 0,25-5 mg de ácido gálico/L. Los estándares se procesaron por triplicado al igual que las muestras. Los resultados obtenidos para los extractos se expresaron como miligramos de polifenoles equivalentes al ácido gálico cada gramo de peso seco de la muestra deslipidizado (mg EAG/g GT deslip). Las determinaciones se realizaron por duplicado.

1.2.6.3. Capacidad de captura de radicales libres – ABTS^{•+}

La capacidad antioxidante de los extractos se evaluó utilizando dos sistemas modelos *in vitro*: ABTS^{•+} y FRAP. Dado que los polifenoles de las plantas actúan comúnmente por transferencia de electrones o de hidrógeno se utilizó el ensayo de ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) para medir la capacidad captadora de radicales libres, según lo detallado por Re et al. (1999). La solución ABTS^{•+} se diluyó 1:2 v/v con agua destilada, hasta una absorbancia de 0,700 a 734 nm. Luego de agregarle 3 mL de la solución diluida ABTS^{•+} a 50 µL de muestra diluida, se midió la absorbancia a tiempo 0 y luego de 30 min de incubación, mediante un espectrofotómetro a 734 nm (UV-visible Jasco V730, Corporación Jasco, Japón). El porcentaje de desactivación del radical ABTS^{•+} se calculó con la siguiente ecuación:

$$ABTS^{•+}\% = 100 * \left(1 - \frac{Abs_f}{Abs_0}\right)$$

Donde Abs_0 es la absorbancia en el tiempo 0 sin adicionar la muestra y Abs_f es la absorbancia de la muestra luego de la incubación de 30 min. Las determinaciones de las muestras se realizaron al menos por duplicado. El porcentaje de desactivación se expresó en función de la actividad de un antioxidante patrón (Trolox) utilizando una curva de calibración de (meq./mL) versus tiempo en segundos ($y = 0,186x + 3,7906$). Las unidades de actividad antirradicalaria de las muestras ensayadas fueron: miligramos de equivalentes Trolox cada 100 gramos de germen de trigo deslipidizado (mg ET /100 g GT deslip.)

1.2.6.4. Poder de reducción antioxidante del ion férrico - FRAP

Los polifenoles tienen frecuentemente la capacidad de actuar por reducción o quelación de metales prooxidantes e inhibición de las enzimas oxidantes. Se utilizó el método FRAP (Benzie & Strain, 1996) para medir la capacidad reductora de los extractos de germen de trigo deslipidizado, usando una curva de Trolox como estándar y un blanco de reactivos. La mezcla de reacción se preparó con buffer acetato pH 3,6, una solución 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) en HCl, y una solución de 20 mM FeCl₃.6H₂O en relación 10:1:1, respectivamente. Una alícuota de muestra (20 µL) se adicionó a 3 mL de solución de FRAP y 80 µL de metanol. Las mezclas se incubaron en la oscuridad durante 15 min, y luego se midió la absorbancia a 593 nm (UV-visible Jasco V630, Jasco, Japón). Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes Trolox cada 100 g de germen de trigo deslipidizado (mg ET/100 g GT deslip). Las determinaciones se realizaron al menos por triplicado.

1.2.7. Propiedades físicas

1.2.7.1. Densidad aparente y porosidad

La densidad del germen de trigo fue calculada al dividir la masa de germen sobre el volumen del lecho, el cual está compuesto por el volumen de las partículas más el aire intersticial. La masa de aire en los huecos fue despreciada. Se colocó una masa de 50 g en una probeta de 100 mL y se midió la altura alcanzada por la muestra. El volumen del lecho se calculó de acuerdo a las características geométricas del cilindro.

La relación entre la densidad de lecho (ρ_L) y la densidad de partícula (ρ_P) brinda la fracción de lecho ocupada por las partículas de germen. En consecuencia, la fracción de huecos del lecho fijo ε_0 se calculó de la siguiente manera:

$$\varepsilon_0 = 1 - \frac{\rho_L}{\rho_P}$$

El valor de la densidad de partícula utilizado fue de 1.234,23 kg/m³ (Kim, Flores, Chung, & Bechtel, 2003).

1.2.7.2. Color

La determinación del color superficial del germen de trigo se realizó con un espectrofotómetro de reflectancia (CM-700d/600d KONICA MINOLTA, Ramsey, EUA). Las mediciones se realizaron sobre muestras en capas de 1,5 cm de espesor. Las muestras se recubrieron con un vidrio de baja reflectancia. Se utilizó un ángulo del observador 10°, iluminante D65, componente especular incluido, utilizando la escala CIELAB (L*: luminosidad, a*: rojo-verde y b*: amarillo – azul).

1.2.7.3. Índice de pardeamiento o Browning Index (BI)

El índice de pardeamiento representa el nivel de coloración marrón en alimentos, que se produce por pardeamiento enzimático y no enzimático en estas matrices. El BI se calculó de acuerdo a Sakin-

Yilmazer et al. (2013) a partir de los parámetros L^* , a^* y b^* de la escala CIELAB con la siguiente ecuación:

$$BI = \frac{100 (x - 0,31)}{0,17}$$

donde

$$x = \frac{(a^* + 1,75L^*)}{(5,645 L^* + a^* - 3,012 b^*)}$$

1.2.7.3. Ángulo de reposo

El ángulo de reposo puede definirse como la mínima pendiente de un material no confinado (medido desde el plano horizontal) sobre el cual el material puede ser apilado sin deslizarse. Es un término que proviene de los estudios de suelo y cálculos estructurales, por lo que su aplicación es muy amplia y según la finalidad existen diferentes métodos y guías disponibles para su determinación. Sin embargo, ningún método está estandarizado. Se utilizó el método de la caja inclinada (*tilting box method*), ya que es aplicable a materiales granulados finos no cohesivos de tamaño inferior a 10 mm (Beakawi Al-Hashemi & Baghabra Al-Amoudi, 2018).

Para la determinación del ángulo de reposo se colocó el germen de trigo (2 g) sobre una base metálica, que luego se inclinó gradualmente desde uno de los extremos. En todas las determinaciones se utilizó la misma cantidad de material, colocada en una misma área, con el objetivo de homogeneizar la altura de la muestra. El ángulo de reposo se midió como el ángulo de inclinación a partir de la cual el material empezó a deslizarse, como se muestra en la Figura 1.2.

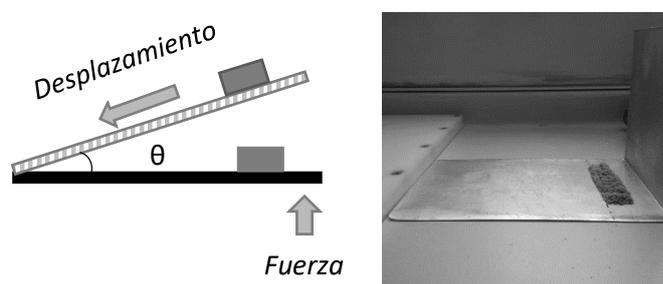


Figura 1.2. Esquema general de ensayo de ángulo de reposo.

Se determinó el ángulo de reposo θ por trigonometría a partir de la longitud de la base (*base*) y de la altura (*altura*) con respecto a la horizontal.

$$\theta = \tan^{-1} \frac{\text{altura}}{\text{base}}$$

Las determinaciones se realizaron 10 veces sobre cada muestra.

1.2.7.4. Actividad de agua

La actividad de agua del germen de trigo molido se determinó utilizando un medidor de actividad de agua (AquaLab Pre Water Activity Meter, Decagon Devices Inc., Pullman, WA). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

1.2.8. Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron al menos por duplicado. Se aplicó análisis de la varianza (ANAVA) a los datos, las medias se compararon mediante el test LSD (diferencia mínima significativa) Fisher con un nivel de significancia de 0,05. Se utilizó el software estadístico Infostat (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba)(Di Rienzo et al., 2011).

1.3. RESULTADOS

1.3.1. Propiedades químicas

1.3.1.1. Análisis centesimal

El Código Alimentario Argentino (CAA) estipula que el germen de trigo debe cumplir con las siguientes especificaciones físico-químicas: agua (humedad), de 8 a 15%; prótidos, de 23 a 32%, lípidos, de 7 a 11%, glúcidos asimilables, de 30 a 48%; fibra bruta, no superior a 4% y cenizas totales, no superior a 5% a 500 - 550 °C (CAA, 2012b). Según esto, se puede afirmar que el germen de trigo provisto por la industria molinera A y B se adecúa a las especificaciones legales en los aspectos evaluados (Tabla 1.1), a excepción del contenido de lípidos totales del Molino A, que resulta en un valor con 2,8% puntos porcentuales por encima de los establecidos por norma. En bibliografía el porcentaje de lípidos para GT se ubica en el rango de 7-11% bs, (Boukid et al., 2018; De Vasconcelos et al., 2013; Hassan et al., 2010; Jurkovic & Colic, 1993; Mohamed et al., 2008; Zhu et al., 2006). En todos éstos casos el contenido de proteínas, humedad y cenizas es comparable a los resultados aquí presentados, incluso si se compara con la composición de germen de trigo comercial parcialmente seco (Ghafoor et al., 2017). Esta variación en el contenido de lípidos puede atribuirse a variedades de trigo, ya que Gili et al. (2018a) obtuvo valores similares (13,98%) para GT proveniente del molino A en campañas anteriores. Variaciones en el contenido de proteínas y lípidos según distintas variedades fueron reportadas por Shurpalekar & Rao (1977), con mayores valores para GT provenientes de trigos *Hard red spring* y *Durum wheat* en comparación al de trigos blandos.

Tabla 1.1. Composición química del germen de trigo crudo en base seca.

Componente	Molino A		Molino B	
Humedad (%bs)	12,2	± 0,5	13,0	± 0,4
Proteínas	31,7	± 0,2	27,4	± 0,2
Lípidos	13,8	± 4,1	10,4	± 0,3
Cenizas	4,4	± 7E-03	3,5	± 5E-03
Carbohidratos*	37,9		45,7	

*Carbohidratos=100% - (%humedad + %proteínas + %lípidos + %cenizas)

En la Tabla 1.1 se puede observar que los componentes mayoritarios del germen de trigo son las proteínas y carbohidratos. El contenido de proteínas del GT se compara favorablemente con la harina de trigo (11,9%) y las harinas integrales de trigo, maíz o arroz (13,7, 6,9, 7,2%) (Gómez Pallarés et al., 2007), mientras que las oleaginosas tienen cantidades similares (maní 30,3%) o mayores (soja 44,1%) (Mahmoud et al., 2015; Shrestha & Noomhorm, 2002).

La particularidad de las proteínas de GT es el alto valor biológico debido principalmente al balance de aminoácidos, siendo los más abundantes arginina, serina y glutenina (Rizzello et al., 2010). En este sentido cabe destacar que no es deficiente en lisina, como otros cereales (Hassan et al., 2010). El aminoácido limitante es cisteína, hecho que revela una estructura proteica pobre en enlaces por puente disulfuro (Zhu et al., 2006).

El contenido de carbohidratos del germen de trigo es menor que otros productos de la molienda del grano, como la harina blanca (72,5%) o salvado (64,5%). Incluso resulta inferior si lo comparamos con harinas integrales de trigo (72,5%) o arroz (76,5%), en donde los carbohidratos más abundantes son almidones con proporciones cercanas al 80% (Gómez Pallarés et al., 2007).

Tanto la fibra como el almidón del germen de trigo se adjudican principalmente a la contaminación con otras partes del grano durante la separación, el almidón proveniente del endospermo y la fibra del salvado, siendo ésta última mayormente celulosa y hemicelulosa (Jurkovic & Colic, 1993; K. X. Zhu et al., 2006).

Los minerales del grano de trigo están altamente concentrados en el germen, ya que su contenido relativo casi cuadruplica al del trigo entero, siendo los principales potasio, fósforo, y magnesio con concentraciones de 1.046, 1.000 y 259 mg/100 g, respectivamente (Boukid et al., 2018; Shurpalekar & Rao, 1977).

En germen de maíz, muy utilizado en la industria de alimentos por su aceite, contiene menor porcentaje de proteínas (16%), mayor contenido de lípidos (25%) y el doble de cenizas (8%) (Giordano, Vanara, Reyneri, & Blandino, 2016).

1.3.1.2. Calidad de aceite

Los lípidos del GT están compuestos mayormente por ácidos grasos, siendo el contenido de ácidos grasos libres (FFA) del material crudo usualmente alto (5-25%). Los FFA presentan mayor susceptibilidad a rancidez y su presencia depende en gran medida al método de separación utilizado, las condiciones de almacenamiento y extracción de aceite. De éstos ácidos grasos, la mayoría tienen la estructura química de triglicéridos (57%) (Brandolini & Hidalgo, 2012).

En la Tabla 1.2 se muestran los parámetros obtenidos para el aceite de GT crudo para ambos molinos. El valor de acidez cuantifica el nivel de hidrólisis lipídica, mientras que el índice de peróxidos mide oxidación primaria de lípidos (Mahmoud et al., 2015).

Tabla 1.2. Parámetros de calidad de aceite del germen de trigo crudo

	Molino A		Molino B	
AV (% ác. oleico)	2,01	± 0,12	4,48	± 0,12
PV (meq. O ₂ /kg ac)	0,98	± 0,17	1,47	± 0,02
Tocoferoles (mg/kg aceite)	3.509,17	± 83,78	2.143,49	± 33,69
Composición ácidos grasos				
Ácido mirístico (14:0)	0,10	± 0,00	0,10	± 0,00
Ácido palmítico (16:0)	17,53	± 0,01	17,48	± 0,07
Ácido palmitoleico (16:1)	0,25	± 0,02	0,22	± 0,05
Ácido esteárico (18:0)	0,66	± 0,01	0,66	± 0,06
Ácido oleico (18:1)	15,89	± 0,42	15,39	± 0,17
Acido linoleico (18:2)	57,27	± 0,30	57,64	± 0,11
Acido linolénico (18:3)	6,64	± 0,01	6,92	± 0,17
Ácido araquídico (20:0)	0,09	± 0,13	0,07	± 0,09
Ácido eicosenoico (20:1)	1,58	± 0,01	1,54	± 0,14
Enzimas				
Actividad LI (% ác. oleico)	1,30	± 0,08	2,71	± 0,17
Actividad LOX (min * mg proteína) ⁻¹	9,10	± 0,18	8,92	± 0,09

AV: acidez, PV: índice de peróxidos, LI: lipasa, LOX: lipoxigenasa.

El *Codex Alimentarius* (FAO/WHO, 2015) en el apéndice *CODEX STAN 19-1981* establece las características que deben cumplir los aceites y grasas comestibles no reguladas por normas individuales. Para aceites no refinados estipula que el valor de acidez debe ser menor a 2% ácido oleico (4 mg KOH/g grasa o aceite) y el índice de peróxidos (PV) debe ser inferior a 10 meq. O₂/kg aceite, mientras que el Código Alimentario Argentino limita a 3% ácido oleico el valor de acidez

máxima manteniendo el mismo límite para PV (CAA, 2012a). El valor de acidez del germen de trigo ensayado se encontró entre 2,01 y 4,48% ácido oleico.

Por otra parte, el PV que es un indicador de oxidación primaria se encuentra muy por debajo de los límites, lo que evidencia un bajo nivel de oxidación en el aceite. La calidad del aceite es superior cuando las estructuras del grano están intactas, pero durante la molienda éstas estructuras se rompen exponiendo los compuestos más sensibles con las enzimas (Boukid et al., 2018).

Los resultados sugieren que el material proveniente del Molino B tuvo una calidad más baja, que podría atribuirse a las condiciones de molienda, transporte y/o almacenamiento. Las muestras evidenciaron daño lipídico por hidrólisis, que se condice con la mayor actividad LI encontrada para el Molino B en relación al A y bajo nivel de oxidación (Tabla 1.2).

El contenido de tocoferoles (Tabla 1.2) se encontró dentro del rango reportado en bibliografía, entre 2.300-4.000 ppm (Gili et al., 2018a; Li et al., 2016; Zou, Gao, He, & Yang, 2018), siendo superlativo en comparación a otras fuentes vegetales como germen de maíz (780 mg/kg) (Serna Saldivar, 2016), aceites de girasol (502 mg/kg), chía (411 mg/kg; Guiotto, Ixtaina, Nolasco, & Tomás, 2014), nuez (404 mg/kg), almendra (544 mg/kg) y sésamo (437 mg/kg) (Bordón, Meriles, Ribotta, & Martinez, 2019).

El isómero con mayor predominancia en el germen de trigo fue el α - (~60%), seguido del β - (~30%) y menores concentraciones de γ - y δ -, en concordancia con otros autores (Magariño et al., 2015; Seppanen, Song, & Saari Csallany, 2010). Al comparar el contenido de tocoferoles totales de las dos procedencias, se observa una cantidad significativamente inferior en el Molino B, que viene en consonancia con los mayores índices de oxidación, ya que la degradación oxidativa de los tocoferoles está ampliamente influenciada por la oxidación de los lípidos poliinsaturados (Player, Kim, Lee, & Min, 2006). Además, el isómero α - es el que presenta mayor velocidad de oxidación con respecto a los otros tocoferoles (Seppanen et al., 2010), lo que explicaría también porqué la proporción resultó menor en el aceite de GT proveniente del Molino B (62% para el Molino A vs. 56% del Molino B)

Resulta importante resaltar la capacidad antioxidante que se atribuye a los tocoferoles, sin embargo, no todos presentan la misma facilidad de donación de hidrógeno. Los tocoferoles muestran el siguiente orden de actividad antioxidante: α -tocoferol > γ -tocoferol > δ -tocoferol (Player et al., 2006). Otros aceites como el de soja y girasol, que actualmente representan la principal fuente de tocoferoles en alimentos, poseen una composición diferente. El aceite de soja tiene predominancia del γ -, seguido del δ - y el α -tocoferol (750, 268 y 53 mg/kg, respectivamente) (Player et al., 2006), mientras que el de girasol posee α - y δ - tocoferoles en niveles de 900 y 49 mg/kg, respectivamente (Anjum, Anwar, Jamil, & Iqbal, 2006). Otros aceites especiales como el de almendra contienen

principalmente α -tocoferol (359 mg/kg), mientras que en el de nuez, chía, lino y colza predomina el isómero γ - (350, 330, 520 y 510 mg/kg respectivamente) (Bordón et al., 2019; Schwartz et al., 2008).

La composición de ácidos grasos (Tabla 1.2) evidenció predominancia de compuestos poliinsaturados, como ácido linoleico y linolénico que en conjunto suman el 73% en abundancia relativa, y junto a los ácidos palmítico y oleico completaron los 4 ácidos grasos mayoritarios del germen de trigo, sin encontrarse diferencias apreciables en la abundancia relativa de los ácidos grasos entre ambos molinos. Ello concuerda con lo descrito anteriormente (Mahmoud et al., 2015; Mohamed et al., 2008; Zou et al., 2018). El contenido de ácido oleico es comparable al presente en aceite de girasol (23,6%), soja (24,9%) y maíz (23,8%) (Mahmoud et al., 2015).

En general, se puede decir que el aceite de germen de trigo posee una cantidad elevada de ácidos grasos libres, potenciada por la acción hidrolítica de las enzimas, pero los valores de PV indican bajos niveles de oxidación. Esta acción oxidativa podría asociarse a la disminución del contenido de tocoferoles del Molino B. Igualmente el contenido de tocoferoles se mantuvo alto en relación a otras fuentes naturales y comparable a los resultados de GT en bibliografía. La composición de ácidos grasos no se vio afectada por la procedencia, mostrando en ambos casos un alto porcentaje relativo de ácidos grasos poliinsaturados.

1.3.1.3. Calidad proteica

Para evaluar características estructurales y funcionales de las proteínas se obtuvieron los aislados de proteínas a partir del germen. El contenido de proteínas promedio de los aislados fue de 74%, mientras que en bibliografía se encuentran valores entre 75- 88% (Hassan et al., 2010; Wang et al., 2017; Zhu et al., 2006).

Tabla 1.3. Propiedades térmicas y funcionales de los aislados proteicos.

	Molino A	Molino B
PC (g/100 g aislado)	80,57 \pm 0,84	67,78 \pm 2,07
DSC To (°C)	76,60 \pm 0,20	78,39 \pm 0,53
DSC Td (°C)	90,31 \pm 0,59	89,67 \pm 1,05
DSC Δ H (J/g)	1,54 \pm 0,20	1,54 \pm 0,30
W (°C)	9,60 \pm 0,45	10,46 \pm 0,85
WHC (g/g)	2,23 \pm 0,10	3,76 \pm 0,01
OHC (g/g)	1,80 \pm 0,07	3,84 \pm 0,19
FC (%)	85,00 \pm 1,41	-
FS 60 min (%)	94,13 \pm 1,57	-

PC: contenido de proteínas, To: temperatura de inicio, Td: temperatura de desnaturalización, Δ H: entalpía de desnaturalización, W: ancho de pico, WHC: capacidad de retención de agua, OHC: capacidad de retención de aceite, FC: capacidad de formación de espuma, FS 60 min: estabilidad de espuma a los 60 min.

El estudio de la estructura de las proteínas y su conformación es de fundamental importancia en el entendimiento de cómo funcionan las proteínas en sistemas biológicos y alimenticios. Entre las técnicas disponibles para la evaluación de las conformaciones de proteínas, la calorimetría diferencial de barrido (DSC) es particularmente adecuada para los sistemas de alimentos, ya que las proteínas pueden analizarse sin solubilización previa. Ésta es una ventaja distintiva con respecto a técnicas espectroscópicas y cromatográficas donde las proteínas deben estar solubilizadas y purificadas (Ma & Harwalkar, 1991). El proceso de desnaturalización es un fenómeno altamente cooperativo que está acompañado por absorción de calor y puede ser observado como un pico endotérmico en un perfil de DSC (Gurrieri, 2004).

La entalpía de desnaturalización específica (ΔH) y temperatura de inicio (T_0) se relacionan con una estructura ordenada residual que provee una base para control de calidad y/o relaciones de estructura/funcionalidad.

Los termogramas mostraron un pico endotérmico entre 76 y 97 °C que corresponde a la desnaturalización de las proteínas. La temperatura de inicio del pico varió entre 76 y 78 °C, mientras que el pico de desnaturalización, o temperatura de desnaturalización se observó entre 89 – 90 °C (Tabla 1.3), levemente superior al informado por Zhu et al. (2006), Zhu et al. (2010), y Añón & Lupano (1986) (80-83 °C). El valor de ΔH es muy sensible al estado de las proteínas, tomando valores más pequeños cuando la proteína está más desnaturalizada. Este parámetro es afectado por los procesos térmicos a los que se somete la matriz, pero también está influenciado por los parámetros de proceso durante la preparación de los aislados, como por ejemplo los valores de pH básicos y ácidos alcanzados durante la preparación de los aislados (Ma & Harwalkar, 1991). En este caso los valores de entalpía fueron próximos al reportado para GT crudo separado manualmente (1,54 J/g) (Añón & Lupano, 1986). El rango de temperaturas al cual ocurre la transición es indicativo de la naturaleza cooperativa del proceso de desdoblamiento de proteínas. Si la desnaturalización produce un pico menos ancho, como en el caso del molino A con respecto al B, se dice que la transición probablemente sea en dos etapas, reversible y altamente cooperativa (Calorimetry Sciences Corporation, 2006).

Asimismo, la desnaturalización puede ser caracterizada por la temperatura a la que ocurre el proceso, la cual es particular de cada proteína. En el maní por ejemplo, los termogramas muestran 2 picos endotérmicos, a temperaturas alrededor de 90 y 110 °C, que corresponden a la desnaturalización de las principales proteínas, conaraquinas y araquinas, respectivamente (Colombo, Ribotta, & León, 2010), mientras que aislados de proteínas de soja nativa también presentan 2 endotermas típicas a 78 °C y a 94 °C, con una entalpía de desnaturalización igual a 16,4 J/g (Jovanovich, Puppo, Giner, & Añón, 2003).

La evaluación de la solubilidad de nitrógeno es importante desde el punto de vista funcional de las proteínas porque da idea de su comportamiento en diferentes escenarios. Un elevado valor de NSI (<70%) en el rango de valores de pH de los alimentos (6-9) es deseable para esas aplicaciones (Claver & Zhou, 2005). Un NSI alto significa que las proteínas pueden interactuar con mayor facilidad en medios acuosos, como sucede idealmente en las matrices alimentarias.

Hettiarachchy et al. (1996) y Ge et al. (2000) informaron valores >70% para aislados de GT, pero los presentados en este trabajo fueron notablemente inferiores (Figura 1.3), al igual que los obtenidos por otros autores (Hassan et al., 2010; Ke Xue Zhu et al., 2010).

El NSI del germen de trigo muestra la típica forma de U, con un mínimo a pH 4,5 (punto isoeléctrico de las proteínas, es decir, donde son eléctricamente neutras y no interactúan con el agua, por lo que precipitan). Bajo condiciones más ácidas o básicas las moléculas se encuentran parcialmente solubilizadas, mostrando un pico máximo hacia el pH 2 y 10. Según Hassan et al. (2010) y Zhu et al. (2010) el NSI máximo para las proteínas de germen de trigo se obtiene a pH 9,5-10.

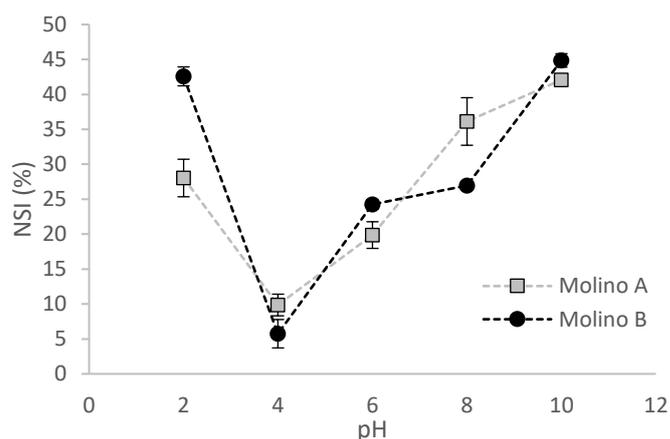


Figura 1.3. Índice de solubilidad de nitrógeno (NSI) de germen de trigo proveniente de la provincia de Córdoba.

En cuanto a la capacidad de retención de aceite de proteínas aisladas del germen de trigo, los valores aquí obtenidos (Tabla 1.3) fueron relativamente altos comparados con los de bibliografía que oscilan entre 1,0 y 1,28 g aceite/g proteína, especialmente si se compara con el GT proveniente del Molino B (Hassan et al., 2010; Wang et al., 2017; Zhu et al., 2010). La OHC se asocia también al elevado porcentaje de aminoácidos hidrofóbicos o no polares presentes en el aislado de proteína de GT (Wang et al., 2017; Zhu et al., 2006).

La capacidad de retención de agua fue diferente en ambos molinos, siendo los valores del Molino A notablemente inferiores a los del Molino B y a los de bibliografía: 3,5 g/g (Wang et al., 2017), 2,5 g/g de (Zhu et al., 2010). La WHC es dependiente del contenido de carbohidratos ya que son compuestos

altamente hidrófilos, por lo que variaciones en este aspecto para germen de trigo crudo no se podrían atribuir específicamente a las proteínas.

El bajo porcentaje de proteínas del aislado del Molino B, evidenció la presencia de compuestos no proteicos, que según su estructura y afinidad parecen favorecer las interacciones hidrofóbicas o hidrofílicas, y consecuentemente afectar la capacidad de retención de agua y aceite. Los valores de WHC y OHC del Molino B fueron mayores que los del molino A y los de bibliografía (Hassan et al., 2010; Wang et al., 2017; Zhu et al., 2006). Asimismo, la OHC del Molino B es comparable al obtenido por Ling et al. (2019) para germen de trigo molido (4,2 g/g).

El análisis de las propiedades de formación de espuma en sistemas alimenticios permite estudiar procesos involucrados en la aireación y batido. La capacidad de formación de espuma (FC, Tabla 1.3) de 85% obtenida para el aislado de germen de trigo crudo proveniente del Molino A es inferior a los informados por otros autores, donde encuentran valores desde 100 (Zhu et al., 2010) a 180% (Wang et al., 2017). Hettiarachchy et al. (1996) y Claver & Zhou (2005) sostienen que la capacidad de formación de espuma es comparable a la de la clara de huevo, sin embargo las espumas de aislados de germen de trigo evidencian una menor estabilidad. La baja estabilidad de la espuma formada por la proteína del GT es evidente (94% para el material crudo), si se compara con otras proteínas como caseinato de sodio o clara de huevo (750-1.100%), canola (423%), aislado de soja (150%) y aislados de girasol (488%) (Gurrieri, 2004). Además, para germen de trigo crudo molido, es decir, al considerar la presencia de otros compuestos no proteicos la capacidad de formación de espuma se reduce a 29,5% (Ling et al., 2019). Estos valores son dependientes del tiempo de batido (5-15 min), método de disolución, tipo de accesorio de batido, forma de recipiente, entre otras cosas (Gurrieri, 2004).

En general, se puede decir que el germen de trigo posee una buena calidad y cantidad de proteínas, con propiedades funcionales aceptables que permitirían su incorporación en alimentos. Las proteínas del germen de trigo tuvieron una buena capacidad de formación de espuma, pero una reducida estabilidad. Los aislados proteicos provenientes del Molino B en relación a las del Molino A lograron un nivel de pureza inferior, por lo que parámetros como la solubilidad de nitrógeno fueron afectados negativamente, en cambio, aumentaron la capacidad de retención de agua y aceite.

1.3.1.4. Capacidad antioxidante

En los últimos años, hubo un interés creciente en la identificación de propiedades antioxidantes en muchas fuentes naturales debido al peligro potencial de algunos antioxidantes sintéticos. Krings & Berger (2001) estudiaron la capacidad protectora de varios extractos etanólicos de cereales enteros o fracciones, para prevenir la autooxidación de aceite de maíz refinado (desprovisto de sus antioxidantes naturales), encontrando que los extractos de germen de trigo presentaron un mejor

comportamiento en comparación con los de cebada y de maíz. Ésta capacidad protectora también es remarcable en pruebas aceleradas de oxidación, en la que el comportamiento del GT es comparable al de BHA y palmitato de ascorbilo (2 antioxidantes comerciales) (Krings, El-Saharty, El-Zeany, Pabel, & Berger, 2000). Otros autores ratifican que ésta propiedad de captación de radicales libres es comparable a la acción de antioxidantes sintéticos como BHA y BHT en el rango de concentración de 0,2-1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Mahmoud et al., 2015). Cabe destacar que, según éstos mismos autores, dicha capacidad no puede solo atribuirse a los tocoferoles del aceite, ya que solo responderían el 20% del comportamiento total. Por todo esto, resultó interesante el estudio de propiedades antioxidantes mediante técnicas sencillas para caracterizar el comportamiento de la fase deslipidizada, ya que numerosas investigaciones se centran en la parte oleosa del germen y los tocoferoles (Capitani, Mateo, & Nolasco, 2011; Niu et al., 2013; Seppanen et al., 2010).

Dada la naturaleza compleja de los fitoquímicos, la actividad antioxidante comúnmente se evalúa mediante varios ensayos. Los valores de contenido de polifenoles totales obtenidos para germen deslipidizado (Tabla 1.4) fueron menores a los obtenidos por otros autores para los extractos etanólicos de GT deslipidizado, que reportaron concentraciones de 16,49 mg GAE/g extracto (Zou, Yang, Zhang, He, & Yang, 2015) y 16,75 mg GAE/g extracto (Zhu et al., 2011) con rendimientos de 34,63 y 31,87%, respectivamente. Además, resultaron elevados con respecto a valores reportados para extractos metanólicos de grano de trigo entero (53,1 mg GAE/100 g), quinua (71,7 mg GAE/100 g) y amaranto (21,2 mg GAE/100 g), y similar al trigo sarraceno (323 mg GAE/100 g) (Alvarez-Jubete, Wijngaard, Arendt, & Gallagher, 2010). Velioglu et al. (1998) reportaron que el contenido de polifenoles de extractos metanólicos de GT es 12 veces inferior al de arándanos, fuentes vegetales por excelencia de compuestos antioxidantes, y similar al de raíces de ginseng (Velioglu et al., 1998).

Tabla 1.4. Capacidad antioxidante de los extractos de GT

	Molino A	Molino B
CFT (mg EAG / g GT deslip)	4,72 \pm 0,27	3,84 \pm 0,09
FRAP (mg ET /100 g GT deslip)	0,68 \pm 0,02	0,98 \pm 0,04
ABTS*+ (mg ET/100 g GT deslip)	15.445 \pm 37	6.667 \pm 437

CFT: contenido de polifenoles totales, FRAP: poder de reducción antioxidante de ion férrico, ABTS*+: capacidad de captura de radicales libres, ET: equivalentes trolox.

Velioglu et al. (1998) identificaron por HPLC los compuestos fenólicos de mayor primacía en el germen de trigo: fenoles como el ácido felúrico, clorogénico y cafeico, y otros flavonoides.

Se encontró que el mecanismo de acción predominante es la capacidad de desactivación de radicales libres, ya que el ensayo frente a un radical potente (ABTS*+) es mayor que la capacidad reductora ejercida por los compuestos a los que se adjudica capacidad antioxidante (FRAP). La capacidad de

captación de radicales libres significa que los compuestos bioactivos tienen la capacidad de donar protones o electrones a los radicales libres inestables, por lo que se ven interrumpidas las reacciones en cadena de oxidación (Huang, Boxin, & Prior, 2005). Ello coincide con el mecanismo de acción de los tocoferoles, que son los antioxidantes más conocidos en la naturaleza para proteger los lípidos de la oxidación. El proceso de degradación oxidativa de los lípidos es iniciado por un mecanismo de reacción en cadena de un radical libre. El radical reactivo puede fácilmente extraer el hidrógeno del tocoferol o del lípido insaturado para formar un hidroperóxido. La capacidad protectora de oxidación de los tocoferoles radica en la velocidad de reacción entre el radical y el tocoferol, ya que es 100.000 veces mayor a la velocidad de reacción del radical con el lípido insaturado (Player et al., 2006).

Las variaciones en la capacidad antioxidante de cereales o derivados son esperables debido a factores genéticos, procesos agrotécnicos y condiciones ambientales que pueden influenciar la presencia de compuestos fenólicos. Además, una comparación entre resultados de estudios diferentes puede resultar difícil debido a la variabilidad en las condiciones experimentales y los métodos utilizados (Alvarez-Jubete et al., 2010; Huang et al., 2005). En este caso la amplia diferencia en capacidad antirradicalaria observada entre los dos molinos puede atribuirse en parte a diferencias climáticas, de proceso o puede estar relacionado al consumo de esos compuestos para evitar la oxidación lipídica. Como se vio anteriormente, el molino B presentó también un mayor contenido de FFA y baja oxidación, por lo que estos compuestos antioxidantes podrían haber actuado retrasando el proceso de oxidación.

1.3.2. Propiedades físicas

1.3.2.1. Densidad aparente y porosidad

La estructura porosa de productos alimenticios particulados tiene un efecto importante en las características de calidad y propiedades de transporte. La porosidad se define como la relación del espacio libre ocupado en el material con respecto al volumen total. Lo que define un material poroso o no poroso sigue aún sin resolverse, aunque algunos estudios sugieren que un material no poroso tiene una porosidad menor a 0,25, mientras que un material poroso tiene una porosidad mayor a 0,4 (Srikiatden & Roberts, 2007). Otros autores colocan el límite en 0,25 (Waananen & Okos, 1996). Frecuentemente productos en polvo son considerados como porosos, por ejemplo harina o leche en polvo, con porosidades de 0,69, 0,54-0,61, respectivamente (Srikiatden & Roberts, 2007).

La porosidad o fracción de huecos del germen de trigo fue de 0,687, mientras que la densidad aparente fue de 467,23 kg/m³ para la muestra proveniente del Molino B, por lo que el GT puede considerarse como material poroso. Muestras del Molino A de la campaña 2015/2016 obtuvieron valores similares de porosidad (0,664) y densidad aparente (413,83 kg/m³) (Gili et al., 2018a).

Kim et al. (2003) reportó densidades aparentes de germen de trigo de 358,7, 342,9 y 313,9 kg/m³ para muestras con humedades de 8, 12 y 16%. Otros materiales, como granos de trigo, avena y azúcar en polvo tienen densidades aparentes de 790-819, 358-411 y 480 kg/m³, respectivamente (Blümich, 2005).

1.3.2.2. Ángulo de reposo

En una visión simple, un material granular comienza a fluir cuando se supera su ángulo de reposo, lo que está ligado a la cohesividad del sistema. Los valores de ángulo de reposo determinados para germen de trigo se presentan en la Tabla 1.5. De acuerdo a la clasificación de la Carr (Cain, 2002), que hace una asociación de la fluidez del sistema con el ángulo de reposo, el germen de trigo del Molino B se clasificó como de “fluidez excelente a adecuada” (25-40°), mientras que el germen proveniente del Molino A obtuvo la clasificación de “fluidez aceptable y pobre” (41-55°). En ambos casos los valores se ubicaron en el límite de sus categorías. La diferencia en el ángulo de reposo puede tener múltiples orígenes, como el tamaño y la forma, densidad, ángulo de fricción interfacial y rugosidad de la base sobre la cual se evalúa el material o segregación del material (Beakawi Al-Hashemi & Baghabra Al-Amoudi, 2018). Los valores de ángulo de reposo en bibliografía varían desde 27° para granos de trigo, a 45° para harina de trigo, mientras que para harina de maíz y malta se encuentran valores de 30-40° y 30-45°, respectivamente. Sin embargo éstos datos para productos alimenticios en bibliografía son escasos y, como se dijo anteriormente no se cuenta con una técnica estandarizada (Beakawi Al-Hashemi & Baghabra Al-Amoudi, 2018).

1.3.2.3. Actividad de agua

El conocimiento del contenido de humedad por sí solo no es suficiente para predecir la estabilidad de los alimentos. Algunos alimentos son inestables a bajos contenidos de humedad (por ejemplo, el aceite de maní se deteriora cuando el contenido de humedad supera el 0,6%), mientras que otros alimentos son estables a contenidos de humedad relativamente altos (por ejemplo, el almidón de maíz es estable al 20% de humedad). Frente a estas aparentes incoherencias nace el concepto de disponibilidad de agua para actividad microbiana, enzimática o química que determina la vida útil, y se mide a través de la actividad de agua (a_w) del alimento, también conocida como presión de vapor relativa. Algunas operaciones unitarias pueden reducir esta disponibilidad de agua, como las que remueven agua durante la deshidratación, evaporación y liofilización, o aquellas que inmovilizan el agua en los alimentos, como por el ejemplo mediante la utilización de humectantes en productos de humedad intermedia, o la formación de cristales durante el congelamiento (Blümich, 2005).

Según el valor obtenido para el germen de trigo crudo, podemos decir que contiene agua ligada y moderadamente ligada (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 1996). Los valores de a_w del germen de ambos molinos (Tabla 1.5) resultaron suficientes para permitir la actividad de las lipasas, ya que si

bien la a_w óptima es de 0,8, presentan una actividad relativamente alta en éstas condiciones, lo que reduce su periodo de almacenamiento (Rose & Pike, 2006).

Según Li et al. (2016) y Ling, Ouyang, & Wang (2019) el contenido de a_w para GT crudo es de 0,63-0,68, mientras que para harina de trigo el valor asciende levemente a 0,72 (14,5% Hdb) (Fellows, 2000).

1.3.2.4. Color

El germen de trigo de ambos molinos obtuvo tonalidades claras, amarillas y rojizas (asociados a valores positivos de L^* , a^* y b^* , respectivamente), lo que les otorga un aspecto naranja que algunos describen como dorado (Shurpalekar & Rao, 1977). Los valores de L^* , a^* y b^* se presentan en la Tabla 1.5. Los rangos de L^* para GT crudo en bibliografía varían entre 78,2 y 70,9, los valores de a^* entre 4,8 a 5,3, mientras que los valores de b^* lo hacen entre 20,1 y 28,6 (Bansal & Sudha, 2011; Gili, et al., 2017; Gili et al., 2018b; Ibanoglu, 2002), por lo que se puede concluir que los valores estuvieron comprendidos en estos rangos.

Tabla 1.5. Parámetros físicos del germen de trigo

	Molino A		Molino B	
a_w	0,71	± 1,73E-03	0,57	± 1,53E-03
Ángulo de reposo	42,00	± 1,00	36,00	± 1,00
L^*	64,21	± 1,21	76,41	± 0,80
a^*	5,71	± 0,31	3,83	± 0,28
b^*	29,08	± 0,91	27,68	± 1,28
BI	65,24	± 2,72	47,67	± 2,74

BI: índice de pardeamiento.

Gili et al. (2018b) obtuvo un valor de BI de 52, para muestras provenientes del Molino A en campañas anteriores, es decir, un valor intermedio a los aquí obtenidos para ambos molinos. Las muestras del Molino A, en este caso fueron más oscuras y marrones que las del molino B, que fueron levemente más luminosas y amarillas. Valores más altos de BI, asociados a notas más oscuras, pueden referirse a la contaminación con salvado, mientras que valores más bajos podrían deberse a mayor presencia de endospermo.

1.4. CONCLUSIÓN

El germen de trigo representa un recurso de elevada disponibilidad y valor nutricional. Es factible su utilización en alimentación en la medida que se controlen los factores que disminuyen su vida útil. El principal factor que afecta la estabilidad del germen de trigo y productos que lo contienen es la facilidad de hidrólisis de los triglicéridos de los ácidos grasos, debido principalmente a la elevada

proporción de ácidos grasos poliinsaturados y la actividad enzimática de las lipasas. En menor medida la presencia de lipoxigenasas y las condiciones de almacenamiento pueden incrementar la oxidación de los ácidos grasos. Las propiedades nutricionales del germen radican en el alto contenido y calidad de sus proteínas, los compuestos bioactivos como tocoferoles y polifenoles y la composición de la fase lipídica.

Los parámetros físicos permiten clasificar el germen como material poroso, de tonalidades rojizas y amarillentas, con una actividad de agua intermedia.

CAPÍTULO 2

**Efecto de los
tratamientos térmicos
sobre la inactivación
de las enzimas y
propiedades físicas del
germen**

CAPÍTULO 2: Efecto de los tratamientos térmicos sobre la inactivación de las enzimas y propiedades físicas del germen

2.1. INTRODUCCIÓN

2.1.1. Estabilización del germen de trigo

Se han analizado diferentes alternativas para lograr la estabilidad del germen de trigo utilizando diversas estrategias, que se pueden dividir en aquellas que utilizan enfoques físicos, químicos y biológicos (Boukid et al., 2018). La estabilización física es quizás la más abundante en bibliografía ya que abarca varias técnicas térmicas como tostado (Zou et al., 2015), cocción al vapor (Sudha, Srivastava, & Leelavathi, 2007), fluidización (Gili, Torrez Irigoyen, et al., 2018c), así como tratamientos mediados con radiación, por ejemplo microondas (Xu et al., 2013), infrarroja (Gili, Palavecino, Penci, Martinez, & Ribotta, 2017a) y gamma (Jha et al., 2013).

Las estrategias de estabilización química incluyen técnicas de remoción del aceite por solventes orgánicos (como hexano) (Bansal & Sudha, 2011) o extracción supercrítica con CO₂ (Gelmez et al., 2009). La ventaja de la extracción con CO₂ supercrítico está relacionada con la simplificación del refinamiento del aceite y eliminación de la etapa de destilación del solvente, pero presenta un elevado costo. Anteriormente, también se analizaron otras técnicas de conservación química, como por ejemplo mediante agregado de antioxidantes o álcalis (Shurpalekar & Rao, 1977).

Las estrategias biológicas incluyen técnicas más recientes en las que el GT se somete a fermentación por bacterias ácido lácticas, y las enzimas se inactivan por acidificación del medio. Rizzello, Nionelli, Coda, De Angelis, & Gobbetti (2010) indicaron que el grado de inactivación es comparable al obtenido durante el tostado.

2.1.1.2. Estabilización térmica

La mayoría de las operaciones unitarias utilizadas en el procesamiento de alimentos involucran la transferencia de calor hacia o desde los mismos. Existen tres maneras en las cuales el calor puede ser transferido: por radiación, conducción o convección. La radiación térmica es energía emitida por la materia que se encuentra a una temperatura dada, como el calor que emiten las resistencias térmicas en el interior de un horno. Conducción es el flujo de calor que ocurre por transferencia directa de energía molecular en el sólido. Sucede por ejemplo durante el intercambio de calor a través de contenedores metálicos hacia alimentos sólidos. La convección involucra la transferencia de calor por grupos de moléculas que se mueven como resultado de diferencias en densidad, por ejemplo, durante el calentamiento con aire caliente, o como resultado de agitación. En la mayoría

de las aplicaciones los tres tipos de transferencia de calor ocurren simultáneamente pero un tipo puede ser más relevante que los otros en aplicaciones particulares (Blümich, 2005).

En el calentamiento convencional por aire caliente el material absorbe la energía como resultado de gradientes de temperatura por convección, conducción y radiación. En contraste, la energía de microondas interactúa de manera directa con las moléculas del material, provocando una conversión de energía proveniente de la radiación electromagnética en energía térmica del material. Consecuentemente, la energía de microondas puede reducir los tiempos de procesamiento y consumo de energía, por lo que mejora la eficiencia energética global (Gutierrez, Catalá-Civera, Bows, & Peñarda-Foix, Felipe, 2017).

De hecho, la radiación térmica y la de microondas pertenecen al mismo fenómeno, el de radiación a través de ondas electromagnéticas. La principal diferencia entre ambas reside en las características de las ondas, la energía que transportan y el lugar que ocupan en el espectro de radiación electromagnética (Figura 2.1).

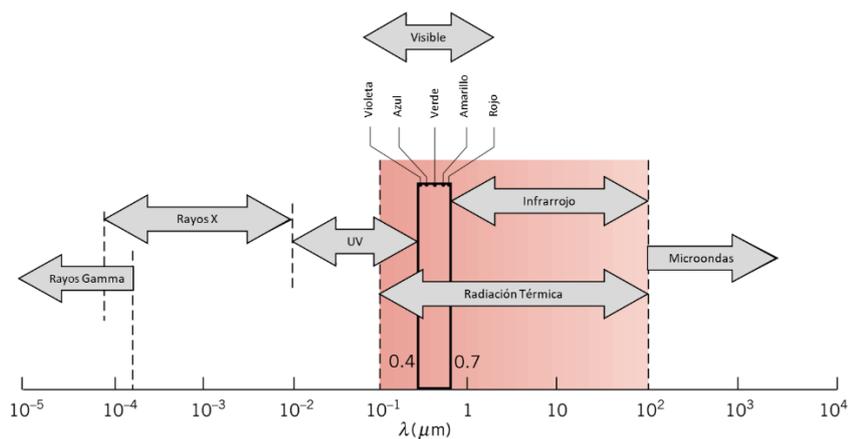


Figura 2.1. Espectro de radiación electromagnética. Adaptado de Incropera, DeWitt, Bergman, & Lavine (2007).

En la porción intermedia del espectro, que se extiende desde aproximadamente $0,1$ a $100 \mu\text{m}$ de longitud de onda (λ), incluyendo una porción del ultravioleta (UV) y todo el visible e infrarrojo (IR), se ubican las ondas de energía denominadas radiación térmica ya que afecta el estado térmico o temperatura de la materia.

2.1.2. Estrategias de estabilización analizadas en el trabajo de tesis

En la presente tesis se trabajó sobre dos métodos de estabilización física del germen de trigo, un tratamiento térmico tradicional en el que el germen de trigo se somete a un tratamiento con aire caliente y un tratamiento con microondas.

2.1.2.1. Tratamiento con aire caliente

La aplicación de calor por aire caliente es un método tradicional de preservación, que se utiliza ampliamente para la producción de alimentos. Esta tecnología afecta el contenido de humedad del producto, las propiedades físicas, biológicas y químicas como la actividad enzimática, viscosidad, dureza, aroma, *flavor*, color y palatabilidad de los alimentos, así como la actividad microbiana (Özbek & Dadali, 2007).

La ventaja incuestionable de este método convencional es la sencillez de equipamiento y el alto grado de conocimiento sobre los mecanismos de transferencia de calor y masa involucrados. Los equipos que trabajan con aire caliente, como los secadores convectivos, además pueden ser operados en condiciones intermedias para productos sensibles, con el fin de protegerlos del sobrecalentamiento, encogimiento, decoloración y formación de corteza. Por otro lado, un tratamiento prolongado reduce el rendimiento y eleva los costos de operación (Szadziska, Kowalski, & Stasiak, 2016).

En un horno o estufa, la energía se transmite a la superficie del alimento por una combinación de radiación infrarroja desde las paredes del horno, por convección desde el aire circundante y por conducción a través de la bandeja donde se coloca el alimento. La radiación es absorbida por el alimento y se convierte en energía térmica. El aire, otros gases y el vapor de agua presentes en el horno transmiten energía por convección. El calor luego se transfiere por conducción desde la superficie del alimento. Una capa límite de aire actúa como resistencia a la transferencia de calor hacia el alimento y del movimiento de vapor de agua desde el alimento. El espesor de la capa límite se determina mayormente por la velocidad del aire y las propiedades de la superficie, controlando en parte la velocidad de transferencia de calor y masa. Las corrientes convectivas favorecen la uniformidad de transferencia de calor en la cavidad, y muchos diseños comerciales permiten ajustar los ventiladores que suplementan la convección natural y reducen el espesor de la capa límite. El calor se transfiere a través del alimento en la mayoría de los casos por conducción. La baja conductividad térmica de los alimentos, causa bajas tasas de transferencia de calor por conducción, lo que influye en gran medida el tiempo de tratamiento. El tamaño de la pieza es un factor importante en el tiempo de calentamiento ya que determina la distancia a la cual el calor debe transferirse hasta llegar al centro del alimento (Fellows, 2000).

2.1.2.2. Calentamiento por microondas

En el espectro electromagnético, la radiación de microondas se caracteriza por estar situada en el intervalo de frecuencia comprendido entre 300 MHz y 300 GHz, siendo los valores normalmente utilizados en procesamiento industrial de alimentos 915 y 2450 MHz, mientras que el uso doméstico y equipamiento de laboratorio se restringe a 2450 MHz. (Chang et al., 2011). Equipos provistos con

generadores de microondas de 915 MHz son usados industrialmente en EEUU debido a que tienen mayor profundidad de penetración del material en comparación con las frecuencias más altas. En la mayoría de los alimentos la profundidad de penetración de las ondas electromagnéticas desciende a medida que la frecuencia y/o la temperatura aumentan. A modo de referencia, un gel de proteína de suero tiene una profundidad de penetración a 20 °C de 12 y 6,5 mm para frecuencias de 915 y 2450 MHz, mientras que a 70 °C éstos valores disminuyen a 7 y 4,3 mm para las mismas frecuencias, respectivamente (Wang, Wig, Tang, & Hallberg, 2003).

Los hornos microondas pueden ser diseñados para su uso en hogares, laboratorios o industrias. Los equipos industriales presentan mayores componentes para el control de proceso, y están diseñados para grandes escalas, lo que eleva su costo y dificulta su uso en investigación. Los equipos desarrollados a escala laboratorio también son costosos debido principalmente a la necesidad de mecanismos de control de calentamiento, presión y tiempo para obtener resultados reproducibles. Por estos motivos muchos investigadores adaptan microondas domésticos, que resultan en equipos de menor costo, pero con deficiencia en la distribución de la radiación de microondas, ya que exceden el fin para el cual fueron diseñados, y tienen como desventaja principal la generación de zonas con mayor incidencia que otras (Chang, Steel, & Pedrosa Silva Clerici, 2011).

Se reportaron usos técnicos de microondas en la industria de alimentos para la deshidratación, el escaldado, la esterilización, la pasteurización, la cocción y el descongelamiento. Sin embargo, actualmente su uso se extendió a reacciones químicas, control de germinación de insectos, producción de cereales expandidos, entre otros (Kubo, Curet, Augusto, & Boillereaux, 2019; Puligundla, 2013; van der Sman & Bows, 2017).

El calentamiento de alimentos mediante microondas resulta del efecto combinado de energía electromagnética y la disipación de calor en el producto. La transformación de energía electromagnética en calor genera un incremento instantáneo de temperatura en el interior, en contraste con procesos convencionales de calentamiento que transfieren energía desde la superficie, con baja penetración del calor.

La principal ventaja del calentamiento electromagnético es el resultado de la generación interna de calor. La energía de microondas muestra una propiedad relacionada con la gran capacidad de penetración y sobre todo la selectividad de calentamiento de diferentes componentes del producto según sus propiedades dieléctricas. Las propiedades dieléctricas describen el comportamiento de un material frente a las microondas, es decir, en qué medida un cuerpo transmite o transforma en energía térmica la energía electromagnética recibida. En procesamiento de alimentos mediante microondas resulta de interés evaluar cómo la energía electromagnética puede influenciar la actividad de enzimas y microorganismos. En el caso que puedan ser selectivamente activadas o

inactivadas, esto puede prevenir la necesidad de un tratamiento con calor más severo y puede representar un efecto positivo en la calidad de producto (Venkatesh & Raghavan, 2004).

En síntesis química usualmente se emplea la radiación por microondas para acelerar las reacciones. Es una herramienta conveniente, económica y limpia que mejora el rendimiento, la velocidad, y disminuye el tiempo de reacción (Chen, Reddy, Devi, Chang, & Ho, 2016). Sin embargo, existe controversia acerca del origen de estas ventajas. Algunos autores sostienen que las mejoras en el rendimiento se deben a los efectos de temperatura, mientras otros argumentan la existencia de efectos no térmicos de las microondas. Los puntos de vistas resultan contradictorios y se describen ampliamente en literatura (Ramaswamy & Tang, 2008). Algunos autores sostienen que la velocidad de reacción resulta tan alta que no puede ser explicada solamente como consecuencias de calentamiento mientras que otros investigadores, en contraste, enfatizan que no existen los efectos llamados no térmicos, y adjudican el comportamiento al sobrecalentamiento de los solventes por encima de sus puntos de ebullición (Adam, 2003; De La Hoz, Díaz-Ortiz, & Moreno, 2005).

En resumen, cada tecnología presenta ventajas y desventajas puntualizadas en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Características del calentamiento por microondas y convencional (De La Hoz et al., 2005).

Calentamiento por microondas	Calentamiento convencional
Acople energético	Conducción/convección
Actúa a nivel molecular	Actúa desde la superficie
Rápido	Lento
Volumétrico	Superficial
Selectivo	No selectivo
Dependiente de las propiedades del material	Menos dependiente de las propiedades del material

Muchos trabajos se focalizaron en los métodos térmicos tradicionales para lograr la estabilización de germen de trigo, es decir, se aplicaron con el objetivo de inactivar las enzimas responsables de la hidrólisis y oxidación lipídica. Se realizaron diversas investigaciones buscando la optimización, ya que este tipo de calor aplicado va en detrimento de la calidad nutricional, provocando pérdida de vitaminas y proteínas (Boukid et al., 2018; Kermasha, Bisakowski, Ramaswamy, & Voort, 1993; Srivastava et al., 2007), aunque también presenta beneficios como la inactivación de factores antinutricionales y aumento de la capacidad antioxidante (Krings et al., 2000; Majzoobi, Farhoodi, Farahnaky, & Taghipour, 2012).

Los trabajos de investigación sobre aplicaciones de microondas en germen de trigo son menos numerosos que aquellos que utilizan el método convencional. Incluyen la utilización de dos tipos de equipamiento: microondas continuo a escala piloto (Xu et al., 2013) y doméstico trabajando sobre

enzimas purificadas de germen de trigo (Kermasha et al, 1993) o germen de trigo molido (Vetrimani et al., 1992). También se encuentran aplicaciones de microondas en combinación con otras tecnologías como tratamiento con vapor y fluidización (Sudha et al., 2007). En la mayoría de los casos hicieron foco sobre la inactivación de las enzimas, aunque también se estudió el desarrollo de rancidez analizando los compuestos volátiles (Sjövall, Virtalaine, Lapveteläinen, & Kallio, 2000). Por su parte Ling, Lyng, & Wang estudiaron las propiedades dieléctricas del GT el espectro de las radiofrecuencias (2018).

Se encontraron pocos trabajos sobre los efectos del tratamiento térmico sobre las propiedades físicas del germen de trigo, a excepción de los trabajos de Chan, Chan, & Kuo (2018), Gili, et al. (2017b), que se restringen a la tecnología de lecho fluidizado. En la mayoría de los trabajos publicados se evaluó la actividad enzimática en condiciones puntuales (Boukid et al., 2018; Srivastava et al., 2007; Sudha et al., 2007). Por otra parte, no se encontraron estudios sobre el efecto en las propiedades sorcionales o medición de las propiedades térmicas y dieléctricas en el rango de las frecuencias utilizadas en microondas.

En el presente capítulo se evaluó la efectividad de la utilización de las microondas y el calentamiento con aire caliente en la estabilización del germen de trigo y sus efectos sobre las propiedades físicas y térmicas.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Muestras

Las muestras de germen utilizadas en este capítulo de obtuvieron y prepararon de acuerdo al procedimiento descrito en el Capítulo 1.

2.2.2. Tratamientos térmicos del germen de trigo

Se analizaron los efectos del tratamiento con aire caliente y de las microondas sobre las muestras descritas en el Capítulo 1, sección Material.

- Tratamiento con aire caliente

El tratamiento térmico del germen de trigo se realizó en una estufa con convección forzada (Memmert modelo 600 D06062, Alemania) con una velocidad de aire fija de 0,07 m/s (determinada mediante anemómetro digital portátil). Las pruebas se realizaron a 3 temperaturas de seteo: 150, 180 y 200 °C considerando tiempos de tratamiento de 2.400, 1.200 y 720 s, respectivamente. El germen de trigo no tratado (250 g) se colocó en bandejas de aluminio de 25 cm de diámetro formando una capa uniforme de 1 cm de espesor. La medición de temperatura se realizó mediante 2 termocuplas tipo K de 1 mm de diámetro, posicionados en la base de la bandeja del lado interno y

otra en la superficie (Figura 2.2). La información de temperatura se colectó cada 30 segundos. Los tratamientos se realizaron por triplicado.

Se realizaron tratamientos independientes a intervalos regulares de tiempo, considerando 4 tiempos para cada temperatura de seteo: 3, 6, 9, 12 min a 150 °C; 5, 10, 15 y 20 min a 180 °C; y 3, 6, 9 y 12 min a 200 °C. Los tiempos se determinaron en base a ensayos previos para evitar la carbonización u el oscurecimiento pronunciado del material. Para el tratamiento convectivo se utilizó el GT proveniente del Molino A.

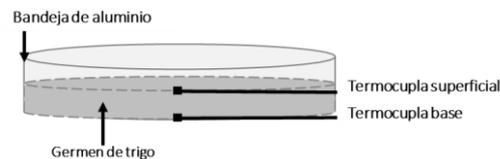


Figura 2.2: Esquema general de calentamiento convectivo de germen de trigo en la bandeja de aluminio y las posiciones de las termocupas.

- Tratamiento con microondas

Los experimentos se realizaron en un equipo de microondas Sairem® (GMP 03 K/SM, Miribel, Francia), que suministra una onda monocromática en modo fundamental TE₁₀ a una frecuencia de 2,45 GHz, con una potencia máxima de irradiación de 300 W. Se utilizó el equipo del departamento GEPEA), École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes-Atlantique (ONIRIS), Nantes, Francia.

Las muestras de germen de trigo se colocaron en un contenedor de poliestireno de forma cilíndrica que ocupó totalmente la sección de la guía de onda (8,6 cm x 4,3 cm). El eje principal del cilindro (5cm de altura, 2 cm de diámetro) se colocó en la dirección de irradiación (Figura 2.3). El perfil tiempo-temperatura se registró mediante 3 sensores de fibra óptica (Neoptix™ Reflex™, Canadá) posicionados en el eje central del cilindro a 1, 2,5 y 4 cm desde la superficie superior del cilindro.

Tres indicadores de potencia permitieron seguir la evolución del tratamiento térmico con microondas a lo largo del tiempo. La potencia incidente se mostró numéricamente en el controlador principal. Un sensor de potencia ubicado detrás de la fuente registró las ondas reflejadas. La potencia no absorbida y transmitida se calculó resolviendo un balance de energía sencillo basado en la absorción de la energía por una carga de agua y su incremento de temperatura, conociendo su temperaturas iniciales y finales y su caudal.

Los datos de temperatura y potencia se registraron cada segundo (Datalog 20, AOIP®).

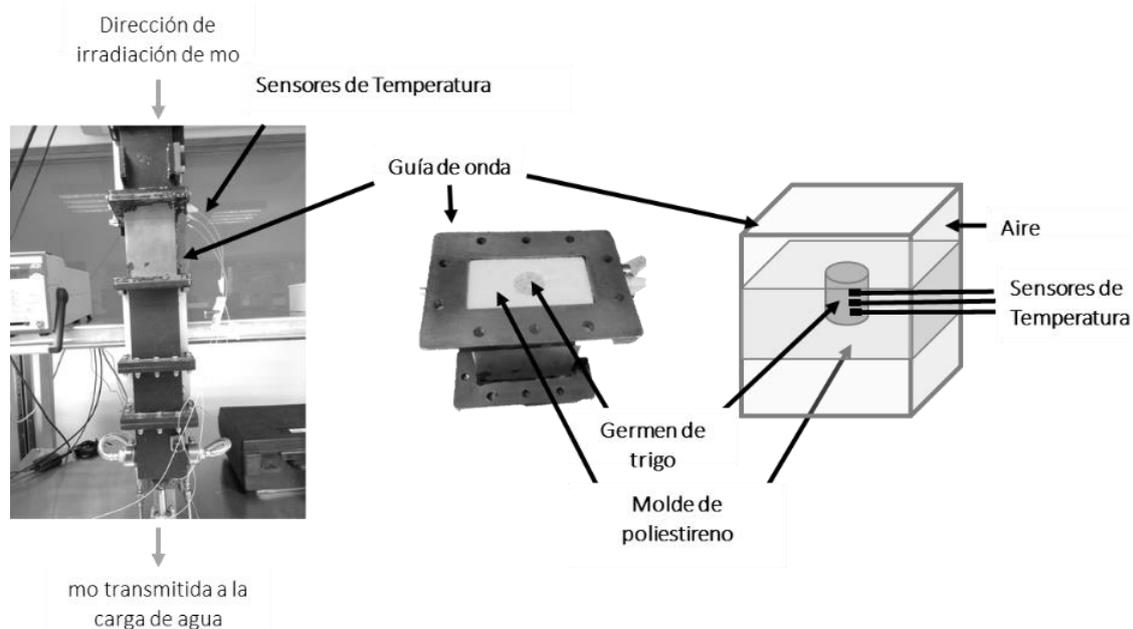


Figura 2.3. Esquema general del equipo utilizado para el tratamiento con microondas.

En base a experiencias previas, se ensayaron tres temperaturas: 50, 60 y 70 °C, y cuatro tiempos de tratamiento: 5, 10, 15 y 20 min. La potencia incidente fue variable en el tiempo (0-300 W) en función de la temperatura registrada por la termocupla ubicada a 4 cm de la superficie. En todos los casos se utilizó el GT proveniente del Molino B, con un acondicionamiento previo llevándolo a 13% de humedad, realizado 48 h antes. Las muestras tratadas y la muestra control se almacenaron en bolsas selladas al vacío a -18 °C. Se realizaron 7 repeticiones de cada tratamiento.

2.2.3. Evaluaciones sobre el germen de trigo

Las determinaciones realizadas sobre las muestras tratadas y la muestra control en el presente capítulo fueron: contenido de humedad, acidez (AV), índice de peróxidos (PV), determinación del contenido total de tocoferoles (TTC), determinación de la actividad lipásica y lipoxigenásica, color, índice de pardeamiento, actividad de agua (a_w), tamaño de partícula y ángulo de reposo. Todas las determinaciones y el procedimiento de extracción del aceite se desarrollaron de acuerdo con lo expresado en el Capítulo 1.

2.2.4. Cinética de actividad enzimática

Los parámetros de inactivación de las enzimas LOX y LI se calcularon utilizando un modelo cinético de primer orden, comúnmente usado para la inactivación de enzimas o pérdida de propiedades en alimentos (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 1996), y en las enzimas de GT en particular (Xu et al., 2016). Se calculó la constante de degradación térmica de primer orden (k) (1/s) a cada temperatura

ensayada mediante el gráfico del logaritmo de la actividad remanente relativa versus el tiempo de tratamiento (s):

$$\ln\left(\frac{A}{A_0}\right) = -k t$$

Donde A es la actividad enzimática LI o LOX a un tiempo de tratamiento t y A_0 es la actividad enzimática LI o LOX a tiempo cero (actividad asociada al germen de trigo no tratado).

Se evaluó la sensibilidad térmica de la constante k mediante el cálculo de la energía de activación utilizando la ecuación de Arrhenius (Kermasha et al., 1993):

$$\ln(k) = \ln(k_0) - \frac{E_a}{RT}$$

Donde k es la constante cinética de primer orden (1/s) a una temperatura absoluta dada T (K), R es la constante universal de los gases (8,314 J/mol K), E_a es la energía de activación (J/mol) y k_0 (1/s) es el factor preexponencial de Arrhenius. Se determinaron E_a y k_0 a partir de la pendiente y ordenada al origen de la representación gráfica de $\ln(k)$ y $\frac{1}{T}$.

2.2.5. Curvas de adsorción y desorción

La relación entre el contenido total de humedad y la correspondiente actividad de agua de un producto a una temperatura constante genera lo que se denomina una isoterma de adsorción. Se utiliza en áreas importantes de procesamiento de alimentos como secado, mezclado, envasado y almacenamiento (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 1996).

Los contenidos de humedad de equilibrio de las partículas de germen durante los procesos de adsorción y desorción se determinaron mediante método gravimétrico a 25 °C. Se utilizó un equipo de adsorción dinámica de vapor, modelo Advantage I (Surface Measurement Systems Ltd, Reino Unido). Las partículas de germen se colocaron dentro de una cámara a temperatura y humedad relativa controlada mediante el flujo de nitrógeno. La humedad relativa dentro de la cámara se mantuvo a niveles constantes hasta que la muestra alcanzó el equilibrio en las condiciones fijadas. El cambio en la masa, una vez alcanzado el equilibrio, de la muestra en cada etapa de humidificación (niveles de humedad relativa) fue determinado mediante una micro balanza alojada dentro de la cámara. La determinación de las curvas de adsorción y desorción se realizó en el rango de 0 a 0,9 de P/P_0 (presión parcial de vapor de agua dentro de la cámara/presión de saturación de vapor de agua pura a la misma temperatura). La mencionada relación de presiones que determina la actividad acuosa del gas dentro de la cámara es igual a la definición de actividad acuosa de un alimento en el equilibrio (Gely & Giner, 2000). Las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado.

2.2.5.1. Modelos de adsorción aplicados

Diversas expresiones matemáticas, de variada aplicación en el estudio de procesos de transferencia de masa han sido desarrolladas a partir de conceptos termodinámicos de adsorción/desorción, con el objeto de predecir el contenido de humedad de la muestra (W) en función de la actividad de agua. Estas expresiones fueron generadas con la premisa de permitir su ajuste a los datos experimentales obtenidos de cada material analizado, algunos de estos modelos matemáticos se describen a continuación:

- Guggenheim, Anderson y de Boer (GAB)

Este modelo se basa en la teoría de adsorción multicapa, ha sido utilizado ampliamente para describir los comportamientos de adsorción de varios alimentos y se caracteriza por incluir parámetros fundamentados en fenómenos físicos que ocurren durante los procesos de adsorción y desorción. Este modelo, además se caracteriza por otorgar buenas condiciones de ajuste hasta valores de actividad de agua cercanos a 0,9. La ecuación correspondiente al modelo de GAB es la siguiente:

$$W = \frac{W_m C K_G a_w}{(1 - K_G a_w)(1 - K_G a_w + C K_G a_w)}$$

Donde el coeficiente W_m representa el contenido de humedad de monocapa (Giner y Gely, 2005). Este valor indica la cantidad de agua que se encuentra fuertemente ligada al alimento, es decir que no se encuentra disponible como solvente o como sustrato (salvo para la oxidación de lípidos). Los restantes parámetros (C y K_G) se relacionan con la temperatura y con el calor isostérico (conocido también como entalpía diferencial de sorción, que otorga una medida de la energía de la unión entre el agua adsorbida y las moléculas del alimento) durante la adsorción de agua en los alimentos (Al-Muhtaseb et al. 2010; Barbosa-Cánovas et al. 2007).

- Brunauer, Emmett y Teller (BET)

Este modelo de isothermas de adsorción describe el fenómeno de adsorción a nivel de multicapa, considera que cada sitio activo del material adsorbente se cubre con una molécula de adsorbato, las subsiguientes capas adsorbidas son consideradas con la suposición de que no existen interacciones laterales entre moléculas, siendo la energía involucrada en el proceso de desorción el valor correspondiente a la entalpía de vaporización del agua pura (omite las interacciones alimento-agua). Estas suposiciones, junto con la omisión de la adsorción capilar provocan que el modelo solo presente descripciones aceptables del contenido de agua adsorbido hasta actividades de agua menores a 0,5 (Aviara et al. 2004; Barbosa-Cánovas et al. 2007). La ecuación correspondiente al modelo de BET es la siguiente:

$$W = \frac{W_m C a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + C a_w)}$$

Donde el coeficiente W_m representa el contenido de humedad de monocapa, a_w es la actividad de agua del alimento y C es un coeficiente de la ecuación.

- Henderson-Thompson

El modelo de Henderson-Thompson o de Henderson Modificado es uno de los modelos utilizados ampliamente en la literatura para relacionar la actividad de agua con el contenido de humedad y la temperatura. Este modelo es uno de los adoptados como modelo estándar por la ASAE (American Society of Agricultural Engineers) para la descripción de la relación entre el contenido de humedad de equilibrio y la actividad de agua en diversos cereales. La ecuación correspondiente al modelo de Henderson-Thompson es la siguiente:

$$W = 0,01 \left(-\frac{\ln(1-a_w)}{K(T+C)} \right)^{\frac{1}{N}}$$

donde T es la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), K , C y N son coeficientes de la ecuación.

- Oswin modificado

Modelo empírico, relativamente simple, incluye temperatura como variable para estimar el contenido de humedad de equilibrio.

$$W = 0,01 \frac{K+C T}{\left(\frac{1}{a_w} - 1 \right)^{\frac{1}{N}}}$$

donde T es la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), K , C y N son coeficientes de la ecuación.

2.2.6. Análisis de imágenes del germen de trigo

El tamaño promedio y los descriptores de forma de las partículas de germen de trigo se determinaron mediante análisis de imágenes. Las fotografías se tomaron con una cámara digital (Cannon Power Shot S70, EEUU) montada en una lupa (Leica S8 APO, Alemania) utilizando una resolución de 7,1 Mega píxeles. Se tomaron 10 fotografías de cada muestra desde una vista en plano (superior), con aproximadamente 9-11 partículas en cada caso (Figura 2.4.A). Cada fotografía incluyó una escala graduada como referencia. Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante el software ImageJ 1.48v (disponible como software libre en <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) (Figura 2.4.B). Partículas con área menor a $0,1 \text{ mm}^2$ se descartaron. Se analizaron 4 muestras: GT no tratado, tratado durante 20 min a 180°C y durante 20 min a 70°C en microondas.

A partir de las imágenes procesadas se determinaron los parámetros primarios de medición de objetos (Caballero, 2003):

- Área proyectada: número total de píxeles en el objeto

- Perímetro: longitud del borde del objeto
- Diámetro de Feret: medida equivalente a la medición de la partícula con un calibre, es decir, distancia entre los dos planos paralelos que restringen el objeto perpendicular a esa dirección. Se consideró el diámetro máximo, o longitud.

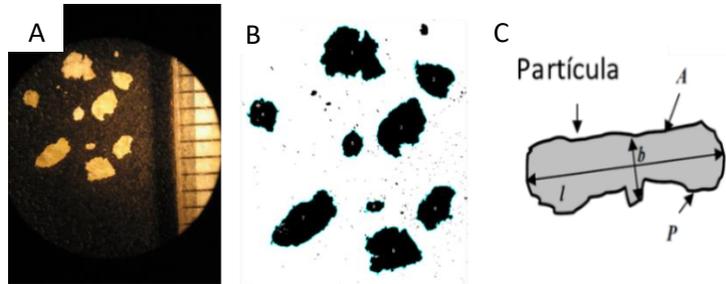


Figura 2.4. Análisis de imágenes de partículas de germen de trigo. (A) Imagen original. (B) Imagen obtenida luego del procesamiento. (C) Dimensiones características utilizadas para calcular la relación de aspecto y circularidad.

Además, se calcularon parámetros adicionales como:

- Circularidad: Relación adimensional basada en el área proyectada (A) de la partícula y el perímetro de la proyección (P) según la siguiente ecuación:

$$CR = \frac{4 \pi A}{P^2}$$

El valor se aproxima a la unidad para partículas perfectamente esféricas y toma valores próximos a 0 para partículas extremadamente elongadas.

- Relación de aspecto (RA): Factor de forma comúnmente utilizado que se define como la relación entre la longitud del eje menor sobre la longitud del eje mayor (Figura 2.4.C).

$$RA = \frac{b}{l}$$

Valores pequeños de RA corresponden a partículas elongadas.

- Solidez: Es la medida de las concavidades de una partícula. Se define como el área de la imagen sobre el área con las concavidades rellenas (Figura 2.5). En la medida que una partícula sea más sólida, el área de la imagen y el área rellena se irán aproximando, resultando en un valor de 1.



Figura 2.5. Área (izquierda) y área con zonas cóncavas rellenas (derecha) de una forma equivalente.

2.2.7. Propiedades térmicas y eléctricas

Las propiedades térmicas de los alimentos y bebidas permiten calcular la transferencia de calor en operaciones unitarias que involucran cambios de temperatura. Son necesarias para diseñar equipos y estimar tiempo de proceso durante la refrigeración, calentamiento o secado de alimentos (ASHRAE, 2006), mientras que las eléctricas permiten evaluar el comportamiento en un campo eléctrico y magnético.

2.2.7.1. Capacidad calorífica

La capacidad calorífica (C_p) de un cuerpo o sustancia se define como la cantidad de calor necesario para incrementar en 1 °C la temperatura de 1 kg de material a una temperatura dada. Es una medida de la cantidad de calor que debe ser introducido o removido para modificar la temperatura del material (Singh & Heldman, 2009).

La capacidad calorífica del germen de trigo se determinó de manera experimental y por correlaciones empíricas. De manera experimental, se obtuvo el valor de C_p en función de la temperatura mediante calorimetría diferencial de barrido. Para la medición y análisis se utilizó un equipo DSC Pyris 6, Perkin Elmer, Francia (Curet, Rouaud, & Boillereaux, 2008). Se utilizó el equipo del departamento GEPEA, École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes-Atlantique (ONIRIS), Nantes, Francia. Las muestras individuales (entre 10-12 mg) se calentaron desde 20 a 100 °C a 0,1 °C/min utilizando una cápsula vacía como referencia y los termogramas se analizaron con el programa del calorímetro. Se ensayaron muestras con dos contenidos de humedad diferentes (6,5% y 15% bs), cada una por triplicado.

Los valores de C_p también se calcularon por correlaciones empíricas según un modelo que contempla la influencia de la composición del producto y la temperatura (Choi & Okos, 1986). Estas propiedades se calcularon según lo detallado en la Tabla 2.2.

2.2.7.2. Conductividad térmica

La conductividad térmica (k) representa la propiedad básica de transporte térmico, y es una medida de la habilidad de un material para conducir el calor (Sun, 2006).

Se calculó a partir de correlaciones que dependen de la fracción volumétrica de los componentes del material (Y) y de la temperatura, según se detalla en la Tabla 2.2, donde Y se define como:

$$Y_i = \frac{X_i/\rho_i}{\sum_{i=1}^n X_i/\rho_i}$$

Tabla 2.2. Ecuaciones de Choi y Okos (1986) utilizadas para predecir las propiedades termofísicas del germen de trigo (fracción sólida del modelo) en función de la composición y la temperatura.

Propiedad termofísica	Componente	Función de la temperatura
Conductividad térmica $k_s = \sum_{i=1}^n k_i Y_i$	Proteínas	$k = 1,7881 \times 10^{-1} + 1,1958 \times 10^{-3} T - 2,7178 \times 10^{-6} T^2$
	Lípidos	$k = 1,8071 \times 10^{-1} - 2,7604 \times 10^{-3} T - 1,7749 \times 10^{-7} T^2$
	Carbohidratos	$k = 2,01 \times 10^{-1} + 1,3874 \times 10^{-3} T - 4,3312 \times 10^{-6} T^2$
	Fibras	$k = 1,8331 \times 10^{-1} + 1,2497 \times 10^{-3} T - 3,1683 \times 10^{-6} T^2$
	Cenizas	$k = 3,2962 \times 10^{-1} + 1,4011 \times 10^{-3} T - 2,9069 \times 10^{-6} T^2$
	Humedad	$k = 5,7109 \times 10^{-1} + 1,7625 \times 10^{-3} T - 6,7036 \times 10^{-6} T^2$
	Densidad $\rho_s = \sum_{i=1}^n \rho_i X_i$	Proteínas
Lípidos		$\rho = 9,2559 \times 10^2 - 4,1757 \times 10^{-1} T$
Carbohidratos		$\rho = 1,5991 \times 10^3 - 3,1046 \times 10^{-1} T$
Fibras		$\rho = 1,3115 \times 10^3 - 3,6589 \times 10^{-1} T$
Cenizas		$\rho = 2,4238 \times 10^3 - 2,8063 \times 10^{-1} T$
Humedad		$\rho = 9,9718 \times 10^2 + 3,1439 \times 10^{-3} T - 3,7574 \times 10^{-3} T^2$
Capacidad calorífica $Cp_s = \sum_{i=1}^n Cp_i X_i$		Proteínas
	Lípidos	$Cp = 1,9842 + 1,4733 \times 10^{-3} T - 4,8008 \times 10^{-6} T^2$
	Carbohidratos	$Cp = 1,5488 + 1,9625 \times 10^{-3} T - 5,9399 \times 10^{-6} T^2$
	Fibras	$Cp = 1,8459 + 1,8306 \times 10^{-3} T - 4,6509 \times 10^{-6} T^2$
	Cenizas	$Cp = 1,0926 + 1,8896 \times 10^{-3} T - 3,6817 \times 10^{-6} T^2$
	Humedad	$Cp = 4,1762 - 9,0864 \times 10^{-5} T + 5,4731 \times 10^{-6} T^2$

k_i es la conductividad térmica del componente i ésimo, Y_i es la fracción volumétrica estimada del i ésimo componente, n es el número total de componentes en el alimento, ρ_i es la densidad del i ésimo componente, X_i es la fracción másica del i ésimo componente, Cp_i es la capacidad calorífica específica del i ésimo componente.

Las variaciones de temperatura se consideraron en función del tiempo para los registros de calentamiento de GT con aire caliente. Se consideró la temperatura de la muestra para estimar la conductividad y la capacidad calorífica. La composición varió en el tiempo durante el tratamiento debido a la pérdida de humedad. En consecuencia, la fracción másica se computó de acuerdo al contenido de humedad ajustado a tiempos regulares (cada 10 min a 150 °C, 5 min a 180 °C y 3 min a 200 °C).

2.2.7.3. Propiedades dieléctricas

Las propiedades dieléctricas determinan la respuesta de un material sometido a un campo electromagnético, como ocurre en un horno microondas. La dificultad de las moléculas para alinearse instantáneamente con el campo electromagnético aplicado lleva a la disipación de energía electromagnética. Las propiedades dieléctricas refieren a un número complejo que consiste en una parte real (constante dieléctrica ϵ') y una parte imaginaria (factor de pérdida ϵ''). La constante dieléctrica es un indicador de la polarizabilidad de las moléculas y su habilidad de almacenar energía

eléctrica. El factor de pérdida se relaciona con la absorción de energía y disipación de energía electromagnética desde el campo (Bircan & Barringer, 1995).

Las propiedades dieléctricas se determinaron utilizando el método de sonda coaxial, (kit modelo N° 85070C, Agilent Technologies) con ayuda de un software (85070E, versión E04.02.13, Agilent Technologies) y un analizador de ondas (ENA E5062A, Agilent Technologies) de acuerdo al método propuesto por Curet, Rouaud, & Boillereaux (2014). Se utilizó el equipo del departamento GEPEA, École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes-Atlantique (ONIRIS), Nantes, Francia.

El principio consiste en calcular las propiedades dieléctricas a partir de la fase y amplitud de la señal reflejada al final de una sonda coaxial inserta en el seno de la muestra a analizar (Figura 2.6).

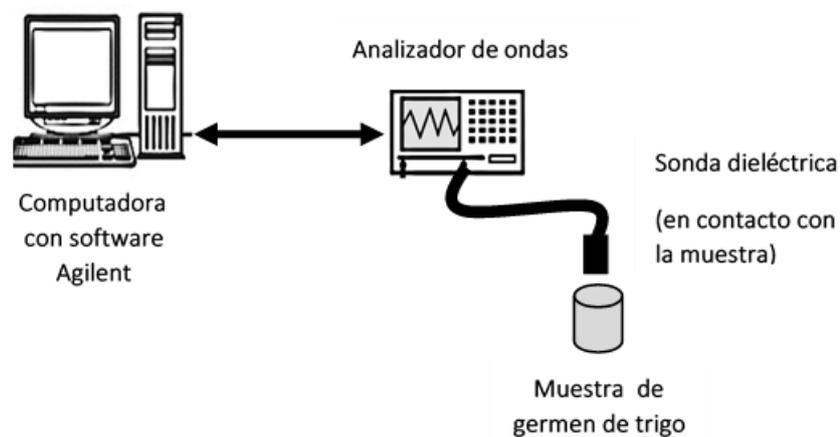


Figura 2.6 Esquema del sistema para medición de las propiedades dieléctricas. Adaptado de Curet et al. (2014).

El sistema se calibró utilizando una configuración estándar: aire, acero inoxidable y agua destilada. Las mediciones se realizaron a 2,45 GHz. Las propiedades dieléctricas se midieron colocando la sonda en contacto con las muestras de germen de trigo.

Las muestras de germen se colocaron en un recipiente plástico (5 g aproximadamente). Los recipientes se mantuvieron en baño termostático durante 30 min, luego se midió la temperatura real colocando una termocupla tipo k en el interior del recipiente e inmediatamente se determinaron las propiedades dieléctricas. Se ensayaron diferentes temperaturas de baño (20-50 °C). Se realizaron 10 repeticiones a cada temperatura, con 10 mediciones cada vez.

2.2.8. Análisis estadístico

Todos los ensayos se realizaron al menos por duplicado. Se aplicó análisis de la varianza (ANAVA) a los datos, las medias se compararon mediante el test LSD (diferencia mínima significativa)-Fisher con

un nivel de significancia de 0,05. Se utilizó el software estadístico Infostat (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba)(Di Rienzo et al., 2011).

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Estabilización

2.3.1.1. Perfiles temperatura y humedad

El tratamiento con aire caliente del germe arrojó los siguientes perfiles de tiempo-temperatura y tiempo-humedad para las diferentes temperaturas nominales ensayadas (Figura 2.7).

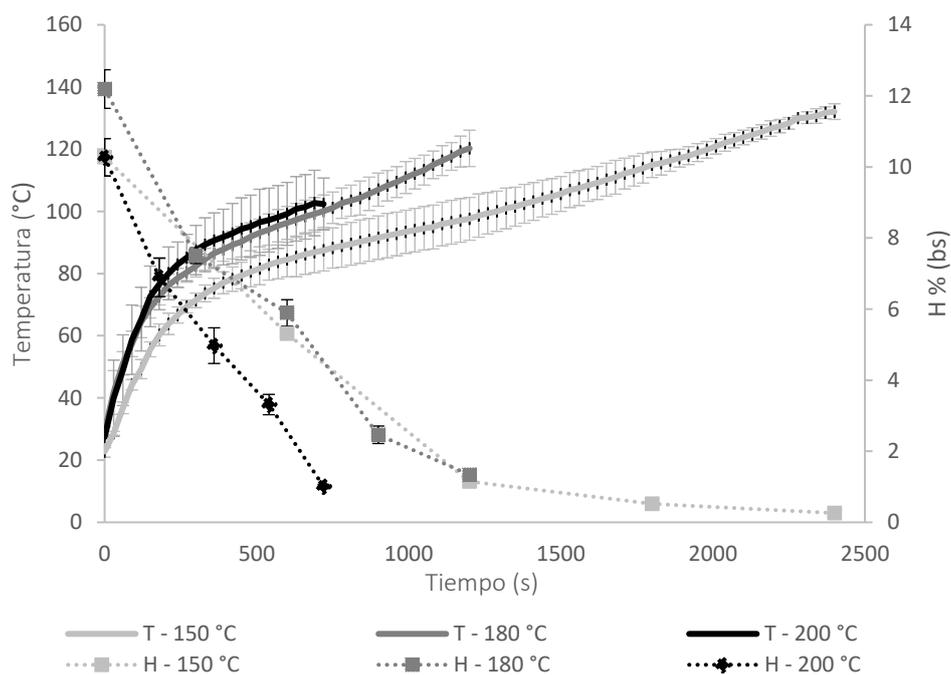


Figura 2.7. Perfiles de temperatura y humedad frente al tiempo para las tres condiciones ensayadas.

Se observó que en los tres casos las mayores tasas de incremento de temperatura ocurrieron durante la primera etapa. La pendiente inicial fue mayor para tratamientos a temperaturas más altas (180 y 200 °C) con respecto a la muestra tratada a 150 °C. En todos los casos la temperatura aumentó continuamente en el tiempo.

La mayor pérdida de agua (mayores pendientes de la curva %H versus tiempo) coincidió con el periodo de mayores cambios de temperatura en etapas tempranas del tratamiento térmico. Los valores de humedad más bajos ($0,26 \pm 0,04\%$) se obtuvieron para el tiempo máximo a 150 °C (40 min), sin embargo, en ningún caso la humedad final del producto superó el 1,5% (bs). Para el tratamiento con aire caliente se consideraron los tiempos máximos que provocaron un tostado

severo en las muestras, por lo que tratamientos más largos generaron muestras carbonizadas que no se consideraron en el estudio.

Para todas las temperaturas ensayadas, el proceso de secado de germen de trigo con aire caliente corresponde al secado en el período de velocidades decrecientes, donde la velocidad de secado disminuye continuamente con el tiempo. Se reportó que el secado de muchos alimentos y productos agrícolas solo ocurren en este periodo, lo que significa que el limitante de la deshidratación es la migración del agua desde zonas de mayor contenido de humedad hacia la superficie donde se evapora (Torki-Harchegani, Ghanbarian, Ghasemi Pirbalouti, & Sadeghi, 2016).

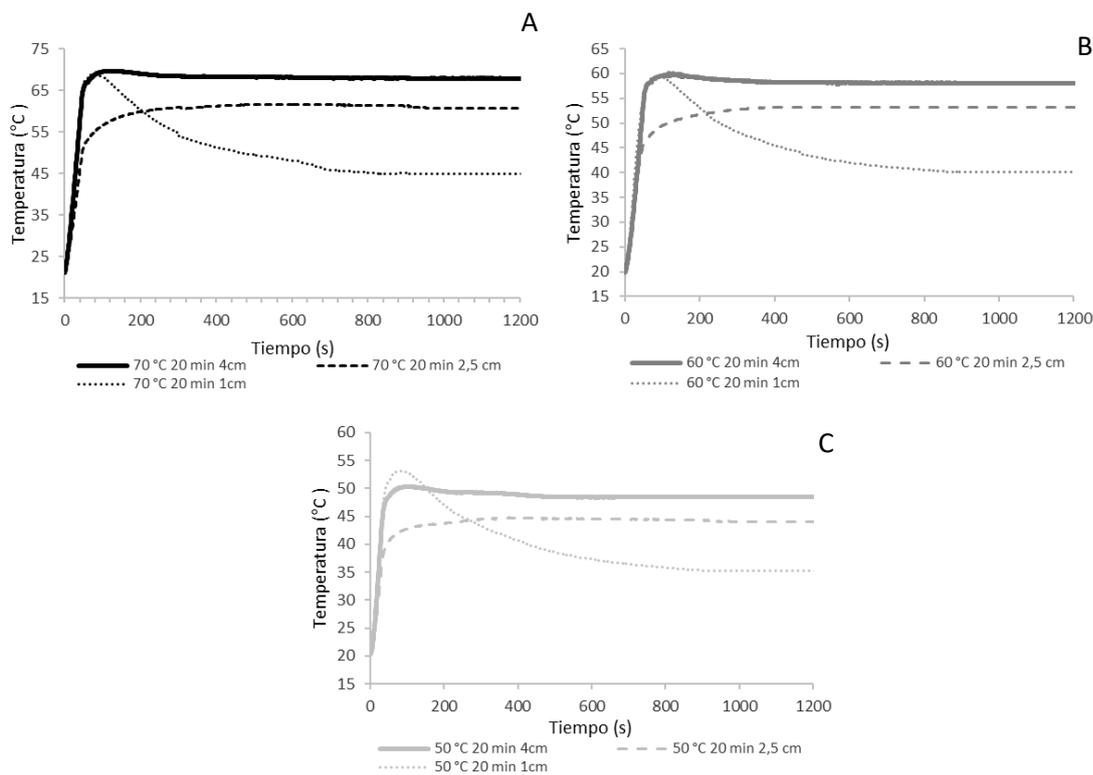


Figura 2.8. Perfil de tiempo-temperatura promedio para los tratamientos con microondas a 70 °C (A), 60 °C (B) y 50 °C (C), a diferentes temperaturas para cada posición.

Los perfiles de temperatura de los tratamientos con microondas (Figura 2.8) mostraron que a partir de 20 y 30 segundos de calentamiento se empezó a desarrollar una distribución no uniforme de la temperatura considerando los distintos puntos de medición ($\Delta T > 4^\circ\text{C}$ a un determinado tiempo). En una primera etapa se observó la existencia de una zona más fría en el centro, mientras que la temperatura de la base y la superficie aumentaron a una misma velocidad. Luego de alcanzar la temperatura de seteo, cuando la muestra dejó de ser irradiada, la superficie del cilindro empezó a enfriarse, tomando valores de temperatura incluso menores al centro. Las temperaturas del centro y de la superficie se igualaron entre los 200 y 270 s para todos los casos. Los perfiles finales de

temperatura mostraron una zona más caliente en la base del cilindro, que disminuye gradualmente hacia la superficie. Las diferencias de temperatura luego de 1.200 s entre los puntos extremos registrados, a 4 y 1 cm de la superficie, fueron de 13,1, 17,8 y 22,7 °C para temperaturas de tratamiento a 50, 60 y 70 °C, respectivamente. Esto indica que, a mayor temperatura de tratamiento, mayor gradiente de temperatura en el interior del cuerpo.

Se realizaron 7 repeticiones de cada tratamiento, con desviaciones estándar mínimas y máximas de 0,58 y 2,78 °C para el sensor de temperatura situado a 1 cm desde la superficie, 0,57 y 2,30 °C para el sensor de temperatura situado a 2 cm desde la superficie y 0,04 y 2,77 °C para la termocupla situada a 4 cm de profundidad, que es la de referencia para el control de la potencia de irradiación.

Se realizaron pruebas adicionales colocando el sensor de temperatura que limita la irradiación en la posición cercana a la superficie (a 1 cm de la superficie en vez de a 4 cm), lo que generó que en el centro y en la zona media una mayor velocidad de calentamiento, como se muestra en la Figura 2.9. La configuración de temperatura final en este caso fue la misma, con una zona más caliente a mayor profundidad (4 cm) y una disminución gradual de temperatura hacia la superficie (1 cm). En este caso la repetitividad es comparable (desvíos entre 0,06 y 3), pero las temperaturas máximas alcanzadas fueron mayores a las temperaturas de seteo, con diferencias por ejemplo de 27,4 °C entre la temperatura a 1 cm y a 4 cm de la superficie, luego de 400 s de tratamiento.

Se decidió trabajar con la configuración utilizada inicialmente (temperatura limitante de irradiación a 4 cm de la superficie), ya que es en la base del cilindro donde se presenta el mayor incremento de temperatura. En este caso la temperatura de seteo es un indicador de la temperatura máxima alcanzada por la muestra.

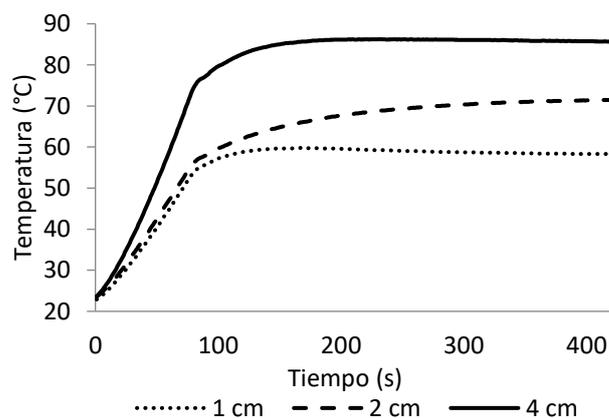


Figura 2.9. Perfiles de tiempo-temperatura promedio para tratamientos con microondas a 60 °C con el sensor de temperatura que limita la irradiación en la superficie.

En general, estos perfiles evidenciaron la generación volumétrica de calor propio de las microondas, que presenta un sistema no homogéneo con una zona más caliente en la franja opuesta a la irradiación, contrario a lo que ocurre durante el tratamiento por aire caliente en la que el calor se conduce desde las superficies hacia el centro, ya sea la superficie en contacto con el aire o la base en contacto con la bandeja. En contraposición, el calentamiento con microondas se produce por una absorción selectiva de energía de las ondas electromagnéticas según las propiedades dieléctricas del material, que generan calor en el interior de la pieza y que la calientan volumétricamente.

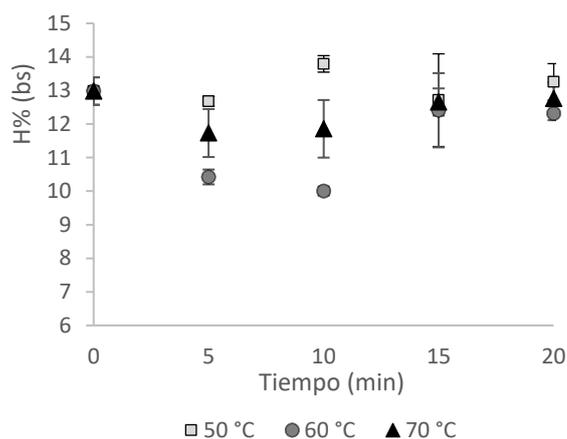


Figura 2.10. Evolución del contenido de humedad para los distintos tratamientos con microondas a 50, 60 y 70 °C

El contenido de humedad de las muestras tratadas con microondas no presentó modificaciones a lo largo del tiempo para ninguna de las temperaturas ensayadas (Figura 2.10). Las únicas muestras que presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) fueron las de temperatura y tiempo intermedios, a 60 °C durante 5 y 10 min, que podría atribuirse a deficiencias en el acondicionamiento de la muestra previo al tratamiento, y no a efectos de las microondas en sí.

Se realizaron ensayos complementarios para evaluar el contenido de humedad en diferentes zonas, dividiendo el cilindro de muestra en 4 franjas delimitadas por la posición de los sensores de temperatura. Allí se observó que el contenido de humedad solo varió en la superficie del producto (zona delimitada desde la superficie hasta 1 cm de profundidad) luego de 20 min de tratamiento a 60 y 70 °C. El contenido de humedad fue 2,3% y 2,7% menor con respecto al contenido de humedad en el resto de la masa de germen. Las zonas inferiores no mostraron diferencias significativas entre sí (contenido promedio de 11,5% y 13% para el tratamiento a 60 y 70 °C).

En general, se puede concluir que el tratamiento por microondas no produjo deshidratación significativa del producto en las condiciones ensayadas ya que la superficie expuesta, en contacto

con el aire, es baja (círculo de 2 cm de diámetro) y se encuentra dentro de la guía de onda, resultando en un espacio confinado sin circulación de aire.

Más allá que el diseño de este equipo en particular no haya permitido la pérdida de agua del producto, cabe destacar que el secado por microondas es un método relativamente nuevo que se suma a los métodos convencionales de deshidratación. Existen incluso variantes del secado asistido por microondas en los que puede combinarse con congelamiento, vacío o aire caliente (Puligundla, 2013). Por otra parte Sudha et al. (2007) utilizaron un equipo de microondas doméstico como complemento al tratamiento de germen de trigo con vapor para disminuir el contenido de humedad.

2.3.1.2. Perfil potencia-tiempo

La variación de la energía irradiada en función del tiempo obtuvo la tendencia general que se muestra en la Figura 2.11. La potencia incidente sobre la muestra fue máxima (300 W) durante los primeros 50 s aproximadamente, momento en el cual la termocupla que registra la irradiación alcanzó la temperatura de seteo (en este caso 60 °C), el magnetrón dejó de irradiar y consecuentemente la potencia decayó abruptamente a cero. Transcurrido el tiempo, una vez que detectó una temperatura inferior a la deseada en el sensor de referencia se emitieron pequeños pulsos (entre 1 y 2 s) a una potencia variable pero siempre inferior a la potencia máxima, para corregir la temperatura de la muestra.

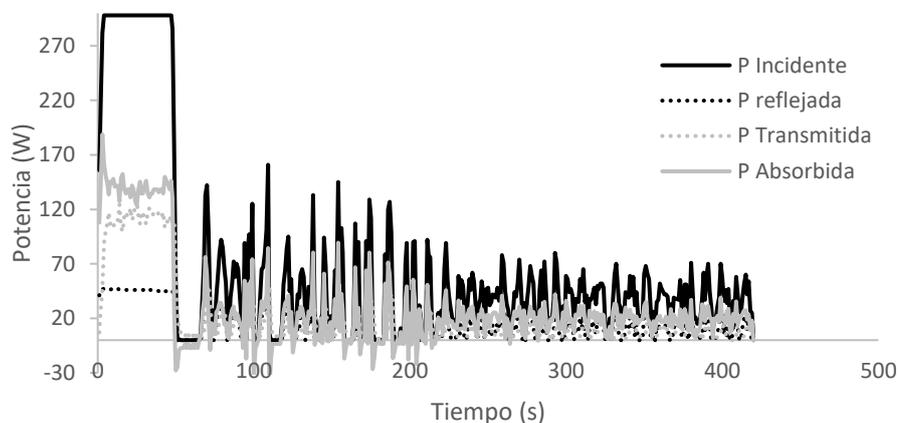


Figura 2.11. Gráfico de potencia incidente, reflejada, transmitida y absorbida por la muestra para un tratamiento de 7 min a 60°C.

La totalidad de la potencia emitida no fue absorbida directamente por la muestra, sino que una pequeña proporción fue reflejada por la guía de onda y otros componentes del equipo (potencia reflejada), y otra fracción atravesó la muestra y fue absorbida por una carga de agua al final del equipo (potencia transmitida). La relación entre estas fracciones informa acerca de la energía

electromagnética absorbida por la muestra y responsable de los cambios que se analizarán más adelante.

2.3.2. Enzimas

La efectividad de los tratamientos para estabilizar el germen de trigo se evaluó a través de la actividad enzimática remanente de lipasas (LI) y lipoxigenasas (LOX). En la Figura 2.12 se muestran los resultados obtenidos de actividad LI y LOX para los diferentes tratamientos térmicos. En general, la actividad enzimática disminuyó conforme aumentó el tiempo de tratamiento y fue influenciada por la temperatura. El tratamiento convectivo fue el que produjo mayor grado de inactivación de las enzimas desde etapas tempranas.

La LOX fue levemente afectada por la irradiación con microondas. Solo se redujo significativamente luego de 10 min de tratamiento a 70 °C, alcanzando una actividad porcentual residual de 88,79%, valor que se mantuvo invariante hasta los 20 minutos ($p < 0,05$). Las irregularidades en la actividad enzimática obtenidas para los tratamientos a temperaturas más bajas se podrían atribuir a la falta de homogeneidad en la distribución de temperatura.

En contraste, la actividad de la LOX fue drásticamente afectada por el tratamiento con aire caliente. Temperaturas más altas y tiempos más largos provocaron mayor inactivación. Los valores residuales de LOX fueron en todos los casos menores a 6%.

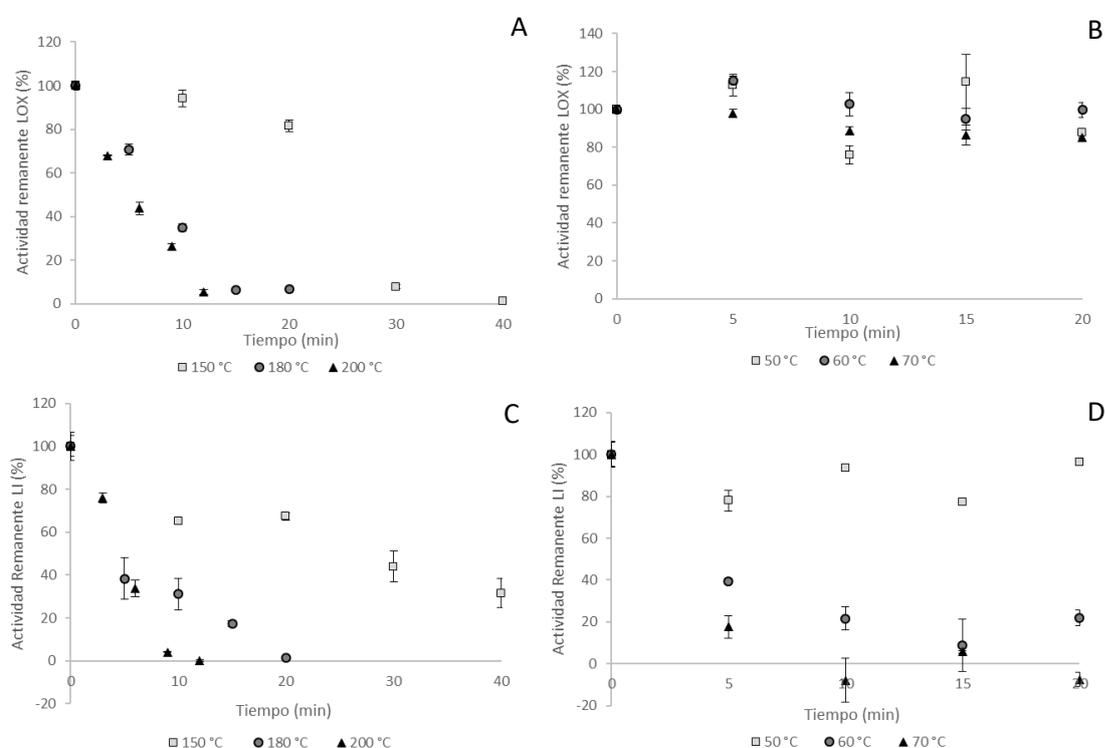


Figura 2.12. Actividad remanente de enzima lipasa (LI) y lipoxigenasa (LOX) luego de tratamiento con aire caliente (A y C) y microondas (B y D).

La actividad LI mostró mayor sensibilidad a microondas que la enzima LOX. A 50 °C la lipasa se mantuvo con actividades residuales elevadas (mayores al 75%) mientras que a 70 °C la disminución de la actividad enzimática fue evidente a partir de los 5 min de tratamiento, llegando a valores que se pueden asociar a una inactivación total luego de 10 min. Cabe resaltar que valores de actividad residual LI negativos se atribuyen a errores de la técnica ya que se midió por un método indirecto siguiendo la liberación de ácidos grasos antes y después de un periodo de incubación. El tratamiento a 60 °C produjo un comportamiento intermedio a los descriptos anteriormente, con actividad residual LI próximo al 21% luego de 20 min.

La actividad de LI luego del tratamiento con aire caliente llegó a valores inferiores al 5% luego de 9 min de tratamiento a 200 °C o 20 min a 180 °C. La pérdida de actividad lipásica también se observó a 150 °C, pero a menor velocidad.

En bibliografía, se ha demostrado que el tratamiento en estufa de GT con aire caliente a 90 °C durante 60 min es efectivo para lograr la inactivación de LI (Boukid et al., 2018), y que muestras de GT sometidas a inactivación térmica por radiofrecuencia o radiación infrarroja con actividades enzimáticas del 20% logran estabilidad por al menos 60 días con una buena calidad de aceite (Li et al., 2016; Ling et al., 2019). Sin embargo, la inactivación de las lipasas puede resultar reversible en función del contenido de agua del germen, ya que muestras tratadas térmicamente con actividad enzimática mínima luego de agregar agua retoman su actividad, por lo que el principal mecanismo de inactivación se asocia a la deshidratación, controlada básicamente por la actividad de agua del sistema (Vetrimani et al., 1992). En el presente trabajo, la técnica utilizada para la determinación de actividad LI tiene en cuenta este hecho ya que la incubación de las muestras se realiza luego de llevar el contenido de humedad de la muestra al valor óptimo de la enzima, por lo que se puede afirmar que la inactivación lograda fue irreversible. Algunos autores (Li et al., 2016) sostienen que LOX también evidencia este comportamiento dependiente del contenido de agua, mientras que otros lo expresan lo contrario (Malekian, Rao, Prinyawiwatkul, & Marshall, 2000). Por otra parte, Vetrimani et al. (1992) informó que muestras de GT tratadas con microondas obtuvieron poca o nula reversibilidad de LOX.

La diferencia observada en la actividad enzimática, tanto de LI como de LOX, entre tratamientos con aire caliente y con microondas puede atribuirse a diversos factores. Entre ellos la temperatura y el mecanismo de acción. Las enzimas por su naturaleza proteica tienden a perder su estructura, y consecuentemente la capacidad de catalizar reacciones a temperaturas elevadas, por lo que no sorprende que luego de exponer la muestra a 180 °C durante 20 min (con temperatura efectiva de la muestra de 120 °C) una gran proporción de ellas alcance la desnaturalización. Lo que sí resulta

llamativo es que la inactivación suceda a temperaturas mucho más bajas, como las alcanzadas con microondas. Por ejemplo, se registró la misma actividad lipásica remanente (30% o menor) para tratamientos tan dispares como 40 min a 150 °C, 10 min a 180 °C o 6 min a 200 °C en horno convectivo y tratamientos de 10 min a 60 °C o 5 min a 70 °C en microondas. Resulta importante notar que las microondas podrían presentar un mecanismo de acción diferente. Se presume que la acción principal se ejerce a nivel molecular, ya que las ondas electromagnéticas tienen la capacidad de movilizar las moléculas polares al intentar alinearse con el campo magnético aplicado. Al actuar a nivel molecular sobre las fracciones polares, las microondas podrían afectar la enzima desde su estructura o conformación. La dependencia de la funcionalidad con el contenido de agua de la lipasa permite suponer que, si se altera ese medio acuoso necesario para su acción, se estaría alterando su actividad, promoviendo la pérdida de capacidad catalizadora.

Particularmente la lipasa del germen de trigo, a diferencia de las lipasas de otras fuentes se encuentra unida a membrana (Rose & Pike, 2006). Se sabe que las microondas tienen la capacidad de romper estructuras celulares (Sumnu & Sahin, 2005), por lo que si ésta se daña por acción de las microondas también podría afectar la actividad de la enzima.

Sin embargo, Chen, Reddy, Devi, Chang, & Ho (2016) no encontraron diferencias significativas entre la cinética de la acción de lipasas purificadas durante calentamiento convencional y microondas al controlar minuciosamente las rampas de calentamiento en cada caso.

2.3.2.1. Cinética

Los diferentes grados de inactivación de LI y LOX obtenidas para el tratamiento con aire caliente permitieron el cálculo de parámetros cinéticos con el fin de evaluar la efectividad de un tratamiento o su comparación con otros. Se logró un ajuste adecuado a una cinética de primer orden, como se muestra en la Tabla 2.2

Tabla 2.2. Parámetros cinéticos de enzimas lipasa y lipoxigenasa obtenidos para el tratamiento con aire caliente de germen de trigo.

Enzima	T (°C)	<i>k</i> (s ⁻¹)	R ²	<i>E_a</i> (kJ/mol)	<i>k₀</i>	R ²
Lipasa	150	5,00E-04	0,94	98,23	6,63E+08	0,99
	180	3,10E-03	0,84			
	200	9,60E-03	0,84			
Lipoxigenasa	150	1,80E-03	0,83	24,32	1,77	1,00
	180	2,60E-03	0,91			
	200	3,80E-03	0,89			

T: Temperatura, *k*: constante de degradación térmica de primer orden, *E_a*: energía de inactivación, *k₀*: factor preexponencial de la ecuación de Arrhenius.

En todos los casos la constante cinética de inactivación aumentó conforme lo hizo la temperatura de tratamiento. Xu et al. (2016) informaron previamente variaciones de 2 o 3 órdenes de magnitud en los valores de la constante cinética de inactivación de LI y LOX de GT para cambios de temperatura de 45 a 60 °C.

En el tratamiento con aire caliente la energía de activación fue mayor para la LI, lo que significa que un pequeño cambio de temperatura afecta en mayor medida la velocidad de inactivación de la enzima. Se puede concluir que la LI presentó mayor resistencia que la LOX en germen de trigo para tratamiento con aire caliente. Esto resultó opuesto a lo obtenido para microondas, donde se observó que la LOX mostró mayor resistencia que LI, es decir para un mismo tratamiento con microondas (combinación tiempo temperatura) LOX presentó mayor actividad residual que LI. Este aparente cambio de comportamiento por el cual una enzima parece inactivarse antes que la otra se atribuye principalmente al mecanismo de acción de cada enzima y como la afectan los distintos tratamientos.

Vetrimani et al. (1992) observaron que para un tratamiento de germen de trigo en microondas doméstico (750 W) durante 180 s se logró una inactivación considerable de ambas enzimas, con mayor pérdida de actividad LOX que LI (similar a lo observado por el tratamiento con aire caliente), pero durante el tratamiento también se observó una notable pérdida de humedad (variación de 10,5% a 1%). Esta fuerte deshidratación podría explicar por qué la inactivación de las enzimas es similar al del tratamiento con aire caliente. Otros autores estudiaron enzimas purificadas de GT sometidas a tratamientos térmicos con microondas en un equipo de síntesis química y en baño termostático, observando que a 45 °C la LOX presentó mayor resistencia que LI, pero a 60 °C esta tendencia se revirtió para ambas tecnologías advirtiendo que sólo se debe al incremento de temperatura (Xu et al., 2016). Ensayos a escala laboratorio revelan que luego de someter el GT a tratamiento con diferentes técnicas combinadas (como vapor con fluidización o microondas) la lipasa fue inactivada totalmente, mientras que LOX redujo su actividad en diferentes grados dependiendo de las técnicas. Se puede concluir, en acuerdo con otros autores (Srivastava et al., 2007; Sudha et al., 2007) que la sensibilidad relativa de las enzimas LI y LOX a tratamientos térmicos depende fuertemente del método y las condiciones ensayadas.

Los valores de E_a son comparables a los obtenidos por Gili et al. (2018a) para la inactivación de LI de GT mediante lecho fluidizado (121,74 kJ/mol) y superiores al obtenido por Yöndem-Makascioğlu, et al., (2005) para el tratamiento de GT también en lecho fluidizado del tipo *spouted* (42,5 kJ/mol) y por Kermasha et al. (1993) para el calentamiento de extractos purificados de LI en baño termostático (87,44 kJ/mol) y en microondas doméstico (107,26 kJ/mol). Xu et al. (2016) obtuvo parámetros cinéticos más pequeños para extractos de enzimas LI sometidos a tratamiento térmico en baño termostático y microondas de síntesis química (21,27 kJ/mol para microondas y 21,71

kJ/mol para baño térmico), mientras que los valores obtenidos para LOX resultan similares a los aquí obtenidos (29,98 kJ/mol para microondas y 32,91 kJ/mol para baño térmico).

Se encontraron en bibliografía valores de energía de activación de 119 y 180 kJ/mol para las isozimas de LOX de soja (Kermasha et al. 1993), 48,34 kJ/mol para peroxidases o 93,52 kJ/mol para catalasas de porotos verdes (Ruiz-Ojeda & Peñas, 2013).

Cabe aclarar que no se calcularon los parámetros cinéticos para el tratamiento con microondas porque no se lograron los niveles de inactivación enzimática necesarios en las condiciones ensayadas.

2.3.3. Efecto de las tecnologías sobre propiedades físicas

2.3.3.1. Actividad de agua

La Figura 2.13 muestra la evolución de la actividad de agua para las distintas muestras ensayadas. Se observaron diferencias significativas en el efecto de las dos tecnologías propuestas sobre la a_w del GT. Las muestras tratadas con microondas tuvieron una actividad de agua inicial superior y no mostraron grandes cambios con el tiempo y temperatura de irradiación en comparación con las muestras tratadas con aire caliente. Las diferencias en este caso están altamente ligadas a la pérdida de agua durante los tratamientos. Como se dijo anteriormente, resulta evidente que durante el tratamiento con microondas la pérdida de agua no fue significativa, por lo que no son esperables cambios en la a_w . Las únicas diferencias significativas que marcaron una tendencia general en el tiempo se observaron a 70 °C, donde luego de los 20 min de tratamiento la a_w cayó desde 0,71 (no tratado) a 0,66. El valor resultante fue igualmente alto y propicio para actividad LI durante el almacenamiento (Li et al., 2016).

La disminución gradual y significativa de la a_w ($p < 0,05$) alcanzó valores de 0,047, 0,176 y 0,158 para los tratamientos más largos a 150, 180 y 200 °C, respectivamente. El hecho de que la a_w de las muestras procesadas se mantengan muy por debajo del valor de la muestra no tratada se considera como un factor que retarda el desarrollo de rancidez de las muestras (Yöndem-Makascioğlu et al., 2005), aunque valores inferiores a 0,2 pueden potenciarlos (Labuza & Dugan Jr, 1971). Los resultados aquí presentados son similares a los obtenidos por Yöndem-Makascioğlu et al. (2005) para tratamiento en horno convectivo a 200 °C.

Ling et al. (2019) reportaron que las muestras de GT pueden perder o absorber agua del ambiente durante el almacenamiento en función de su a_w , debido principalmente a la permeabilidad del material de empaque. Según estos autores, el GT no tratado presentó un descenso en su a_w (desde 0,632 a 0,605) luego de 120 días de almacenamiento, mientras que contrariamente las muestras

estabilizadas térmicamente aumentaron su a_w luego del almacenamiento (a_w inicial de 0,112 y final de 0,406).

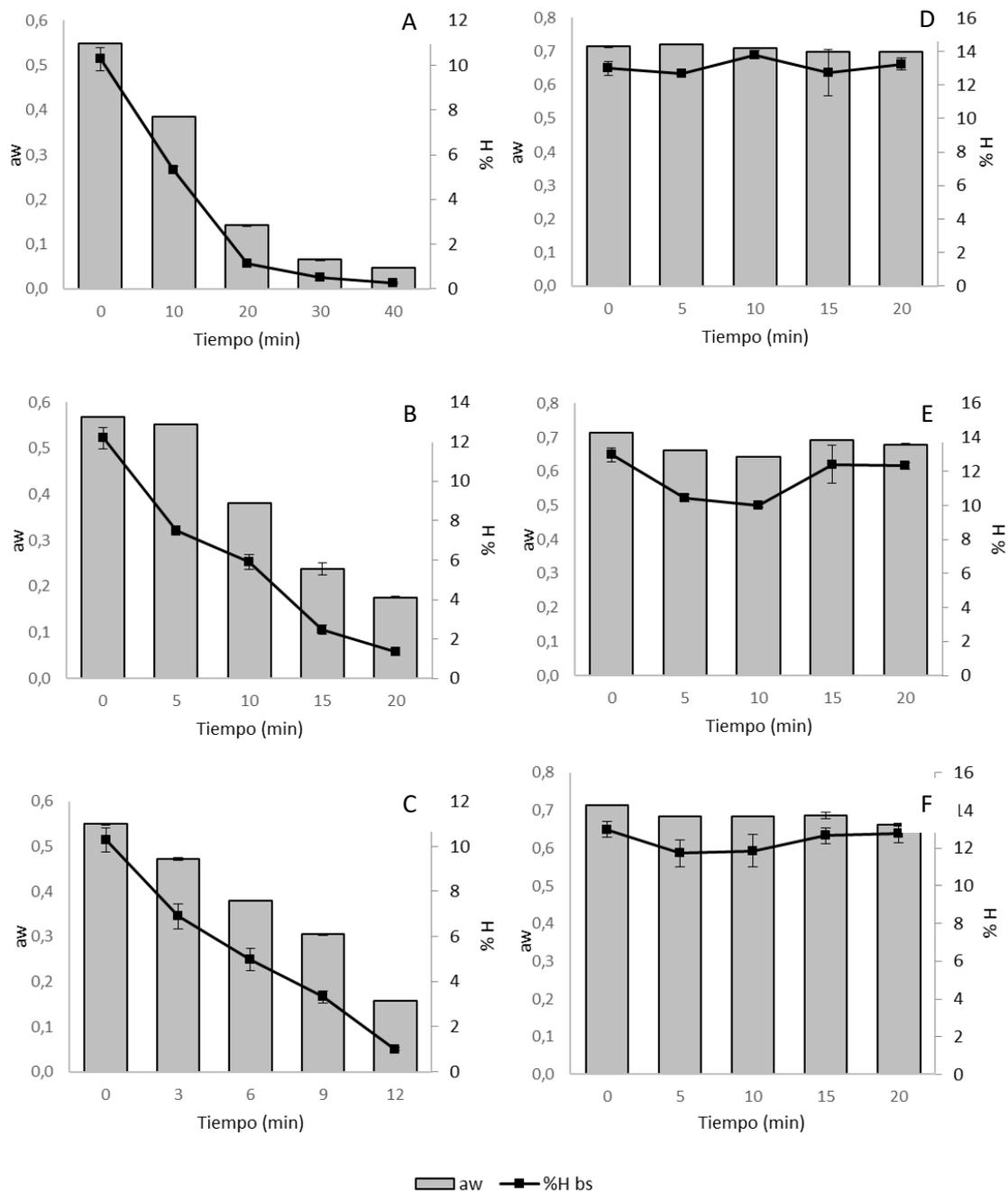


Figura 2.13. Evolución de la actividad de agua para el tratamiento de germe de trigo con aire caliente a 150 °C (A), 180 °C (B) y 200 °C (C) y microondas 50 °C (D), 60 °C (E) y 70 °C (F).

2.3.3.2. Curvas de adsorción y desorción

Se realizó el análisis sorcional sobre 3 muestras de GT a 25 ± 1 °C: muestra de GT no tratado ($12,98 \pm 0,41\%$ de humedad, Molino B), GT tratado con microondas durante 20 min a 70 °C (70-20; $12,76 \pm 0,48\%$ de humedad bs) y germe tratado con calor convectivo por 20 min a 180 °C (180-20; $1,34 \pm$

0,14% de humedad bs). La Figura 2.14 muestra los resultados experimentales de contenido de humedad de equilibrio en función de la actividad de agua obtenidos para el proceso de adsorción y desorción.

En base a la clasificación general de las isothermas de adsorción (Brunauer, Deming, W., & Teller, 1940), se observa que en todos los casos ensayados la curva tiene forma sigmoidea tipo II. La mayor parte de los alimentos corresponden a este tipo de isoterma (Fennema, 1996).

En las isothermas, el punto de inflexión se halló en valores de actividad de agua cercanos a 0,4, lo cual es coincidente con Gili et al. (2017b). Por debajo de este valor se considera que está el valor de formación de la primer monocapa y las multicapas siguientes (Renshaw, Dimitrakis, Robinson, & Kingman, 2018). El agua de monocapa debe ser pensado como una aproximación de la cantidad de agua necesaria para formar una monocapa sobre los grupos polares de la materia seca (Fennema, 1996). El agua de la monocapa se caracteriza por estar ligada fuertemente, no es congelable y no está disponible para reacciones químicas.

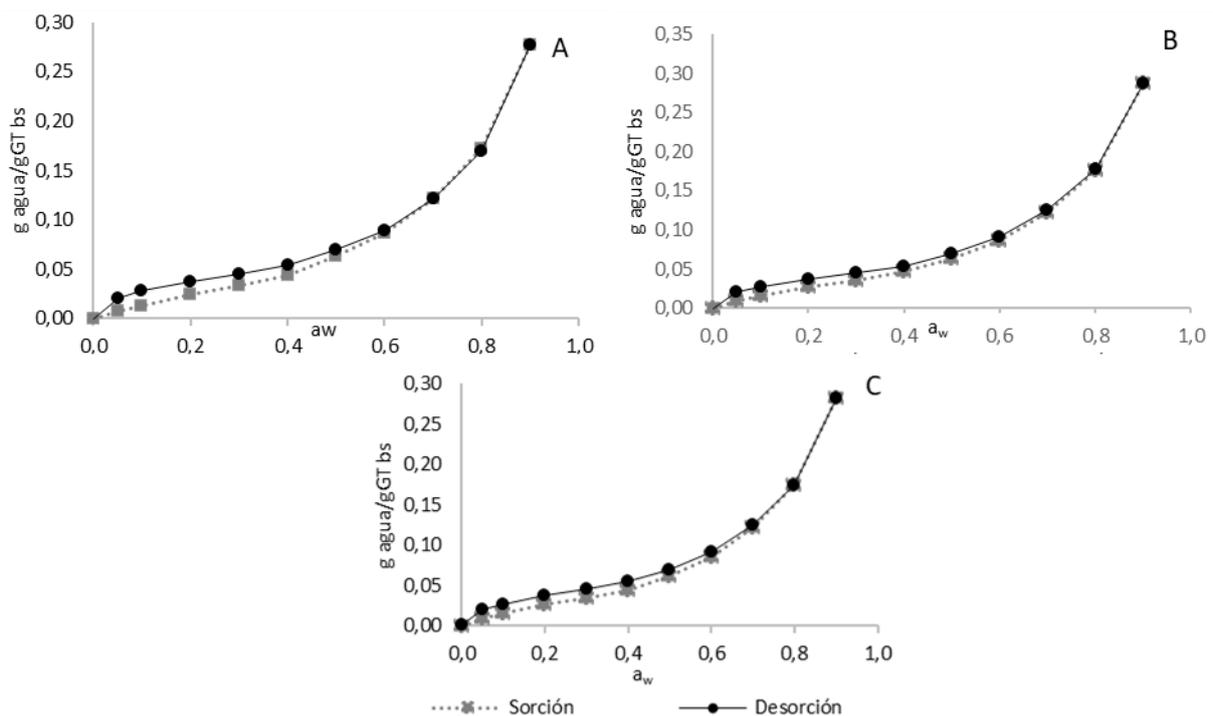


Figura 2.14. Curvas de adsorción y desorción de agua para germen de trigo no tratado (A), tratado durante 20 min en microondas a 70 °C (B) y en estufa a 180 °C (C).

En todos los casos, también quedó en evidencia la irreversibilidad del proceso de adsorción de agua al encontrar diferencias entre las curvas de adsorción y de desorción, como usualmente ocurre en alimentos (Galdeano et al., 2018). La magnitud de la histéresis, la forma de las curvas y los puntos de inicio y terminación de la histéresis pueden variar considerablemente dependiendo de factores

como la naturaleza del alimento, los cambios físicos que suceden cuando el agua es removida o agregada, la temperatura, la velocidad de desorción y el grado de remoción de agua durante la desorción (Fennema, 1996). La histéresis, calculada como la diferencia entre cantidad de agua en equilibrio en la curva de desorción y la de adsorción (g agua/g GT bs) para una actividad de agua determinada, fue mayor en la muestra de germen de trigo no tratado, con respecto a la que recibió los tratamientos. En la muestra no tratada la máxima histéresis fue de 0,014 g agua/g GT bs, mientras que para las muestras tratadas fue de 0,012 g agua/g GT bs. En todos los casos el valor máximo se observó para a_w de 0,1. En general el fenómeno de histéresis se encontró en actividades de agua comprendidas entre 0,05 y 0,7 para el germen no tratado, 0,05 y 0,8 para el germen tratado a 180 °C y el irradiado con microondas.

De acuerdo a las isothermas, el contenido de agua de las muestras corresponde a actividades de agua de 0,73 para germen de trigo no tratado, 0,72 para el irradiado con microondas, y 0,12 para el tratamiento con aire caliente. Según Fennema (1996) el límite crítico para la actividad enzimática y el crecimiento de microorganismos es de 0,6-0,7. Por debajo de este valor, se reducen los procesos de deterioro y el crecimiento de microorganismos. Por estas razones, es recomendable almacenar el germen de trigo en un intervalo de actividad de agua de 0,4-0,5 o lo que es lo mismo, utilizando los datos de las isothermas de adsorción, en un intervalo de humedad de 5 y 8% (bs).

- Modelado de las curvas de adsorción

Se ajustaron los datos experimentales de las curvas de adsorción a los modelos empíricos y semiempíricos descritos anteriormente. Los coeficientes que resultan del ajuste al modelo de GAB y BET se presentan en la Tabla 2.3, mientras que los parámetros de los modelos de Henderson-Thompson (H-T) y Oswin modificado se muestran en la Tabla 2.4. Debido a que el modelo de BET es válido para actividades de agua menores a 0,5 (Al-Muhtaseb, McMinn, & Magge, 2002), se ajustaron las curvas para el intervalo de aplicabilidad. Considerando que el intervalo de mayor interés en el área de los alimentos abarca a_w desde 0,1 hasta 0,9, la ecuación de la isoterma BET presenta una limitación importante para su utilización.

Al restringir los valores de a_w se logró un mejor ajuste y se modificaron algunos parámetros, tomando el parámetro C y W_m valores más cercanos a los obtenidos por GAB. Vale recordar que GAB se basó en la teoría de BET de la monocapa para explicar el fenómeno de adsorción, siendo una versión modificada del primero, considerando un cuarto parámetro de ajuste (K_g).

En general, todos los modelos ensayados obtuvieron un buen ajuste ($R^2 > 0,9$). Si se utiliza como criterio de selección el coeficiente de correlación, el que mejor ajusta es GAB. Ello es coincidente con Gili et al. (2017b). Tanto la muestra tratada en estufa como la tratada en microondas obtuvieron

valores menores de contenido de humedad de monocapa (W_m), siendo mayor la diferencia al irradiar las muestras con microondas. Tal fenómeno se puede deber a la desnaturalización térmica de las proteínas que provocan la exposición de grupos hidrofóbicos, reduciendo los puntos hidrofílicos para el enlace de las moléculas de agua durante la adsorción.

Tabla 2.3. Parámetros determinados a partir del ajuste de los modelos de GAB y BET a los datos experimentales para germen de trigo no tratado (control), germen tratado con microondas a 70°C durante 20 min (70-20) y con aire caliente a 180 °C durante 20 min (180-20).

Modelo	Muestra	W_m	K_g	C	R^2	s
BET $0 < a_w < 0,9$	control	0,030 (0,001)	-	14,009 (0,586)	0,973	0,015
	70-20	0,031 (0,001)	-	15,108 (0,730)	0,978	0,013
	180-20	0,031 (0,001)	-	14,643 (0,771)	0,975	0,014
BET $a_w < 0,5$	control	0,039 (0,001)	-	3,890 (0,503)	0,997	0,001
	70-20	0,036 (0,001)	-	5,852 (0,528)	0,998	0,001
	180-20	0,036 (0,001)	-	5,144 (0,599)	0,997	0,001
GAB $0 < a_w < 0,9$	control	0,053 (0,002)	0,916 (0,007)	2,293 (0,272)	0,999	0,002
	70-20	0,049 (0,002)	0,934 (0,007)	2,964 (0,448)	0,999	0,003
	180-20	0,052 (0,003)	0,923 (0,010)	2,454 (0,434)	0,999	0,003

W_m : contenido de humedad de monocapa, K_g y C constantes de los modelos. Los errores asintóticos standard asociados a cada parámetro se encuentran entre paréntesis.

Se encontró en bibliografía que la actividad enzimática virtualmente cesa a valores de a_w menores al valor de monocapa de BET. Ello se debe a la baja movilidad del sustrato y la dificultad de difundir hacia el sitio reactivo de la enzima. A niveles tan bajos de humedad los cambios químicos también son complejos. Dos de los cambios más importantes que ocurren en alimentos con tan baja a_w son las reacciones de pardeamiento de Maillard y las de oxidación de lípidos. Sin embargo, en general una a_w baja restringe la movilidad de los reactivos y se reduce el pardeamiento. Para a_w más elevadas, el pardeamiento llega a un máximo. El agua es un producto de la condensación durante el pardeamiento y a mayores niveles de agua, las reacciones de pardeamiento disminuyen su velocidad por inhibición por producto. A contenidos de humedad elevados, el agua diluye los reactantes y la velocidad de pardeamiento decae. La oxidación de lípidos ocurre a valores bajos de a_w debido a la intervención de radicales libres. Por encima del valor de monocapa de BET, los antioxidantes y agentes quelantes se solubilizan y reducen la velocidad de oxidación (Blümich, 2005).

En la Figura 2.15 y 2.16 se muestran los datos experimentales y predichos de acuerdo a los modelos ensayados. En general se observa buena correspondencia entre los datos predichos y experimentales.

Tabla 2.4. Parámetros determinados a partir del ajuste de los modelos de Henderson-Thompson (H-T) y Oswin modificado a los datos experimentales para germe de trigo no tratado (control), germe tratado con microondas a 70°C durante 20 min (70-20) y con aire caliente a 180 °C durante 20 min (180-20).

Modelo	Muestra	K	C	N	R ²	s
H-T	control	0,4183 (0,0059)	0,3353 (0,0072)	0,8259 (0,0077)	0,9968	0,0058
	70-20	0,4644 (0,0080)	0,0748 (0,0113)	0,8107 (0,0113)	0,9941	0,008
	180-20	0,4068 (0,0074)	0,1998 (0,0085)	0,8157 (0,0097)	0,9954	0,007
Oswin modif.	control	2,587 (0,0012)	1,278 (0,0009)	1,5138 (0,0014)	0,9976	0,0049
	70-20	0,9357 (0,0009)	3,8114 (1,94E-7)	1,4947 (0,0012)	0,9986	0,0039
	180-20	1,5568 (0,0012)	2,0831 (3,28E-7)	1,5022 (0,0015)	0,9975	0,0051

K, C y N son parámetros de los modelos. Los errores asintóticos standard asociados a cada parámetro se encuentran entre paréntesis.

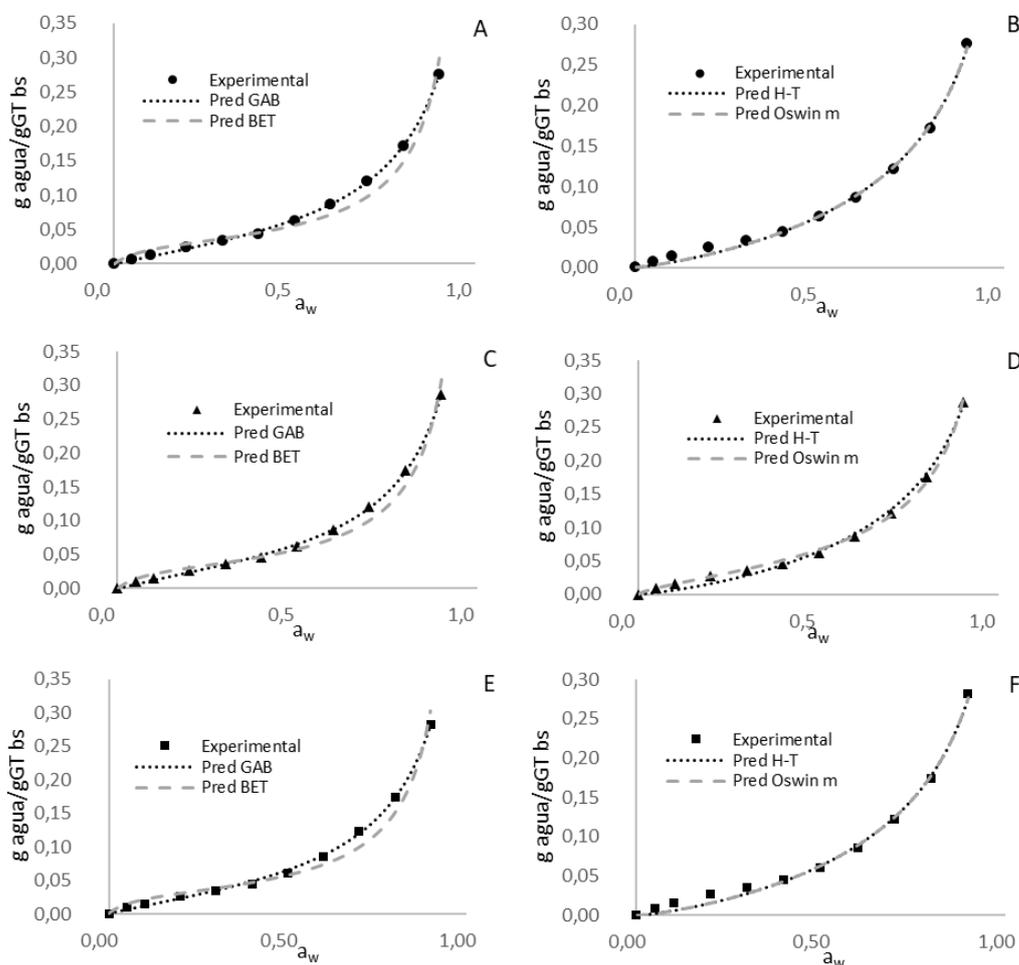


Figura 2.15. Contenido experimental de humedad (bs) en función del contenido de actividad de agua durante adsorción. Datos experimentales de muestras de germe de trigo control (●), tratado con microondas a 70 °C durante 20 min (▲) y tratado en horno convectivo a 180 °C durante 20 min (■). Valores predichos según modelos sorcionales de BET, GAB (A, C y E), Henderson-Thompson (H-T) y Oswin modificado (B, D y F).

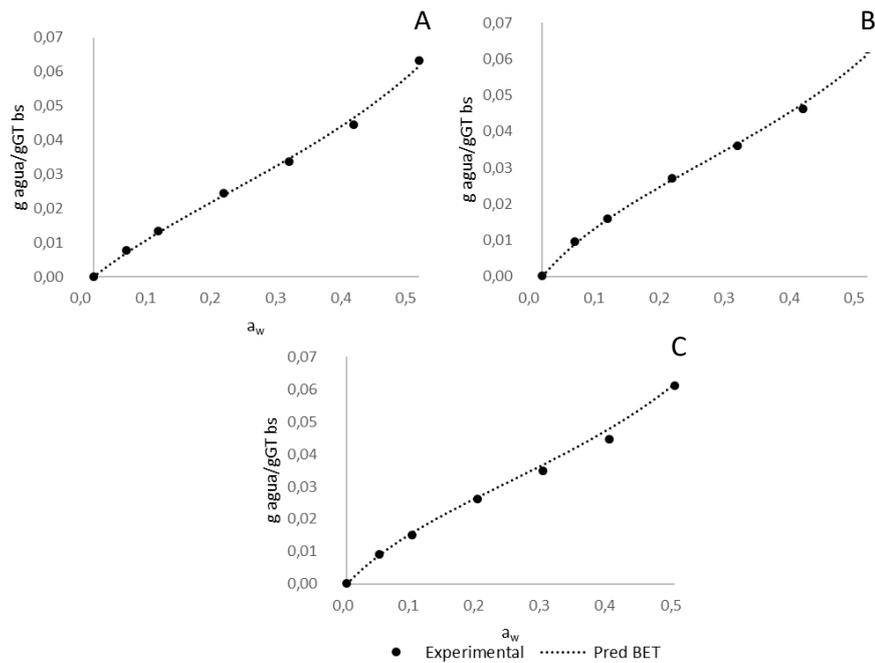


Figura 2.16. Contenido experimental de humedad (bs) en función del contenido de actividad de agua durante adsorción. Datos experimentales de muestras de germen de trigo control (A), tratado con microondas a 70 °C durante 20 min (B) y tratado en horno convectivo a 180 °C durante 20 min (C). Valores predichos según modelo sorcional de BET para actividades de agua menores a 0,5.

Los modelos de Henderson-Thomson y Oswin modificado, a pesar de su simplicidad, obtuvieron predicciones aceptables del contenido de humedad de equilibrio de GT (R^2 entre 0,9941-0,9978 y 0,9975-0,9986, respectivamente). La ecuación de Oswin obtiene mejores predicciones para alimentos con alto contenido de almidón y un ajuste razonable para carnes y vegetales, mientras que se encontraron buenos ajustes del modelo de Henderson – Thomson para productos variados como cebollas, ananás y granos de cocoa (Al-Muhtaseb et al., 2002).

2.3.3.3. Color

Los parámetros de color evidenciaron cambios durante los tratamientos ensayados, especialmente para el calentamiento con aire caliente (150, 180 y 200 °C) (Figura 2.17). Las muestras irradiadas tuvieron pequeñas variaciones, siendo L^* el único parámetro que decayó de manera significativa ($p < 0,05$) con respecto al control, pero de una manera poco evidente, con valores de 64,21 para la muestra no tratada y 62,65 luego de 20 min a 50 °C, 61,74 a 60 °C y 61,28 a 70 °C. Los valores de luminosidad fueron en general más bajos que el del germen no tratado, lo que se asocia a tonalidades más oscuras. Para el tratamiento con aire caliente la disminución de luminosidad fue gradual para la muestra tratada a 180 °C, y efectos similares se observaron a 150 y 200 °C. En general, las muestras se tornaron más rojizas, asociados a mayores valores de a^* , pero sin una tendencia en el tiempo. Los valores de b^* (variación cromática azul-amarillo) y del índice de pardeamiento (BI)

presentaron diferencias significativas con respecto al control en todos los casos ($p < 0,05$), evidenciando tonalidades más amarillentas y naranjas luego del tratamiento con aire caliente. Como es de esperar, las diferencias con respecto al control fueron mayores a temperaturas de tratamiento más elevadas.

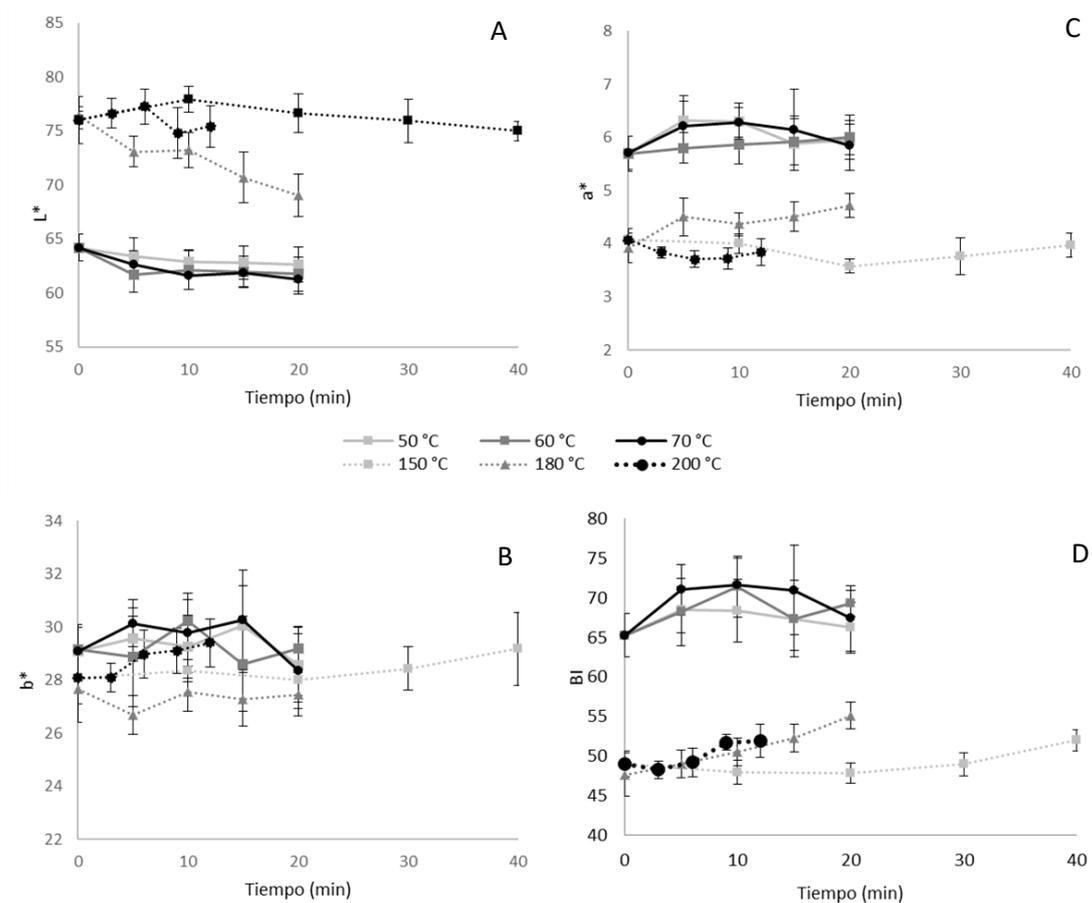


Figura 2.17. Evolución de parámetros de color de germen de trigo tratado en estufa a 150, 180 y 200 °C y en microondas a 50, 60 y 70 °C. L* (A), a* (B), b* (C), índice de pardeamiento (D).

Los valores del índice de pardeamiento mostraron una tendencia creciente con los tratamientos térmicos de las muestras. A 150 °C la diferencia fue significativa solo para el tratamiento más largo, mientras que para 180 y 200 °C los cambios se mostraron a partir de los 5 y 6 minutos, respectivamente. El incremento de BI se asocia al pardeamiento no enzimático por reacciones de Maillard que suceden entre azúcares y aminoácidos y a reacciones de caramelización.

Estos resultados indicaron que el tratamiento con microondas no modificó el color de las muestras de GT, evitando el pardeamiento que suele generar la aplicación de calor sobre los alimentos, como el observado para el tratamiento con aire caliente.

2.3.3.4. Análisis de imágenes del germen de trigo

Se determinó el tamaño de las partículas de germen de trigo y los parámetros de forma basados en imágenes. Los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla 2.5

Tabla 2.5. Propiedades de las partículas de germen de trigo determinadas mediante análisis de imágenes.

	180 °C 0 min	180 °C 20 min	70 °C 0 min	70 °C 20 min
AP (mm ²)	1,46 ± 0,78 A	1,32 ± 0,58 A	1,22 ± 0,69 a	1,31 ± 0,61 a
Perímetro (mm)	7,00 ± 3,43 A	7,02 ± 2,01 A	6,66 ± 3,00 a	6,67 ± 2,19 a
DF (mm)	1,76 ± 0,54 A	1,68 ± 0,41 A	1,51 ± 0,49 a	1,54 ± 0,45 a
Circularidad	0,42 ± 0,16 B	0,34 ± 0,10 A	0,33 ± 0,12 a	0,41 ± 0,13 b
RA	1,58 ± 0,46 A	1,51 ± 0,34 A	1,50 ± 0,33 a	1,45 ± 0,33 a
Solidez	0,87 ± 0,05 A	0,86 ± 0,06 A	0,85 ± 0,05 a	0,87 ± 0,06 a

AP: Área proyectada; DF: diámetro de Feret; RA: relación de aspecto. Valores con letras y tipografías comunes en una misma fila no son significativamente diferentes $p > 0,05$

Se observó una diferencia de tamaño entre las muestras provenientes del Molino A (180 °C 0 min y 180 °C 20 min) y Molino B (70 °C 0 min y 70 °C 20 min). Las del segundo molino presentaron área proyectada, perímetro y diámetro de Feret significativamente inferior, lo que evidencia partículas más pequeñas. En cuanto a la forma, el GT del Molino B tuvo partículas menos esféricas, asociados a menores valores de relación de aspecto y circularidad. Ambos molinos presentaron resultados similares de solidez, próximos a la unidad, lo que indica que las muestras no presentaron bordes cóncavos. Por otra parte, no se evidenciaron cambios significativos en los parámetros de tamaño y forma debido al tratamiento con aire caliente y microondas.

2.3.3.5. Ángulo de reposo

El ángulo de reposo es considerado un parámetro físico que describe el comportamiento de los materiales particulados. En este caso se vio muy poco afectado por el tratamiento con aire caliente (Tabla 2.6), no así por las microondas, pero no se observaron diferencias significativas para los tratamientos analizados ($p < 0,05$).

Tabla 2.6. Ángulo de reposo de germen de trigo no tratado y tratado con aire caliente y microondas

Muestra	Ángulo de reposo
180 °C 0 min	36 ± 1 A
180 °C 20 min	37 ± 1 A
70 °C 0 min	42 ± 1 B
70 °C 20 min	42 ± 1 B

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes $p > 0,05$

El pequeño incremento observado para las muestras con tratamiento con aire caliente se puede atribuir a la diferencia en el contenido de humedad. A mayor contenido de humedad el sistema es más cohesivo y es necesaria una pendiente mayor para que la muestra se deslice (Beakawi Al-Hashemi & Baghabra Al-Amoudi, 2018).

2.3.4. Propiedades térmicas y eléctricas

2.3.4.1. Capacidad calorífica

La Figura 2.18 muestra los valores estimados y experimentales de capacidad calorífica del germen. Los valores estimados fueron menores que los medidos, especialmente considerando la muestra de mayor contenido de humedad (15%). La brecha entre los valores experimentales y estimados se incrementó conforme lo hizo la temperatura.

A pesar de que en ambas curvas se observó un incremento con la temperatura, la capacidad calorífica obtenida mediante las correlaciones de Choi y Okos (1986) tuvieron una mayor dependencia con el contenido de humedad y su valor descendió significativamente a medida que el secado prosiguió. Los valores estimados fueron desde 1,907 a 2,158 kJ/kg/K considerando todas las temperaturas y tiempos.

Los valores promedios de C_p medidos experimentalmente (Molino B) entre los 30 y 90 °C fueron $2,19 \pm 0,01$ kJ/kg K y $2,43 \pm 0,01$ kJ/kg K para la muestra de 6,5% y 15% humedad, respectivamente. Éstos valores resultaron superiores a los obtenidos por Kim et al. (2003) para germen de trigo de 8, 12 y 16% de humedad con 1,08, 1,51 y 1,94 kJ/kg K, respectivamente, o los estimados según las ecuaciones de Siebel que relacionan el C_p al contenido de humedad de la muestra, que arrojaron valores de 1,05 y 1,34 kJ/kg K para muestras de humedad de 6,5 y 15%, respectivamente (Singh & Heldman, 2009).

En el termograma de la muestra de 15% H(bs) (Figura 2.18.) se observan 2 picos, a diferencia de la curva de la muestra de 6,5% H (bs), que solo tiene uno de ellos. Estos picos entre 60 y 80 °C se pueden atribuir a cambios estructurales de la muestra. Estudios previos sobre proteínas aisladas de germen (Meriles, Steffolani, Leon, Penci, & Ribotta, 2019) muestran que la desnaturalización proteica sucede entre los 80 y 90 °C, por lo tanto los picos observados no pueden atribuirse a éstas fracciones.

Otros alimentos, como almendras, avellanas y maní presentan un valor de C_p a temperatura ambiente de 2,20, 2,09 y 2,23 kJ/kg K (ASHRAE, 2006). Alimentos más húmedos como papas y manzanas tienen valores de C_p más elevados (3,43 y 3,59 kJ/kg K respectivamente), mientras que metales normalmente utilizados en industria alimenticia como aluminio o acero inoxidable se caracterizan por tener capacidades caloríficas menores (0,89 y 0,46 kJ/kg K, respectivamente) (Fellows, 2000).

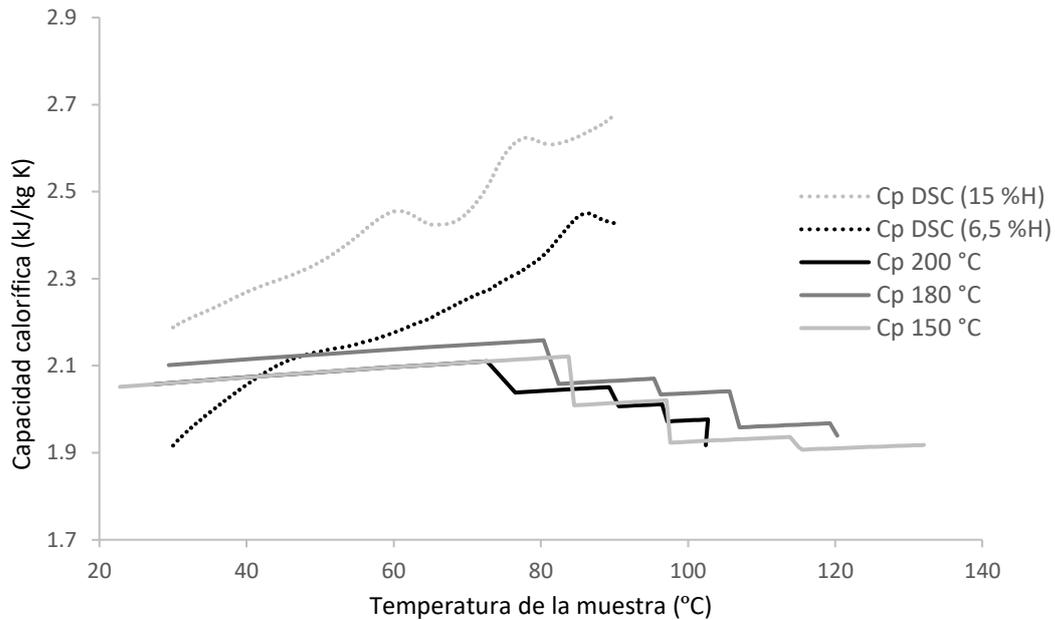


Figura 2.18. Capacidad calorífica específica de germen de trigo en función de la temperatura de la muestra durante calentamiento térmico a (150, 180 y 200 °C). Cp 150, Cp 180 y Cp 200 se estimaron según correlaciones de Choi & Okos (1986). También se muestra el Cp medido por DSC a 2 contenidos de humedad (Cp DSC 15% H (bs) y Cp DSC 6,5%).

2.3.4.2. Conductividad térmica

Se calculó la conductividad térmica de las partículas de germen de trigo considerando la variación de la temperatura y composición (Figura 2.19). Los “escalones” observados en las curvas se deben a los cambios en el contenido de humedad de la muestra. La conductividad térmica varió entre 0,33 y 0,66 W/m K.

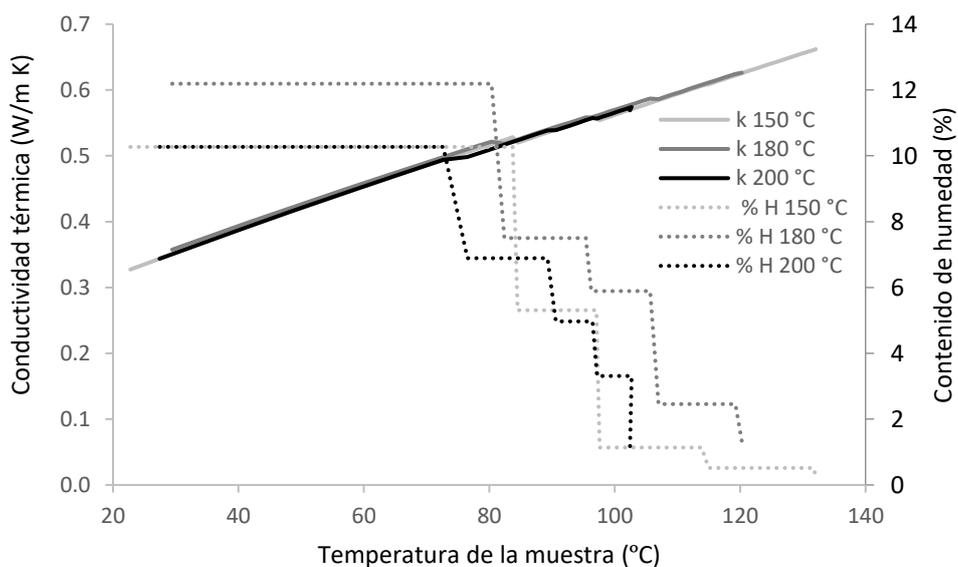


Figura 2.19. Conductividad térmica de germen de trigo en función de la temperatura de la muestra y la composición (Choi & Okos, 1986).

Se observó un incremento continuo en función de la temperatura y el tiempo. Otros autores determinaron experimentalmente la conductividad del germen de trigo, obteniendo valores entre 0,054 y 0,090 W/m K, con una gran dependencia del contenido de humedad (Kim et al., 2003). Otros autores reportaron valores entre 0,2 y 0,25 W/m K para granos de trigo (Sergio A. Giner & Mascheroni, 2001).

2.3.4.3. Propiedades dieléctricas

Las propiedades dieléctricas son los principales parámetros que brindan información sobre la interacción de los materiales con energía electromagnética durante el calentamiento dieléctrico. Estas propiedades ganaron interés en la aplicación de alimentos que se someten a tratamientos con microondas o radiofrecuencias. El conocimiento de las propiedades dieléctricas de un alimento en particular es fundamental para comprender y modelar la respuesta del material en un campo electromagnético, a ciertas frecuencias y temperaturas (Sosa-Morales, Valerio-Junco, Lopez-Malo, & Garcia, 2010).

Las propiedades dieléctricas son básicamente 2: la constante dieléctrica (ϵ') describe la habilidad de un material para almacenar la energía cuando se somete a un campo eléctrico e influye en la distribución y la fase de las ondas a través del material, y el factor de pérdida (ϵ'') que describe la habilidad de disipar energía en respuesta a un campo eléctrico aplicado o varios mecanismos de polarización, que comúnmente resulta en generación de calor. La cantidad de energía térmica convertida en el alimento es proporcional al valor del factor de pérdida (Sosa-Morales et al., 2010).

Según los valores aquí obtenidos (Tabla 2.7), el GT, al igual que otros alimentos, puede ser considerado dieléctricamente inerte ($\epsilon' < 3$ y $\epsilon'' < 0,1$) y al compararlo con fluidos acuosos iónicos o agua, puede ser considerado como transparente a la energía (Sosa-Morales et al., 2010).

Se ensayaron diferentes temperaturas de muestra y se evaluaron las propiedades dieléctricas de germen de trigo no tratado proveniente del Molino B. No se encontró tendencia con la temperatura, lo que se adjudica a que la muestra no llegó a equilibrio térmico en el baño (a mayores temperaturas de baño, mayor fue la diferencia con respecto a la temperatura efectiva de la muestra), a la presencia de aire entre partículas que actúa como aislante y al escaso contacto entre el germen de trigo y la sonda. Cabe recordar que el método de la sonda coaxial es recomendado para líquidos y semisólidos, mientras que para la utilización en sólidos la superficie en contacto con la sonda debe ser plana (Nelson, 2015), aunque igualmente se encuentran aplicaciones de este método en otros cereales y oleaginosas (Boldor, Sanders, & Simunovic, 2004; Nelson, 2015).

Por lo general los alimentos, y el germen de trigo en particular, tienen mayores valores de constante dieléctrica (ϵ') y factor de pérdida (ϵ'') al aumentar la temperatura y el contenido de humedad debido

principalmente al incremento de la movilidad de los iones que favorece la polarización de las moléculas y la conductividad iónica (Ling et al., 2018).

Tabla 2.7. Propiedades dieléctricas de germen de trigo

T baño (°C)	T muestra (°C)	ϵ'		ϵ''	
20	20	1,42 ±	0,16	0,16 ±	0,03
40	30,5	1,99 ±	0,27	0,39 ±	0,10
50	33	1,20 ±	0,14	0,20 ±	0,06
60	45,4	1,50 ±	0,12	0,15 ±	0,04
70	50,3	1,57 ±	0,15	0,13 ±	0,04

n=400

Ling et al. (2018) evaluaron las propiedades dieléctricas del GT no tratado (7,05% de humedad) en el rango de las radiofrecuencias (frecuencias mucho menores que microondas, entre 1-50 MHz), obteniendo valores de 2,78 y 0,30 a 25 °C y de 4,33 y 0,54 a 70 °C para ϵ' y ϵ'' , respectivamente. Las propiedades dieléctricas de la mayoría de los materiales varían con muchos factores. En materiales higroscópicos como productos agroindustriales, la cantidad de agua es en general el factor dominante, aunque también dependen de la frecuencia del campo eléctrico aplicado, la temperatura del material, la densidad, la composición y la estructura del material. En materiales particulados, la densidad aparente es otro aspecto importante. Las dependencias con la frecuencia y temperatura de las propiedades dieléctricas de la mayoría de los materiales son complicadas y deben ser determinadas experimentalmente a las frecuencias y condiciones de interés (Nelson, 2015). Por este motivo comparaciones con otras matrices resultan de análisis complejo ya que deben realizarse en condiciones específicas.

2.4. CONCLUSIÓN

En el presente capítulo se analizó la efectividad de los tratamientos con aire caliente sobre la actividad enzimática del germen de trigo. Tratamientos de 40 min a 150 °C, 20 min a 180 °C y 12 min a 200 °C llevaron a actividades residuales por debajo del 6% en ambos casos.

Durante el tratamiento con microondas la generación de calor fue un factor importante a controlar. En el equipo utilizado las temperaturas más elevadas se observaron en la zona más alejada del lugar de incidencia de las ondas. Tratamientos a 60 °C y 70 °C durante 20 min provocaron una inactivación parcial y total de la lipasa, respectivamente, mientras que la lipoxigenasa no fue afectada por la irradiación de microondas en las condiciones ensayadas.

Durante el tratamiento con aire caliente la pérdida de humedad fue importante, lo que afectó también la actividad de agua del sistema. En contraste, el contenido de humedad y la actividad de agua no fueron afectados significativamente por las microondas. En cuanto al comportamiento durante la sorción y desorción de agua, el germen de trigo reprodujo una isoterma de tipo II y

presentó histéresis. El valor de contenido de humedad de monocapa disminuyó para ambos tratamientos con respecto al control, lo que se atribuye principalmente a la desnaturalización proteica. El modelo que describe mejor el comportamiento durante la adsorción de agua en todo el rango de a_w fue el de GAB.

No se vieron afectadas las propiedades dimensionales ni los descriptores de forma como consecuencia de ambos tratamientos. El pardeamiento no enzimático se evidenció con el cambio de coloración durante el tratamiento con aire caliente, no así durante la aplicación de microondas.

En conclusión, el tratamiento convencional con aire y el de microondas produjeron diferentes mecanismos de transferencia de calor y de acción sobre las enzimas, otorgando efectos diferentes sobre las propiedades físicas.

CAPÍTULO 3

**Efecto de los tratamientos
térmicos sobre las
propiedades químicas y
funcionales del germen**

CAPÍTULO 3: Efecto de los tratamientos térmicos sobre las propiedades químicas y funcionales del germen

3.1. INTRODUCCIÓN

Los cambios físicos y químicos que ocurren durante el procesado de alimentos imparten ciertas propiedades al producto final, pero en la mayoría de los casos con los tratamientos térmicos convencionales se registra una pérdida de nutrientes y alteración de sus propiedades organolépticas. Un manejo adecuado de estas reacciones y cambios físico-químicos son necesarios para asegurar que el producto mantenga su valor nutricional y vida útil extendida (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 1996).

3.1.1. Efecto sobre los lípidos

El estudio de los fenómenos que ocurren en la fracción lipídica de un alimento durante el procesamiento resulta relevante debido a que el desarrollo de ciertas reacciones se asocia a grandes problemas de calidad. Su estudio puede permitir evaluar entre otras cosas si se preservaron ciertos atributos considerados nutricionalmente beneficiosos, como el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, o prevenir el desarrollo de atributos sensorialmente desfavorables como aromas y sabores asociados al enranciamiento. Por ejemplo, algunos autores encontraron particularmente en germen de trigo, una mayor pérdida de ácidos grasos insaturados como el linoleico y linolénico cuando el germen es tratado en lecho fluidizado y horno rotativo, con respecto al material secado al vapor (Srivastava et al., 2007), coincidiendo con desarrollo de olores y sabores desagradables en las muestras del primer grupo. Por otra parte, Sjövall et al. (2000) sugirieron que incluso un tratamiento a temperaturas bajas con microondas mejora la estabilidad oxidativa del germen de trigo. En otras matrices, al comparar el efecto de diferentes tecnologías sobre la calidad lipídica del producto, Thanonkaew Wongyai, McClements, & Decker (2012) observaron que la estabilización de salvado de arroz obtuvo mejores parámetros de índice de peróxidos y acidez para tratamientos de microondas con respecto a la aplicación de aire caliente y vapor. Queda claro también que las reacciones que ocurran dependen de la extensión de cada tratamiento y condiciones utilizadas.

Otro factor que influye de manera relevante en la oxidación de lípidos es la actividad de agua. Si un alimento es susceptible a la oxidación, como sucede en los granos de los cereales por el contenido de ácidos grasos insaturados, es necesario tener en cuenta que la velocidad relativa de oxidación es máxima a valores intermedios en el rango de actividad de agua, entre 0,55 y 0,85, y alta para valores

de 0 a 0,2. Ello se debe a que el agua actúa principalmente como solvente, moviliza reactantes y puede interactuar químicamente o mediante unión por puente de hidrógeno con otras especies (Labuza & Dugan Jr, 1971).

Asimismo, la oxidación también es responsable de inestabilidad de pigmentos, pérdida de vitaminas e inicializa en algunas ocasiones reacciones no enzimáticas (Rahnan, 2002). En arroz por ejemplo, el tratamiento con microondas resultó positivo para la inactivación de las enzimas, pero disminuyó sensiblemente el contenido de tiamina, siendo mayor su efecto a potencias elevadas (Zhong et al., 2013).

3.1.2. Efecto sobre las proteínas

La disponibilidad de los aminoácidos de las proteínas en los alimentos puede verse reducida como resultado de un procesamiento térmico excesivo, como ocurre por ejemplo en la producción de leche en polvo, concentrados de proteína de pescado, expeller de oleaginosas y galletitas enriquecidas con proteína (FAO/WHO, 1973).

La desnaturalización térmica de las proteínas es un campo con alta repercusión en la calidad y textura de un alimento, y depende en parte de la cantidad de agua presente. El tostado también genera sabores particulares y colores dorados asociados a las reacciones de Maillard en el que se consumen aminoácidos (Ibanoğlu, 2002).

En germen de trigo, la temperatura de secado puede disminuir la solubilidad de las proteínas para su extracción, o reducir el número de grupos -SH (Shurpalekar & Rao, 1977). Por otra parte, un efecto similar se reportó en el uso de microondas, que disminuyó la extractabilidad de las proteínas (Vetrimani et al., 1992).

Ahora bien, no todos los efectos de la temperatura sobre los alimentos son negativos. Algunos compuestos específicos de las plantas, sintetizados mayormente para proteger a las semillas de los insectos o virus y hongos, conocidos como factores antinutricionales, pueden verse reducidos drásticamente durante los procesos térmicos (Caballero, 2003). Algunos factores antinutricionales presentes en el germen de trigo son el ácido fítico, lectinas e inhibidor de tripsina (Boukid et al., 2018). El ácido fítico acompleja minerales importantes para la nutrición humana, por lo que limita su biodisponibilidad. Las lectinas o aglutininas son un grupo de proteínas o glicoproteínas naturales que incrementan la permeabilidad intestinal y pueden dañar su revestimiento. Por su parte, los inhibidores de tripsina tienen la capacidad de bloquear la absorción de proteínas y digestión a través de la inhibición de la tripsina pancreática y la quimotripsina en el intestino (Avilés-Gaxiola et al., 2018; Caballero, 2003). Durante el procesamiento térmico de germen de trigo para su estabilización se

producen reacciones en paralelo, o efectos colaterales entre los cuales puede ocurrir la degradación de algunos factores antinutricionales que mejoren su aprovechamiento (Avilés-Gaxiola et al., 2018)

3.1.3. Efecto sobre compuestos antioxidantes

En los tejidos vivos, los componentes lipídicos lábiles, como los ácidos grasos insaturados, son suficientemente estables. Los antioxidantes y enzimas naturales previenen eficazmente la oxidación prematura de lípidos. Una vez aislados de los materiales animales o vegetales y utilizados en alimentos procesados, los lípidos se autooxidan fácilmente. Como resultado, se reduce la calidad organoléptica y nutricional, e incluso se pueden formar productos tóxicos. Por tanto, el retraso de la autooxidación es una clave para la calidad del producto (Krings & Berger, 2001).

El tostado del germen de trigo no solo mejora la estabilidad al prevenir la autooxidación de ácidos grasos que generan pérdida de calidad, sino que también puede mejorar la actividad antioxidante y genera propiedades protectoras del ADN frente a la acción de los radicales libres (Krings et al., 2006). El incremento de la actividad antioxidante de extractos etanólicos de germen de trigo tostado a elevadas temperaturas (160- 200 °C) en comparación con germen de trigo no tratado se atribuye a los antioxidantes formados durante las reacciones de Maillard (Zou et al., 2018). Además, Krings et al. (2001) encontraron que el germen de trigo tostado presentó mayor actividad antioxidante que otros alimentos tostados como avellana y almendra dulce, siendo solo superado por extractos de café. Durante el tratamiento térmico intenso de café, se observó el mismo fenómeno que en germen de trigo, donde la pérdida gradual de capacidad antioxidante de los componentes naturales se minimiza por la formación de los productos de reacción de pardeamiento no enzimático (Caballero, 2003).

En germen de trigo, también se observó que las interacciones de los compuestos fenólicos con las proteínas pueden conducir a la formación de complejos solubles o insolubles. Estas interacciones pueden tener un efecto negativo en la biodisponibilidad de los polifenoles, y disminuir su extractabilidad durante los ensayos *in vitro*. Algunos tratamientos como la hidrólisis enzimática o la fermentación pueden modificar en gran medida el patrón de interacciones de polifenoles y proteínas. Algunos de los polifenoles unidos a proteínas al transformarse en polifenoles solubles libres resultan beneficiosos para la actividad antioxidante (Liu, Chen, Shao, Wang, & Zhan, 2017).

En resumen, al considerar al alimento como un sistema multicomponente se debe tener en cuenta la ocurrencia de varios fenómenos de manera simultánea e interrelacionada durante el procesamiento térmico, que pueden afectar sus propiedades químicas, físicas y sensoriales. Por ejemplo, si durante el proceso se pierde agua y se reduce su disponibilidad, esto afecta no solo la probabilidad de crecimiento de microorganismos, sino la velocidad de oxidación, desarrollo de color, movilidad de las moléculas que puedan reaccionar, etc. (Blümich, 2005). Por lo que resulta necesario

profundizar en los efectos del tipo y magnitud de los tratamientos térmicos sobre las propiedades físico-químicas del germen para comprender los posibles fenómenos de deterioro de la matriz.

Con lo dicho hasta aquí, en el presente capítulo se analizaron los efectos de los tratamientos con aire caliente y microondas sobre los principales cambios en las fracciones responsables de la calidad nutricional y tecnológica del germen.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Muestras

Las muestras de germen utilizadas en este capítulo se obtuvieron y prepararon de acuerdo al procedimiento descrito en el Capítulo 1.

3.2.2. Tratamientos térmicos del germen de trigo

Las muestras de germen se procesaron térmicamente con aire caliente y microondas según los procedimientos experimentales detallados en el Capítulo 2, sección Estabilización de germen de trigo, tratamiento con aire caliente y tratamiento con microondas. Las muestras analizadas se detallan en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Condiciones ensayadas de germen de trigo en el trabajo de tesis.

Tecnología	Temperatura de seteo (°C)	Tiempo (min)
Tratamiento con aire caliente	150	10, 20, 30, 40
	180	5, 10, 15, 20
	200	3, 6, 9, 12
Microondas	50	5, 10, 15, 20
	60	5, 10, 15, 20
	70	5, 10, 15, 20

3.2.3. Efecto sobre la fracción proteica

Se estudió el efecto de las tecnologías térmicas sobre las propiedades de las proteínas del germen de trigo. Para ello se aislaron las proteínas, se realizó la determinación de las propiedades funcionales: índice de solubilidad de nitrógeno (NSI), capacidad de retención de agua (WHC) y aceite (OHC), capacidad de formación (FC) y estabilidad de espuma (FS). Además, se realizó la extracción secuencial de proteínas, todo ello según lo detallado en el Capítulo 1, sección Calidad proteica. Los análisis se realizaron por triplicado.

3.2.3.1. Propiedades funcionales

La determinación del índice de solubilidad de nitrógeno (NSI) se realizó sobre la muestra tratada a 180 °C y 70 °C, considerando los tiempos iniciales (t_0), intermedios (5 min) y finales (20 min).

La capacidad de retención de agua y aceite (WHC, OHC) se determinó sobre las muestras a 180 °C y todas las muestras irradiadas con microondas (50, 60 y 70 °C).

La capacidad de formación de espuma (FC) y estabilidad de espuma (FS) se evaluó solo en las muestras tratadas por diferentes tiempos a 180 °C por no contar con suficiente cantidad de muestras tratadas con microondas.

3.2.3.2. Grado de desnaturalización proteica

El análisis térmico se realizó de acuerdo a lo descrito en el Capítulo 1, sección Calidad proteica, Análisis térmico de las proteínas. Los porcentajes de proteína nativa luego de cada tratamiento se obtuvieron de las áreas debajo de los picos del termograma. El grado de desnaturalización se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación (Dima, Barón, & Zaritzky, 2012):

$$DDeg = \frac{\Delta H - \Delta H_t}{\Delta H} * 100$$

Donde *DDeg* es el grado de desnaturalización (%), ΔH es la entalpía de desnaturalización del aislado de germen de trigo no tratado (J/g), y ΔH_t es la entalpía de desnaturalización de la proteína sometida a distintos tiempos de calentamiento (J/g). Los análisis se realizaron sobre el germen de trigo no tratado y tratado durante diferentes tiempos a 180 °C con tratamiento con aire caliente y a 70 °C con microondas. Los ensayos se realizaron por duplicado.

3.2.3.3. Extracción secuencial de proteínas

El fraccionamiento se realizó partiendo de 300 mg de germen de trigo molido, según el método propuesto por Steffolani et al. (2010) con algunas modificaciones. Cada paso de extracción se realizó bajo agitación constante durante 2 h con cada solvente, seguido por centrifugación para separación de fases (10.000xg, 30 min en el primer paso, y 10.000xg 10 min en los pasos siguientes). Para la extracción secuencial de proteínas se utilizaron 3 soluciones: buffer fosfato (0,05 M, pH 6,4; F1), buffer fosfato (0,05 M, pH 6,4) con 2% p/v de SDS (F2) y buffer de muestra (0,063 M Tris-HCl pH 6,8, 1,5% p/v SDS, 3% v/v 2-mercaptoetanol, 10% v/v glicerol y 0,01% p/v azul de bromo fenol; F3). El contenido de cada fracción se determinó por método micro-Kjeldahl (AACC, 2000) (Nx5,45) y las bandas de proteínas fueron separadas y caracterizadas mediante SDS-PAGE. Se realizó la extracción secuencial sobre el germen de trigo no tratado y tratado durante 20 min a 180 °C con aire caliente y a 70 °C con microondas.

- SDS-PAGE

Se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida de las fracciones F1, F2 y F3 utilizando el método descrito por Laemmli (Laemmli, 1970). Las fracciones se resuspendieron en buffer de muestra (0,063 M Tris-HCl pH 6,8, 1,5% p/v SDS, 3% v/v BME, 10% v/v glicerol y 0,01% p/v azul de bromofenol) utilizando las siguientes cantidades: 200 μ L de F1 y F2 y 100 mg de F3. Se mezclaron con 100 μ L de buffer de muestra. En el caso de F3 se agregó agua destilada (200 μ L) a 100 μ L de buffer de muestra para llegar a la dilución final. Luego, todas las muestras fueron calentadas a 100 °C durante 5 min, enfriadas y centrifugadas (10.000xg, 10 min, 25 °C). Los sobrenadantes resultantes de las extracciones de proteínas fueron las fracciones F1, F2 y F3 en condiciones reductoras. Se realizó electroforesis en geles de 70 x 80 x 0,75 mm usando un equipo Mini Protein II cell (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA). Se usó un gel de acumulación y de separación con 4% y 12% de acrilamida respectivamente. Se utilizaron marcadores estándar de peso molecular Bio-Rad (unstained SDS-PAGE Standards, broad range, #1610317). Las bandas se tiñeron con una solución de 0,25% v/v Coomassie Brilliant Blue en metanol, agua y ácido acético (4:5:1 v/v), y desteñidos en metanol, agua y ácido acético (4:5:1 v/v).

3.2.4. Efecto sobre la fracción lipídica

La extracción de aceite, determinación de índice de peróxidos (PV), acidez (AV), perfil de ácidos grasos y contenido total de tocoferoles (TTC) se realizó sobre las muestras tratadas con aire caliente y microondas de acuerdo a lo detallado en el Capítulo 1, sección Calidad de aceite. Se trabajó con las muestras tratadas con aire caliente (150, 180 y 200 °C) y microondas (50, 60 y 70 °C) para todos los ensayos, a excepción del perfil de ácidos grasos, que se restringió a las muestras crudas y tratadas durante 20 min a 180 °C, y 70 °C. Las determinaciones se realizaron al menos por duplicado.

3.2.5. Compuestos volátiles

El análisis de los compuestos volátiles del germen de trigo se realizó mediante microextracción en fase sólida seguida de CG-MS-MS. Las muestras de germen de trigo (4 g), se colocaron en viales de vidrio de 10 mL de capacidad, fueron sellados con tapón de silicona y almacenados a -10 °C hasta el momento de su análisis.

Para la extracción de los compuestos volátiles (adsorción) se utilizó una microfibra de 100 μ m recubierta con divinilbenceno/carboxeno sobre polidimetilsiloxano (Supelco, Sigma Aldrich). Una vez que la misma se introdujo en el espacio de cabeza del vial, la muestra se calentó a 30 °C durante 30 min. Transcurrido este tiempo, la fibra fue retirada del vial e inmediatamente insertada en el puerto de inyección de un cromatógrafo gaseoso acoplado a un espectrómetro de masa (Perkin Elmer, Clarus 600). La separación de los componentes de la mezcla se realizó en una columna capilar DB5

(30 m, 0,25 mm ID, 0,25 μ m). Se empleó helio como gas portador (1 mL/min). La temperatura del horno se programó desde 30 °C (5 min) hasta 200 °C (5 min) a razón de 5 °C/min. Las temperaturas del inyector y del detector se fijaron en 250 °C. La muestra se inyectó en modo *splitless*. Los compuestos volátiles se identificaron por comparación con datos de espectros de masa obtenidos de compuestos puros (estándares) de referencia. El cromatograma fue obtenido en modo "scan", desde $m/z = 50$ a $m/z = 350$ (scan time: 0,2 s, inter-scan time: 0,1s), solvent delay: 5 min. Los datos fueron adquiridos empleando el programa TurboMass 5.4.2. Los ensayos se realizaron al menos por duplicado.

3.2.6. Efecto sobre la actividad antioxidante

La preparación de extractos de polifenoles, cuantificación de polifenoles totales, capacidad de captura de radicales libres (ABTS^{•+}) y poder de reducción antioxidante de ion férrico (FRAP) se realizó según lo expuesto en el Capítulo 1, sección Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro*. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.2.7. Análisis estadístico

Se aplicó análisis de la varianza (ANOVA) a los datos, las medias se compararon mediante el test LSD (diferencia mínima significativa)-Fisher con un nivel de significancia de 0,05. Se utilizó el software estadístico Infostat (Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba)(Di Rienzo et al., 2011).

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Efecto sobre la fracción proteica

3.3.1.1. Contenido de proteínas aislado

El contenido total de proteínas de los aislados obtenidos para los diferentes tratamientos se muestran en la Tabla 3.2. Se observa una diferencia notable entre la concentración obtenida para los tratamientos con aire caliente con respecto al de muestras irradiadas por microondas, como se detalló en el Capítulo 1, donde se adjudicó las diferencias a la procedencia del material ya que provienen de distintos molinos y campañas.

Al evaluar el efecto de las tecnologías sobre el germen de trigo, se observó un incremento de la extractabilidad de las proteínas en ambos casos. Para el tratamiento con aire caliente el crecimiento fue gradual y significativo ($p < 0,05$) para todos los tiempos ensayados. Para los aislados de proteínas del germen tratado con microondas, se observaron diferencias significativas con respecto al control a partir de los 5 min de calentamiento, a 60 y 70 °C, observándose a tiempos más largos pocas variaciones. Esta facilidad relativa para purificar las proteínas de las muestras tratadas con respecto al no tratado se puede atribuir a la modificación conformacional de proteínas inducidas por calor

que al cambiar la disposición pueden quedar más disponibles para solubilizarse y/o precipitar durante el procedimiento de obtención. Además, durante la irradiación con microondas se producen cambios a nivel estructural como generación de poros en las membranas por aumento de la presión de vapor, y liberación de compuestos que no estarían disponibles en su estado nativo, por lo que los compuestos no proteicos podrían ser extraídos luego del tratamiento. De hecho, se utiliza este principio en técnicas de desarrollo incipiente como extracción asistida por microondas o extracción sin solventes. En ellas el calentamiento interno del agua *in situ* dentro del material vegetal por acción de las microondas distiende las células vegetales y conduce a la ruptura de organelas y receptáculos oleíferos, y facilita la separación de aceites, aceites esenciales o compuestos bioactivos (Chemat et al., 2019; Sosa-Morales et al., 2010). Asimismo, otros autores (Thanonkaew et al., 2012; Uquiche, Jeréz, & Ortíz, 2008) utilizaron las microondas como técnica complementaria previa a la extracción por prensado para mejorar el rendimiento de extracción de aceite en salvado de arroz o avellanas.

Tabla 3.2. Contenido de proteínas del aislado proteico de muestras tratadas con aire caliente a 180 °C y con microondas a 50, 60 y 70 °C.

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Contenido de proteínas (%)		
180	0	80,57	± 0,84	A
	5	80,67	± 0,92	A
	10	81,88	± 1,95	A, B
	15	83,13	± 1,68	A, B
	20	84,93	± 0,26	B
50	0	67,78	± 2,07	A, B
	5	72,91	± 0,73	A, B
	10	71,66	± 0,63	A, B
	15	73,73	± 1,64	B
	20	66,43	± 5,29	A
60	0	67,78	± 2,07	A
	5	75,22	± 0,41	B, C
	10	77,08	± 1,08	C
	15	73,16	± 1,55	B
	20	74,86	± 0,18	B, C
70	0	67,78	± 2,07	A
	5	74,50	± 0,34	B
	10	77,04	± 0,86	B
	15	77,44	± 1,22	B
	20	76,19	± 1,88	B

Valores con letras comunes en una misma columna no son significativamente diferentes $p > 0,05$

3.3.1.2. Extracción secuencial de proteínas

La extracción secuencial de las proteínas de germen de trigo utilizando diferentes solventes dio información sobre el efecto del procesamiento térmico en la estructura de las proteínas y las interacciones establecidas entre ellas.

Los resultados del contenido de proteínas de las 3 fracciones (F1, F2 y F3) para las muestras tratadas con aire caliente y en microondas se presentan en las Figuras 3.1 y 3.2, respectivamente. El análisis mostró que las proteínas del GT no tratado fueron mayormente solubles en su estado nativo (F1), mientras que otra porción significativamente menor a la primera se solubilizó una vez que se rompieron los enlaces no covalentes tanto hidrofóbicos como electrostáticos al agregar un detergente no iónico como SDS (F2). Por último, una fracción minoritaria, cercana al 10% no logró extraerse y permaneció en forma de precipitado.

Se observaron algunas diferencias entre las muestras no tratadas y las sometidas a tratamiento con aire caliente e irradiadas con microondas, sin embargo, la distribución general (F1>F2>F3) se mantuvo constante durante todos los tiempos ensayados, variando solo los porcentajes relativos.

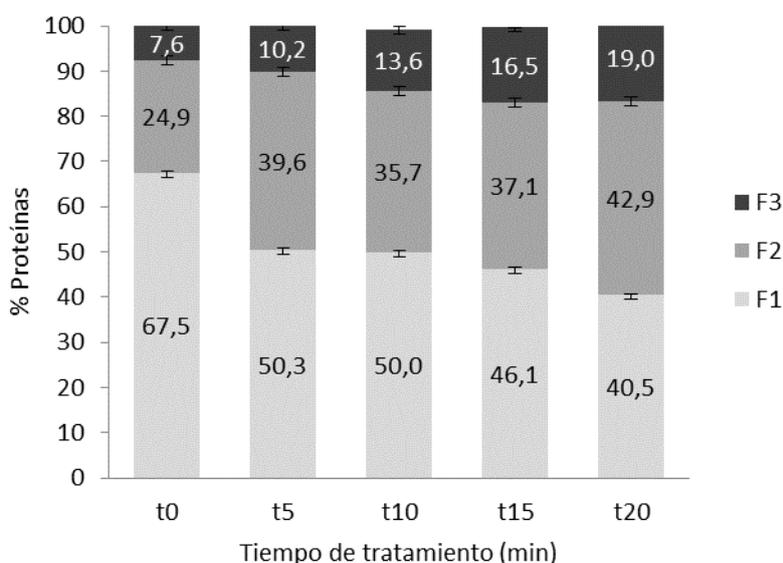


Figura 3.1. Extracción secuencial de proteínas de germen de trigo tratado con aire caliente durante diferentes tiempos a 180 °C. Contenido de proteínas en las diferentes fracciones (%) versus tiempo de calentamiento (min).

En el tratamiento convectivo la fracción F1 decayó continuamente desde 67,5% (no tratado) hasta el 40,5% luego de 20 min. Esta pérdida de solubilización puede atribuirse a la desnaturalización térmica que provoca la exposición de grupos hidrofóbicos que estaban previamente en el centro de las proteínas globulares, lo que incrementa la tendencia a formar agregados con la consecuente

pérdida de solubilidad. Este comportamiento se observó también en proteínas de arveja y soja (Peng et al., 2016; Wang et al., 2012).

En el tratamiento con microondas se observó la misma tendencia, es decir la disminución en la cantidad de proteínas solubilizadas en buffer fosfato (F1) pero con disminuciones menos pronunciadas en el tiempo. Para el tratamiento a 70 °C, cerca del 10% de las proteínas perdieron solubilidad luego de 20 min de tratamiento, mientras que para el tratamiento a 180 °C ésta diferencia ascendió a 27%, por lo que puede considerarse a nivel estructural más severo. El mecanismo que explica la ocurrencia de insolubilización a temperaturas relativamente bajas para la desnaturalización proteica es la capacidad de acción que tienen las ondas electromagnéticas utilizadas, ya que actúan a nivel molecular, creando cambios conformacionales debidos no solo a la desnaturalización térmica, sino también a la acción de las microondas sobre las zonas polares de las moléculas.

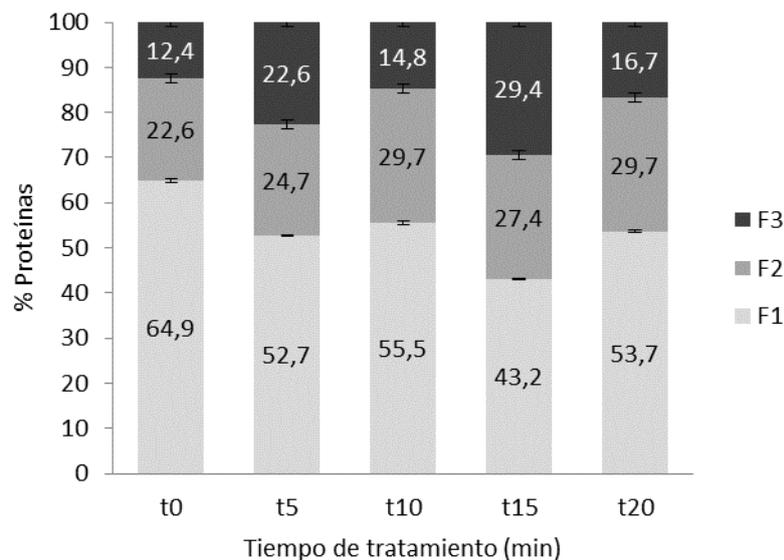


Figura 3.2. Extracción secuencial de proteínas de germen de trigo tratado en microondas durante diferentes tiempos a 70 °C. Contenido de proteínas en las diferentes fracciones (%) versus tiempo de calentamiento (min).

Las fracciones F2 y F3 mostraron una tendencia opuesta a F1 para las dos tecnologías ensayadas, es decir, se incrementó su proporción al transcurrir el tiempo de tratamiento. Con el tratamiento tradicional la fracción F2 duplicó aproximadamente su cantidad luego de los 20 min, mientras que F3 se incrementó desde 7,6% a 19%. Con microondas, las fracciones F2 y F3 llegaron a valores menores que los obtenidos en el primer caso, para el calentamiento con aire caliente. El crecimiento fue más sostenido en el tratamiento con aire caliente. El incremento de F2 y F3 muestra la

acumulación de proteínas que pierden solubilidad al desnaturalizarse y se encontraban originalmente en la fracción F1.

Malumba et al. (2008) reportó un efecto análogo al secar granos de maíz, es decir, un detrimento sustancial de proteínas solubles en sales y un incremento de proteínas solubilizadas con un agente disociante como SDS, con mayores grados de insolubilización al aumentar la temperatura de secado. Por otra parte, Vetricmani et al. (1992) informaron que la extractabilidad de proteínas de germen de trigo (medido como la cantidad de proteínas solubles en buffer fosfato (pH 6,8; 50 mM) disminuyó un 40% con respecto a la muestra control luego de 180 s de tratamiento en un microondas doméstico, con un comportamiento similar para salvado de trigo y soja, lo que es comparable a lo aquí presentado, donde se observó una disminución de F1 al incrementar el tiempo de tratamiento.

Los patrones electroforéticos de las proteínas del germen de trigo que corresponden a las fracciones F1, F2 y F3 del tratamiento convectivo y microondas se muestran en las Figura 3.3.

En el germen de trigo no tratado se identificaron 9 bandas en estado soluble nativo (F1; Figura 3.3. A y D, línea 0 min): ~81.000, ~67.400, 49.600 – 46.200, ~38.000, ~34.800, ~32.000, ~30.600, ~27.500 y ~25.900 Da. Las bandas de mayor abundancia relativa fueron las fracciones proteicas entre 49.000 - 46.000 y 33.000 Da. Las bandas proteicas más significativas en el aislado de germen de trigo observadas por Hettiarachchy et al. (1996) aparecieron en la fracción F1. Las bandas entre 49.600 – 46.200 Da pueden también atribuirse a “globulina tipo 8S”, mientras que las “globulinas tipo 11-S” o triticinas pueden asociarse a las bandas de 38.000 y un monómero de menor masa molecular (20.000) (Zhu et al., 2006), que no puede ser distinguida claramente los geles aquí presentados.

En ambos tratamientos, al desnaturalizarse las proteínas por efecto del calor aportado, se observó una disminución de la intensidad y cantidad de las bandas en F1. Algunos polipéptidos de baja masa molecular (<31.000) perdieron solubilidad a partir de los 10 min de exposición para las dos tecnologías ensayadas. En las muestras tratadas por microondas (Figura 3.3 D), se observó que otros péptidos perdieron solubilidad de manera paulatina, como la banda de ~81.000 y ~38.000 Da, quedando solo 3 bandas marcadas a los 20 min de tratamiento. Ellas coincidieron con las de mayor abundancia relativa en la proteína nativa soluble (49.000 - 46.000 y ~33.000 Da), además de los polipéptidos de ~30.600. Las proteínas que perdieron solubilidad durante las primeras etapas de calentamiento, pueden asociarse a las albúminas, proteínas solubles en agua según la clasificación de las proteínas de Osborne (1924), ya que es la fracción más sensible a la temperatura y mayormente responsable de las actividades enzimáticas (Malumba et al., 2008). Esta pérdida de solubilidad también es evidencia de irreversibilidad del proceso térmico. Runyon, Sunilkumar, Nilsson, Rascon, & Bergenståhl (2015), trabajando con avena, observaron un comportamiento

similar, con solubilización en etapas tempranas de calentamiento debida a la disociación de proteínas, seguida de la formación de agregados solubles que indujeron la formación de agregados insolubles en tiempos prolongados de calentamiento. Por otra parte, Liu et al. (2014) sugiere que los agregados de globulinas del germen de trigo formados por calentamiento térmico (proteínas globulares mayormente solubles en estado nativo, que formarían parte de F1), contienen mayormente interacciones no covalentes de tipo hidrofóbicas, van der Waals e interacciones iónicas.

La fracción F2 en el germen de trigo no tratado (Figura 3.3 B y E, 0 min) presentó 4 bandas proteicas de baja intensidad con masas moleculares inferiores a 50.000 Da. Conforme transcurrieron los tratamientos se observó la aparición de nuevas bandas, tanto para el tratamiento con aire caliente, como para microondas. La fracción F2 de las proteínas del germen luego de 20 min de tratamiento con aire caliente (Figura 3.2 B) mostró 6 bandas de baja intensidad, de masa molecular: ~62.700, ~49.000, ~44.900, ~42.100, ~39.200, ~36.900, siendo ~36.900 Da la de mayor tinción. En todos los casos la intensidad de las bandas de baja masa molecular se incrementó con el tiempo de tratamiento. Además, las bandas de ~62.700 y ~44.900 Da que no se encontraban en F2 para el GT no tratado, se identificaron luego de 20 min de calentamiento, y por su masa molecular podrían relacionarse a las fracciones más abundantes de F1 que pierden solubilidad.

Durante el calentamiento con microondas, en la fracción F2 (Figura 3.2 E) se observó que la banda de ~48.000 incrementó su intensidad con el tiempo. La aparición de otras bandas fue paulatina, como las de masas moleculares de ~91.000 y ~74.000 Da a los 10 min y la de ~110.000 Da a los 20 min de irradiación. La banda de ~33.000 Da también se intensificó con el tratamiento, siendo el incremento más notorio entre los 15 y los 20 min.

En general, para el caso de tratamiento con aire caliente los resultados de fracciones solubles en SDS (F2), mostraron bandas mayormente formadas por polipéptidos de baja (<50.000 Da) masa molecular, mientras que para microondas se observaron bandas más definidas y de peso intermedio (48.000-110.000 Da).

La fracción F3, que comprendió las proteínas que no fueron solubilizadas previamente, presentó menor número de bandas proteicas que las otras fracciones en la muestra de germen no tratada (Figura 3.3 C y F, 0 min). La tendencia observada fue la misma que en F2, un incremento significativo de la intensidad de las bandas conforme aumentó el tiempo de exposición al calor y microondas.

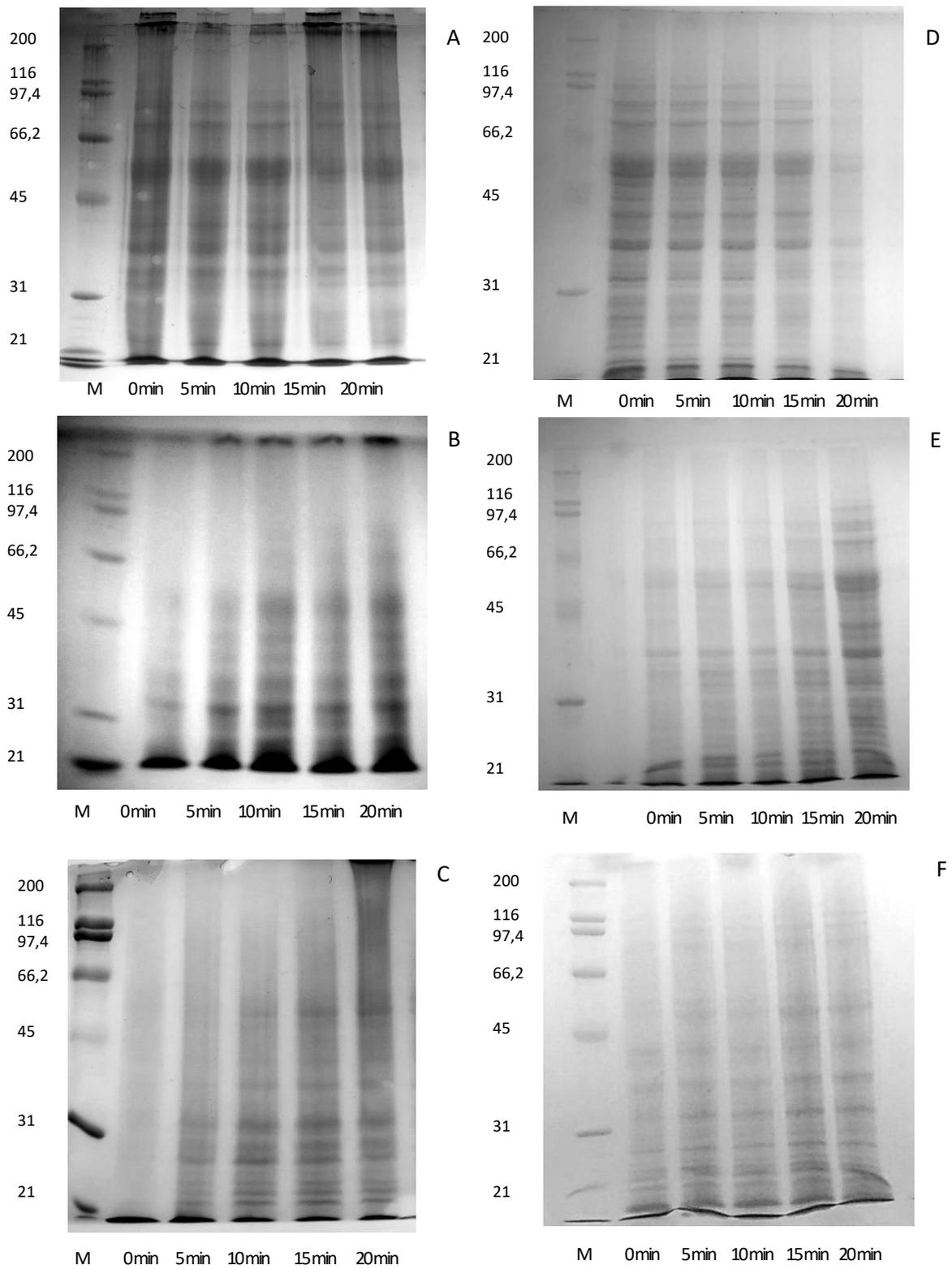


Figura 3.3. Perfiles electroforéticos de extracción secuencial de proteínas de germe de trigo sometido a tratamiento térmico en estufa a 180 °C (F1: A; F2: B y F3:C) y microondas a 70 °C (F1:D; F2: E y F3: F) durante diferentes tiempos. M: Marcador de masa molecular.

En el caso de microondas, en la fracción F3 (Figura 3.3 F) a los 20 min se observaron 5 bandas tenues, las mismas que aparecen a tiempos largos de tratamiento con aire caliente (~46.000, ~32.000, ~30.000, ~28.000 y ~27.000 Da). El tratamiento térmico provocó la aparición de nuevas bandas de alta masa molecular en F3 (Figura 3.3 C) debido a la destrucción de la estructura ordenada de las proteínas nativas, que puede asociarse al desdoblamiento de proteínas, exposición de grupos hidrofóbicos y agregación de proteínas (Liu, Wang, Wang, & Chen, 2014). A los 20 min de tratamiento con aire caliente (Figura 3.3 C, 20 min), se observó el chorreado (*streaking*) de los geles, es decir, las bandas perdieron definición y se observó un veteado continuo en todo el carril, debido a la desnaturalización de proteínas y/o altos grados de polimerización. Este fenómeno se identificó también en panes con agregado de agentes oxidantes (glucosa oxidasa) que promueven el entrecruzamiento del gluten por puentes disulfuro, donde el veteado sugirió evidencia de entrecruzamiento (Rasiah, Sutton, Low, Lin, & Gerrard, 2005), o también en soja tratada térmicamente en estufa durante 3 min a 200 °C, donde se observó este chorreado en proteínas de baja movilidad (mayor masa), que indicaron un detrimento de la solubilidad y agregación debido al proceso térmico (Ribotta et al., 2004).

3.3.1.3. Análisis térmico de las proteínas

Existen varios métodos para detectar la desnaturalización de proteínas, siendo el más común el análisis térmico diferencial de barrido. Los termogramas de los aislados proteicos mostraron un pico endotérmico entre 76 y 97 °C, que se relacionó con el proceso de desnaturalización proteica, como se presentó en el Capítulo 1. La Tabla 3.3 muestra los parámetros térmicos obtenidos por DSC para diferentes tipos de tratamiento de germen de trigo.

En el caso de calentamiento con aire caliente, a medida que aumentó el tiempo de tratamiento los picos se estrecharon considerablemente, como mostró el valor ancho de pico a media altura (W). La temperatura de inicio (To) aumentó significativamente como consecuencia del tratamiento, mientras que la temperatura de desnaturalización (Td) mostró un pequeño decaimiento luego de 15 min de tratamiento. Finalmente, la entalpía de desnaturalización (ΔH) disminuyó significativamente como consecuencia del tratamiento. La entalpía varió desde 1,54 J/g para germen de trigo no tratado a 0,35 J/g para el tratamiento más largo (20 min), indicando un grado de desnaturalización proteica de 77,3%. La mayor pérdida de proteína nativa en tiempos sucesivos ocurrió entre los 15 y 20 min de tratamiento (diferencia entre DDEg a 20 min y 15 min de ~47%). Este comportamiento se atribuyó a la pérdida de la estructura secundaria de las proteínas, lo que indica irreversibilidad del proceso de desnaturalización (Ge et al., 2000) durante el tratamiento térmico. Añón y Lupano (1986) también describieron el descenso de la entalpía de desnaturalización en semillas de trigo al someterlas a tratamiento térmico, con tendencias similares en los otros parámetros ensayados.

Las muestras tratadas con microondas mostraron cambios de menor magnitud con respecto al GT tratado con aire caliente. Parámetros como la temperatura de inicio (To) y el ancho de pico (W) cambiaron significativamente ($p < 0,05$) solo a 70 °C a partir de los 5 min, manteniéndose constante hasta los 20 min, mientras que a 60 °C este cambio fue menor, sin observarse diferencias a 50 °C. No se observó corrimiento de la temperatura de pico (Td), como ocurrió en las muestras tratadas con aire caliente. Un cambio de ΔH de 0,5 J/g se observó luego de 20 min de tratamiento con microondas a 70 °C, con respecto al control, con el consecuente porcentaje de desnaturalización del 30,6%.

Tabla 3.3. Características térmicas de desnaturalización del aislado proteico de muestras de germen de trigo tratado a 180 °C en estufa y a 50, 60 y 70 °C en microondas.

Tratam.	To (°C)	Td (°C)	ΔH (J/g prot bs)	W (°C)	% DDeg	
180	t0	76,6 ± 0,2 A	90,3 ± 0,6 B	1,5 ± 0,2 A	9,6 ± 0,5 B	0,0
	t5	81,5 ± 1,9 B	89,6 ± 0,4 A B	1,3 ± 0,0 B	7,8 ± 0,0 A	18,7
	t10	81,4 ± 1,2 B	89,8 ± 0,4 A B	1,2 ± 0,1 B	7,7 ± 0,4 A	21,4
	t15	82,4 ± 0,4 B	89,2 ± 0,2 A	1,1 ± 0,0 B	7,8 ± 0,2 A	26,8
	t20	82,6 ± 0,9 B	88,8 ± 0,3 A	0,4 ± 0,0 C	7,1 ± 0,8 A	77,3
50	t0	78,4 ± 0,5 A	89,7 ± 1,0 A	1,5 ± 0,1 A	10,9 ± 0,8 B	0,0
	t5	79,4 ± 1,4 A	90,1 ± 0,1 A	1,1 ± 0,2 B	8,9 ± 1,3 A, B	26,2
	t10	79,4 ± 0,0 A	94,7 ± 7,0 A	1,1 ± 0,0 B	8,5 ± 1,3 A	26,0
	t15	79,7 ± 1,3 A	88,9 ± 0,3 A	1,0 ± 0,2 B	8,6 ± 0,5 A	37,1
	t20	79,7 ± 1,5 A	85,0 ± 6,0 A	1,3 ± 0,1 B	9,0 ± 0,1 A, B	17,6
60	t0	78,4 ± 0,5 A	89,7 ± 1,0 A	1,5 ± 0,1 A	10,9 ± 0,8 B	0,0
	t5	80,0 ± 0,1 A, B	88,4 ± 0,4 A	1,3 ± 0,1 B	10,0 ± 0,5 B	17,4
	t10	81,5 ± 1,4 B	89,3 ± 1,0 A	1,2 ± 0,1 B C	9,2 ± 1,6 B	23,2
	t15	80,5 ± 1,4 A, B	88,0 ± 1,1 A	1,2 ± 0,0 B C	10,6 ± 0,1 B	19,3
	t20	80,0 ± 1,3 A, B	88,4 ± 0,3 A	1,2 ± 0,0 B C	7,0 ± 0,3 A	22,1
70	t0	78,4 ± 0,5 A	89,7 ± 1,0 C	1,5 ± 0,1 A	10,9 ± 0,8 C	0,0
	t5	81,5 ± 0,7 B	89,3 ± 0,2 B, C	1,2 ± 0,1 B	9,5 ± 0,1 B	22,9
	t10	80,3 ± 1,3 B	87,5 ± 0,2 A	1,1 ± 0,1 B C	7,0 ± 0,2 A	25,6
	t15	80,2 ± 0,7 B	87,3 ± 0,2 A	1,0 ± 0,2 C	9,5 ± 0,5 B	34,8
	t20	80,8 ± 0,4 B	88,1 ± 0,1 A, B	1,1 ± 0,0 B C	6,4 ± 0,1 A	30,6

To: Temperatura de inicio, Td: temperatura de desnaturalización, ΔH : entalpía de desnaturalización, W: ancho del pico, %DDeg: porcentaje de desnaturalización proteica.

En general, los cambios en los parámetros térmicos fueron más pronunciados para el tratamiento con aire caliente, con un pico de desnaturalización de menor área, más angosto, que empezó a una temperatura más alta (To) y tuvo un máximo a temperaturas significativamente más bajas (Td) que el control. Entre las muestras con microondas se evidenció una sensibilidad con respecto a la temperatura de tratamiento, con mayor daño proteico a 70 °C y similares tendencias en los parámetros de temperatura, entalpía de desnaturalización y ancho de pico, pero de menor magnitud.

3.3.1.4. Propiedades funcionales

3.3.1.4.1. Índice de solubilidad de nitrógeno (NSI)

La solubilización de proteínas en función del pH se muestra en la Figura 3.4 A y B para los tratamientos con aire caliente y microondas. Para las 2 tecnologías ensayadas se observó la curva característica con un mínimo en el pI (punto isoeléctrico) de las proteínas, como se describió en el Capítulo 1.

En general, el NSI del germen de trigo no se vio afectado por el tratamiento con aire caliente (Figura 3.4 A). Sólo a pH 2 y 8 la solubilidad de las proteínas disminuyó significativamente ($p < 0,05$), lo que se asoció a desnaturalización y agregación de proteínas. El mismo efecto observaron Runyon et al. (2015) en avena sometida a tratamientos largos, mientras que en otras matrices, como coco, se registró un incremento de NSI al someter las muestras a calentamiento, debido principalmente a la exposición de grupos hidrofílicos previamente localizados en el centro de las proteínas (Thaiphanit & Anprung, 2016).

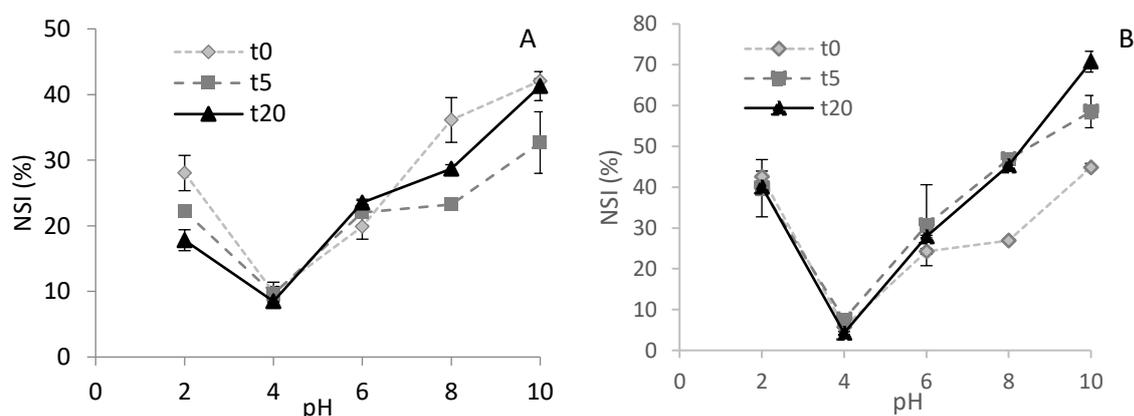


Figura 3.4. Influencia de pH en el índice de solubilidad de nitrógeno (NSI) de aislados proteicos de germen de trigo tratado durante diferentes tiempos a 180 °C (A) en horno convectivo y a 70 °C en microondas (B).

En muestras tratadas con microondas también se observaron diferencias al comparar la solubilidad de las proteínas según el tiempo de exposición (Figura 3.4 B). Las muestras calentadas a 70 °C durante 5 y 20 min fueron significativamente diferentes al material no tratado a pHs mayores al punto isoeléctrico (pH 6, 8 y 10), incrementando su solubilidad conforme avanzó el tiempo de tratamiento, este efecto fue más evidente a mayores valores de pH. A pH 10 se observaron diferencias significativas entre las 3 muestras ensayadas, con valor máximo a los 20 min de tratamiento (70,75%), un valor intermedio para la muestra tratada durante 5 min (58,53 %) y 44,86% para el aislado de GT no tratado.

Dado que el NSI es un indicador excelente de funcionalidad de las proteínas, es importante resaltar que las tecnologías de estabilización ensayadas no afectaron significativamente la solubilidad de germen de trigo en el rango general de los alimentos, lo cual indica una baja probabilidad de formación de precipitado al ser añadido a una formulación (Ge et al., 2000; Liu et al., 2014).

3.3.1.4.2. Capacidad de retención de agua y aceite

La Tabla 3.4 muestra WHC y OHC obtenidas para el aislado de proteínas de germen de trigo. No se encontraron diferencias significativas de WHC ($p < 0,05$) como consecuencia del tratamiento con aire caliente a 180 °C y a 50 °C en microondas, observándose pequeñas variaciones a temperaturas más altas, con reducciones de 15,02 y 41,02% para los tratamientos más largos (20 min) a 60 y 70 °C, respectivamente.

Tabla 3.4. Capacidad de retención de agua y de aceite de aislado proteico de germen de trigo tratado térmicamente en estufa y microondas

Temp. (°C)	Tiempo (min)	WHC (g/g)	OHC (g/g)
180	t0	2,23 ± 0,10 A	1,80 ± 0,07 B
	t5	2,31 ± 0,04 A	1,48 ± 0,04 A, B
	t10	2,29 ± 0,11 A	1,45 ± 0,03 A, B
	t15	2,25 ± 0,34 A	1,55 ± 0,23 A, B
	t20	2,27 ± 0,26 A	2,11 ± 0,13 C
50	t0	3,76 ± 0,01 A	3,84 ± 0,19 A
	t5	3,24 ± 0,23 A	4,58 ± 0,24 B
	t10	3,67 ± 0,15 A	3,94 ± 0,02 A
	t15	3,34 ± 0,29 A	5,26 ± 0,24 C
	t20	3,86 ± 1,94 A	4,13 ± 0,10 A
60	t0	3,76 ± 0,01 C	3,84 ± 0,19 A
	t5	2,73 ± 0,09 A	4,64 ± 0,50 A
	t10	2,82 ± 0,02 A	6,37 ± 0,16 B
	t15	3,22 ± 0,02 B	6,24 ± 0,11 B
	t20	3,20 ± 0,13 B	5,83 ± 0,47 B
70	t0	3,76 ± 0,01 C	3,84 ± 0,19 A
	t5	2,60 ± 0,10 B	4,97 ± 0,36 B
	t10	2,39 ± 0,04 A	6,09 ± 0,25 C
	t15	2,60 ± 0,07 B	5,46 ± 0,34 B, C
	t20	2,22 ± 0,10 A	5,32 ± 0,45 B, C

WHC: capacidad de retención de agua, OHC: capacidad de retención de aceite. Valores con letras comunes al comparar muestras de una misma temperatura no son significativamente diferentes $p > 0,05$

Por otro lado, OHC mostró un comportamiento diferencial en los dos tratamientos. Con aire caliente se observó una disminución a tiempos intermedios (5, 10 y 15 min) y un aumento significativo a los 20 min.

Al evaluar el efecto de las microondas, se observó una tendencia creciente de la capacidad de retención de aceite con el tiempo de tratamiento para las 3 temperaturas ensayadas, lo que se puede asociar a la exposición de grupos hidrofóbicos, o desnaturalización de proteínas globulares. Se observaron diferencias significativas desde los 5 min de tratamiento a 60 °C y 70 °C, con un máximo a los 10 min, tomando valores menores hacia los 20 min.

En general, los cambios se atribuyeron a modificaciones conformacionales de las proteínas durante el calentamiento. OHC es una medida de la interacción de residuos no polares de las proteínas con compuestos lipídicos. El incremento en el tiempo, como se observó para el tratamiento con microondas, puede resultar positivo para la formulación de alimentos, ya que la fijación de compuestos asociados al sabor (particularmente compuestos aromáticos) se correlacionaron con la presencia de residuos hidrofóbicos en las proteínas (Gurrieri, 2004).

3.3.1.4.3. Capacidad de formación de espuma y estabilidad

FC y FS de aislados de germen de trigo sometido a tratamiento con aire caliente se presentan en Tabla 3.5. FC decayó continuamente con el tiempo de calentamiento, lo que se relacionó estrechamente con el grado de desnaturalización de las proteínas, y la consecuente pérdida de estructura que no le permitió formar arreglos tan fuertes o estables, como lo hizo la proteína nativa. Asimismo, la formación de agregados dificultó la solubilización de las proteínas y evitó la formación de una capa cohesiva de las proteínas alrededor del gas (Wang et al., 2017).

Tabla 3.5. Capacidad de formación de espuma (FC) y capacidad espumante (FS) a 10, 30 y 60 min de aislado proteico de germen de trigo tratado térmicamente en horno convectivo.

Tratam.	FC (%)	FS 10min	FS 30min	FS 60min
180 t0	85,00 ± 1,41 B	98,84 ± 1,64 A	94,13 ± 1,57 C	94,13 ± 1,57 C
t5	76,00 ± 5,66 AB	91,67 ± 11,79 A	79,17 ± 5,89 B	63,75 ± 15,91 B
t10	70,00 ± 5,66 A	92,67 ± 5,80 A	91,24 ± 7,82 BC	68,53 ± 8,02 B
t15	68,00 ± 5,66 A	95,49 ± 2,46 A	91,15 ± 0,74 BC	73,44 ± 2,21 BC
t20	68,00 ± 2,83 A	97,06 ± 0,12 A	60,39 ± 4,59 A	32,47 ± 5,51 A

FC: Capacidad de formación de espuma FS: estabilidad de espuma a diferentes tiempos. Valores con letras comunes en una misma columna no son significativamente diferentes $p > 0,05$

Tal como se esperaba, la estabilidad (FS) también se vio seriamente afectada con el tratamiento térmico. En este caso, las estructuras de las espumas al estar compuestas por proteínas parcialmente desnaturalizadas, se desmoronaron con mayor rapidez. La estabilidad luego de 10 min de batido (FS 10min) no se vio significativamente afectada por el tiempo de exposición en estufa, pero sí se observaron cambios drásticos en evaluaciones a 60 min (FS 60min). Se observaron diferencias significativas en FS 60 min luego de 5 min de exposición del germen en estufa, con respecto al control, con mayores diferencias para tratamientos más prolongados.

3.3.2. Efecto sobre fracción lipídica

3.3.2.1. Acidez

En la Tabla 3.6 se muestran los resultados de la evolución de la acidez de las muestras tratadas con aire caliente y microondas. En ella se observa que este parámetro de hidrólisis lipídica se conservó prácticamente invariante en las condiciones ensayadas para el tratamiento con aire caliente, con valores inferiores a 2,3% ácido oleico en todos los casos. Para el tratamiento con microondas se observó una disminución del AV con el tiempo a 70 °C, con valores significativamente diferentes a la muestra no tratada a partir de los 5 min y variaciones de hasta un 26% para el tratamiento más severo (20 min). El efecto resultó menos evidente para temperaturas de irradiación más bajas.

Otros autores, (Zhong et al., 2013), trabajaron con harina de arroz tratada con microondas, observando el mismo fenómeno que en germen de trigo, es decir, el contenido de ácidos grasos libres fue menor para muestras irradiadas, con respecto a la muestra no tratada, obteniendo aceites de mejor calidad (menores AV) al aumentar la potencia de irradiación de 384 a 539 W. Además, al evaluar el contenido de AV durante los 5 días posteriores al tratamiento, observaron que el AV aumentó a un ritmo menor que el de la muestra no tratada. Sugieren que las microondas suprimen la formación de ácidos grasos libres durante el almacenamiento del arroz, debido a la inactivación parcial de la lipasa.

En otras matrices, como avellanas (Uquiche et al., 2008) y girasol (Anjum et al., 2006), se reportaron incrementos de acidez al tratar las muestras con microondas, lo que los autores adjudican a la hidrólisis de los triacilgliceroles por las microondas que producen ácidos grasos libres. Pero, puede también relacionarse con la estructura vegetal, ya que en estas oleaginosas los lípidos tienen una organización bien definida y se encuentran mayormente como lípidos de reserva en glóbulos (principalmente triacilgliceroles), o bien como lípidos de membrana (fosfolípidos). Las microondas provocan una destrucción parcial de las barreras microestructurales (Anjum et al., 2006; Takagi, Lenaga, Tsuchiya, & Yoshida, 1999), lo que por un lado mejora el rendimiento de extracción de aceite, pero por otro provoca una redistribución del aceite, que lo hace vulnerable a reacciones como hidrólisis y provocaría el aumento de la acidez.

Tabla 3.6. Acidez del aceite de germen de trigo tratado térmicamente en estufa a 150, 180 y 200 °C y microondas a 50, 60 y 70 °C.

T (°C)	Tiempo (min)	Acidez (% ácido oleico)	
150	0	1,41 ± 0,06	A
	10	1,34 ± 0,07	A
	20	1,33 ± 0,02	A
	30	1,85 ± 0,02	B
	40	1,46 ± 0,07	A
180	0	2,01 ± 0,12	B
	5	2,28 ± 0,23	A, B
	10	1,44 ± 0,02	A
	15	1,46 ± 0,08	A, B
	20	1,51 ± 0,04	A, B
200	0	1,41 ± 0,06	A, B
	3	1,52 ± 0,09	A, B
	6	1,34 ± 0,02	A
	9	1,70 ± 0,29	B
	12	1,42 ± 0,00	A, B
50	0	4,48 ± 0,12	C
	5	4,52 ± 0,15	A
	10	4,52 ± 0,01	C
	15	4,45 ± 0,04	B
	20	4,58 ± 0,01	C
60	0	4,48 ± 0,12	C
	5	3,19 ± 0,09	B
	10	3,25 ± 0,04	A, B
	15	4,88 ± 0,32	A
	20	4,67 ± 0,16	A, B
70	0	4,57 ± 0,12	C
	5	3,81 ± 0,08	B
	10	4,02 ± 0,38	A
	15	3,46 ± 0,02	A, B
	20	3,34 ± 0,09	A

Valores con letras comunes para una misma temperatura de tratamiento no son significativamente diferentes $p > 0,05$.

3.3.2.2. Índice de peróxidos

Los valores de índice de peróxidos se exponen en la Tabla 3.7. Para el tratamiento en estufa se observó un incremento de este parámetro de oxidación primaria a 180 y 200 °C. El crecimiento fue gradual en el tiempo para ambas temperaturas, pero las diferencias fueron significativas con

respecto al control ($p < 0,05$) desde los 5 min para el tratamiento a 180 °C, y desde los 12 min a 200 °C. Con el tratamiento de microondas, el PV también se incrementó gradualmente, con un efecto marcado de la temperatura y tiempo de exposición, especialmente a 60 y 70 °C.

Tabla 3.7. Índice de peróxidos del aceite de germen de trigo tratado térmicamente en estufa (150, 180 y 200 °C) y microondas (50, 60 y 70 °C).

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Índice de peróxidos (meq O ₂ /kg ac.)	
150	0	0,99 ± 0,09	C
	10	0,76 ± 0,03	B
	20	0,59 ± 0,01	A
	30	0,62 ± 0,06	A
	40	1,59 ± 0,00	D
180	0	0,98 ± 0,17	A
	5	1,31 ± 0,09	A, B
	10	1,52 ± 0,01	B
	15	3,17 ± 0,32	D
	20	2,29 ± 0,27	C
200	0	0,99 ± 0,09	A
	3	1,33 ± 0,19	A
	6	1,32 ± 0,06	A
	9	1,48 ± 0,05	A
	12	3,36 ± 0,46	B
50	0	1,47 ± 0,02	C
	5	1,55 ± 0,01	D
	10	1,44 ± 0,03	C
	15	1,32 ± 0,00	B
	20	1,26 ± 0,00	A
60	0	1,47 ± 0,02	A
	5	1,48 ± 0,05	A
	10	1,40 ± 0,09	A
	15	1,69 ± 0,04	B
	20	1,74 ± 0,02	B
70	0	1,47 ± 0,02	A
	5	1,52 ± 0,05	A, B
	10	1,49 ± 0,13	A
	15	1,66 ± 0,04	B, C
	20	1,76 ± 0,02	C

Valores con letras comunes para una misma temperatura de tratamiento no son significativamente diferentes $p > 0,05$.

Se puede decir que en todos los tratamientos ensayados se conservó una buena calidad química, con valores inferiores a 3.36 meq. O₂/kg ac., muy por debajo del límite legal establecido para aceites comestibles (10 meq. O₂/kg ac., CAA, 2012; FAO/WHO, 2015).

3.3.2.3. Tocoferoles

La Figura 3.5 muestra el contenido de tocoferoles del aceite de germen de trigo luego de los tratamientos térmicos con aire caliente y microondas. En general, se observó una alta estabilidad de estos compuestos, ya que en todos los casos el contenido de tocoferoles totales superó el 2.600 mg/kg aceite en el aceite para el germen tratado en estufa, y 1.800 mg/kg aceite para el tratado en microondas. Ello representa una concentración remanente del 77% y 83% de tocoferoles con respecto al germen no tratado y se registraron a 15 min a 180 °C y 5 min a 50 °C para estufa y microondas, respectivamente.

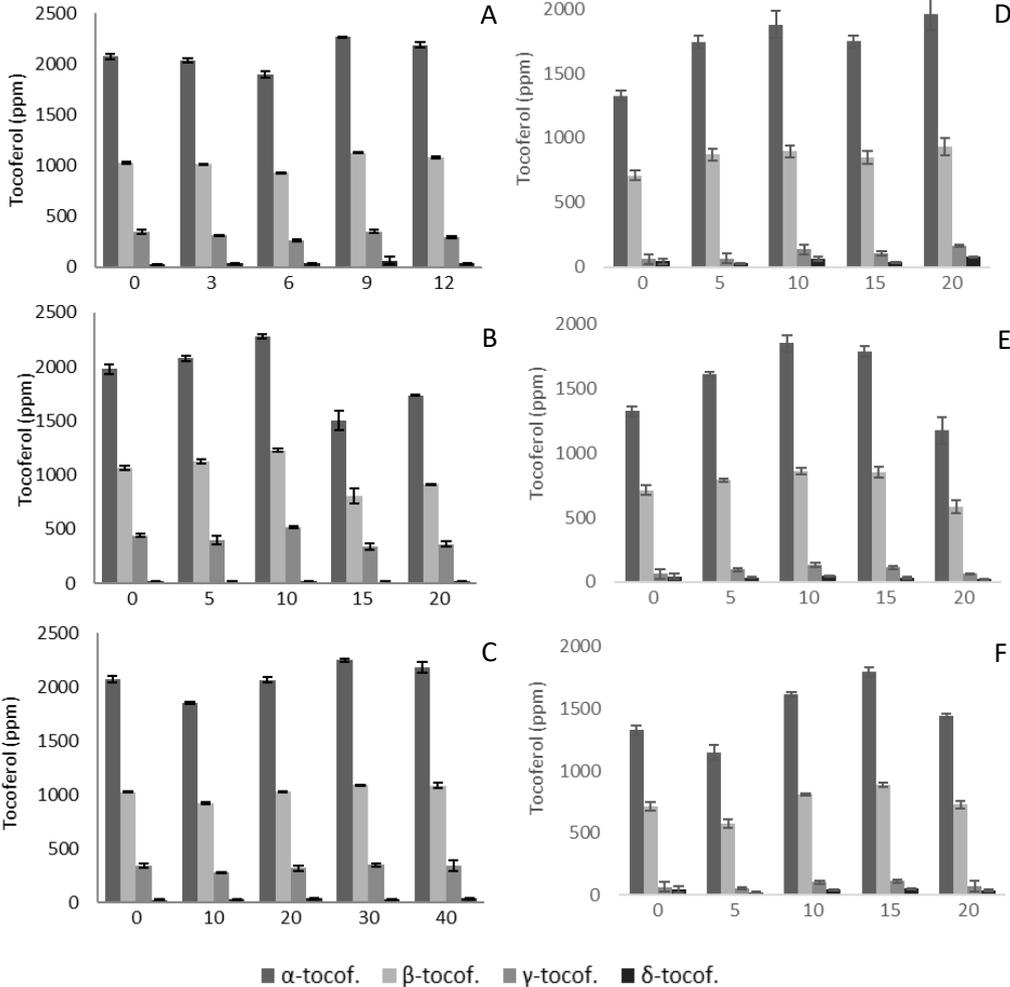


Figura 3.5. Contenido de tocoferoles del aceite de germen de trigo tratado en estufa a 150 °C (A), 180 °C (B), y 200 °C (C), y microondas a 50 °C (D), 60 °C (E), y 70 °C (F) durante diferentes tiempos.

Los isómeros de tocoferoles de GT mostraron una mayor prevalencia del α -, seguido del β - y proporciones significativamente menores del δ - y γ -. Este perfil general de isómeros de los tocoferoles tampoco se vio afectado por las tecnologías ensayadas. A 180 °C, la concentración de los isómeros α - y β - se vieron afectados negativamente a 15 y 20 min de tratamiento, con valores significativamente diferentes al aceite de GT no tratado (1.734 y 1.978 ppm de α -tocoferol para GT tratado durante 20 min a 180 °C y no tratado, respectivamente), manteniéndose relativamente invariantes para las otras muestras ensayadas.

La cuantificación de tocoferoles en microondas arrojó resultados un tanto diferentes a los obtenidos para el tratamiento con aire caliente. El contenido de α -tocoferoles mostró tendencias crecientes al ser irradiados con microondas a 50, 60 y 70 °C, con cambios significativamente diferentes al control a partir de los 10 min en todos los casos. Este fenómeno podría en cierto punto asociarse a la capacidad de extracción de los tocoferoles de la matriz al destruir parcialmente la estructura con las microondas o al método utilizado.

Moreau et al. (1999) descubrieron que el pretratamiento de fibra de maíz en estufa resultó en un incremento del contenido de γ -tocoferol (el isómero de mayor abundancia) unas 10 veces al calentarlo a 150 °C durante 1 h. La explicación que sugirieron para el gran incremento de tocoferoles inducido por calor fue que una cantidad importante de estos compuestos se encontraban ligados a la fibra, y durante el calentamiento se rompían sus enlaces posibilitando su extracción luego del tratamiento. Estudios posteriores (Moreau & Hicks, 2006) analizaron nuevamente la situación utilizando métodos de detección más precisos (HPLC con detector de fluorescencia, arreglo de diodos y espectrometría de masa), que permitieron dilucidar que lo que se identificó previamente como γ -tocoferoles fueron probablemente uno o varios productos de oxidación de los triacilgliceroles, incluyendo hidroperóxidos de triacilgliceroles y otros productos de oxidación.

En el tratamiento con microondas, el calentamiento rápido y selectivo que ocurre principalmente sobre moléculas o fracciones de moléculas de características iónicas o polares afecta la cinética de las reacciones que tienen lugar, pudiendo incluso ocurrir reacciones (y consecuentemente generar productos) que durante el calentamiento convencional no sucederían por un impedimento energético y/o físico por la presión de vapor generada en el interior de los cuerpos calentados por microondas. Cuando en un sistema complejo se consideran reacciones en cascada, o una red de reacciones como en el caso de las reacciones de caramelización, las consecuencias de la irradiación pueden ser aún más impredecibles. Este diferencial energético y físico que ocurre durante el calentamiento con microondas explica en parte también el motivo por el cual las reacciones de

Maillard no ocurren de manera espontánea durante la cocción de panes en microondas (A. Datta & Ramaswamy, 2001).

En general, durante el tratamiento en estufa se observaron disminuciones en el contenido de tocoferoles para el tratamiento a 180 °C, sin alterar la composición general de los isómeros, con un relativamente alto porcentaje de retención de estos compuestos.

Es de esperar un decaimiento continuo de los tocoferoles debido a la termolabilidad de estos compuestos, o su consumo durante las reacciones de oxidación lipídica (Doblado-Maldonado et al., 2012) debido a la acción del calor, tal como observaron otros autores durante el calentamiento en microondas doméstico de semillas de girasol (Anjum et al., 2006), granos de soja (Takagi et al., 1999) y avellana (Ciarmiello et al., 2013) o durante el tostado de germen de trigo (Zou et al., 2018).

3.3.2.4. Composición de ácidos grasos

El seguimiento de la composición ácida puede considerarse como otro parámetro de la estabilidad de los aceites durante un tratamiento (Ciarmiello et al., 2013). En la Tabla 3.8 se muestra la composición de ácidos grasos de las muestras de germen de trigo sometidos a distintos tratamientos térmicos: con aire caliente a 180 °C y con microondas a 70 °C, en la cual se puede observar que la composición no se vio afectada por ninguna de las tecnologías ensayadas. La única diferencia significativa se obtuvo para el contenido de ácido linolénico, evidenciando un menor contenido de este ácido graso para las muestras provenientes del Molino B, que es el que se utilizó para el tratamiento con microondas, como se detalló en el Capítulo 1, pero no se vio significativamente afectado por el tratamiento en sí.

En todos los casos las proporciones de ácidos grasos en forma decreciente fueron las siguientes: ácido linoleico (omega-6), palmítico, oleico y linolénico (omega-3), que en conjunto superan el 90% de abundancia relativa. Además, el contenido de ácidos grasos poliinsaturados resultó en 64,56-63,72%, un valor relativamente alto, que evidencia por un lado beneficios para la salud, ya que su consumo se asocian a la prevención de algunas enfermedades arteriales (Rahnan, 2002), pero también los dobles enlaces en los ácidos grasos poliinsaturados son sitios de alta reactividad química, y susceptibles al ataque de oxígeno durante la oxidación de lípidos (Fennema, 1996). Los resultados aquí presentados están en concordancia con el valor de PV encontrado.

El balance omega-6/omega-3 del aceite de germen de trigo resultó en 8,22-8,77, valor remarcable desde aspecto nutricional, ya que relaciones entre 5:1 y 10:1 son los recomendados por la FAO/WHO (Guiotto et al., 2014), pero raramente se encuentran en los alimentos valores inferiores a 10, lo que provoca que la mayoría de las personas obtengan éstos ácidos grasos en las relaciones 10:1 a 25:1 (Gelmez et al., 2009).

Tabla 3.8. Composición de ácidos grasos del aceite de germen de trigo no tratado y tratado térmicamente en estufa (180 °C) y microondas (70 °C)

Nombre	180 °C 0 min	180 °C 20 min	70 °C 0 min	70 °C 20 min
14:0 Ácido mirístico	0,10 ± 0,00 A	0,10 ± 0,00 A	0,10 ± 0,00 A	0,11 ± 0,01 A
16:0 Ácido palmítico	17,53 ± 0,01 A	17,57 ± 0,16 A	17,48 ± 0,07 A	17,58 ± 0,30 A
16:1 Ácido palmitoleico	0,25 ± 0,02 A	0,25 ± 0,01 A	0,22 ± 0,05 A	0,22 ± 0,04 A
18:0 Ácido esteárico	0,66 ± 0,01 A	0,77 ± 0,08 A	0,66 ± 0,06 A	0,79 ± 0,13 A
18:1 Ácido oleico	15,89 ± 0,42 A	15,99 ± 0,47 A	15,39 ± 0,17 A	15,73 ± 0,06 A
18:2 Ácido linoleico	57,27 ± 0,30 A	57,20 ± 0,29 A	57,64 ± 0,11 A	57,21 ± 0,62 A
18:3 Ácido linolénico	6,64 ± 0,01 A	6,53 ± 0,01 A	6,92 ± 0,17 B	6,96 ± 0,04 B
20:0 Ácido araquídico	0,09 ± 0,13 A	0,05 ± 0,07 A	0,07 ± 0,09 A	0,00 ± 0,00 A
20:1 Ácido eicosenoico	1,58 ± 0,01 A	1,56 ± 0,01 A	1,54 ± 0,14 A	1,40 ± 0,13 A

Valores con letras comunes en una misma fila no son significativamente diferentes $p > 0,05$

Mohamed, Ramadan, & Showky (2008), obtuvieron resultados similares al conservar la composición lipídica luego de someter al germen de trigo a horneado a 160 °C durante 20 min, mientras que otros (Srivastava et al., 2007) reportaron que el secado en lecho fluidizado y en tambor disminuyó significativamente el contenido de ácidos grasos insaturados como linoleico y linolénico.

Anjum et al. (2006) estudiaron el efecto de las microondas sobre semillas de girasol, observando que el tratamiento de 12 min en equipo doméstico provocó un incremento de ácido oleico (18:1) y el decaimiento de linoleico (18:2), asociado a la oxidación de lípidos, que tiene como principal sustrato las insaturaciones de los ácidos grasos. Otros autores (Ciarmiello et al., 2013) observaron una disminución de la proporción de ácido oleico (18:1) y aumento del palmítico (16:0), sin variaciones de linolénico y linoleico, luego de tratar avellanas en microondas doméstico.

3.3.2.5. Compuestos volátiles

Los compuestos volátiles del GT se muestran en la Tabla 3.8. Los compuestos volátiles asociados al material no tratado están en su mayoría formados por hidrocarburos, especialmente alcanos, como tetradecano y hexadecano y compuestos aromáticos como tolueno y naftaleno, además de ciclohexanol y menores proporciones de aldehídos.

Tabla 3.8. Compuestos volátiles del germen de trigo ($\mu\text{g/g}$ de germen). Material no tratado: 180 °C 0 min y 70 °C 0 min, tratado con aire caliente (180 °C 20 min) y con microondas (70 °C 20 min).

Compuesto	Tr	180 °C 0 min	180 °C 20 min	70 °C 0 min	70 °C 20 min
Hidrocarburos					
undecano	8,52	0,02	0,09	-	-
3-metil undecano	10,64	0,03	0,04	-	0,25
dodecano	11,99-11,77	0,56	0,26	-	-
tridecano	15,37	0,24	-	-	0,34

tetradecano	18,35	2,84	5,14	1,49	9,42
hexadecano	23,4	1,15	1,90	1,05	3,54
octadecano	27,89	0,20	0,33	-	-
docosano	17,41	0,16	0,08	-	-
Aromáticos e hidrocarburos cíclicos					
p-etiltolueno	12,68	0,05	0,07	-	-
etilbenceno	11,33	0,10	0,04	-	-
propilbenceno	12,11	0,05	-	-	-
1,2,3,4,5-pentametilbenceno	24,35	0,04	-	-	-
2-metoxi-4-vinilfenol	35,8	0,24	-	-	-
tolueno	6,60-6,89	1,77	5,97	4,29	2,14
etiltolueno	12,58	-	0,33	-	-
p-etiltolueno	16,26	0,20	0,53	0,65	0,69
p-2 propiltolueno	17,28	0,02	-	-	-
naftaleno	26,56	1,64	3,19	0,94	2,20
metilnaftaleno	28,93	0,65	1,75	0,29	0,45
t-butil cresol	30,36	0,44	0,89	0,39	-
m-xileno	9,27	0,03	0,02	-	-
p-xileno	9,52	0,07	0,04	-	-
o-xileno	9,71	0,05	0,24	0,26	-
etiltolueno	13,92	-	-	0,3	-
Cetonas					
acetofenona	24,63	0,06	-	-	-
2-tridecanona	28,12	0,03	-	-	-
cis-3-hexenil benzoato	15,02	-	0,14	0,13	0,26
3,5-octadien-2-one	21,53	0,06	-	-	0,17
Terpenos aromáticos					
1,4-cineol	11,29	-	-	1,43	-
1,8-cineol	12,16	-	-	0,88	-
Alquenos					
estireno	14,02	0,30	-	0,25	0,98
limoneno	11,47	0,48	0,60	0,72	0,51
Ácidos					
ácido hexanoico	29,17	0,63	1,36	0,9	2,07
ácido octanoico	33,41	-	0,04	-	-
Alcoholes					
pentanol	14,26	-	0,05	-	-
hexanol	17,15-17,23	0,57	1,66	1,36	2,41
ciclohexanol	18,47	1,80	1,80	1,79	1,89
2-etil-1-hexanol	20,83	0,12	0,18	0,29	0,59
1-nonanol	24,89	0,02	-	0	0,32
Ésteres					
etil hexanoato	13,46			0,13	
2-etil-hexil acetato	17,96	0,15	0,32	0,31	0,40
ciclopentano acido carboxílico, pencil ester	20,03	0,04	0,31	0	0,34
α-butirolactona	24,17	0,17	0,25	0,32	0,38
γ-hexalactona	25,81	0,09	0,19	0,19	0,29
1,1-dimetil-2-feniletal-acetato	29,08	-	-	0,28	-

Ácido tiobenzoico S-etil ester	15,02	0,15	0,17	-	-
Aldehidos					
furanona dihidroxi 5-pentil	32,6	0,57	1,53	0,84	1,88
benzaldehido	21,59	0,24	-	-	-
Pirazinas					
2,5-dimetil-3-etilpirazina	19,49	0,25	-	-	-
Furanos					
2-pentilfurano	13,08	-	0,01	-	-
Orgánicos Azufrados					
benzotiazol	31,13	-	-	0	0,93
Ácido tiofencarboxílico	19,92	0,12	0,39	0,21	0,68

Tr: tiempo de retención (min).

Luego del tratamiento térmico con aire caliente y microondas el contenido de algunos compuestos se vio incrementado, como el de tetra y hexa decano, siendo mayor la diferencia en el caso de microondas. La concentración de tolueno y naftaleno también se vio favorecida con ambas tecnologías, con variaciones menores de p-etiltolueno. La formación de alcoholes, terpenos y ácidos también fue notoria, especialmente hexanol y ciclohexanol, limoneno, ácido tiofencarboxílico y ácido hexanoico.

Asimismo, aldehidos, furanonas (furanona dihidroxi 5-pentil) y cetonas (cis-3-hexenil benzoato) también vieron incrementada su concentración luego de los tratamientos, así como algunos ésteres como 2-etil-hexil acetato, ciclopentano ácido carboxílico, pentil ester o α -butirolactona.

Los resultados obtenidos para el GT no tratado son concordantes con los de Rizzello et al. (2010), siendo la mayoría de los compuestos volátiles en el germen de trigo de tipo alcanos. Ellos identificaron alrededor de 50 compuestos en el GT no tratado, mientras que los volátiles aquí presentados resultaron entre 28 y 41. El tolueno, presente en GT no tratado y tratado, también se reportó en cantidades importantes entre los volátiles de avena y arroz (Sjövall et al., 2000).

Sjövall et al. (2000) estudiaron los compuestos volátiles durante el tratamiento de GT en estufa y microondas doméstico, y Rizzello et al. (2010) durante el almacenamiento durante 40 días. Ambos notaron un incremento notable de aldehidos, cetonas e hidrocarburos aromáticos, al igual que los resultados aquí presentado, que se asocian a procesos de enranciamiento de lípidos. Sjövall et al., (2000) además reportó que hexanal, R-pineno, 1-hexanol, 3-careno y 2-pentil furano son los volátiles mayoritarios presentes en el germen de trigo rancio. Entre ellos, la presencia de hexanol se debe probablemente a la actividad enzimática, ya que alcoholes y aldehidos de 5 y 6 carbonos son indicadores de la presencia y acción de enzimas, como lipoxigenasa (Sjövall et al., 2000). Los alcoholes de alto peso molecular (como hexanol y nonanol) se asocian a la degradación de hidroperóxidos, que a su vez se originan de ácidos grasos insaturados (Rizzello et al., 2010). Sjövall

et al. (2000) sugieren incluso al 1-pentanol como un posible indicador del nivel de oxidación en GT, ya que reportaron incrementos graduales durante el almacenamiento, pero aquí solo se lo encontró en el GT no tratado proveniente del Molino A.

Se sabe que los aldehídos causan olores rancios, de los cuales el hexanal se informó por varios autores como indicador de oxidación de lípidos, mientras que los hidrocarburos aromáticos son comunes en los productos de trigo (Sjövall et al., 2000).

Los tiazoles (benzotiazol) detectados luego del tratamiento con microondas del GT, también se identificó en arroz tostado y se lo asoció a la degradación térmica de la tiamina (Shi et al., 2018).

Durante el tostado de arroz, otros autores (Shi et al., 2018) encontraron diferentes tendencias, como el incremento del contenido de compuestos heterocíclicos y una disminución de distintos tipos y contenidos de hidrocarburos y derivados de benceno. Ellos además relacionaron los cambios estructurales durante el tostado de arroz con los compuestos volátiles del producto, sugiriendo que durante tratamientos más severos se afecta en mayor medida la microestructura, y concomitantemente con la eliminación del vapor de agua se ven favorecidos procesos como la volatilización de compuestos aromáticos.

3.3.3. Efecto sobre antioxidantes

3.3.3.1. Cuantificación de polifenoles

En la Figura 3.6 se muestran los resultados obtenidos para la evaluación del contenido de polifenoles totales de los extractos de germen de trigo tratados con aire caliente y microondas. El resultado se expresa en relación al germen de trigo no tratado ($4,72 \pm 0,27$ mg EAG/g GT deslip. para el GT utilizado para el tratamiento con aire caliente y $3,84 \pm 0,09$ mg EAG/g GT deslip. para el GT utilizado para el tratamiento con microondas). Durante el tratamiento con aire caliente se observó en general poca variabilidad, con disminuciones que se mantuvieron en el tiempo para tratamiento a 180 °C a partir de los 5 min de tratamiento, pero se mantuvo prácticamente invariante a 200 y 150 °C, con algunos puntos intermedios inusualmente altos (200 °C, 9 min) o bajos (150 °C, 10 min). En el tratamiento con microondas la tendencia general fue más evidente, con porcentajes de disminución entre 15 y 30% para los tratamientos más largos a las 3 temperaturas ensayadas.

Otros autores, observaron las variaciones en el tiempo del CFT durante el tostado de germen de trigo, con aumentos y disminuciones en el tiempo de tratamiento, y las asociaron a la pérdida de fenoles propios del germen de trigo durante el tratamiento térmico que se compensa por la generación de nuevos compuestos antioxidantes como productos de la reacción de Maillard (Krings & Berger, 2001). Particularmente, reportaron que el GT tostado a 180 °C durante 20 min mostró

mayor actividad antioxidante que aquel tostado durante 5 y 10 min. Además, identificaron los tres ácidos fenólicos más abundantes como felúrico, clorogénico y cafeico. (Zou et al., 2015).

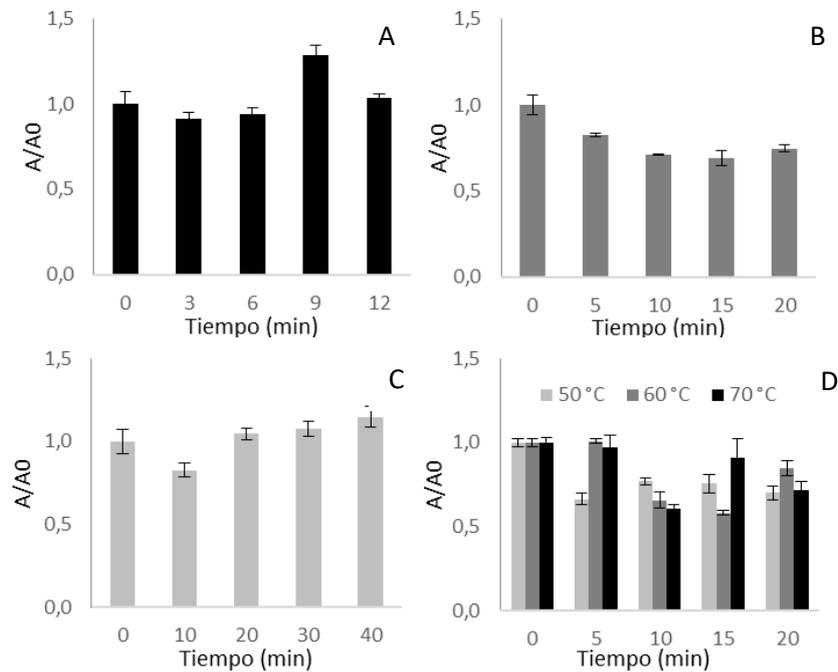


Figura 3.6. Contenido de polifenoles de extractos de germen de trigo deslipidizado en relación al material no tratado. Tratamiento con aire caliente a 150 °C (A), 180 °C (B) y 200 °C (C) y en microondas a 50, 60 y 70 °C (D). A0 para tratamiento con aire caliente: 4,72 mg EAG/g GT deslip. A0 para tratamiento con microondas: 3,84 mg EAG/g GT deslip.

Sharanagat et al. (2019) indicaron que el CFT de sorgo sometido a tratamiento en microondas (600 W) casi duplicó su valor luego de 15 min de exposición, lo que atribuyeron a alteraciones en la estructura química de los componentes proteína-fenoles, y degradación de los taninos hidrolizables a compuestos fenólicos más pequeños que contribuyen al incremento de CFT.

3.3.3.2. Poder de reducción antioxidante de ion férrico (FRAP)

En la Figura 3.7 se observa como afectó el tratamiento térmico convencional y las microondas la capacidad reductora de los extractos de germen de trigo para diferentes temperaturas. Los comportamientos generales para las tecnologías ensayada resultaron a primera vista contradictorios. Para el calentamiento convencional se observaron aumentos significativos, que alcanzan el 77, 58 y 88% para los tratamientos mas largos a 150, 180 y 200 °C, respectivamente, con respecto a la muestra control (0 min). Asimismo, a 200 °C, luego de 9 min de calentamiento, la capacidad reductora disminuyó significativamente, lo que puede asociarse a la termolabilidad de éstos nuevos compuestos formados con capacidad antioxidante.

Por otra parte, los extractos de muestras tratadas en microondas evidenciaron disminuciones a partir de los 5 min de tratamiento para todas las temperaturas ensayadas. Lo que resulta llamativo es que las mayores pérdidas ocurrieron a temperatura más baja (50 °C).

Zou et al. (2015) reportaron que la estabilización de germen de trigo con aire caliente mejoró significativamente el poder reductor de los extractos, con valores máximos para un tostado de GT durante 20 min (79% de incremento con respecto a la muestra control, similar al porcentaje aquí encontrado), y el mínimo para extractos de GT no tratado.

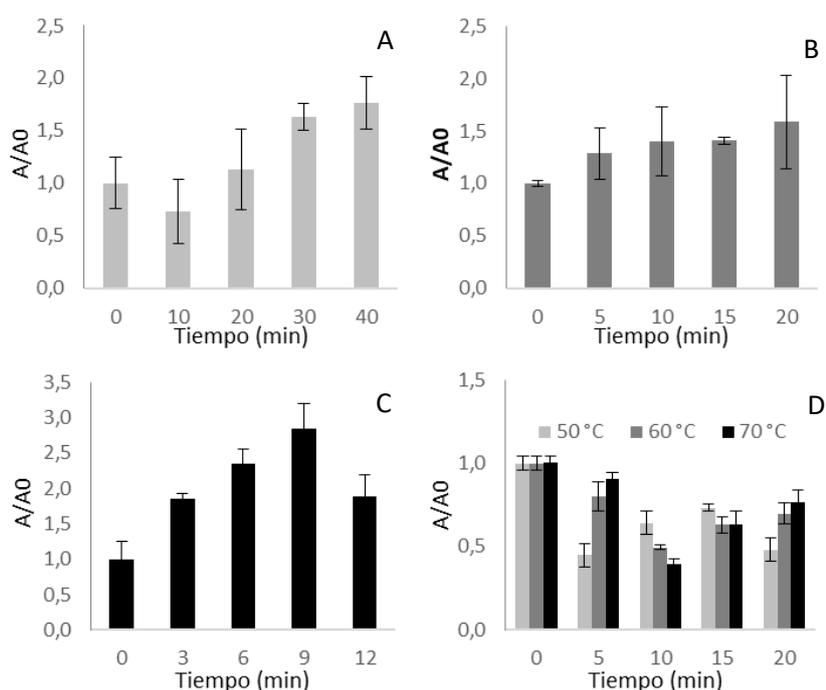


Figura 3.7. Actividad antioxidante (FRAP) de extracto de germen de trigo deslipidizado en relación al material no tratado. Tratamiento en estufa a 150 °C (A), 180 °C (B) y 200 °C (C) y en microondas a 50, 60 y 70 °C (D). A0 para tratamiento con aire caliente: 0,68 mg ET/100 g GT deslip. A0 para tratamiento con microondas: 0,98 mg ET /100 g GT deslip.

Ahora bien, al comparar los dos mecanismos de acción antioxidante en el Capítulo 1, se concluyó que los compuestos antioxidantes del germen de trigo actúan predominantemente por captación de radicales libres (capacidad antirradicalaria medida por ABTS^{•+}), siendo mucho mayor a la capacidad reductora (medida por FRAP) 6.667 - 15.445 meq. trolox/100 g GT deslip. versus 0,68 – 0,98 meq. trolox/100 g GT deslip., por lo que ocurre con la capacidad reductora no resulta relevante desde un punto de vista general.

3.3.3.3. Capacidad de captura de radicales libres (ABTS^{•+})

La capacidad antirradicalaria de los extractos de GT para las condiciones ensayadas evidencian, al igual que la capacidad reductora, un comportamiento diferencial para las dos tecnologías ensayadas (Figura 3.8). En este caso, para el tratamiento con aire caliente se produjo un decaimiento sostenido a 180 y 200 °C, mientras que para el tratamiento con microondas la capacidad antioxidante incrementó, especialmente a 60 y 70 °C.

Durante el tratamiento con aire caliente la disminución fue mas evidente a 200 °C, con pérdidas del 62% con respecto a la muestra no tratada a los 3 min de calentamiento, valor que se mantuvo invariante hasta los 12 min. A 180 °C, este decaimiento sucedió de forma gradual, mientras que, a 150 °C, se observan variaciones del 12% por arriba y por debajo del material no tratado en el tiempo.

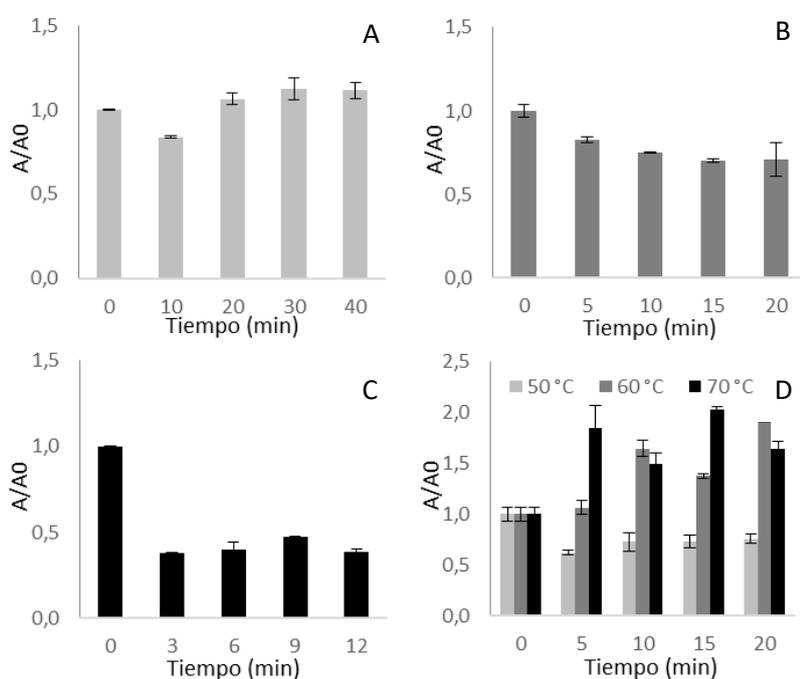


Figura 3.8. Actividad antioxidante anti radicalaria (ABTS^{•+}) de extracto de germen de trigo deslipidizado en relación al material no tratado. Tratamiento en estufa a 150 °C (A), 180 °C (B) y 200 °C (C) y en microondas a 50, 60 y 70 °C (D). A0 para tratamiento con aire caliente: 15.445 mg ET/100 g GT deslip. A0 para tratamiento con microondas: 6.667 mg ET /100 g GT deslip.

Para los tratamientos con microondas, a 50 °C se observó una disminución del 25% a los 20 min, y contrariamente, a 60 y 70 °C se produjo un aumento remarcable, con valores máximos de 13.266 y 13.519 g eq. trolox/100 g GT deslip. para las muestras calentadas durante 20 min a 60 °C y 15 min a 70 °C, respectivamente, mientras que el no tratado obtuvo valores de 6.667 g eq. trolox/100 g GT deslip.

Krings & Berger (2001) sostienen que la actividad antioxidante observada en el germen de trigo tostado no puede explicarse solo por el sobresaliente contenido de tocoferoles (un antioxidante *per se*), y que su presencia explicaría menos del 20% de toda la actividad antioxidante observada.

En bibliografía se observa que el tratamiento de germen de trigo con radiofrecuencia no tuvo efecto significativo en la capacidad antioxidante mediante los ensayos con DPPH (ensayo de actividad antirradicalaria) y FRAP (capacidad reductora), mientras que tratamiento con vapor disminuyó la actividad reductora y antirradicalaria (Ling et al., 2019).

En general, se puede decir que el principal mecanismo de acción en los extractos etanólicos de germen de trigo es la antirradicalaria, de manera superlativa en relación a la capacidad reductora. Esta actividad es sensible al calentamiento por métodos convencionales y a las microondas, con un comportamiento diferente en cada caso. Para el tratamiento con aire caliente la capacidad antioxidante disminuyó, con mayores pérdidas a temperaturas más elevadas, mientras que para microondas esta capacidad aumentó significativamente a 60 y 70 °C, con valores máximos que llegan a duplicar al del material no tratado.

3.4. CONCLUSIÓN

Las propiedades físico-químicas del germen de trigo fueron afectadas por el procesamiento con aire caliente y microondas. Las proteínas mostraron una pérdida de solubilidad por desnaturalización térmica. Las fracciones que perdieron solubilidad durante el tratamiento con aire caliente fueron principalmente de masa molecular menores a 50.000 Da, mientras que para microondas las fracciones tuvieron una masa molecular entre 48.000 y 100.000 Da. Estos cambios no afectaron el índice de solubilidad de nitrógeno a pH 6, mientras que a pHs más básicos se observó una mayor solubilidad por desnaturalización térmica, con mayor efecto sobre las muestras irradiadas con microondas. La capacidad de retención de agua disminuyó, mientras que la de aceite aumentó luego del tratamiento en microondas. El tratamiento con aire caliente no mostró tendencias en el tiempo, pero afectó la capacidad de formar espumas estables.

La calidad del aceite, según los parámetros estudiados, no fue afectada en gran medida por las tecnologías ensayadas. Los valores de acidez se mantuvieron invariantes, incluso con valores inferiores al del material no tratado, mientras que el índice de peróxidos aumentó gradualmente durante el calentamiento con ambas metodologías, pero siempre presentaron valores bajos y alejados del límite legal para aceites comestibles.

Los compuestos antioxidantes mostraron tendencias contrarias para ambas tecnologías de estabilización, lo que puede asociarse al mecanismo de acción de las microondas y a las reacciones de pardeamiento no enzimático durante el tratamiento con aire caliente. El principal mecanismo de

acción antioxidante de los extractos del germen de trigo, el antiradicalario, fue mejorado por el tratamiento con microondas.

En conclusión, las tecnologías ensayadas actuaron de manera diferencial sobre el germen de trigo, pero las consecuencias generales resultan similares en cuanto al efecto sobre las proteínas y el aceite. La calidad de los productos resultantes fue aceptable desde un punto de vista tecnológico y nutricional

CAPÍTULO 4

**Modelado de la
transferencia de calor y
masa durante el tratamiento
térmico de germen de trigo**

CAPÍTULO 4: Modelado de la transferencia de calor y masa durante el tratamiento térmico de germen de trigo

4.1. INTRODUCCIÓN

Un modelo es un análogo de una realidad física, generalmente más simple e idealizado. Los modelos pueden ser físicos o matemáticos y son creados con el objetivo de obtener una idea más clara de la realidad. Un modelo físico puede ser por ejemplo un prototipo de un equipo de escala industrial. Un modelo matemático es un análogo matemático de la realidad física, que describe las propiedades y características de un sistema real en términos de variables y operaciones matemáticas (Saguy, 2016). El crecimiento en la potencia informática y su facilidad de uso han permitido que los modelos sean cada vez más realistas y menos engorrosos de resolver, lo que impulsó un rápido crecimiento en el uso de modelos para diseño e investigación de productos, procesos y equipos. Las ventajas de un modelo incluyen (1) minimizar el número de experimentos, ya que permite evaluar el efecto de las variables de proceso con mayor rapidez, reduciendo tiempo y dinero; (2) proporcionar mejor comprensión del proceso (en el caso de un modelo basado en la física), y analizar situaciones que no siempre son factibles de realizar mediante la experimentación; (3) permitir la optimización de procesos; (4) mejorar la capacidad predictiva, es decir, formas de realizar escenarios de "qué pasaría si"; y (5) proporcionar capacidades mejoradas de automatización y control de procesos (Sablani, Datta, Rahman, & Mujumdar, 2006).

Los modelos matemáticos se pueden clasificar de diferentes maneras y un tanto flexible según el punto de partida para realizar el modelo. En los modelos basados en la observación, el punto de partida son los datos experimentales sobre los cuales se construye un modelo. Es principalmente de naturaleza empírica. En contraste, el punto de partida para los modelos basados en la física son las leyes físicas universales que deberían describir los presuntos fenómenos físicos. Los modelos basados en la física también se validan con datos experimentales, pero éstos no tienen que existir antes que el modelo. La decisión de construir un modelo basado en la observación o en la física depende de una serie de factores, incluida la necesidad y los recursos disponibles (Sablani et al., 2006).

Numerosos trabajos que describen el comportamiento de un material durante tratamientos térmicos utilizan métodos de base empírica, como secado de hojas de menta (Özbek & Dadali, 2007), romero (Mghazli et al., 2017), pimienta (Darvishi et al., 2014) o arroz (Behera & Sutar, 2018). Se utilizan generalmente para representar la evolución del contenido de humedad en función del

tiempo, ajustando los datos de humedad obtenidos durante el proceso de secado a ecuaciones conocidas. Los tratamientos térmicos descritos pueden ser de tipo tradicional, industrial, solar, asistido con bomba de calor, con microondas u otros. Presentan como ventaja su sencillez y un buen ajuste entre los resultados teóricos y experimentales, pero son adecuados para un producto y condiciones de proceso específicos.

Los modelos basados en fenómenos de transporte actualmente están experimentando un crecimiento importante en muchas aplicaciones de procesos de ingeniería, aunque aún se encuentra en etapas de desarrollo (Siguemoto, Funcia, Pires, & Gut, 2018; Sablani et al., 2006). Halder, Dhall, & Datta (2011) asocian el desarrollo incipiente a las complejidades tanto de los materiales, como de los procesos de transporte involucrados y el desarrollo informático que permite complejizar los cálculos.

Muchos autores trabajaron en este tipo de modelos con agroalimentos, como por ejemplo trigo (Hemis, Choudhary, & Watson, 2012), arroz (Elgamal, Ronsse, Radwan, & Pieters, 2014), canola y soja (Hemis, Gariépy, Choudhary, & Raghavan, 2017) con diferentes niveles de complejidad en la resolución. Éstos estudios generalmente predicen la temperatura y el contenido de humedad del cuerpo, pudiendo estar acoplada su resolución a la cinética de parámetros de calidad como color y textura o de enzimas (Lespinard, Bambicha, & Mascheroni, 2012; Martens, Scheerlinck, De Belie, & De Baerdemaeker, 2001), lo que permite la utilización de éstos modelos en el diseño y evaluación de procesos térmicos equivalentes para determinar las condiciones óptimas de operación.

Un medio poroso se refiere a un sólido con espacios vacíos (poros). La mayoría de los alimentos sólidos pueden ser considerados como higroscópicos y porosos, ya que no existe un criterio unificado sobre la escala a considerar para definir si un cuerpo es poroso o no. Asimismo, existen diferentes tipos de porosidades según la disposición de los espacios vacíos y si están conectados entre sí (materiales porosos capilares y no capilares). En general, solo las soluciones líquidas y geles suelen ser considerados estrictamente no porosos (Datta, 2007). En bibliografía se encuentran sistemas que fueron modelados como medio poroso en un amplio rango de escalas, como granos de arroz dentro de un secador de lecho fijo en el que el poro es el aire entre los granos (Elgamal, Ronsse, & Pieters, 2013) o tejidos vegetales para el diseño de biomateriales, que pueden ser tratados como un medio poroso al estar compuesto por células dispersas separadas por vacíos conectivos que permiten el flujo de nutrientes y minerales (Castro, Mayorga, & Moreno, 2018; Khaled & Vafai, 2003).

El método general para la resolución de un modelo de base teórica que involucra un material poroso implica la aplicación del enfoque continuo, donde resulta irrelevante resolver de manera exacta lo que ocurre dentro de cada poro, sino que se aborda la resolución de los balances de materia, momento y/o energía desde una perspectiva más amplia. Usualmente se utiliza una simplificación

en la que todas las variables y parámetros se promedian en un volumen elemental representativo, llamado enfoque continuo. En este, el medio multifásico poroso se reemplaza por un medio ficticio y continuo: una sustancia desestructurada, que a cualquier punto se asigna variables y parámetros que son funciones continuas en el tiempo y el espacio (A. K. Datta, 2007).

Por otra parte, los modelos teóricos pueden ser formulados desde un enfoque no-conjugado o conjugado. El primero resuelve los fenómenos de transporte limitándose a un dominio, mientras que el segundo considera el fenómeno de transporte en dos dominios: el cuerpo y el aire circundante, resolviéndolo simultáneamente. Estos últimos acusan alta exactitud y aplicaciones más amplias. Sin embargo, el proceso de resolución es complejo y requiere un tratamiento matemático profundo de las ecuaciones y herramientas computacionales. Castro et al. (2018) estiman que por esta razón solo el 5% de los modelos de base teórica aplicados al secado de frutas sean de tipo conjugados.

Con lo visto hasta aquí, se puede decir que los modelos en ingeniería pueden presentar una gran variedad de enfoques y técnicas de resolución según el objetivo final del trabajo y los recursos disponibles.

La mayoría de los trabajos sobre germen apunta a evaluar la eficacia de diferentes técnicas y los efectos sobre la matriz (Boukid et al., 2018). Los pocos estudios que describen los fenómenos de transferencia de masa y calor en germen de trigo son actuales y se limitan a procesos de secado en lecho fluidizado (Chan & Kuo, 2018; Gili, et al., 2018c).

Chan et al. (2018) y Chan & Kuo (2018) describieron el proceso considerando el fenómeno de evaporación durante el calentamiento a 80, 100 y 120 °C, y condensación durante el enfriamiento (hasta temperatura final de 45 °C), tomando como parámetro de estabilidad del germen la actividad de agua del producto final ($a_w < 0,3$). Plantearon la resolución desde un punto de vista micro y macroscópico utilizando el software COMSOL Multiphysics®.

Gili et al. (2018c) por su parte, resolvió el balance macroscópico de energía y determinó el coeficiente de difusión efectiva mediante la resolución analítica de la ecuación de transferencia de masa para una partícula, considerada como una placa plana.

No se encontraron estudios sobre el modelado de germen de trigo sometido a tratamiento térmico con aire caliente. En el presente capítulo se ensayaron modelos empíricos y modelos de base teórica para la resolución de la transferencia de masa y de energía para predecir la evolución de la temperatura y el contenido de humedad durante el calentamiento de germen de trigo con aire caliente.

4.2. MODELO 1: Base experimental

4.2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron las curvas de humedad versus tiempo para el tratamiento de germen de trigo con aire caliente de acuerdo a lo descrito en el Capítulo 2, sección Tratamientos térmicos del germen de trigo, tratamiento con aire caliente. Se analizaron 3 temperaturas de aire (150, 180 y 200 °C), y cuatro tiempos en cada caso (10, 20, 30 y 40 min para 150°C; 5, 10, 15 y 20 min para 180 °C y 3, 6, 9 y 12 min para 200 °C). Los ensayos se realizaron por triplicado.

4.2.1.1. Velocidad de secado

La velocidad de secado (**DR**) se definió como la rapidez con la que un alimento típico pierde humedad durante el proceso de secado. La **DR** se calculó utilizando la ecuación siguiente (Shi, Zheng y Zhao 2013).

$$DR = - \frac{dM}{dt}$$

Donde **M** es el contenido de humedad de la muestra (kg agua/kg base seca) y **t** es el tiempo de secado (min) y **DR** la velocidad de secado se define en kg agua/kg base seca min.

La variación del contenido de humedad en función del tiempo usualmente responde a una exponencial negativa, como se desarrollará mas adelante en los modelos utilizado en material biológico. Se ajustaron las curvas de humedad a exponencial negativa, y se derivó dichas funciones en función del tiempo para obtener la velocidad de secado.

$$M = a \exp(-k t)$$

$$DR = - \frac{dM}{dt} = a k \exp(-k t)$$

4.2.1.1. Cinética de pérdida de agua del germen

Para investigar las características de la pérdida de agua del germen de trigo durante el calentamiento es importante modelar su evolución en el tiempo. La humedad relativa (**MR**) de las muestras durante el secado se calcula generalmente por la siguiente ecuación:

$$MR = \frac{M_t - M_e}{M_0 - M_e}$$

Donde **M_t**, **M₀** y **M_e** son el contenido de humedad a cualquier tiempo de secado (kg agua/kg), contenido inicial de humedad (kg agua/kg) y contenido de humedad en el equilibrio (kg agua/kg), respectivamente. Los valores de **M_e** son relativamente pequeños comparados con **M_t** y **M₀** para tiempos largos de secado (Darvishi et al. 2014) por lo que el cálculo de **MR** se redujo a:

$$MR = \frac{M_t}{M_0}$$

4.2.1.2. Coeficiente de difusividad efectiva

Es aceptado que el secado de productos vegetales en el período de velocidades decreciente puede describirse mediante la ecuación de difusión de Fick. Se asumió el sistema de estudio como una geometría de placa delgada. La solución de la ecuación de Fick para una capa infinita delgada está dada por la ecuación de Crank, aplicable a largos períodos de secado y considerando humedad inicial uniforme (Crank, 1975). La ecuación de Crank escrita de la siguiente manera describe la evolución del contenido de humedad para una placa infinita (Arslan y Ozcan 2011):

$$MR = \frac{M_t}{M_0} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \left(\frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left(-(2n+1)^2 \frac{\pi^2}{4L^2} D_{\text{eff}} t \right) \right)$$

Donde D_{eff} es el coeficiente de difusión a una temperatura (m^2/s) y L es el medio espesor (m). Se obtuvo el coeficiente de difusión efectiva (D_{eff}) para cada temperatura al graficar $\ln(MR)$ versus tiempo de tratamiento. La resolución se realizó en Microsoft Excel® (Microsoft Office 2010).

4.2.1.3. Constante cinética de secado

La evolución de la pérdida de humedad en función del tiempo se puede ajustar a una cinética de primer orden, como lo expresa la siguiente ecuación:

$$MR = MR_0 \exp(-k' * t)$$

Se encontró la constante de secado (k') por regresión lineal para cada temperatura ensayada. La dependencia del coeficiente de difusión (D_{eff}) y de la constante cinética de secado (k') con la temperatura se evaluó mediante la ecuación de Arrhenius (Shi et al. 2013):

$$k' = k_0 \exp \left(- \frac{Ea'}{RT} \right)$$

$$D_{\text{eff}} = D_0 \exp \left(- \frac{Ea}{RT} \right)$$

Donde k' es la constante cinética de secado obtenida por regresiones experimentales (min^{-1}); k_0 y D_0 son constantes pre-exponenciales (min^{-1} y m^2/s respectivamente); Ea y Ea' son las energías de activación (kJ/mol) de la cinética de secado y del coeficiente de difusión; T es la temperatura de secado (K) y R es la constante universal de los gases ($8,314 \times 10^{-3} \text{ kJ/mol K}$). El gráfico de $\ln(D_{\text{eff}})$ y $\ln(k)$ en función de la recíproca de la temperatura absoluta permitió calcular a Ea .

4.2.1.4. Modelado de pérdida de agua del germen

Para el modelado de la pérdida de agua, los datos experimentales a diferentes temperaturas se ajustaron a siete modelos matemáticos mayormente utilizados para materiales orgánicos y biológicos para una geometría de capa delgada. En la Tabla 4.1 se muestran los modelos y los parámetros asociados (Darvishi et al. 2014).

Tabla 4.1. Modelos matemáticos propuestos por varios autores para las curvas de secado.

Nombre del Modelo	Modelo
Lewis	MR= exp (-k t)
Page	MR= exp (-k t ⁿ)
Henderson - Pabis	MR= a exp (-k t)
Logarítmico	MR= a exp (-k t) + b
Wang y Singh	MR= 1 + b t + a t ²
Midilli	MR= a exp (-k t ⁿ) + b t
Page Modificado	MR= exp (-(k t) ⁿ)

Las regresiones lineales y no lineales se realizaron utilizando el software SigmaPlot versión 12.0.

La habilidad de los modelos matemáticos para representar los datos experimentales se evaluó a través del coeficiente de correlación (R^2), y los parámetros estadísticos chi cuadrado reducido (χ^2) y la raíz del error cuadrático medio (RMSE) calculados de la siguiente manera (Darvishi et al., 2014):

$$RMSE = \left(\frac{\sum_{i=1}^N (MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2}{N} \right)^{0,5}$$

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^N \frac{(MR_{pre,i} - MR_{exp,i})^2}{N - z}$$

Donde $MR_{exp,i}$ y $MR_{pre,i}$ son la iésima humedad reducida experimental y predicho, respectivamente; N es el número de observaciones y z es el número de parámetros.

Mientras más alto es el R^2 y menores los parámetros χ^2 y RMSE, mejor es el ajuste del modelo.

4.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2.2.1. Variación del contenido de humedad durante el tratamiento térmico

En la Figura 4.1 se observa la variación de contenido de humedad relativa en función del tiempo de tratamiento obtenido para diferentes temperaturas. En todos los casos la humedad decrece continuamente y la pendiente de la curva es mayor a temperaturas más altas, lo que indica que un incremento de la temperatura del aire favorece la transferencia de masa desde el germen hacia el medio.

En ningún caso se alcanzó la humedad de equilibrio, ya que en el gráfico no se observa una humedad relativa final constante. Ello se debe a que el ensayo se realizó hasta el inicio de desarrollo de color en la superficie de la muestra, evitando la carbonización, sin tomar como parámetro de corte el peso o contenido de humedad de la muestra constante.

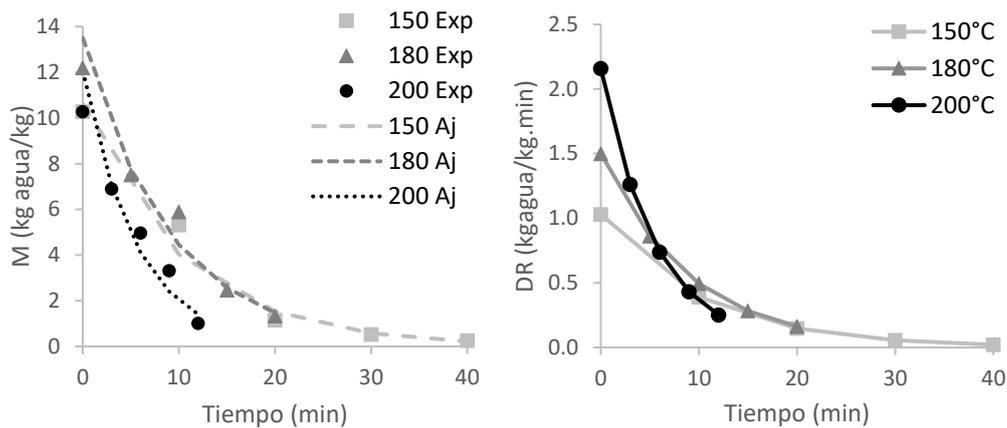


Figura 4.1. Variación del contenido de humedad (M) con el tiempo de tratamiento para diferentes temperaturas, con los respectivos ajustes a ecuaciones exponenciales (izq.). Curvas de velocidad de secado experimental en función del tiempo de tratamiento para diferentes temperaturas (der.).

4.2.2.2. Velocidad de secado

Utilizando los datos experimentales de humedad y tiempo es posible estimar la velocidad de deshidratación. El ajuste de estos valores a una ecuación exponencial generó los parámetros que se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2. Ajuste de contenido de humedad versus tiempo a ecuaciones exponenciales para las distintas temperaturas de seteo.

Temp. seteo (°C)	función	R ²
150	$M = 10,612 \exp(-0,097 t)$	0,98
180	$M = 13,504 \exp(-0,111 t)$	0,97
200	$M = 12,053 \exp(-0,179 t)$	0,92

En la Figura 4.1 se observa que la DR disminuye continuamente en el tiempo para todas las condiciones ensayadas. Ello evidencia que el tratamiento ocurre solo en el período decreciente, por lo que el secado es controlado por la resistencia a la transferencia de masa en el sólido, y es aplicable la segunda ley de Fick (Durance, 2002). En etapas iniciales es mayor la velocidad de difusión de agua debido a mayores contenidos de humedad y menor resistencia externa. Las menores DR aparecen en etapas finales de secado por una baja difusión de humedad. Asimismo, es esperable que al aumentar la temperatura del aire de secado se incremente la DR y se reduzcan los tiempos de tratamiento (Singh & Heldman, 2009).

Utilizando los datos experimentales de humedad y tiempo es posible estimar la velocidad de deshidratación. En la Figura 4.1 se observa que la DR disminuye continuamente en el tiempo para todas las condiciones ensayadas. Ello evidencia que el tratamiento ocurre solo en el período decreciente, por lo que el secado es controlado por la resistencia a la transferencia de masa en el

sólido, y es aplicable la segunda ley de Fick (Singh & Heldman, 2009). En etapas iniciales es mayor la velocidad de difusión de agua debido a mayores contenidos de humedad y menor resistencia externa. Las menores DR aparecen en etapas finales de secado por una baja difusión de humedad. Asimismo, es esperable que al aumentar la temperatura del aire de secado se incremente la DR y se reduzcan los tiempos de tratamiento (Singh & Heldman, 2009).

4.2.2.3. Coeficiente de difusión efectiva

El coeficiente de difusión efectiva es el parámetro de difusividad másica en la ley de Fick. Representa el término conductivo de todo el mecanismo de transferencia de masa dentro del cuerpo, por ejemplo contempla la difusión molecular, el flujo capilar, el flujo de Knudsen y el flujo hidrodinámico (Castro et al., 2018).

Con el fin de describir el tratamiento de germen en las condiciones ensayadas, se calculó el D_{eff} y la influencia de la temperatura. Los valores calculados de acuerdo a la ecuación de Crank para la placa delgada, tomando 11 términos de la ecuación se presentan en la Tabla 4.2 (al considerar mayor número de términos el valor de D_{eff} resultó invariante). Como era de esperar, los coeficientes de difusividad efectiva se incrementaron conforme se incrementó la temperatura del aire.

Tabla 4.2. Coeficiente de difusión efectiva y análisis estadístico y constantes cinéticas para cada temperatura ensayada.

Temp. seteo (°C)	D_{eff} (m ² /s)	k' (min ⁻¹)	R ² secado
150	4,95E-08 ± 6,72E-10	0,0956	0,98
180	6,50E-08 ± 2,23E-09	0,1038	0,96
200	7,36E-08 ± 5,78E-09	0,1615	0,90

D_{eff} : Coeficiente de difusión efectiva, k' : constante de secado.

Éstos valores son superiores al rango general (10^{-9} – 10^{-11} m²/s) estimado para materiales biológicos (Kaya & Aydin, 2009; Darvishi et al. 2014). Gili et al. (2018c) encontraron valores entre 1,1 y 7,5 E-10 m²/s para la difusión de agua a través de una partícula de germen. Los valores aquí obtenidos son considerablemente mayores ya que para la resolución se consideró la difusión en la bandeja de germen de trigo, con un lecho de 1 cm de espesor ($L = 0,005$ m), mientras que para el análisis de la partícula Gili et al. (2018c) consideró el medio espesor de la hojuela de GT ($L = 0,00145$ m). No se trataría aquí de una simple diferencia geométrica, sino de un sistema diferente (una partícula versus lecho con aire intersticial), en el que propiedades intrínsecas del sistema, como la porosidad varían y afectan los fenómenos difusivos.

4.2.2.4. Cinética de secado

Al ajustar la pérdida de agua a una cinética de primer orden se obtiene como resultado las gráficas que se muestran en Figura 4.2 y los parámetros cinéticos de la Tabla 4.2. Allí también se observa que la constante cinética de pérdida de agua es mayor para temperaturas de aire más elevadas.

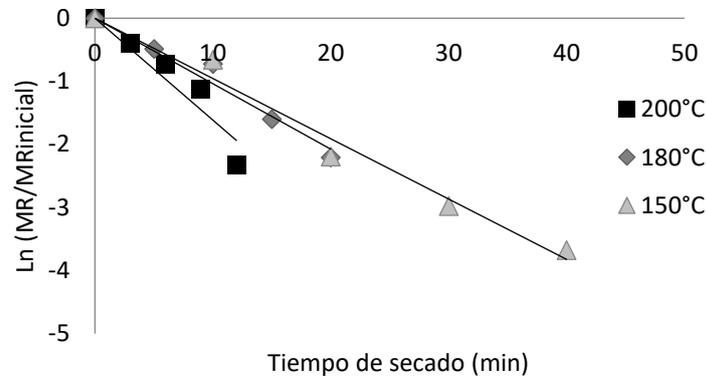


Figura 4.2. Ajuste de contenido de humedad en función del tiempo ajustados a una cinética de secado de orden 1.

4.2.2.5. Influencia de la temperatura

La energía de activación del coeficiente de difusión (E_a), calculada como la pendiente del gráfico de $\ln(D_{eff})$ versus la inversa de la temperatura absoluta fue de 14,42 kJ/mol y D_0 $3,12E-6$ m²/s, con buen ajuste, R^2 0,97 (Figura 4.3). Los valores concuerdan con los informados para materiales biológicos, (Srikiatden & Roberts 2007), e inferior al rango de 80-110 kJ/mol obtenido para el secado convectivo de hojas (Panchariya et al. 2002, Kaya & Aydin, 2009).

Por otra parte, el ajuste a una cinética de primer orden resultó en una energía de activación (E_a') de 19,19 kJ/mol y un factor pre-exponencial k_0 de $12E-6$ m²/s, con un R^2 de 0,75 (Figura 4.3).

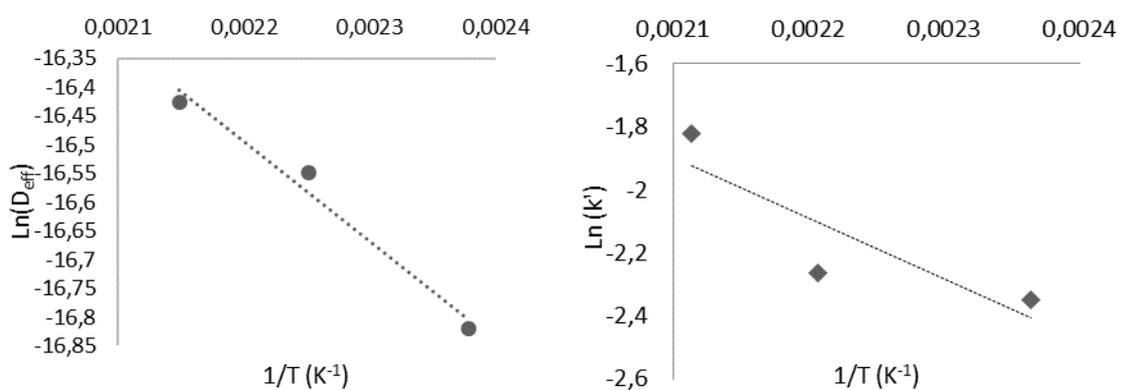


Figura 4.3. Regresión de $\ln(D_{eff})$ (der.) y $\ln(k')$ (izq.) versus la inversa de la temperatura absoluta para el cálculo de la energía de activación del coeficiente de difusión y de la constante cinética, respectivamente.

4.2.2.6. Modelado de pérdida de agua del germen

A continuación, se muestran los resultados del modelado del comportamiento del GT durante el tratamiento con aire caliente a las ecuaciones empíricas más utilizadas. En general, todos los modelos ensayados obtuvieron un buen ajuste (valores de R^2 entre 0,9749 y 0,9995, valores del estadístico χ^2 entre 0,0003 y 0,0210 y de RMSE entre 0,008 y 0,054), sin embargo, el modelo que mejor describe el proceso de secado en capa delgada de germen de trigo es el de Midilli et al. (2002). Los parámetros y estadísticos asociados a los modelos ensayados se muestran en la Tabla 4.3.

En la Figura 4.4 se muestran en conjunto los datos experimentales y los predichos con el modelo de Midilli. Se trata de un modelo ampliamente utilizado, que tiene un excelente ajuste para el secado de otros productos como hojas de menta (Ayadi et al. 2014) y pimiento rojo (Darvishi et al. 2014), mientras que otros, como el secado de arroz se describen adecuadamente con los modelos de Page (Behera & Sutar, 2018). En este sentido Arslan & Ozcan (2011) reportaron que el secado de pimiento rojo al sol y en microondas doméstico se describe mejor con el modelo de Midilli, mientras que el secado en estufa a 50-70 °C por la ecuación de Page o Page Modificado.

Tabla 4.3. Coeficientes de los modelos experimentales para las temperaturas de seteo ensayadas y análisis estadístico.

T (°C)	Modelo	Ecuación	k	a	b	n	R ²	χ ²	RMSE
150	Lewis	MR= exp (-k t)	0,0839	-	-	-	0,9803	0,0035	0,0526
	Page	MR= exp(-k t ⁿ)	0,0161	-	-	1,6176	0,9973	0,0006	0,0193
	H-P	MR= a exp(-k t)	0,08	1,0188	0,0851	-	0,9809	0,0049	0,0542
	Logarítmico	MR= a exp(-k t)+b	0,0728	1,0785	-0,0651	-	0,9849	0,0053	0,0460
	Wang y Singh	MR= 1+b t+a t ²	-	0,0009	-0,0598	-	0,9846	0,0210	0,0355
	Midilli	MR= a exp (-k t ⁿ)+b t	0,0115	1,0002	0,0009	1,7718	0,9995	0,0004	0,0087
	Page Modif.	MR= exp(-(k t) ⁿ)	0,078	-	-	1,6176	0,9973	0,0006	0,0193
180	Lewis	MR= exp (-k t)	0,09	-	-	-	0,9770	0,0032	0,0505
	Page	MR= exp(-k t ⁿ)	0,0654	-	-	1,1446	0,9793	0,0035	0,0456
	H-P	MR= a exp(-k t)	0,0938	1,0076	-	-	0,9758	0,0041	0,0493
	Logarítmico	MR= a exp(-k t)+b	0,0593	1,2741	-0,2857	-	0,9846	0,0039	0,0394
	Wang y Singh	MR= 1+b t+a t ²	-	0,0014	-0,0717	-	0,9830	0,0030	0,0425
	Midilli	MR= a exp (-k t ⁿ)+b t	0,1701	0,9999	-0,0317	0,2177	0,9879	0,0061	0,0349
	Page Modif.	MR= exp(-(k t) ⁿ)	0,0923	0,0923	-	1,1446	0,9793	0,0035	0,0456
200	Lewis	MR= exp (-k t)	0,1372	-	-	-	0,9871	0,0030	0,0491
	Page	MR= exp(-k t ⁿ)	0,0922	-	-	1,2002	0,9816	0,0029	0,0416
	H-P	MR= a exp(-k t)	0,1393	1,0139	-	-	0,9749	0,0039	0,0487
	Logarítmico	MR= a exp(-k t)+b	0,0581	1,7193	-0,7353	-	0,9921	0,0019	0,0273
	Wang y Singh	MR= 1+b t+a t ²	-	0,0022	-0,1001	-	0,9900	0,0016	0,0307
	Midilli	MR= a exp (-k t ⁿ)+b t	0,1459	1	-0,0627	1,02E-9	0,9948	0,0007	0,0122
	Page Modif.	MR= exp(-(k t) ⁿ)	0,1373	-	-	1,2002	0,9816	0,0029	0,0416

H-P: Henderson – Pabis; k, a, b y n: constantes de los modelos.

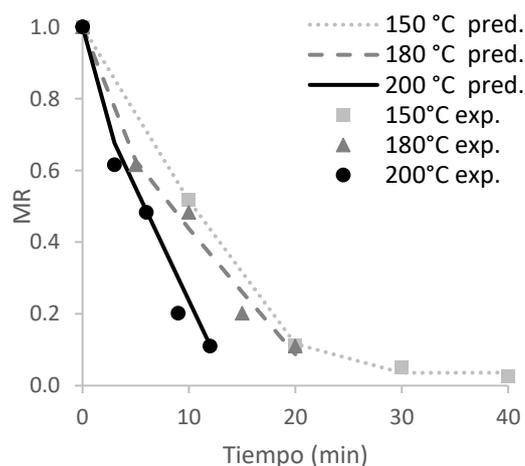


Figura 4.4. Relación de humedad versus tiempo a varias temperaturas de tratamiento, comparando los datos empíricos con los predichos con el modelo de Midilli et al. (2002).

4.2.3. CONCLUSION

La cinética de pérdida de agua del germen de trigo con aire caliente se investigó a tres temperaturas (150, 180 y 200 °C). La velocidad de transferencia fue mayor para temperaturas más elevadas y disminuyó gradualmente a medida que el secado avanzó. El proceso tuvo lugar en el período de velocidades decrecientes donde la pérdida de humedad es gobernada por la difusión en el sólido. El coeficiente de difusividad efectiva se incrementó conforme lo hizo la temperatura de tratamiento, al igual de la constante de secado, con valores de energía de activación de 14,42 kJ/mol y 19,19 kJ/mol, respectivamente. Entre los 7 modelos propuestos para describir la variación de la humedad relativa en función del tiempo, el que mejor ajustó fue el modelo semi-empírico de Midilli.

4.3. MODELO 2: Base física - balance de energía

4.3.1. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un modelo de base física a partir de los datos de tratamiento del germen de trigo en cámara de humedad y temperatura controlada con el fin de encontrar el grupo de propiedades físicas y térmicas del germen de trigo que describan el proceso de calentamiento. Se utilizó el GT proveniente del Molino B.

4.3.1.1. Tratamiento térmico

El germen de trigo se trató térmicamente en una cámara de temperatura y humedad regulada (Vötsch® Modelo 7018). Las muestras de germen de trigo se colocaron en un molde de poliestireno (se utilizó el mismo molde que en el tratamiento con microondas descrito en el Capítulo 2, sección tratamientos térmicos del germen de trigo, tratamiento con microondas. Se mantuvieron las muestras en la cámara durante 1.800 s a 60 °C con una humedad relativa del aire de 30%. Los perfiles de tiempo-temperatura se registraron mediante 6 termocuplas tipo T (cobre/constantán) de 1 mm situadas sobre el eje principal del cilindro a diferentes alturas (0,5; 1,5; 2,5; 3,5 y 4 cm desde la superficie). Otra termocupla se situó a 2 cm de la superficie para registrar la temperatura del aire. Un esquema general de la distribución de las termocuplas se muestra en la Figura 4.5.

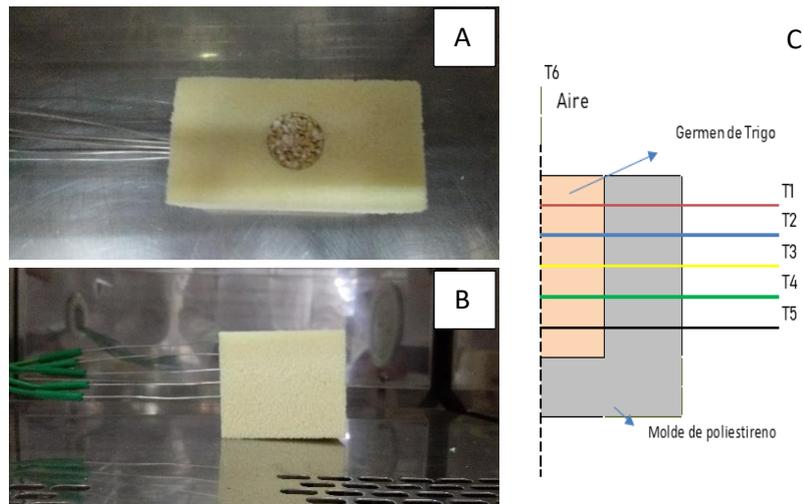


Figura 4.5. Muestra de germen de trigo en la pieza de poliestireno dentro de la cámara, con las termocuplas. Vista superior (A) y vista lateral (B). Representación esquemática del tratamiento térmico en cámara de humedad y temperatura controlada (C).

4.3.1.2. Determinación de coeficiente de transferencia de calor

En el proceso de calentamiento o enfriamiento, la transferencia de calor depende de variables como la velocidad y las propiedades del fluido externo y la geometría del alimento, entre otros parámetros. Estos factores se consideran englobados en el coeficiente de transferencia calórica de la interfase (h , $W/m^2 K$), el cual debe ser introducido en el programa de simulación numérica del proceso de calentamiento de la muestra cilíndrica de GT. Con el propósito de obtener los valores de h se realizaron experimentos independientes utilizando un prototipo de geometría similar construido en aluminio. La buena conductividad térmica del material garantizó un alto grado de homogeneidad de temperatura en el cuerpo. Se utilizó un cilindro de 0,95 cm de diámetro y 9 cm de altura, al cual se insertó una termocupla tipo T en su centro geométrico. La temperatura del interior se consideró igual a la temperatura de la superficie. Se colocó la pieza de aluminio en un soporte de poliestireno (Figura 4.6), dentro de la cámara de temperatura controlada y se la sometió a calentamiento en idénticas condiciones a las que se trató el germen de trigo (860 s a 60 °C). Los ensayos se realizaron por triplicado.

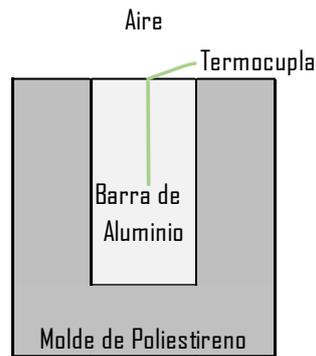


Figura 4.6. Representación esquemática del sistema utilizado para la determinación del coeficiente de transferencia de calor.

Se obtuvieron las curvas de temperatura del aire y de la pieza en función del tiempo. Se consideró un sistema 2D de simetría axial para describir el proceso de calentamiento de la pieza.

La ecuación no estacionaria de transferencia de calor se resolvió para la barra de aluminio:

$$(\rho C_p) \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k \nabla T)$$

Se utilizaron las siguientes propiedades: ρ 2.700 kg/m³, C_p 900 J/kg K, k 238 W/m K.

Las condiciones de borde fueron las siguientes:

- En las superficies en contacto con el aire y con el poliestireno:

$$-n (-k \nabla T) = h (T_{\text{aire}} - T)$$

Con n vector normal unitario (m) y h coeficiente de transferencia de masa (W/m^2K). Se ensayaron varios valores de h en la cara superior del cilindro (interfase aire-aluminio) y se consideró correcto aquel que minimizó el error entre los valores predichos y experimentales, mientras que el h utilizado en la superficie lateral e inferior en contacto con el poliestireno fue de 5 W/m^2K asociado a pérdidas térmicas (Singh & Heldman, 2009).

- En el eje del cilindro ($r=0$) se consideró simetría axial:

$$n (k \nabla T) = 0$$

$$n (D \nabla C) = 0$$

Para su resolución se utilizó el software COMSOL Multiphysics®, módulo transferencia de calor.

4.3.1.3. Características del modelo de validación

Se resolvió la transferencia de calor durante el tratamiento térmico de germen de trigo utilizando un código computacional de elementos finitos COMSOL Multiphysics®, módulo transferencia de calor en medio poroso.

La transferencia de energía se basa en la ecuación generalizada, que sin considerar la generación de calor se escribe de la siguiente manera:

$$(\rho C_p)_{\text{eff}} \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k_{\text{eff}} \nabla T)$$

Donde T es temperatura, t es tiempo de tratamiento, $(\rho C_p)_{\text{eff}}$ es la capacidad calorífica efectiva volumétrica a presión constante y k_{eff} es la conductividad térmica efectiva.

El cálculo de las propiedades térmicas que se desarrolló en el Capítulo 2 dan cuenta de las propiedades de las partículas de GT, pero según el enfoque del modelo al que se apliquen se necesitarán las propiedades del sólido en particular o las del medio poroso en general. Para medios particulados, es posible cuantificar las propiedades del dominio en su totalidad considerando un volumen con propiedades intermedias entre las fracciones: aire y germen, que lo componen (Figura 4.7). En este caso se consideró una herramienta de volumen ponderado para cuantificar las propiedades térmicas del lecho de germen de trigo que tienen en cuenta tanto las propiedades térmicas de la matriz sólida (s) como del fluido (f):

$$(\rho C_p)_{\text{eff}} = (1 - \theta) \rho_s C_{p_s} + \theta \rho_f C_{p_f}$$

$$k_{\text{eff}} = (1 - \theta) k_s + \theta k_f$$

La porosidad del germen (θ) se consideró de 0,687, como se calculó anteriormente.

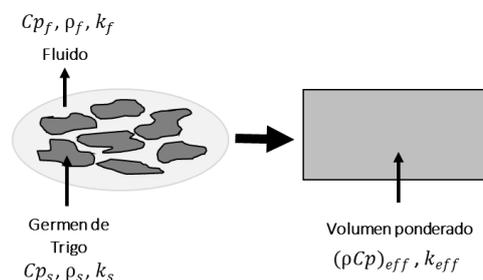


Figura 4.7. Representación del sistema considerado para la evaluación de propiedades termodinámicas del medio particulado para la resolución de las ecuaciones diferenciales.

4.3.1.4. Supuestos del modelo

Los supuestos considerados fueron los siguientes:

- Temperatura inicial del germen de trigo homogénea.
- Material homogéneo e isotrópico.
- No se analizó la transferencia de masa y momento. La pérdida de masa en la muestra luego de 1.800 s a 60 °C fue de $0,30 \pm 0,06\%$ por lo que se la consideró despreciable.
- Encogimiento de la muestra despreciable durante el tratamiento.
- Propiedades termofísicas independientes de la temperatura.

Los registros experimentales de temperatura permitieron corroborar el primer supuesto.

4.3.1.5. Detalles del modelo

Se utilizó un sistema 2D de simetría axial con una geometría cilíndrica de diámetro 2 cm y altura 5 cm. La malla de elementos triangulares se creó con la técnica de mallado libre.

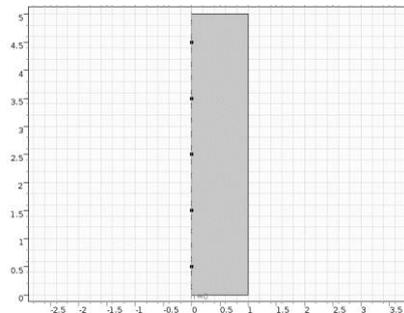


Figura 4.7. Geometría considerada en el modelado.

Se consideró una condición de borde convectiva en la cara superior del cilindro de muestra:

$$-n (-k_{\text{eff}} \nabla T) = h (T_{\text{aire}} - T)$$

El coeficiente térmico, h , utilizado fue el determinado anteriormente con la barra de aluminio.

En las superficies en contacto con la bandeja se consideraron pérdidas térmicas que engloban todas las resistencias térmicas involucradas con un h de $5 \text{ W/m}^2\text{K}$, como se consideró en la barra de aluminio.

$$-n (-k \nabla T) = h (T_{\text{aire}} - T)$$

En el eje del cilindro ($r=0$) se consideró simetría axial:

$$n (k \nabla T) = 0$$

$$n (D \nabla C) = 0$$

El perfil tiempo-temperatura se registró en 5 puntos del cilindro, considerando la misma posición que en las pruebas experimentales (0,5; 1,5; 2,5; 3,5 y 4,5 cm desde la superficie), como muestra la Figura 4.7.

4.3.1.6. Medidas de precisión del modelo

Los estadísticos utilizados para evaluar las diferencias entre los perfiles de temperatura predichos y experimentales fueron: raíz cuadrada del error cuadrático medio (RMSE) y la raíz cuadrada del error porcentual medio (RMSPE), calculados de la siguiente manera:

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{\sum(\text{T}_{\text{exp}} - \text{T}_{\text{pred}})^2}{M}}$$

$$\text{RMSPE} = \sqrt{\frac{\sum(\text{PE})^2}{M}}$$

$$\text{PE} = \frac{\text{T}_{\text{exp}} - \text{T}_{\text{pred}}}{\text{T}_{\text{exp}}} 100$$

Donde M es la cantidad de mediciones realizadas y PE el error porcentual.

4.3.2. RESULTADOS

4.3.2.1. Propiedades utilizadas

La información sintetizada de las condiciones iniciales y las propiedades térmicas utilizadas en el modelo se muestran en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4. Propiedades del material y condiciones iniciales utilizadas en el modelo.

Parámetro	Valor	Referencia
Densidad aparente (kg/m ³)	467,23	Determinado experimentalmente. Cap 2
Fracción en volumen del sólido	0,313	Determinado experimentalmente. Cap 2
Densidad del sólido (kg/m ³)	1.234,2	Kim, Flores, Chung, & Bechtel (2003)
Conductividad térmica sólido 25°C (W/m K)	0,2450	Calculado. Choi & Okos (1986)
Capacidad calorífica del sólido (J/kg K)	2.195	Medido (promedio entre 30-90 °C)
Conductividad térmica aire a 20 °C (W/m K)	0,0251	Singh & Heldman (2009)
Capacidad calorífica aire a 20 °C (J/kg K)	1.012	Singh & Heldman (2009)
Densidad de aire a 20 °C (kg/m ³)	1,164	Singh & Heldman (2009)
Temperatura inicial (°C) *	23,7	Determinado experimentalmente.

* La temperatura inicial fue el promedio de las temperaturas iniciales tomadas experimentalmente.

4.3.2.2. Coeficiente de transferencia de calor

El coeficiente de transferencia de calor es una medida de la resistencia al flujo de calor en la capa límite. Los ensayos realizados con la barra de aluminio resultaron en un coeficiente de transferencia de calor de $28,43 \pm 4,04 \text{ W/m}^2\text{K}$, correspondiente a procesos de convección forzada (Blümich, 2005). Este valor fue el que minimizó el RMSE ($0,04 \pm 0,01$) y RMSPE ($0,31 \pm 0,08\%$). La Figura 4.8 muestra el perfil de temperatura experimental y predicho para la barra de aluminio utilizando el h que mejor ajustó.

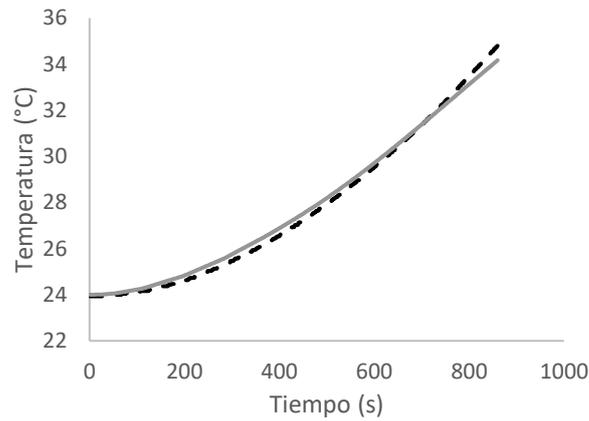


Figura 4.8. Curvas de temperatura experimental (—) y predichas (- -) para el calentamiento de la barra de aluminio para la determinación del coeficiente convectivo de transferencia de calor. Se consideró un valor de h de $28,43 \text{ W/m}^2\text{K}$.

Según la configuración del cuerpo a calentar y el tipo de flujo existen en bibliografía valores estimados, resultando en general mayores para flujo turbulento que laminar. Por ejemplo, el valor sugerido para aire en movimiento a una velocidad de 3 m/s es de $30 \text{ W/m}^2\text{K}$ y se utiliza en operaciones de congelamiento y horneado, mientras que si se trata de convección natural dicho coeficiente se reduce a $6 \text{ W/m}^2\text{K}$. Durante la evaporación la transferencia de calor es mucho más intensa, por lo que el valor de h en la superficie para un líquido hirviendo es entre $2.400\text{-}60.000 \text{ W/m}^2 \text{ K}$ (Blümich, 2005).

4.3.2.3. Validación de las propiedades

La Figura 4.9 muestra las curvas de tiempo-temperatura experimentales y predichas para el calentamiento de germen de trigo en cámara de humedad y temperatura controlada. Se consideraron 5 posiciones $0,5$; $1,5$; $2,5$; $3,5$ y $4,5 \text{ cm}$ (Figura 4.5). El coeficiente de transferencia de calor convectivo utilizado fue de $28,43 \text{ W/m}^2\text{K}$ en la cara superior, y pérdidas de calor de $5 \text{ W/m}^2\text{K}$ en el borde inferior y los laterales.

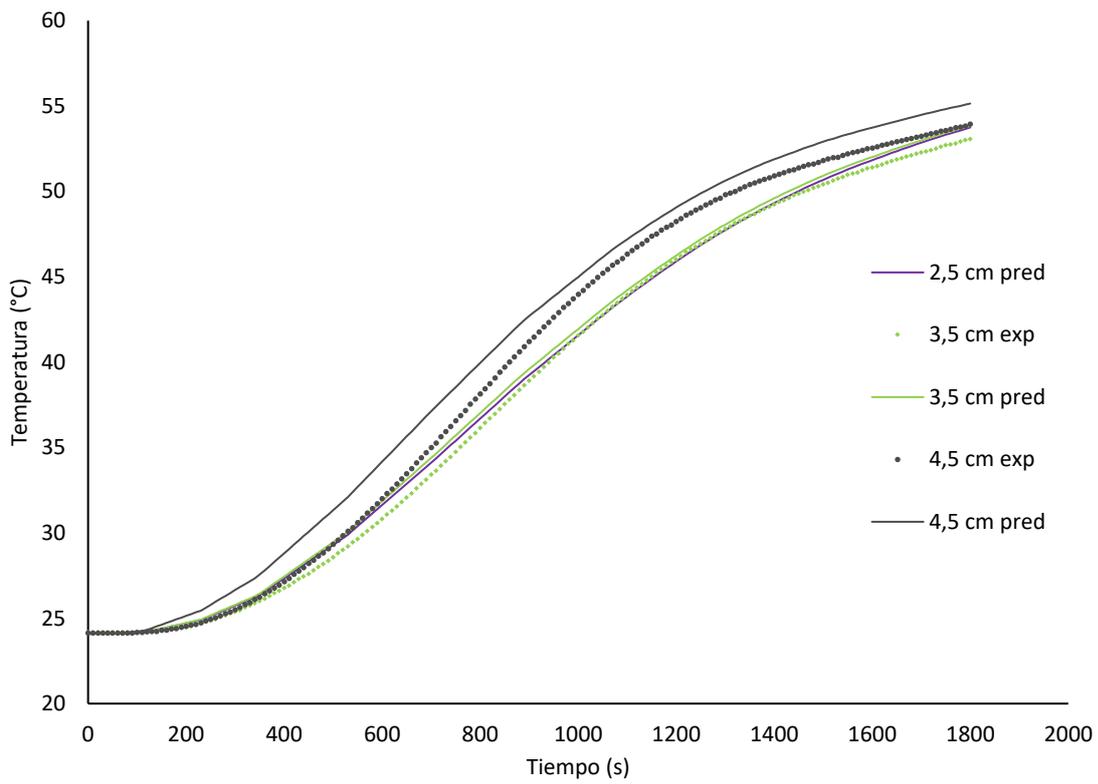
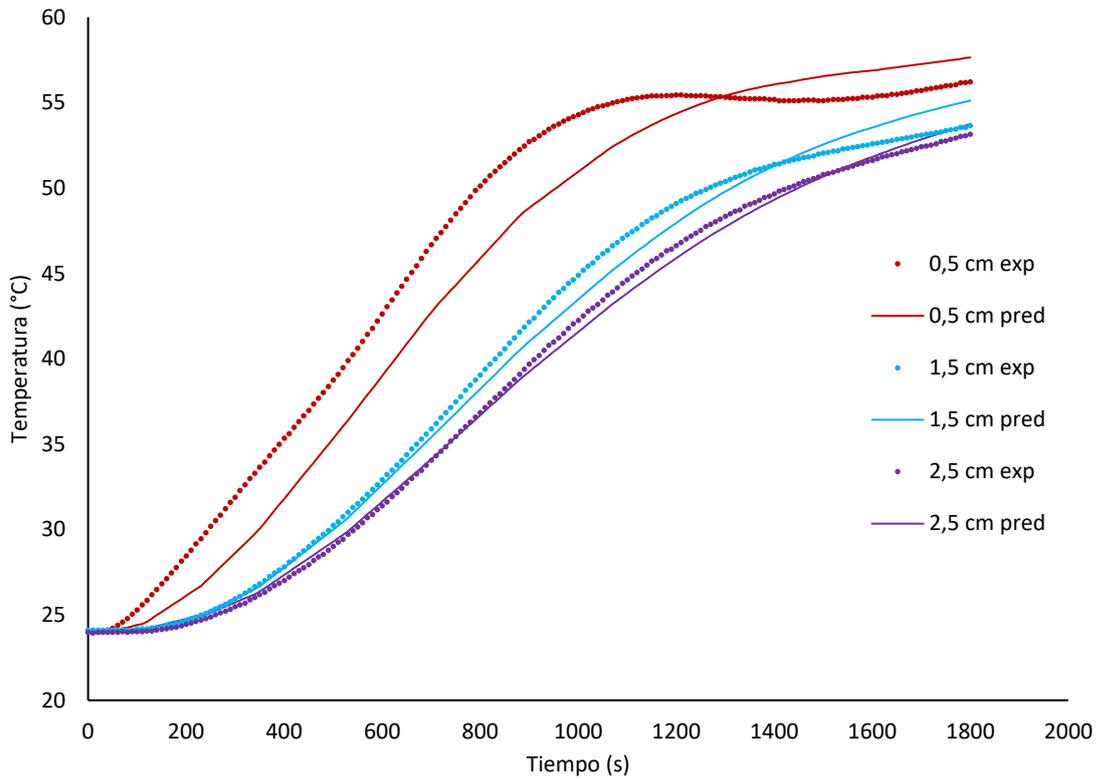


Figura 4.9. Curvas de temperatura experimental (●) y predichos (—) de germen de trigo tratado a 60 °C durante 1.800 s. Se consideraron distintas alturas de la muestra cilíndrica (0,5-4,5 cm desde la superficie). Coeficiente convectivo de 28,4 W/m²K.

La Figura 4.10 muestra el campo de temperaturas en 3-D para el germen de trigo luego de 1.800 s de tratamiento en cámara a 60 °C.

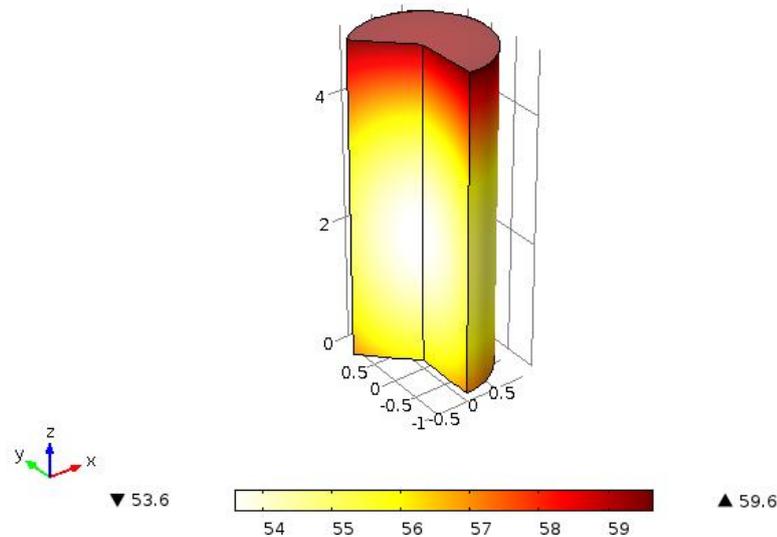


Figura 4.10. Campo de temperatura de germen de trigo predicho luego de 1.800 s a 60 °C.

El RMSE entre valores simulados y medidos considerando todas las experiencias fue de $1,41 \pm 1,11$ °C, mientras que el RMSPE fue de $3,33 \pm 1,97\%$, lo que evidencia un buen nivel de predicción del modelo con las propiedades ensayadas. La máxima diferencia se observó en la superficie del germen, posiblemente debido al error asociado a la determinación del coeficiente de transferencia de calor convectivo, y la diferencia en las características de superficie y comportamiento térmico entre del aluminio y el germen.

4.3.3. CONCLUSION

Se modeló el calentamiento de germen de trigo en una cámara de temperatura controlada resolviendo la ecuación diferencial de transferencia de calor en estado no estacionario. Se aplicaron condiciones de borde convectivas, con valores de coeficiente de transferencia de calor de 28,4 y 5 W/m²K en la cara superior y laterales del cilindro, respectivamente.

Las propiedades físicas y térmicas de germen de trigo aquí recopiladas sirvieron para describir satisfactoriamente el comportamiento térmico del germen, aún sin considerar la dependencia de ellas con la temperatura y humedad de la muestra.

4.4. MODELO 3: Base física - balance de masa y energía

4.4.1. MATERIALES Y MÉTODOS

Se desarrolló un modelo de base física para describir el comportamiento del germen durante el secado con aire caliente. Seguidamente se validó el modelo con los datos experimentales obtenidos

para el calentamiento a 3 temperaturas de aire: 150, 180 y 200 °C, con registro de temperatura en 3 puntos del material cada 30 segundos, y evaluación de contenido de humedad en intervalos regulares, tal como se describe en el Capítulo 2, sección Tratamientos térmicos del germen de trigo, tratamiento con aire caliente.

Para la validación del mismo se utilizaron los datos experimentales obtenidos para el modelo 1, según se detalló en el Capítulo 2.

4.4.1.1. Desarrollo del modelo

Se asumió una geometría de placa delgada para el desarrollo del modelo en este estudio. Se consideró un sistema 2D de simetría axial para describir el proceso de transferencia de masa y calor en la bandeja de germen de trigo. Las dimensiones consideradas fueron: radio de 12,5 cm y alto de 1 cm, como se muestra en la Figura 4.11.

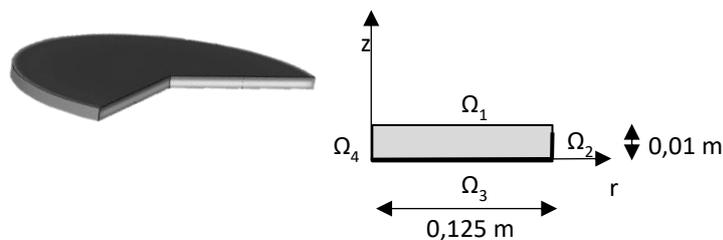


Figura 4.11. Representación esquemática de la bandeja de germen de trigo. Dominio en 3D (izq.) y 2D (der.).

4.4.1.2. Supuestos del modelo

Dado que se trata de un proceso complejo que involucra un material granulado con aire intersticial, se utilizaron varias simplificaciones con el propósito de resolver las ecuaciones de balance de materia y energía.

Los supuestos considerados durante el desarrollo del modelo fueron:

- La temperatura inicial del germen de trigo es homogénea (Tabla 4.5).
- El contenido de humedad inicial del germen de trigo es homogéneo (Tabla 4.5).
- El material es isotrópico.
- El encogimiento de la partícula es despreciable durante el tratamiento térmico.
- La muestra de germen de trigo se considera como un material poroso formado por 2 fases: una fase sólida conformada por las partículas de germen de trigo y espacios intersticiales llenos de aire húmedo.

- El aire húmedo está formado a su vez por 2 fracciones: aire seco y vapor de agua, de tal forma que la composición varía en función del tiempo de tratamiento.

Tabla 4.5. Valores iniciales de temperatura y contenido de humedad de germen de trigo considerados en el modelado.

	150 °C	180 °C	200 °C
Temp. muestra (°C)	22,77 ± 1,79	29,43 ± 1,24	28,09 ± 3,30
Cont. de humedad (g agua/100 g bs)	10,27 ± 0,53	12,19 ± 0,54	10,27 ± 0,53

4.4.1.3. Modelado de la transferencia de calor

La ecuación generalizada para la transferencia de calor planteada fue la siguiente:

$$(\rho C_p)_{\text{eff}} \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k_{\text{eff}} \nabla T)$$

Donde $(\rho C_p)_{\text{eff}}$ es la capacidad calorífica volumétrica efectiva del sistema sólido-fluido y k_{eff} es la conductividad térmica efectiva.

4.4.1.4. Modelado de la transferencia de masa

La segunda ley de Fick se utilizó para describir el proceso de transferencia de masa. Una ecuación se adoptó para el transporte de agua, utilizando un término de “difusividad efectiva”, que tiene en consideración todos los mecanismos internos de transferencia de masa en conjunto. Ésta es una simplificación común utilizada en materiales porosos e higroscópicos (Sablani et al., 2006; Srikiatden & Roberts, 2007).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \nabla(D_{\text{eff}} \nabla C)$$

El coeficiente de difusividad efectivo (D_{eff}) se determinó considerando la teoría de un medio poroso. En el dominio poroso la difusividad del vapor de agua en el aire D_L necesita ser ajustado de acuerdo a la porosidad (θ) y la tortuosidad (τ) del medio, para lo cual se utilizó la corrección de Millington y Quirk:

$$D_{\text{eff}} = \frac{\theta}{\tau} D_L$$

$$\tau = \varepsilon^{-1/3}$$

La difusión del vapor de agua a través del aire D_L se calculó de acuerdo a una correlación empírica (Lienhard IV & Lienhard V, 2016):

$$D_L = 1,87 \times 10^{-10} \frac{T^{2,072}}{p}$$

Donde D_L está en m^2/s , T es la temperatura absoluta (K) y p es la presión (atm). Se consideró la temperatura de película para el cálculo de D_L , calculada para cada temperatura de seteo (150, 180 y 200 °C) a partir del promedio de los datos experimentales medidos cada 30 segundos. La temperatura de película se definió de la siguiente manera:

$$T_{\text{film}} = \frac{T_{\text{aire}} + T_{\text{muestra}}}{2}$$

Los valores de D_L calculados fueron 4,49E-5, 4,72E-5 y 4,87E-5 m^2/s para 150, 180 y 200 °C respectivamente.

4.4.1.5. Propiedades térmicas

Debido a que el sistema de ecuaciones está definido en un medio poroso, se utilizó el enfoque continuo descrito anteriormente, donde el medio poroso y polifásico se reemplaza por un medio ficticio continuo (A. K. Datta, 2007). Las propiedades termodinámicas se calcularon teniendo en cuenta tanto la matriz sólida (s) como las del aire húmedo (ma):

$$(\rho C_p)_{\text{eff}} = (1 - \theta) \rho_s C_{p_s} + \theta \rho_{\text{ma}} C_{p_{\text{ma}}}$$

$$k_{\text{eff}} = (1 - \theta) k_s + \theta k_{\text{ma}}$$

La porosidad del germen (θ) se consideró de 0,687 y la densidad del sólido (ρ_s) de 1.234,2 kg/m^3 (Kim et al, 2003). La capacidad calorífica del sólido (C_{p_s}) utilizada fue la medida experimentalmente por DSC para la muestra de 15% de humedad entre 30 y 90 °C (para temperaturas menores a 30 °C se utilizó un valor de 2.188 J/kg K, y para temperaturas superiores a 90 °C se consideró un Cp de 2.675 J/kg K. La conductividad térmica del sólido (k_s) calculada a partir de las correlaciones de Choi & Okos (1986) también se cargó en el modelo como una función de la temperatura absoluta para cada temperatura ensayada. En este caso el fluido considerado fue aire húmedo (ma) en vez de aire, ya que se consideró que las propiedades fueron dependientes del tiempo de secado.

Para evaluar las propiedades de aire húmedo se utilizó la función predefinida en el módulo de transferencia de calor en medio poroso de Comsol Multiphysics versión 5.0 (2015). Los cambios se describieron utilizando leyes de mezclas entre vapor de agua (v) y aire seco (a).

$$C_{p_{\text{ma}}} = \frac{X_v PM_v C_{p_v} + X_a PM_a C_{p_a}}{X_a PM_a + X_v PM_v}$$

$$\rho_{\text{ma}} = \rho_v X_v + X_a \rho_a$$

$$k_{ma} = \frac{X_v k_v}{X_v k_v + X_a k_a} + \frac{X_a k_a}{X_v k_v + X_a k_a}$$

Donde X_a y X_v son fracciones molares de aire seco y vapor de agua, respectivamente, y se cumple que:

$$X_a = 1 - X_v$$

Tanto el aire húmedo, como el vapor de agua fueron considerados gases ideales.

4.4.1.6. Condiciones de borde

Durante el tratamiento térmico de germen de trigo se consideraron diferentes mecanismos de transferencia de calor. El calor fue transferido en mayor medida por convección desde el aire caliente hacia la superficie del producto y por conducción desde la base a la superficie debido al contacto térmico con la bandeja de aluminio. El principal mecanismo de transporte de masa fue difusivo dentro de la muestra.

- Condiciones de borde en Ω_1 ($t > 0$; Figura 4.11).

La condición de borde en la cara superior del germen de trigo se estableció considerando tanto convección como evaporación:

$$-\mathbf{n} \cdot (-k_{eff} \nabla T) = h_T (T_{aire} - T) - \lambda k_c (C_b - C)$$

Donde \mathbf{n} vector normal unitario (m), h_T coeficiente de transferencia de calor (W/m^2K), λ calor latente de vaporización (J/kg), C contenido de humedad de la muestra (kg/m^3) y C_b concentración de humedad en el aire circundante, suficientemente alejado de la capa límite (kg/m^3) y k_c coeficiente de transferencia de masa (m/s).

Con el propósito de estimar h_T se utilizó una correlación experimental para una placa plana (Singh & Heldman, 2009):

$$Nu = 0,54 Ra^{0,25}$$

Donde Nu y Ra son los números adimensionales Nusselt y Rayleigh.

$$Nu = \frac{h L}{k}$$

$$Ra = \frac{g \beta (T_{sup} - T_{\infty}) L^3}{\nu \alpha}$$

Con h coeficiente de transferencia de calor, L longitud característica, k conductividad térmica, g aceleración de la gravedad, β coeficiente de expansión térmica T_{sup} temperatura de la superficie, T_{∞} temperatura del aire alejado de la superficie, ν viscosidad cinemática y α difusividad térmica.

La temperatura ambiente (T_{aire}) varió en función del tiempo de acuerdo a la temperatura registrada en la termocupla posicionada en el flujo de aire. Se consideró el valor promedio experimental de las repeticiones en función del tiempo.

El último término del lado derecho se utilizó para cuantificar la energía requerida para evaporar la humedad de la superficie. La evaporación en la superficie es proporcional a la diferencia entre el contenido de humedad de la muestra (C) y el aire circundante (C_b) y se expresa de la siguiente manera:

$$-D_{eff} \frac{\partial C}{\partial x} = k_c (C_b - C)$$

Donde k_c es el coeficiente de transferencia de masa estimado en 1,00E-5, 1,03 E-5 y 1,05E-5 m/s para los tratamientos a 150, 180 y 200 °C, respectivamente. De cartas psicrométricas, C_b se estimó en 1,196 kg/m³.

El coeficiente de transferencia de masa del film de aire (k_c) que describe la transferencia convectiva de masa en la superficie se obtuvo a partir de la correlación de Sherwood-Reynolds-Schmidt para una configuración forzada externa (Shyam S, Sablani, Ashim K, Datta, M, Shafiur Rahman, 2006):

$$Sh = \frac{k_c L}{D_L} = 0,664 Re^{1/2} Sc^{1/3}$$

Con los números adimensionales Reynolds y Schmidt definidos de la siguiente manera:

$$Re = \frac{\rho_a V_a L}{\mu}$$

$$Sc = \frac{\mu}{\rho_a D_L}$$

Donde D_L difusividad de vapor de agua en el aire, ρ_a densidad de aire, V_a velocidad del aire, L longitud característica y μ viscosidad del aire.

En la condición de borde de la transferencia de calor, el término de evaporación se refiere a la velocidad de evaporación, mientras que en la ecuación de transferencia de masa, el término de la derecha representa la velocidad de cambio del contenido de humedad en un área específica debido a difusión (A. K. Datta, 2007; Sabarez, 2014).

- Condiciones de borde en Ω_2 y Ω_3 ($t > 0$; Figura 4.11)

Se consideró conducción de calor en las interfases donde la muestra de germen está en contacto con la bandeja de aluminio. La temperatura de la interfaz se introdujo en el modelo como curvas de tiempo-temperatura obtenidas a partir de datos experimentales recolectados con termocuplas posicionadas en la base de la bandeja.

- Condiciones de borde en Ω_4 (Figura 4.11)

Se consideró simetría axial en $r=0$.

$$n (k_{\text{eff}} \nabla T) = 0$$

$$n (D_{\text{eff}} \nabla C) = 0$$

El modelo matemático se resolvió utilizando el código computacional de elementos finitos COMSOL Multiphysics® (version 5.0). Se utilizó una malla desestructurada triangular en todo el dominio. Se realizó un análisis de sensibilidad de la malla para demostrar la dependencia de los resultados de la simulación con los tamaños de malla. Una pequeña diferencia se observó en los valores de RMSE considerando diferentes tamaños de malla predefinidos. Por ejemplo, se ensayaron los tamaños “normal” y “extremadamente fino”, observando diferencias de RMSE de 0,18, 0,42 y 0,45 entre estas configuraciones para los tratamientos a 150, 180 y 200 °C. Finalmente, se utilizó un elemento de malla “extremadamente fino” que es el que minimizó el error (tamaño de elemento máximo: 0,125 cm, tamaño de elemento mínimo: 2,5E-4 cm, velocidad de crecimiento del elemento máximo: 1,1, factor de curvatura: 0,2 y resolución de regiones angostas: 1).

La simulación se realizó en una computadora portátil ASUS®, Intel® core™ i7, 16 GB RAM, con una placa de video NVIDIA GEFORCE 940mx, y Windows 10 (64 bit). Una simulación típica tomó un tiempo medio de 5 s.

4.4.1.7. Actividad enzimática

La actividad normalizada de las enzimas (A/A_0) se enlazó a la historia térmica del proceso de secado al poner los valores de actividad en función de la temperatura de la muestra. Se ajustó una función definida por tramos para cada tratamiento térmico, de manera que las actividades de la enzima lipasa y lipoxigenasa pudieron ser predichas a partir de la temperatura de la muestra. La función consistió en ecuaciones polinómicas definidas para cada rango de temperatura de muestra, ya que de esta manera preserva un buen ajuste con los datos enzimáticos experimentales.

La temperatura considerada para enlazar la actividad enzimática fue la temperatura de la superficie.

$$\frac{A}{A_0} = f(T_{\text{muestra}})$$

Esta función permitió predecir la actividad enzimática a partir de la temperatura de la muestra.

4.4.1.8. Actividad de agua

A partir de la respuesta simulada del contenido de humedad del cuerpo, es posible predecir la actividad de agua del GT a partir de una correlación empírica simple (D.-S. Chan & Kuo, 2018) planteada para el calentamiento de germen de trigo en un lecho fluidizado:

$$a_w = 0,045 M + 0,07$$

4.4.1.9. Parámetros estadísticos

El error cuadrático medio (RSME) se utilizó como medida de la diferencia entre los perfiles predichos y experimentales. Se comparó el predicho versus cada replica experimental, por lo que en los resultados de temperatura se expresa el valor medio y el desvío.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum(T_{exp} - T_{pred})^2}{M}}$$

Donde **M**, número de mediciones de temperatura realizadas durante el tiempo de secado.

4.4.2. RESULTADOS

4.4.2.1. Transferencia de calor

El perfil de temperatura experimental promedio se muestra en las Figura 4.12 A, 4.13 A y 4.14 A para las 3 temperaturas ensayadas (150, 180 y 200 °C). En todas las pruebas la temperatura de la muestra incrementó rápidamente durante las primeras etapas de secado, luego lo hizo más lentamente, tendiendo a igualar la temperatura de la bandeja. Contrariamente, a 200 °C la temperatura de la muestra al final del tratamiento fue superior a la de la bandeja en unos 25 °C aproximadamente. La desviación estándar máxima fue de: 9,0, 9,4 y 19,3 °C a 150, 180 y 200 °C, respectivamente. En todos los casos la máxima desviación se observó en la termocupla posicionada entre la bandeja y el germen (T_{base}).

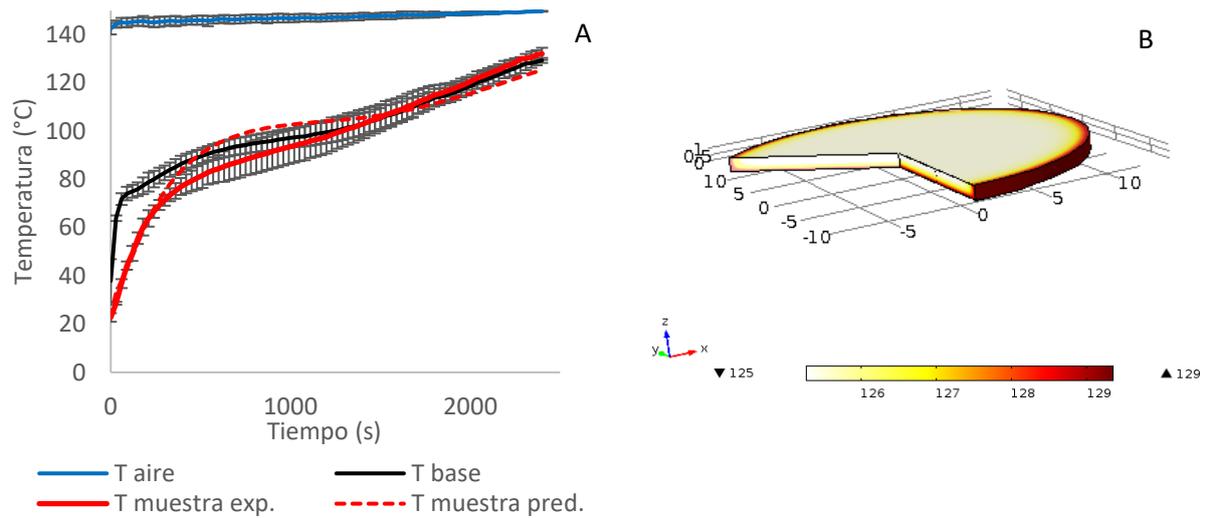


Figura 4.12. Temperaturas experimentales y predichas durante el secado de germen de trigo a 150 °C por 40 min (A). Campo de temperatura de germen de trigo predicho luego de 40 min a 150 °C (B).

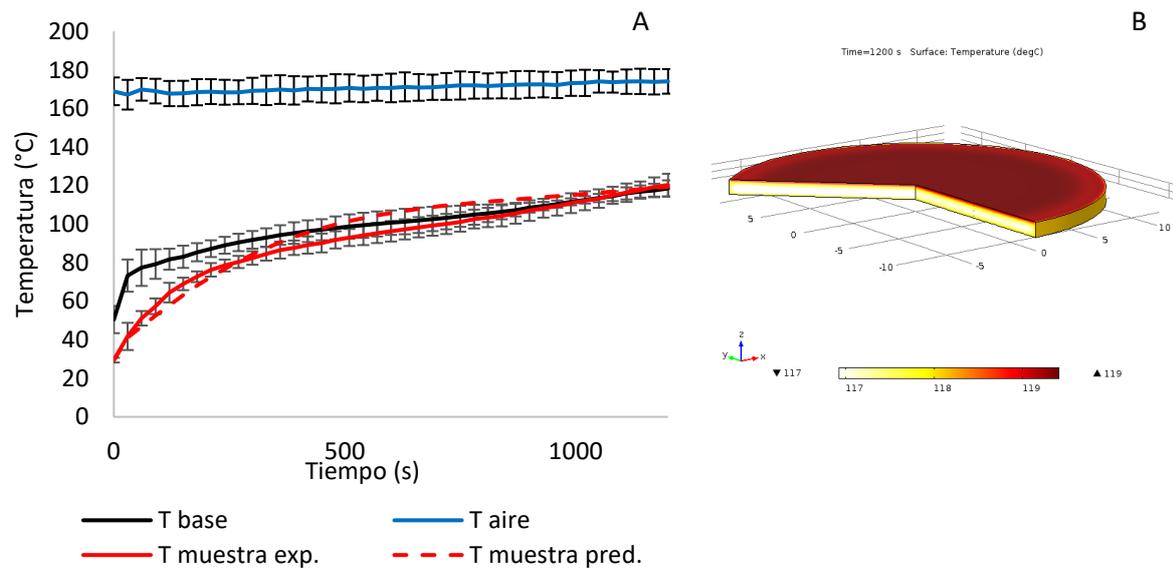


Figura 4.13. Temperaturas experimentales y predichas durante el secado de germen de trigo a 180 °C por 20 min (A). Campo de temperatura de germen de trigo predicho luego de 20 min a 180 °C (B).

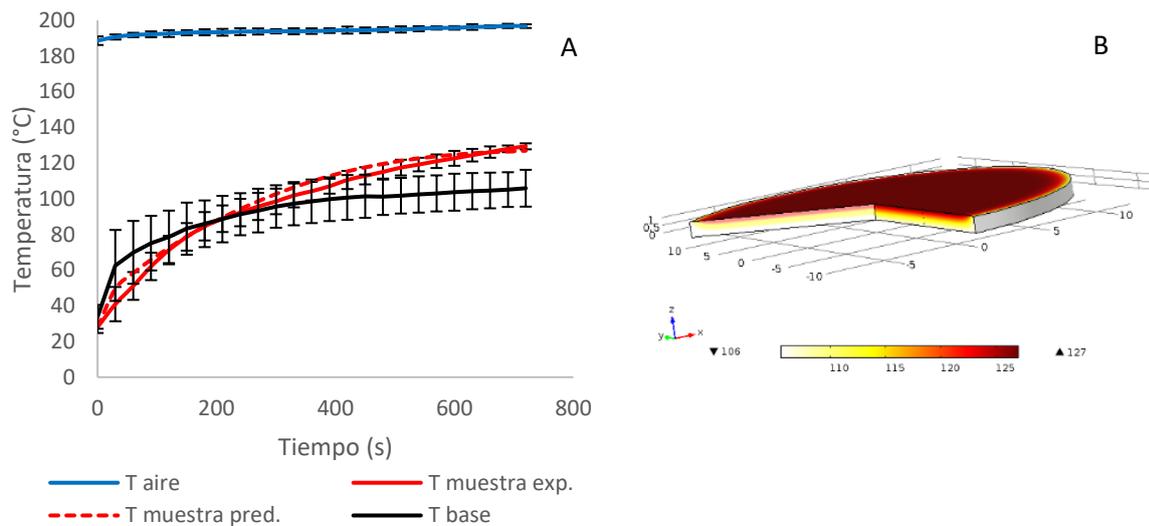


Figura 4.14. Temperaturas experimentales (-) y predichas (--) durante el secado de germen de trigo a 200 °C por 12 min (A). Campo de temperatura de germen de trigo predicho luego de 12 min a 200 °C (B).

Los perfiles y los campos de temperatura obtenidos con el modelo se muestran en la Figura 4.12, 4.13 y 4.14. Para las temperaturas ensayadas, los valores predichos coincidieron razonablemente con los datos experimentales, con valores de RSME de $7,49 \pm 1,99$ para 150 °C, $7,03 \pm 2,14$ para 180 °C y $5,98 \pm 1,97$ para 200 °C.

4.4.2.2. Transferencia de masa

El contenido de humedad predicho se evaluó considerando el contenido de humedad promedio en todo el dominio. Los valores de humedad experimentales y predichos para la bandeja de germen de trigo se muestran en las Figuras 4.15, 4.16 y 4.17 para 150, 180 y 200 °C, respectivamente.

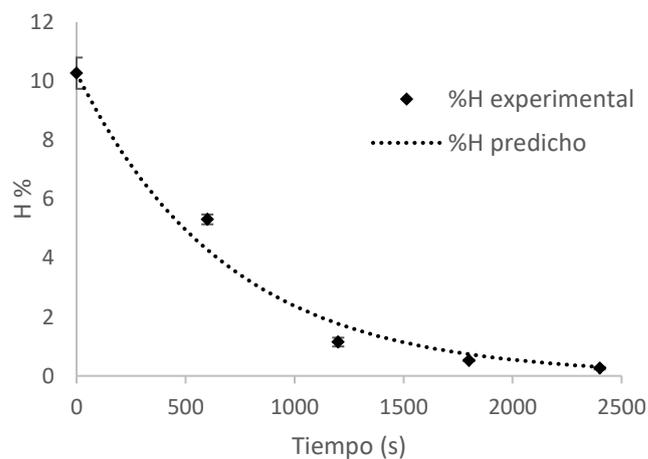


Figura 4.15. Contenido de humedad predicho y experimental de germen de trigo calentado a 150 °C durante 40 min.

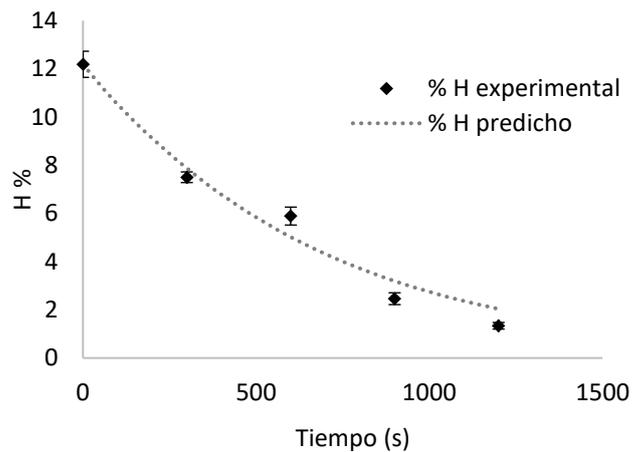


Figura 4.16. Contenido de humedad predicho y experimental de germen de trigo calentado a 180 °C durante 20 min.

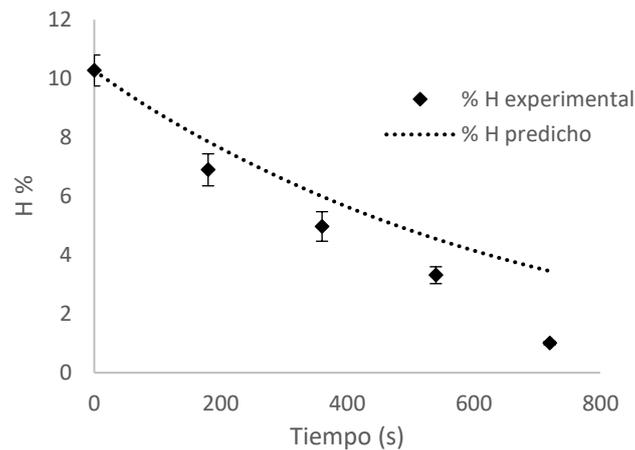


Figura 4.17. Contenido de humedad predicho y experimental de germen de trigo calentado a 200 °C durante 12 min.

A la mayor temperatura de aire (200 °C), se observó que el modelo sobreestimó el contenido de humedad de la muestra, con diferencias notables a partir de los 3 min de tratamiento. La brecha entre valores predichos y experimentales se incrementó a tiempos posteriores. Los RMSE fueron de 0,55, 0,62 y 1,38 para los tratamientos a 150, 180 y 200 °C, respectivamente, por lo que puede considerarse que el modelo de balance de masa y de energía acoplados muestra resultados satisfactorios para predecir el contenido de humedad de la muestra de germen de trigo durante el calentamiento en horno convectivo para las temperaturas ensayadas, especialmente a 150 y 180 °C.

4.4.2.3. Predicción de actividad de agua

Al evaluar la capacidad de predicción de la actividad de agua a partir de los datos de humedad que devuelve el modelo, según la relación empírica simple de Chan & Kuo (2018) se obtuvieron los datos que se muestran en la Figura 4.18.

Los valores de R^2 fueron de 0,93, 0,86 y 0,93 para temperaturas de 150, 180 y 200 °C, lo que resultó aceptable teniendo en cuenta que es una correlación experimental de ajuste a partir de ensayos de GT en lecho fluidizado, donde los equipos y condiciones de secado son muy diferentes. Al graficar los datos experimentales de contenido de humedad versus la actividad de agua (Figura 4.18) para el tratamiento con aire caliente, se observó que la pendiente del ajuste lineal devolvió un valor igual al propuesto por los autores, mientras que la ordenada al origen fue 0,03 puntos mayor, lo que explicaría la buena capacidad de predicción a pesar de las diferencias metodológicas de estabilización del germen. Chan & Kuo (2018) obtuvieron un coeficiente de correlación de 0,98 para los datos empíricos.

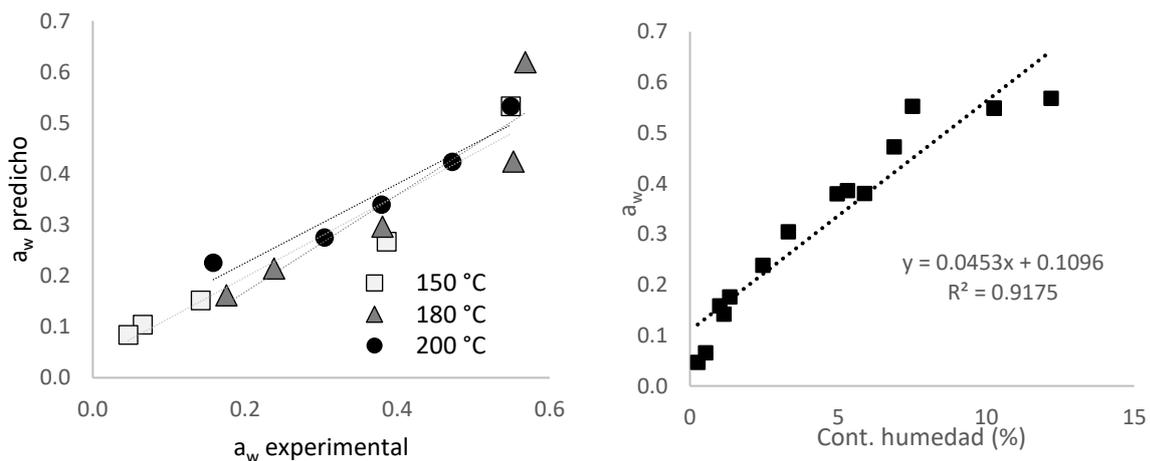


Figura 4.18. Valores de actividad de agua predichos y experimentales de germen de trigo durante el secado en estufa (der.). Datos experimentales de contenido de agua versus actividad de agua para todas las condiciones ensayadas (izq.).

4.4.2.4. Coeficiente de difusión efectiva

En la Figura 4.19 se muestra la respuesta obtenida por el modelo de balance de masa y energía al considerar los dos tipos de coeficiente de difusión efectiva planteados en este capítulo. Se observa un mejor ajuste al utilizar como parámetro de transporte de masa en el interior del cuerpo el que contempla la teoría del medio poroso con respecto al obtenido por solución de la ecuación de Crank. La diferencia radica en el concepto detrás de estos parámetros, en la teoría del medio poroso se tomó como punto de partida la difusión del vapor de agua en el aire, y se hicieron correcciones de

temperatura y estructura del material, considerando factores como la porosidad y tortuosidad del medio. En contraste, la ecuación de Crank resuelve de manera sencilla la ecuación de difusión de Fick para una geometría y condiciones de borde determinadas, considerando parámetros dimensionales como el espesor.

En la medida en la que los supuestos o condiciones de borde que plantea Crank para su resolución no se cumplan, el comportamiento real resultará más disímil al teórico, lo que reduce el grado de precisión obtenido.

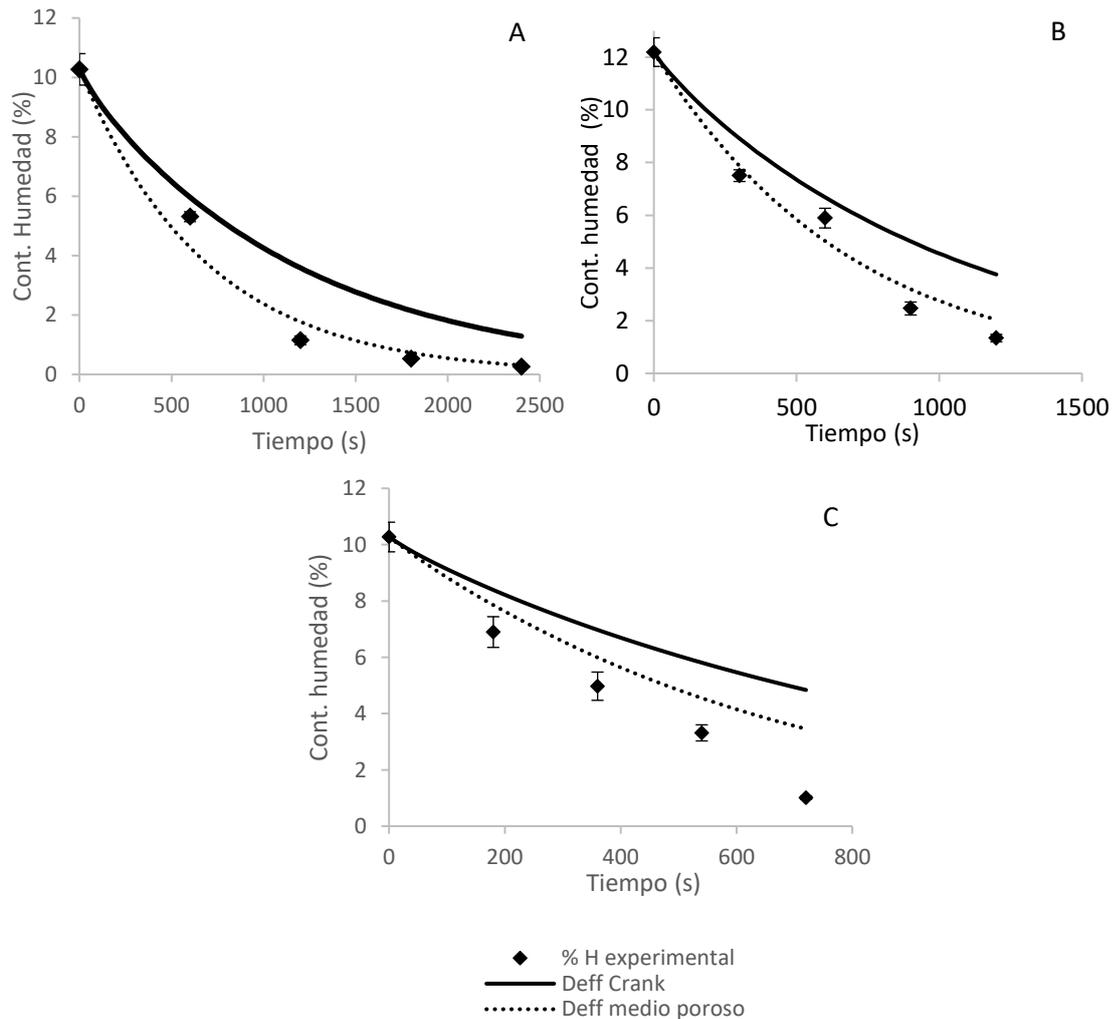


Figura 4.19. Perfiles de humedad experimentales y predichos por el modelo de balance de masa y energía, considerando coeficiente de difusión efectiva obtenido por la ecuación de Crank (D_{eff} Crank) y por la teoría del medio poroso (D_{eff} medio poroso), durante el calentamiento de germen de trigo en estufa a 150 °C (A), 180 °C (B) y 200 °C (C).

Además, a diferencia de la ecuación de balance de energía, en la que se puede lograr un buen nivel de predicción considerando valores promedio de difusividad térmica para todo el proceso, en la difusión de masa no es tan simple, ya que existe un cambio continuo en la estructura intrínseca del

material a medida que procede el secado. Los coeficientes de difusividad durante las últimas etapas de secado de algunos alimentos pueden llegar a ser de 4 a 8 veces menor con respecto al coeficiente de la primera etapa (Srikiatden & Roberts, 2007). En estos análisis se consideró un coeficiente de difusión constante en ambos métodos de cálculo de D_{eff} , pero esta asociación de la difusión de agua con la estructura del material podría explicar porque a tratamientos más severos en estufa (200 °C) se obtuvo un mayor error de predicción.

4.4.2.5. Actividad enzimática

Las mediciones de actividad de las enzimas lipasa y lipoxigenasa, junto con sus valores predichos se muestran en las Figura 4.18, 4.19 y 4.20. En todos los casos la actividad enzimática disminuyó significativamente cuando la temperatura del germen de trigo alcanzó valores entre 80 y 100 °C.

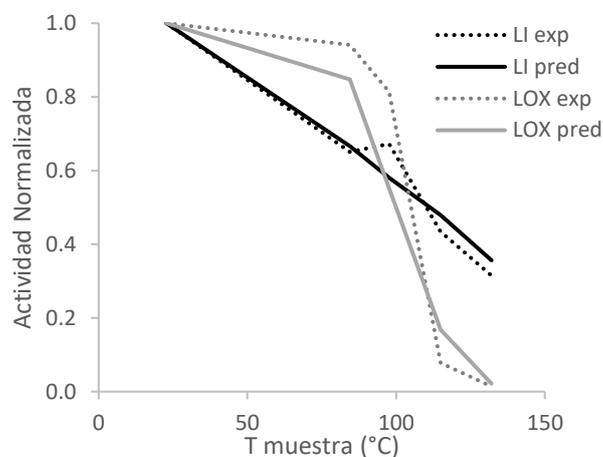


Figura 4.18. Actividad enzimática de lipasa (LI) y lipoxigenasa (LOX). Valores predichos (...) y experimentales (–) de germen de trigo calentado a 150 °C durante 40 min.

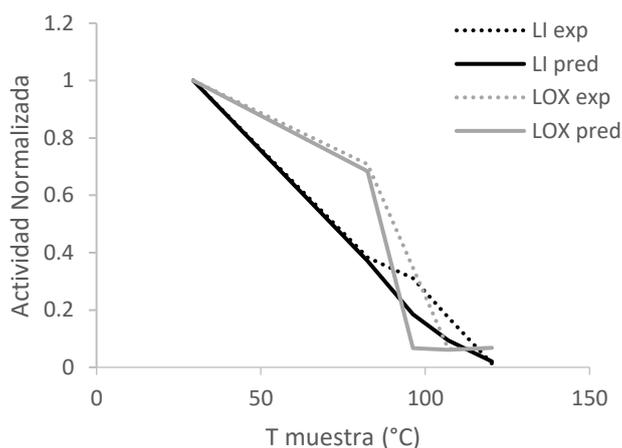


Figura 4.19. Actividad enzimática de lipasa (LI) y lipoxigenasa (LOX). Valores predichos (...) y experimentales (–) de germen de trigo calentado a 180 °C durante 20 min.

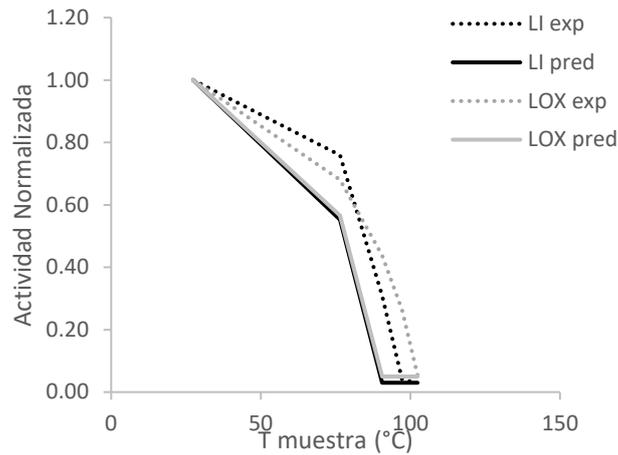


Figura 4.20. Actividad enzimática de lipasa (LI) y lipoxigenasa (LOX). Valores predichos (...) y experimentales (—) de germen de trigo calentado a 200 °C durante 12 min.

Los RMSEs entre valores experimentales y predichos se detallan en la Tabla 4.6. para cada una de las enzimas. En general, se alcanzó un buen nivel de predicción, especialmente para los tratamientos a 150 y 180 °C.

Tabla 4.6. Error cuadrático medio (RMSE) de predicción de actividad enzimática durante el tratamiento de germen de trigo a 150, 180 y 200 °C.

Temp. seteo (°C)	RMSE LI	RMSE LOX
150	0,05	0,13
180	0,07	0,13
200	0,16	0,20

LI: enzima lipasa, LOX: enzima lipoxigenasa

4.4.3. CONCLUSIÓN

Se desarrolló un modelo matemático para describir el secado de germen de trigo durante el tratamiento con aire caliente. Se resolvieron de manera conjunta los balances de materia y energía utilizando un sistema de métodos finitos. Se midieron y calcularon las propiedades termofísicas, y se utilizó un enfoque continuo para estimar las propiedades en todo el dominio.

El modelo se validó con ensayos experimentales a tres temperaturas de aire, llegando a una buena concordancia entre los valores medidos y predichos de temperatura y contenido de humedad de la muestra.

Se estimaron también los valores de actividad de agua e inactivación enzimática de las principales enzimas responsables del deterioro químico del germen de trigo. Se utilizaron en ambos casos correlaciones empíricas con resultados satisfactorios. Esta predicción en función de la temperatura de la muestra es una potencial aplicación práctica derivada de este trabajo.

CAPÍTULO 5

**Incorporación de
germen de trigo
estabilizado en
galletitas**

CAPÍTULO 5: Incorporación de germen de trigo estabilizado en galletitas

5.1. INTRODUCCIÓN

Existe a nivel global una tendencia creciente por parte de los consumidores hacia productos saludables. La gran demanda provoca un ambiente de alta competitividad en las industrias que orientan el avance de la tecnología de alimentos hacia la selección de nuevas materias primas y optimización de procesos tecnológicos. Esto motiva la búsqueda, desarrollo y estudio de productos con mejoras en el perfil nutricional.

Un producto versátil, de alto consumo y susceptible al reemplazo directo de un componente mayoritario por otro no convencional son las galletitas. El Código Alimentario Argentino (CAA, 2012b) define a las galletas o galletitas en el Capítulo IX “Alimentos Farináceos- cereales, harinas y derivados” (Art. 755): “Con la denominación genérica de Galleta, se entienden los productos obtenidos por la cocción de una masa no fermentada o con escasa fermentación, elaborados en forma mecánica y constituidos por una mezcla de harina y agua, con o sin sal, con o sin manteca y/o grasas alimenticias y/o sustancias permitidas para esta clase de productos. Presentarán una forma geométrica más o menos regular, de espesor variable y se diferenciarán entre sí por los distintos agregados”.

Argentina se destaca, entre otros aspectos, por ser un país consumidor de productos horneados. En 2014 el consumo per cápita de galletitas y bizcochos se aproximó a los 10 kg/hab./año, lo que colocó a nuestro país como uno de los mayores consumidores de galletitas y bizcochos industriales a nivel mundial (Lezcano, 2015). Particularmente las galletitas tipo *crackers* son parte de la dieta diaria, y las galletitas de agua conforman la canasta básica de alimentos.

5.1.1. Clasificación

Las galletitas comerciales pueden clasificarse en dulces o saladas. Dentro del segundo grupo se pueden identificar diferentes tipos básicos de productos industriales: *crackers* (pueden incluir cereales o salvado), galletitas de agua y galletitas *crackers* saborizadas.

- Galletitas *crackers*

Este tipo de galletitas saladas presentan una formulación muy simple: harina, grasa, agua, levadura y sal, y se caracteriza por la formación de una red de gluten bien desarrollada. Las masas usualmente llevan una fermentación que se realiza típicamente en dos etapas (etapa de esponja y etapa de masa) durante las cuales se desarrolla el sabor, aunque no todas siguen este proceso (Caballero, 2003). Normalmente al laminar la masa se incluye harina engrasada entre las capas, lo que da lugar a la

característica estructura escamosa y vesiculada. Este tipo de galletita no azucarada se puede consumir en cualquier momento del día con adiciones de mermeladas, manteca o queso.

Tienen una textura crujiente y una geometría delgada y generalmente rectangular. Tienen color pálido a tostado y presentan vesículas más oscuras en las superficies superior e inferior. Son susceptibles al enranciamiento oxidativo de la grasa, y probablemente este será el factor más evidente del envejecimiento del producto (Morris & Cauvain, 2016).

- Galletitas de agua

Pueden ser consideradas como *crackers*, pero son formulaciones más sencillas, ya que sus ingredientes son harina, agua, sal y grasa. Algunos procedimientos incluyen una fermentación de 3 a 4 horas incluyendo levadura fresca como ingrediente. Después de la mezcla puede seguir un periodo de acondicionamiento antes de extender, en el que alguna forma de actividad proteolítica suaviza el gluten para hacerlo un poco más extensible. Se forma una masa dura que después de laminar se divide y cuece en horno muy caliente. Como la masa presenta contracción longitudinal, los cortes deben hacerse de forma rectangular la forma de las galletitas se controla por relajación de la masa antes del equipo cortador. El horneado suele ser de 4-5 minutos a temperaturas moderadas. Las galletitas presentan superficies con vesículas, son bastante duras y frágiles y de sabor suave.

- Galletitas *crackers* saborizadas (snack *crackers*)

Son un amplio grupo de galletitas tipo *cracker* que presentan formas y tamaños variados, siendo usualmente redondas con agujeros interiores que permiten un crecimiento uniforme durante el horneado. Según su tamaño, se pueden considerar como un tentempié saborizado, un bocadito o una galletita para queso. A veces, antes del horneado a las galletitas se les agrega en la superficie hierbas, queso, sal, saborizantes, o semillas pequeñas como sésamo o amapola. La pulverización de grasa o aceite luego del horneado también es una práctica habitual tanto para aumentar su atractivo al paladar, como para realzar su aspecto. Los costos de producción de este tipo de producto tienden a ser relativamente elevados (Zydenbos & Humphrey-Taylor, 2003).

5.1.2. Galletitas como vehículo de fortificación

Panes y galletitas dulces y saladas son globalmente aceptadas y consumidas en muchos países en desarrollo, por lo que resultan un vehículo de suplementación para promover mejoras nutricionales. Las galletitas tienen a su favor la gran variedad de productos, la forma de presentación lista para consumo, la alta disponibilidad, el bajo precio y su relativamente larga vida útil. El enriquecimiento de estos productos usualmente implica la utilización de salvado de trigo o harina de cebada (Ertaş, 2015; Škrbic & Cvejanov, 2011), el agregado de harinas de oleaginosas y legumbres como soja, garbanzos o lentejas (Han, Janz, & Gerlat, 2010; Shrestha & Noomhorm, 2002), diferentes tipos de

semillas, o la incorporación de subproductos de la industria alimenticia que normalmente son descartados como cáscara de mango, avena descascarada o salvado de arroz (Ajila, Leelavathi, & Prasada Rao, 2008; Morales-Polanco, Campos-Vega, Gaytán-Martínez, Enriquez L, & Loarca-Piña, 2017; Yilmaz, Tuncel, & Kocabiyik, 2014). En todos los casos se observó que la incorporación de ingredientes novedosos en las matrices alimentarias produce alteraciones en sus estructuras y propiedades que pueden afectar los procesos productivos y la calidad final disminuyendo su aceptabilidad.

Con lo detallado en capítulos anteriores y en concordancia con otros autores (Hassan et al., 2010), podemos decir que el germen representa un ingrediente prometedor como suplemento para la fortificación de alimentos. Ello se respalda en el contenido destacable de proteínas con un buen balance de aminoácidos y de lípidos con un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, además de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante.

En bibliografía se encuentran productos con adición o reemplazo de harina de trigo por germen como galletitas dulces (Arshad et al., 2007, Al-Marazeeq & Angor, 2017; Bansal & Sudha, 2011; Youssef, 2015) y panes (Gómez, González, & Oliete, 2012; Majzoobi et al., 2012) que utilizan el germen no tratado o sus distintos derivados (molido, deslipidizado, germinado, extrusado, entre otras), todos con resultados remarcables a nivel nutricional.

En general, los productos con agregado de germen de trigo tratado térmicamente o deslipidizado presentan mejoras en la vida útil y propiedades funcionales en comparación con los que utilizan germen de trigo no tratado. Asimismo, la aceptabilidad del producto final está altamente relacionado con el estado del germen, el nivel de adición y los requerimientos de calidad del alimento suplementado (Boukid et al., 2018).

Arshad et al. (2007) agregó germen deslipidizado a galletitas dulces, y realizó una evaluación biológica de la calidad de proteína. Concluyó que a partir de un 10% de reemplazo se observan diferencias significativas en el coeficiente de eficacia proteica (PER), el valor biológico (VB) y la utilización neta proteica (NPU). Es decir, el germen mejoró la capacidad de las proteínas de cubrir los requerimientos de un individuo ya que éstos índices dependen fundamentalmente de la composición de aminoácidos y de su biodisponibilidad. En este sentido, Youssef et al. (2015) incorporaron germen de trigo en un 15 y 20% en galletitas dulces lo que incrementó el contenido de aminoácidos como isoleucina, lisina y fenilalanina, así como el de vitaminas E, C, A y ácido fólico.

5.1.3. Transformaciones durante el procesamiento de las galletitas

Para el estudio del efecto de la adición de ingredientes con el propósito de fortificación de un producto es necesario evaluar lo que sucede a nivel estructural y físico-químico, además de conocer los fenómenos involucrados.

El proceso de fabricación industrial de galletitas de agua consta de varias etapas que empiezan por la dosificación de ingredientes, mezclado y formación de la masa. Luego la masa se deja reposar durante 2-2,5 horas a 35 °C para permitir la redistribución de agua en forma uniforme entre los ingredientes y mejorar las propiedades de extensibilidad de la masa debido a los procesos de relajación y el efecto de las enzimas incorporadas en la formulación (generalmente proteasas). A continuación, la masa es laminada en varias etapas hasta llegar a un espesor final de 4 mm aproximadamente con periodos de reposo intermedios, si fuese necesario, en los que la masa se relaja. La etapa de formación incluye el marcado y/o cortado de las piezas individuales que posteriormente serán horneadas. El horneado se realiza a altas temperaturas y durante un tiempo corto (200 °C, 5 min), lo que permite el desarrollo de una textura abierta y porosa, además de una rápida reducción de humedad y un cambio en la coloración superficial.

Las etapas críticas en las que se producen mayores cambios a nivel molecular son el amasado y el horneado. Durante la mezcla y el amasado se hidratan los ingredientes y se aporta energía, lo que permite el desarrollo de la red de gluten, que es el componente estructural principal de las masas duras utilizadas en las galletitas tipo *crackers*. Durante el horneado además se produce la gelatinización parcial del almidón y reacciones de pardeamiento enzimático. Las modificaciones resultan en cambios consecuentes a nivel macroscópico. En el horno se producen cambios en las dimensiones (largo, ancho y alto), estructura (desarrollo de una estructura porosa responsable de la textura crujiente), contenido de agua (pérdida de humedad), color y *flavor*. Los cambios físicos más importantes comprenden la formación y expansión de células de gas producidos por la acción de agentes leudantes y vaporización de agua inicialmente presente en la masa, modificación de las propiedades reológicas, entre otras. Éstos cambios físico-químicos ocurren en diferente extensión según la formulación de la masa y condiciones de preparación (Broyart, Trystram, & Duquenoy, 1998).

Con el fin de evaluar el desempeño del germen estabilizado por aire caliente según el procedimiento analizado en este trabajo en una matriz alimentaria, en este capítulo se analizó el efecto de la incorporación de germen de trigo en la preparación de un producto con valor agregado y de alto consumo en Argentina como son las galletitas tipo *crackers* de agua.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Elaboración

Las galletitas se elaboraron utilizando harina comercial refinada (marca Favorita tipo 000) ($11,71 \pm 0,36\%$ de humedad y $24,77 \pm 1,89\%$ gluten húmedo, $93,07 \pm 3,71$ índice de gluten), germen de trigo estabilizado por aire a $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 min, aceite de girasol alto oleico (marca Cocinero), sal fina (marca Celusal) y agua de red. En primer lugar, se pesaron y mezclaron los ingredientes de acuerdo a las proporciones que se detallan en la Tabla 5.1. Luego se agregaron 50 mL de agua y se amasaron durante 3 min (Moulinex, modelo MR Supermix 130). Se dejó reposar la masa durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente se sobó la masa utilizando las reducciones 4,5, 4, 3,5 y 3 mm, con tres repeticiones en cada caso. Después de la primera reducción (nº 4,5) se dejó reposar la masa durante 10 min. Se realizaron perforaciones circulares (diámetro= 2 mm) cada 1,5 cm en la superficie de las masas (aprox.) y luego con un molde cilíndrico de 45 mm de diámetro se cortaron las piezas individuales, y se dejaron reposar en bandeja durante 10 min. Todas las etapas de reposo se realizaron con la masa o piezas cubiertas con film para evitar su deshidratación. La cocción se realizó en horno a $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 min. Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se almacenaron en bolsas de polipropileno termoselladas hasta su utilización. Se realizaron al menos dos lotes de cada formulación.

Tabla 5.1. Formulación de las galletitas de germen de trigo con diferentes grados de sustitución.

Ingredientes (g)	Control	10%	20%	30%
Harina de Trigo 000	100	90	80	70
Germen de Trigo	0	10	20	30
Aceite alto oleico	7	7	7	7
Sal	1,6	1,6	1,6	1,6

5.2.2. Reología

La determinación de las propiedades reológicas de las masas es esencial para la estimación del comportamiento durante el procesado y conservación con el fin de obtener productos de mejor calidad. Se realizaron 2 ensayos para analizar el efecto del germen de trigo en la formación de la masa.

5.2.2.1. Análisis de la consistencia de la masa durante el amasado – Mixolab®

El Mixolab® es un instrumento que permite describir la consistencia de la masa durante el amasado, el calentamiento y el enfriamiento. Fue introducido en 2004 por Chopin Technologies (método estándar de la ICC nº 173). El Mixolab® presenta ventajas sobre los métodos empíricos tradicionales ya que somete a la masa a estrés mecánico y térmico, lo que permite evaluar los cambios en los componentes proteicos y almidonosos en una sola prueba y en condiciones cercanas a las de proceso en el sistema real. También, puede ser utilizado para la determinación del comportamiento de la

harina de trigo parcialmente sustituida por harinas de otros cereales (Rosell, Cortez, & Repo-Carrasco, 2009; Švec & Hrušková, 2015).

Tabla 5.2. Método estándar “Chopin +” utilizado para la determinación de las propiedades reológicas.

Parámetro	Valor
Velocidad de mezclado	80 rpm
Torque objetivo (para C1)	1,1 Nm
Temperatura en 1º etapa	30 °C
Tiempo 1º etapa	8 min
Velocidad de calentamiento	4 °C/min
Temperatura 2º etapa	90 °C
Tiempo 2º etapa	7 min
Velocidad de enfriamiento	4 °C/min
Temperatura 3º etapa	50 °C
Tiempo 3º etapa	5 min

Para el ensayo, se colocaron entre 45 y 50 g de mezcla de harina-germen de trigo (niveles de sustitución: 0, 10, 20 y 30% p/p) en la cubeta amasadora y se adicionó el volumen de agua necesario para alcanzar la consistencia óptima de 1,1 Nm. Se utilizó el protocolo predeterminado por el fabricante “Chopin +”, según la Tabla 5.2.

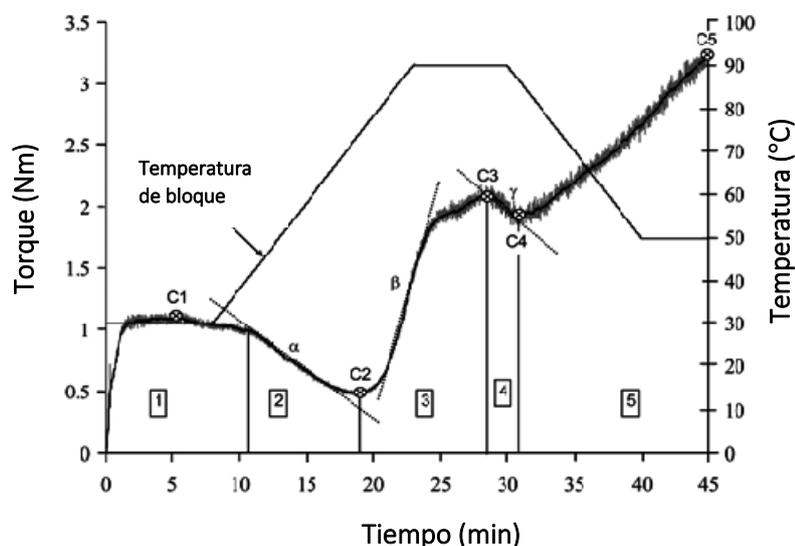


Figura 5.1. Curva esquemática modelo que muestra los parámetros asociados al análisis de reología de la masa.

Luego de los ensayos se obtuvieron los gráficos de torque versus tiempo. La Figura 5.1 presenta una curva modelo y los parámetros que se obtienen a partir de ésta. La Tabla 5.3 muestra los parámetros asociados a la curva de Mixolab®. Tanto las curvas como los parámetros se obtuvieron a través del software “Mixolab Chopin” del equipo. Se realizó el análisis por duplicado para cada nivel de sustitución.

Tabla 5.3. Parámetros asociados a la curva de Mixolab® y fenómenos asociados

Parámetro	Asociación
C1	Absorción de agua
C2	Debilitamiento de la proteína a causa del esfuerzo mecánico y la temperatura
C3	Gelatinización del almidón
C4	Estabilidad del gel en caliente
C5	Retrogradación del almidón en la fase de enfriamiento

T°: temperatura, T: tiempo, C: consistencia de la masa.

5.2.2.2. Ensayo de relajación a un esfuerzo

En el ensayo de relajación se aplica una deformación sobre la muestra de masa de manera constante durante un tiempo y se evalúa la respuesta del sistema en términos del esfuerzo (σ) que el material debe realizar para mantener la deformación.

La evaluación del esfuerzo en función del tiempo se realizó mediante un texturómetro Instron 3342 (Norwood, MA, EUA), sobre piezas de masa cilíndricas de 25 mm laminadas preparadas como se describió anteriormente. Las muestras fueron comprimidas con una sonda cilíndrica (diámetro= 25 mm), a una velocidad de 0,5 mm/s hasta un 30% de la altura inicial de la pieza, la compresión se mantuvo durante 2 min. Durante este tiempo se produjo la relajación de la muestra, la que se registró como el $\sigma(t)$. Las curvas se interpretaron en términos de un modelo de relajación del esfuerzo de tres elementos, comprendido por un elemento de Maxwell y un resorte en paralelo (Steffe, 1994).

$$\sigma(t) = E_1 e^{\left(\frac{-t}{\tau}\right)} + \epsilon_0$$

Donde

$$\tau = \frac{\eta}{E_1}$$

En este modelo σ es el esfuerzo (respuesta del sistema), E_1 es el módulo elástico, ϵ_0 es el módulo elástico en el equilibrio, η es el módulo viscoso y τ es el tiempo de relajación.

Los parámetros del modelo empleado se obtuvieron por ajuste de los datos experimentales mediante el software SIGMAPLOT 10 (Systat Software, Inc., Alemania). Se evaluaron cinco piezas de masa por cada mezcla harina-germen. El coeficiente de determinación más bajo obtenido para el ajuste de las curvas fue de 0,83.

5.2.3. Calidad química

5.2.3.1. Análisis Proximal

Se determinó el contenido de humedad, proteínas, lípidos, cenizas, fibra y carbohidratos de cada una de las formulaciones propuestas según la metodología detallada en el Capítulo 1, sección Composición centesimal.

5.2.3.2. Índice de Peróxidos

Las grasas y aceites definen las propiedades organolépticas y texturales de muchos productos alimenticios, especialmente en productos horneados. Además, representan un factor importante en la determinación de la calidad y vida útil del producto. Para evaluar la calidad lipídica de las galletitas se tomó como parámetro el índice de peróxidos, que se determinó sobre el aceite obtenido por extracción en frío según metodología detallada en Capítulo 1, sección Calidad de aceite. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

5.2.4. Parámetros físicos de las galletitas

5.2.4.1. Pérdida de peso y dimensiones

La pérdida de humedad durante el horneado (%p/p) se midió al registrar el peso de 10 galletitas individuales antes y después del horneado, de acuerdo a Lauková, Karovičová, Minarovičová, & Kohajdová (2019). Se calculó como la diferencia de peso sobre el peso inicial multiplicado por 100.

El diámetro se determinó sobre cada galletita de manera individual a través de análisis de imagen de fotografías tomadas antes y después del horneado. Se tomaron imágenes con una cámara digital (Sony DSC-W320, Japón) y con el software Image J se realizaron las mediciones de dos diámetros perpendiculares en cada galletita, como lo muestra la Figura 5.2, utilizando una regla calibrada como referencia. Se midieron 10 galletitas por formulación.

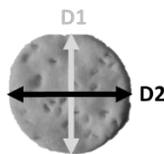


Figura 5.2. Medidas consideradas para la determinación de dimensiones de las galletitas antes y después del horneado.

Se calculó la relación altura-masa de 9 galletitas (A9/P9). Para obtener la altura se apilaron 9 unidades dentro de un cilindro hueco y graduado. Se tomó la altura total, luego se vació el cilindro, se colocaron nuevamente las galletitas en el interior y registró por segunda vez. Finalmente se pesaron las 9 galletitas. El procedimiento se realizó 5 veces por cada formulación.

5.2.4.2. Textura

La textura de las galletitas se evaluó a las 24 h de horneadas con un texturómetro INSTRON (Universal Testing Machine, modelo 3342, EUA). Se realizó una prueba de quiebre de tres puntos utilizando una sonda del tipo HDP/3PB. La pieza fue apoyada sobre dos soportes paralelos, separados por una distancia de 3,6 cm. Una barra del mismo material y forma de los soportes fue desplazada verticalmente ejerciendo una fuerza normal hasta producir un quiebre en la estructura del producto.

La velocidad de desplazamiento del brazo fue de 0,5 mm/s. Los resultados de las experiencias instrumentales se expresaron mediante gráficos de fuerza (N) versus deformación (%). A partir de las curvas se obtuvo la máxima carga de compresión, que se relaciona con la dureza de las galletitas (fuerza de quiebre o ruptura). Se midieron tres lotes de cuatro piezas de cada muestra.

5.2.4.3. Actividad de agua

Se determinó actividad de agua sobre las muestras de galletitas molidas de acuerdo al método detallado en el Capítulo 1, sección Propiedades físicas, actividad de agua. Las mediciones se realizaron por triplicado.

5.2.4.4. Color

La determinación del color superficial se realizó a las 24 h de horneadas con un espectrofotómetro de reflectancia (CM-700d/600d KONICA MINOLTA, Ramsey, EUA). Se utilizó un ángulo del observador 10°, iluminante D65, componente especular incluido, utilizando la escala CIELAB (L*: luminosidad, a*: rojo-verde y b*: amarillo – azul). Se tomaron 4 puntos al azar dentro de cada galletita, considerando 5 galletitas por formulación. Se analizaron al menos dos lotes de cada formulación.

5.2.5. Análisis sensorial

El panel sensorial estuvo conformado por 30 evaluadores semi entrenados, consumidores habituales de este tipo de productos. Se realizó un análisis descriptivo con escala estructurada y un ensayo afectivo de medición de grado de satisfacción.

Para la evaluación descriptiva se utilizó una escala de 7 puntos con puntos intermedios. Se consideraron 6 atributos para la evaluación de textura en mano y en boca. En la Tabla 5.4 se muestran en detalle cada uno. Se utilizó como referencia la muestra control (0%), y se pidió a los evaluadores que calificaran las 4 formulaciones en cada atributo. Se utilizaron como muestras galletitas realizadas con las formulaciones con 0, 10, 20 y 30% de sustitución de harina por germen de trigo. Cada evaluador contó con: definición y técnica de cada atributo, muestra de referencia y muestras a evaluar (2 unidades de cada una). La evaluación sensorial se llevó a cabo 24 horas después de la elaboración de las galletitas. Las muestras se presentaron codificadas con números de 3 dígitos. Un modelo de la planilla de evaluación se presenta en el Anexo 1.

Se realizó además un análisis de preferencia en el que los jueces ordenaron las muestras de manera decreciente según su agrado. Se utilizó el mismo panel para ambas evaluaciones.

Tabla 5.4. Atributos utilizados en la evaluación sensorial.

Textura en mano	Grado de rugosidad superficial percibida por el sentido del tacto.	Tome la galletita entre sus dedos y frótelo. Identifique las irregularidades o gránulos superficiales.	3,5
Crujencia	Evaluar el sonido percibido por el oído a través del aire y los huesos luego de morder la galletita con los molares.	Coloque la muestra entre los molares y evalúe el sonido al quebrarla.	3,5
Dureza	Fuerza requerida para comprimir y cortar la pieza utilizando los molares.	Coloque la muestra entre los molares, muerda en forma uniforme y evalúe la fuerza requerida para cortarla.	3,5
Masticabilidad	Número de masticaciones requeridas para que la galletita se encuentre en la consistencia adecuada para ser deglutido.	Tomar una galletita, ubicarla entre los molares y masticarlo a velocidad constante, contando las veces requeridas para reducirlo hasta al estado de ser deglutido.	23 VECES= 3,5
Cohesividad	Presencia de partículas percibidas por la lengua luego de la deglución.	Masticar la muestra y valorar posterior a la deglución la cantidad de partículas en contacto con la lengua.	3,5
Regusto Amargo	Persistencia de sabor amargo luego de deglutir la galletita.	Luego de deglutir la galletita, identifique la presencia o ausencia de un dejo amargo. Se percibe en la parte posterior de la lengua.	0

5.2.6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó según lo detallado en el Capítulo 1.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Reología

5.3.1.1. Análisis de la consistencia de la masa durante el amasado – Mixolab®

Los resultados de la adición de germen de trigo sobre las propiedades de consistencia de la mezcla de harina y agua durante el amasado se muestran en la Tabla 5.5 y Figura 5.3. El contenido de germen de trigo incrementó levemente ($p < 0,05$) la absorción de agua para lograr la consistencia objetivo de 1,1 Nm. El tiempo de desarrollo de la masa también aumentó con el nivel de sustitución. La mayor

diferencia entre muestras sucesivas se observó entre la control y la de 10% de sustitución, lo que se atribuyó principalmente a la competencia por el agua disponible. El agua absorbida por el germen no aporta a la formación de la red de gluten, lo que incrementa el tiempo de desarrollo.

La estabilidad de la masa, entendida como la resistencia al amasado a temperatura constante, está altamente ligada a la fuerza del gluten. La calidad de la matriz proteica de la masa de trigo se daña fácilmente con la incorporación de otros ingredientes como por ejemplo otros cereales (Torbica, Mocko Blažek, Belović, & Janić Hajnal, 2019) o granos andinos (Rosell et al., 2009). El debilitamiento del gluten se adjudica principalmente a su dilución, la interferencia de las partículas de germen en la formación de la red de proteínas y a la competencia por el agua entre los componentes de la masa. El germen de trigo absorbe 2,2 g agua/g muestra, mientras que la harina tiene una capacidad de absorción de agua de 1,25 g agua/g muestra, por lo que el GT absorbe agua fuertemente del medio. Para los mayores niveles de sustitución de la harina de trigo, la estabilidad de las masas fue menor, lo que evidenció su debilitamiento. La disminución de la estabilidad con respecto al control fue progresiva al incrementar el porcentaje de GT, con un decaimiento del 41% para la muestra con mayor nivel de sustitución. Otros autores resaltaron que el glutatión (tripéptido termosensible con capacidad reductora) presente en el GT actúa sobre los puentes disulfuros debilitando la masa y afecta las propiedades reológicas, pero este deterioro se minimiza al ser sometido el GT a un proceso de calentamiento durante la estabilización. Además, al comparar el efecto de diferentes tratamientos térmicos concluyeron que la estabilidad de la masa de pan fue afectada en mayor medida cuando el tratamiento térmico recibido por el GT fue más severo (Gómez et al., 2012).

El debilitamiento de la red de gluten debido a la acción conjunta del trabajo mecánico y el calor se ve en la diferencia entre C1 - C2 y el valor de C2. Se observó una disminución más pronunciada de este parámetro para la muestra con mayor sustitución, con menores valores de C2, que se relacionó al efecto de dilución del gluten al agregar GT y el impedimento estérico que representa el agregado de partículas relativamente grandes para la formación de la red de gluten (Lauková et al., 2019; Millar, Barry-Ryan, Burke, McCarthy, & Gallagher, 2019).

El parámetro C3 y la diferencia entre C2-C3, que son indicadores de la velocidad y extensión de la gelatinización del almidón, también fueron reducidos por la sustitución de harina por GT. Esto se relaciona con la disminución de almidón presente y, al mismo tiempo, es probable que germen y almidón compitan por el agua disponible lo que restringió la absorción del almidón durante su gelatinización y en consecuencia la viscosidad desarrollada en esta etapa.

Tabla 5.5. Parámetros de Mixolab® obtenidos para mezclas de harina y germen de trigo en distintas proporciones.

	0%		10%		20%		30%	
Abs. agua (%)	57,30	± 0,14 A	58,00	± 0,00 B	58,55	± 0,35 C	58,80	± 0,00 C
C1 (Nm)	1,13	± 0,01 A	1,10	± 0,04 A	1,09	± 0,04 A	1,10	± 0,01 A
C2 (Nm)	0,50	± 0,00 C	0,40	± 0,01 B	0,34	± 0,02 A	0,33	± 0,01 A
C3 (Nm)	1,88	± 0,01 D	1,58	± 0,01 C	1,43	± 0,04 B	1,35	± 0,00 A
C4 (Nm)	1,57	± 0,12 C	1,11	± 0,01 B	0,88	± 0,06 A	0,75	± 0,00 A
C5 (Nm)	2,99	± 0,06 C	2,41	± 0,06 B	1,95	± 0,11 A	1,85	± 0,05 A
Estabilidad (min)	10,44	± 0,16 D	6,10	± 0,18 C	5,10	± 0,14 B	4,33	± 0,21 A
Td (min)	1,30	± 0,03 A	4,52	± 0,19 B	4,98	± 0,04 C	5,08	± 0,13 C

Td: tiempo de desarrollo. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

El parámetro C4 se relaciona con la estabilidad del gel formado luego de la gelatinización del almidón. La estabilidad del gel de almidón también fue significativamente afectada por la presencia de GT. La muestra control presentó mayor torque que las muestras sustituidas, es decir, el agregado de germen produjo una menor consistencia del gel, que se puede atribuir a la dilución del almidón y a la interrupción física de la estructura tridimensional que producen las partículas de GT.

El valor de C5 se relaciona con la retrogradación del almidón. En este caso también se observó una disminución gradual de C5 al agregar GT. Tanto para C4 y C5 no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el 20 y 30% de sustitución. Bansal y Sudha (2011) estudiaron las características de *pasting* con un Micro-Visco-Amilógrafo de Brabender del sistema harina-GT estabilizado por vapor, y harina-GT deslipidizado, encontrando una disminución de la temperatura de pico, del *breakdown* (medida de la facilidad con la que los gránulos hinchados pueden ser desintegrados por acción de las fuerzas de corte) y del *setback* (medida de la tendencia que poseen las moléculas de amilosa a retrogradar durante el enfriamiento de la pasta), parámetros que podrían asociarse al comportamiento descrito para C3, C3-C4 y C4-C5, respectivamente.

En general, se observó una dependencia de las propiedades mecánicas de la masa con la formulación. Se evidenció que para formar una masa a partir de una mezcla harina-GT se necesitó mayor cantidad de agua y tiempo de amasado, sin embargo, la fuerza del gluten decayó significativamente con respecto a la muestra control. Las muestras del 10% fueron significativamente diferentes al control, con un efecto gradual al comparar con los niveles de incremento subsecuentes. Se evidenció conjuntamente al debilitamiento de la red de proteínas, una disminución de la capacidad de gelificación y retrogradación del almidón. Se sugiere que el germen de trigo interfiere en la estructura de masa mediante un doble mecanismo: por un lado, compite por el agua del sistema y físicamente interrumpe la continuidad de la red de gluten y la de almidón, por lo que se

ven afectados procesos como la formación de gluten, gelatinización y retrogradación del almidón. Un gluten menos tenaz resulta positivo para la calidad de una *cracker* porque le otorga fragilidad a la estructura y genera productos menos densos.

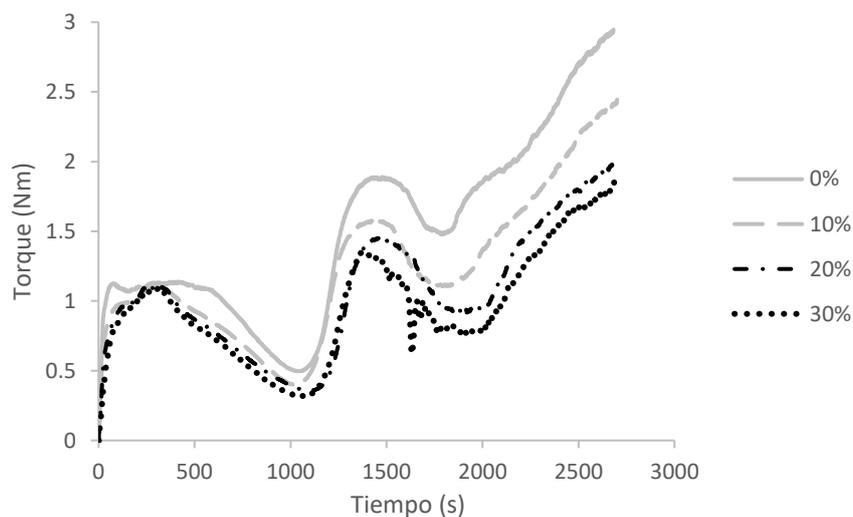


Figura 5.3. Curvas de torque de Mixolab® obtenidos para diferentes niveles de sustitución de harina por germen de trigo.

Otros autores observaron también una absorción de agua mayor al sustituir harina por germen de trigo (Lauková et al., 2019) y salvado (Gómez et al., 2012). La diferencia con respecto al control fue mayor al adicionar salvado de trigo (5% de incremento de absorción de agua al utilizar salvado, versus 2% al utilizar germen en un nivel de sustitución del 10%), hecho que se atribuye al contenido de fibra y a la alta capacidad de absorción de agua asociada a las capas externas del grano con respecto a las internas.

5.3.1.2. Ensayo de relajación del esfuerzo

Las curvas de esfuerzo en función del tiempo de las masas elaboradas con distintas mezclas de harina-GT se muestran en la Figura 5.4 y Tabla 5.6. Las curvas de relajación obtenidas son típicas de masas de harinas de trigo con presencia de gluten. Poseen un comportamiento viscoelástico intermedio entre un sólido ideal (que no posee relajación alguna) y la de una sustancia líquida ideal (que se relaja instantáneamente). Las masas se relajan gradualmente hasta alcanzar un esfuerzo de equilibrio.

En general, no se observaron cambios en el módulo elástico (E_1) para las muestras analizadas, a excepción de la muestra con el 30% de sustitución. Mayores valores de E_1 están asociados un sistema más rígido, lo que indica que la adición de GT en proporciones del 30% generó una masa con mayor dificultad para relajarse ante una deformación aplicada con respecto a la masa control. Las variaciones con respecto al control pueden asociarse a la baja disponibilidad de agua en el sistema y

la avidez del germen de trigo para absorber agua debido principalmente a su bajo contenido de humedad, lo que provoca un sistema menos plastificado.

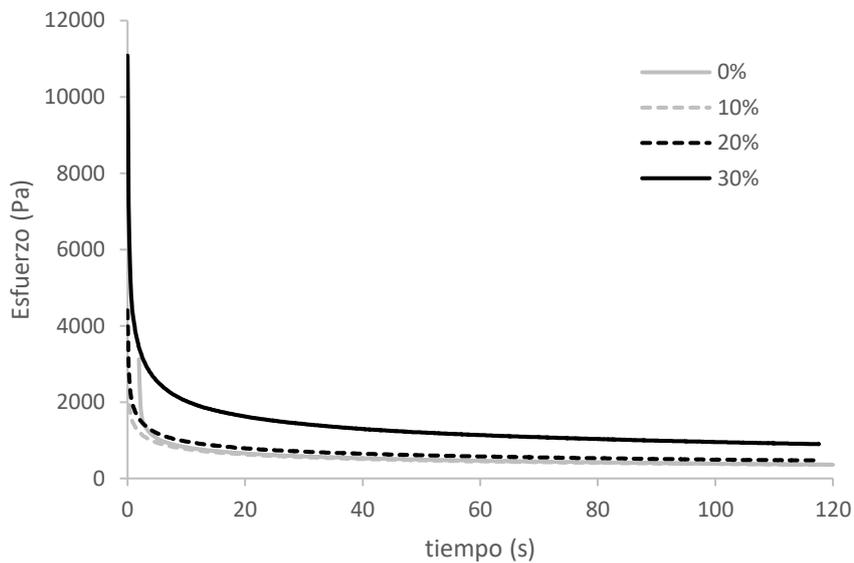


Figura 5.4. Curvas de relajación de las masas elaboradas con distintos niveles de sustitución de harina por germen de trigo.

El tiempo de relajación también está asociado a la rigidez del material ya que mayores tiempos dan cuenta de un sistema con un comportamiento menos viscoso. Es un parámetro estructural que caracteriza cada sistema. En las muestras ensayadas el tiempo de relajación disminuyó a partir del 20% de sustitución, lo que evidencia un sistema que se relaja con mayor facilidad.

El módulo elástico en equilibrio (ϵ_0) da cuenta de los esfuerzos residuales luego de una relajación completa. Un mayor valor de ϵ_0 indica la presencia de un componente elástico, un sistema más estructurado luego de la deformación y relajación. La masa con mayor agregado de germen también tuvo un mayor módulo elástico residual, lo que significa que tiene una mayor componente rígida una vez que se retira la deformación, es decir se relaja de manera diferente.

El valor de esfuerzo máximo fue significativamente mayor para la muestra con un 30% de sustitución, lo que significa que es necesario un esfuerzo superior para provocar la deformación, y se trata de un sistema más consistente. Un comportamiento intermedio ocurrió con la muestra de 20%, mientras que la de 10% no fue significativamente diferente al control.

En general se observó un comportamiento distinto durante la relajación de las masas con y sin el agregado de GT, siendo más evidentes los cambios para la formulación con un nivel de sustitución del 30%. Las masas con GT obtuvieron una mayor resistencia a la deformación, con incrementos

significativos a partir del 20% de sustitución. Durante la relajación los sistemas con reemplazo de harina tuvieron un comportamiento más rígido, y en el equilibrio mostraron un módulo elástico residual superior, es decir, las masas sustituidas presentaron mayor “facilidad” para relajarse. Los cambios fueron más evidentes para la muestra con mayor nivel de sustitución.

Tabla 5.6. Parámetros obtenidos mediante el ajuste de las curvas de relajación para masas formadas con distintas mezclas de harina-germen de trigo

Muestra	σ_{max}	E_1	t_τ	ϵ_0
0	3.469 ± 778 A	1.233 ± 247 A	10,2 ± 1,2 C	470 ± 82 A
10%	3.376 ± 354 A	1.193 ± 162 A	10,1 ± 1,1 C	488 ± 91 A
20%	4.454 ± 516 B	1.543 ± 158 A	8,1 ± 0,4 B	554 ± 77 A
30%	11.778 ± 982 C	4.534 ± 682 B	5,9 ± 0,3 A	1.152 ± 93 B

ϵ_0 : módulo elástico en equilibrio, E_1 módulo elástico, t_τ tiempo de relajación, σ_{max} : esfuerzo máximo, Valores con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

5.3.2. Calidad química

5.3.2.1. Composición proximal de las galletitas elaboradas

La composición química de cada formulación se detalla en la Tabla 5.7. Los resultados mostraron que el contenido de humedad disminuyó significativamente de 8,88 a 4,81% conforme aumentó el nivel de germen de trigo (GT). Por otra parte, el contenido de proteínas, lípidos y cenizas aumentaron gradualmente al reemplazar parcialmente la harina de trigo por el germen estabilizado. Las muestras con el mínimo nivel de sustitución fueron significativamente diferentes al control.

El incremento en el contenido proteico y el de cenizas fue en ambos casos de un 59% para la muestra con el 30% de sustitución con respecto al control (0%). En cuanto a los lípidos, el incremento representó un 7% para la muestra con mayor proporción de GT con respecto al control.

Otros autores informaron contenidos similares de proteínas y cenizas al suplementar galletitas dulces (Arshad et al., 2007; Youssef, 2015) con GT, logrando contenidos proteicos entre 9-16% y de cenizas entre 1,6-2% para niveles de sustitución del 25% y 40%.

Tabla 5.7. Composición porcentual de las galletitas de germen de trigo.

% GT	Humedad	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Fibra	CH
0	8,88 ± 0,27 B	9,14 ± 0,02 A	13,00 ± 0,26 A	1,66 ± 0,08 A	4,07 ± 0,02 A	67,32
10	7,66 ± 1,02 B	11,41 ± 0,26 B	13,22 ± 0,38 C	1,95 ± 0,05 B	4,49 ± 0,14 B	63,76
20	5,50 ± 0,03 A	13,34 ± 0,01 C	13,05 ± 0,13 A	2,35 ± 0,03 C	4,99 ± 0,11 C	65,76
30	4,81 ± 0,33 A	14,52 ± 0,34 D	13,95 ± 0,39 B	2,65 ± 0,03 D	5,50 ± 0,11 D	64,08

CH: Carbohidratos. CH=100% - (%humedad + %proteína + %lípidos + %cenizas). Valores con letras comunes en una misma columna no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

El contenido de fibra alimentaria de la muestra control resultó comparable al de galletitas *crackers* de harina de trigo, que se encuentran entre 2-3% (USDA Nutrient Database, 2019). La inclusión de GT incrementó significativamente el contenido de fibra total de las galletitas, siendo un 35% superior para la muestra de mayor grado de sustitución con respecto al control. El consumo de fibra dietaria tiene implicancias importantes en el sistema digestivo desde la masticación hasta la evacuación de las heces, ejerciendo el principal rol a nivel intestinal. Los efectos fisiológicos asociados a su consumo son la regulación de niveles de azúcar y lípidos en sangre, mejoramiento de la absorción de minerales y prevención de ciertos tipos de cáncer (Ktenioudaki & Gallagher, 2012).

5.3.2.2. Índice de Peróxidos

El índice de peróxidos del producto horneado presentó pocas variaciones con respecto a la muestra control (Tabla 5.8). En todos los casos se encontró por debajo de los valores máximos permitidos por el *Codex Alimentarius*, en el apéndice que determina las características que deben cumplir los aceites y grasas comestibles no reguladas por normas individuales (*CODEX STAN 19-1981*) (FAO/WHO, 2015) que establece un límite de 10 meq. O₂/kg aceite. Los valores aquí obtenidos indican que la fase lipídica estuvo en buen estado de conservación y no fue afectada por la exposición al calor durante el horneado. Este resultado es importante considerando la carga lipídica aportada por el germen y el aceite utilizados como ingredientes, especialmente por la presencia de ácidos grasos insaturados (64% abundancia ácidos grasos poliinsaturados en el GT). Si bien se comprobó previamente que con el tratamiento de estabilización del germen las enzimas responsables del deterioro están inactivas, existen otros factores que promueven la oxidación de lípidos, como la temperatura, la presencia de catalizadores, el O₂, y la luz (Labuza & Dugan Jr, 1971).

Tabla 5.8. Índice de peróxidos del aceite obtenido de galletitas con germen de trigo.

%GT	PV (meq. O ₂ /kg aceite)		
0	8,36	±	0,82 B
10	6,15	±	0,54 A
20	7,42	±	0,07 A, B
30	7,70	±	0,87 A, B

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes p> 0,05.

5.3.3. Parámetros físicos de las galletitas

5.3.3.1. Pérdida de peso y dimensiones

La pérdida de peso (Tabla 5.9) no varió significativamente por la sustitución de harina por GT. Esto resulta positivo desde el punto de vista de proceso ya que la baja pérdida de peso durante el horneado es un factor que determina el rendimiento económico y el comportamiento tecnológico de la masa. El contenido de humedad y la actividad de agua son parámetros críticos ya que

repercuten directamente en la vida útil del producto y las condiciones de conservación (Caballero, 2003).

La humedad de la pieza se pierde principalmente a través de su superficie. La misma migra desde el centro por capilaridad o difusión. El agua libre se evapora en primera instancia durante el horneado, pero parte del agua ligada también va a ser liberada, lo que viene en asociación con el desarrollo de color (Barbosa-Cánovas & Vega-Mercado, 1996).

La pérdida de humedad provoca una contracción de la pieza durante el horneado. Se observó que la contracción no tuvo un sentido preferencial, ya que no se registraron diferencias significativas entre D1 y D2 dentro de una misma formulación ($p > 0,05$). Asimismo, no se encontraron diferencias entre las formulaciones ensayadas ($p > 0,05$), por lo que este parámetro no fue afectado por el agregado de GT (Figura 5.5), lo que resulta positivo para la calidad del producto.

En *crackers* son deseables mayores alturas o mayores relaciones A9/P9 (Tabla 5.9), lo que se asocia con una mejor calidad (Mir, 2016). La altura y la relación A9/P9 de las galletitas no se vio afectada significativamente por el contenido de germen de trigo. Esto es un aspecto positivo, ya que al agregar el GT se esperaba el desarrollo de una estructura más compacta por la competencia por el agua, como se reportó en otras *crackers* fortificadas con tuna (Benjakul & Karnjanapratum, 2018).

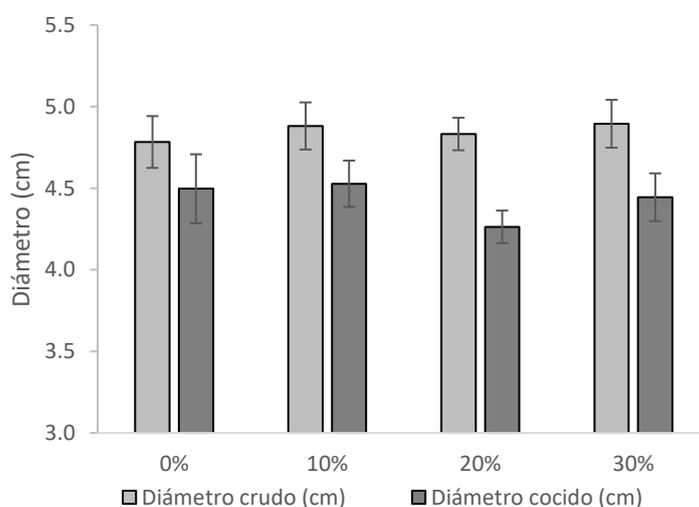


Figura 5.5. Encogimiento de las galletitas con diferentes proporciones de germen de trigo medidas antes y después de cocción.

5.3.3.2. Textura

A menudo la dureza de un producto es considerada como índice general de los atributos descriptores de textura. En la Tabla 5.9 se muestra que el pico de fuerza necesario para lograr el quiebre de la galletita presentó cambios significativos entre las formulaciones con y sin adición de GT ($p > 0,05$).

Particularmente las formulaciones con 20 y 30% de GT resultaron menos duras que el control. En general se observó una tendencia decreciente al incrementar el grado de sustitución de harina.

Tabla 5.9. Propiedades físicas de las galletitas con distintas proporciones de germen de trigo.

% GT	Máximo Carga de compresión (N)		Altura de 9 galletitas (cm)		A9/P9		% Pérdida de peso	
0	34,6 ± 3,4	C	4,90 ± 0,14	A	0,177 ± 0,004	C	31,9 ± 0,9	A, B
10	32,5 ± 2,4	B, C	4,70 ± 0,14	A	0,148 ± 0,005	A	31,0 ± 1,1	A
20	27,1 ± 2,3	A	4,65 ± 0,28	A	0,178 ± 0,008	C	32,1 ± 1,1	B
30	28,6 ± 1,1	A, B	4,55 ± 0,07	A	0,165 ± 0,002	B	32,4 ± 2,1	B

A9/P9: Relación altura/peso de 9 galletitas. Valores con letras comunes en una misma columna no son significativamente diferentes $p > 0,05$

Otros autores observaron una menor dureza en galletitas dulces al agregar GT deslipidizado y molido a partir de un 20% de sustitución (Arshad et al., 2007) y en *crackers* hechas con avena deslipidizada (Morales-Polanco et al., 2017), quienes lo atribuyen a que molecularmente los carbohidratos y proteínas agregadas compiten por el agua, lo que resulta en la formación de una red de gluten más débil. Además, cabe resaltar el efecto diluyente del gluten, al sustituir harina por otros componentes. Si bien el germen de trigo tiene en su composición un ~30% de proteínas (principalmente albúminas y globulinas), no tienen la capacidad de formar gluten como la mayor parte de las proteínas del endospermo del grano (gliadinas y gluteninas) que pueden formar esta estructura tridimensional al combinarse con agua y energía durante el amasado.

El efecto contrario observaron Bansal y Sudha (2011) en galletitas dulces antiaglutinantes, en las que aumentó la fuerza de quiebre conforme lo hacía el nivel de sustitución con germen. Para un nivel de sustitución del 40% con germen deslipidizado obtuvieron valores de dureza que casi triplican a la del control, siendo esta diferencia menor para germen estabilizado al vapor con respecto a la adición de germen de trigo deslipidizado. Los autores justifican el aumento con el agregado de compuestos proteicos con alta retención de agua a un sistema con limitada disponibilidad de agua libre.

5.3.3.3. Actividad de agua

La actividad de agua de un producto es un parámetro que permite establecer reglas generales de estabilidad. En la Tabla 5.10 se muestra que todas las formulaciones ensayadas tuvieron una actividad de agua menor a 0,6, que es el límite por debajo del cual los microorganismos no pueden reproducirse o crecer.

Entre formulaciones existieron diferencias significativas, siendo la muestra de control la que presentó la mayor actividad de agua, es decir, tuvo una mayor cantidad de agua disponible para el crecimiento de hongos y bacterias. Las muestras con agregado de GT tuvieron menores contenidos de humedad (Tabla 5.7), lo que se relaciona con mayores niveles de absorción de agua por parte de

los componentes hidrofílicos del GT, que disminuyen la disponibilidad de agua para el resto de los componentes y consecuentemente poseen menor a_w .

Tabla 5.10. Actividad de agua obtenida para las diferentes formulaciones de galletitas.

% GT	Actividad de agua
0	0,40 ± 3,51E-03 D
10	0,32 ± 1,15E-03 C
20	0,27 ± 3,51E-03 A
30	0,29 ± 2,52E-03 B

Valores con letras comunes no son significativamente diferentes $p > 0,05$

5.3.3.4. Color

El color superficial de las galletitas *crackers* para diferentes niveles de sustitución de GT se muestran en la Tabla 5.11. Se observa que como consecuencia del agregado de GT el valor de luminosidad disminuyó gradualmente, es decir fueron más oscuras. Las muestras también tomaron tonalidades más rojizas y amarillentas luego del horneado, indicados por los valores mayores de a^* y b^* , respectivamente. Asimismo, estos cambios también se vieron reflejados en el índice de pardeamiento (BI) que aumentó significativamente según el nivel de germen en la formulación (Figura 5.6). En todos los casos los cambios se observaron desde la mínima adición con respecto a la muestra control. Ello encuentra explicación en el color propio del germen de trigo, especialmente luego de haber sido sometido al proceso de estabilización por aire caliente, como se describió en el Capítulo 2. Además, el germen contiene los componentes principales (aminoácidos y azúcares reductores) para el desarrollo de las reacciones de Maillard, un complejo sistema de reacciones bioquímicas que se inician cuando la temperatura de la superficie supera los 100 °C y se ve influenciado por la naturaleza de los azúcares reductores y aminoácidos presentes y sus respectivas proporciones (Broyart et al., 1998).

Tabla 5.11. Parámetros de color de galletitas de germen de trigo.

%GT	L*	a*	b*	BI
0	72,55 ± 2,10 C	2,58 ± 0,49 A	21,98 ± 1,56 A	38,27 ± 4,02 A
10	67,74 ± 3,97 B	6,83 ± 2,09 B	27,94 ± 2,05 B	60,31 ± 9,75 B
20	62,47 ± 3,64 A	7,84 ± 2,05 B	28,01 ± 1,73 B	66,99 ± 9,30 C
30	61,15 ± 3,94 A	9,75 ± 1,54 C	28,41 ± 1,02 B	73,08 ± 8,35 D

Valores con letras comunes en una misma columna no son significativamente diferentes $p > 0,05$

Como es de esperar, las mismas tendencias se reportaron en panes y galletitas adicionados con germen (Arshad et al., 2007; Majzoobi et al., 2012), mientras que galletitas dulces antiaglutinantes adicionadas con GT deslipidizado no reportaron cambios en la evaluación sensorial del color para niveles de sustitución de hasta un 40% (Bansal & Sudha, 2011).

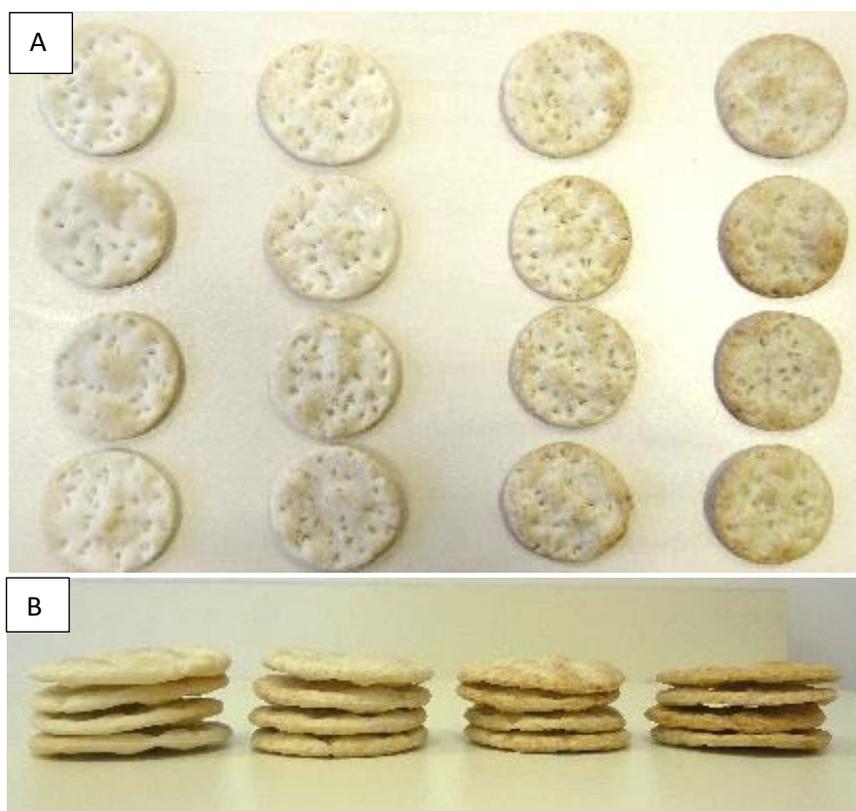


Figura 5.6. Galletitas con distintos niveles de sustitución de harina por germen de trigo. De izq. a der. en ambas figuras: muestra control, 10%, 20% y 30% de sustitución. Vista superior (A) y vista lateral de galletitas apiladas según formulación (B).

5.3.4. Análisis sensorial

En la Tabla 5.12 y la Figura 5.7 se presentan los datos obtenidos mediante la evaluación sensorial descriptiva de las galletitas de GT.

Tabla 5.12 Promedio y desvío de los valores obtenidos para cada uno de los atributos

Atributo	0%	10%	20%	30%
Textura en mano	3,3 ± 0,7 A	4,1 ± 1,0 B	4,4 ± 0,7 B, C	4,7 ± 1,2 C
Masticabilidad	4,1 ± 0,7 C	2,9 ± 0,7 B	2,9 ± 0,6 B	2,5 ± 0,6 A
Cohesividad	3,4 ± 0,5 A	3,8 ± 0,6 A, B	4,2 ± 0,9 C	4,0 ± 1,0 B, C
Regusto Amargo	0,2 ± 0,4 A	0,4 ± 0,6 A	1,0 ± 0,9 B	1,3 ± 0,9 B
Crujencia	3,3 ± 0,5 A	3,5 ± 1,1 A	3,9 ± 1,0 A	4,5 ± 1,4 B
Dureza	3,3 ± 0,5 A	4,2 ± 0,9 B	4,4 ± 0,7 B	4,6 ± 0,9 B

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

La textura en mano aumentó gradualmente conforme lo hace la proporción de GT en la formulación, es decir, las partículas de germen fueron percibidas por el sentido del tacto y, la percepción dependió de la cantidad relativa de GT utilizada.

Otro parámetro que presentó la misma tendencia fue la cohesividad, atributo que mide la cantidad de partículas que quedan en boca luego de la deglución. Esto puede asociarse a la facilidad con la que las partículas de germen se desprenden de la masa, especialmente a concentraciones elevadas, influyendo en el comportamiento mecánico de la galletita en la boca ya que no son arrastradas en su totalidad durante la deglución. Las galletitas con agregado de fibras acusan sensaciones de sequedad en la boca que pueden relacionarse en cierta manera a este atributo y la dificultad para formar el bolo previo a la deglución. La saliva se produce en la boca y junto con el movimiento mandibular forma el bolo. Las muestras con un alto contenido de fibra tienen una mayor demanda de saliva porque la fibra absorbe más agua que la harina, lo que crea una sensación de sequedad (Laguna, Varela, Salvador, & Fiszman, 2013).

El bajo nivel de cohesividad o una galletita que se desgrana con mayor facilidad en la boca puede también asociarse a las diferencias en masticabilidad de las muestras, ya que mayores proporciones de harina forman una estructura más fuerte, que necesita masticarse más veces para ser deglutido. La dureza percibida al morder el producto fue superior para las muestras con GT, sin obtener diferencias significativas entre los diferentes niveles de sustitución. En la determinación instrumental de dureza la tendencia fue contraria, ya que la fuerza de quiebre registrada fue superior para la muestra control. Las diferencias entre la medición sensorial e instrumental se pueden atribuir a que en el primer caso se evalúan varios atributos simultáneamente en el tiempo, siendo dureza y crujencia los primeros atributos registrados durante la evaluación (Laguna et al., 2013). La mayor crujencia de las galletitas fortificadas podrían estar asociadas y ser percibidas como galletitas más duras.

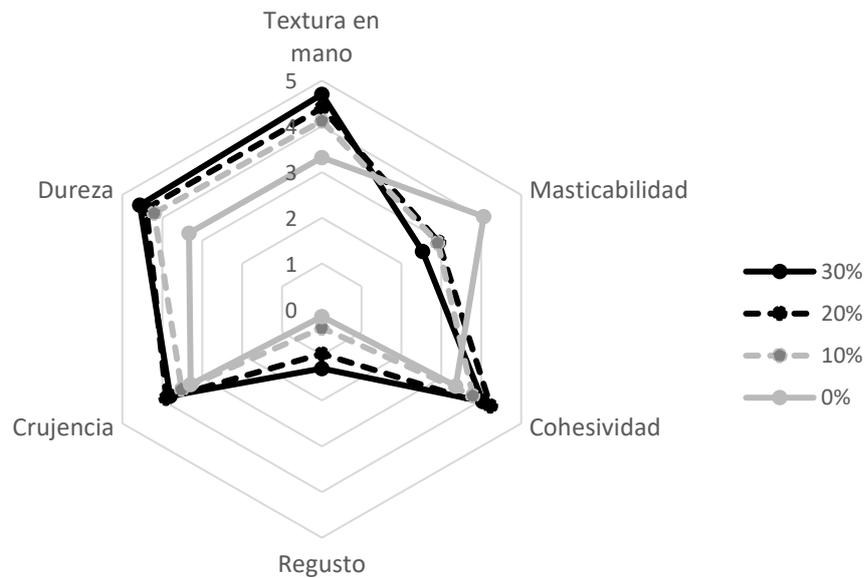


Figura 5.7. Representación de los atributos sensoriales analizados en la evaluación descriptiva de galletitas con el agregado de germen de trigo

Un aspecto positivo a resaltar es el bajo puntaje asignado al regusto amargo para todas las muestras ensayadas (considerando que se presentó una la escala de 7 puntos). Este sabor invasivo que queda luego de la deglución de la galletita es un indicador sensorial de rancidez, fenómeno que podría ocurrir en una extensión importante dada las condiciones de la muestra: alto contenido lipídico del germen y el aceite, el tratamiento de estabilización del germen y el historial térmico de las galletitas en el horneado. Las muestras con mayor grado de sustitución (20 y 30%) tuvieron valores significativamente diferentes a la muestra control, siendo en todos los casos inferior a 1,5, por lo que se concluye que no se percibió rancidez en las muestras.

El atributo que tuvo una tendencia creciente conforme aumentó el grado de sustitución de harina fue la crujencia, sin embargo, el análisis de la varianza mostró diferencias significativas sólo para el máximo grado de sustitución. Un alto valor de crujencia es un atributo positivo al evaluar la calidad general de una galletita tipo *cracker* ya que es característico de este tipo de productos.

La Figura 5.8 muestra los resultados de la prueba de preferencia en la que se observó una tendencia clara: a los jueces les agradó más las muestras enriquecidas con germen de trigo con respecto a la muestra control (0%), ya que el primer puesto fue en su mayoría para las muestras de 20 y 30% de sustitución (con un 50% y 33% de ocurrencia, respectivamente), mientras que un 73% de los evaluadores ubicaron la muestra control en último lugar. El tercer puesto fue prevalentemente para la muestra con el 10% de sustitución.

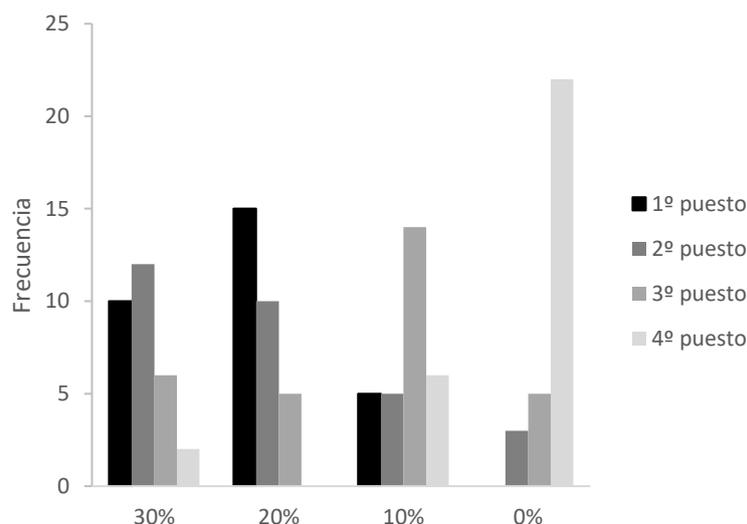


Figura 5.8. Gráfico de frecuencias obtenidas de la prueba de ordenamiento para las galletitas de germen de trigo con diferentes grados de sustitución.

En general, los resultados mostraron que el agregado de germen de trigo tostado mejoró las propiedades sensoriales de las galletitas tipo *crackers*, otorgando rugosidades que se llegan a percibir en evaluaciones de textura en mano y boca. La adición de GT generó galletitas que fueron percibidas sensorialmente como más duras y crujientes, y necesitaron un menor número de masticaciones antes de ser deglutidas. Las muestras suplementadas fueron preferidas con respecto a la formulación control, especialmente en un nivel de sustitución del 20%, lo que se atribuyó al sabor dulce que aporta el GT y al favorecimiento de las reacciones de Maillard.

Otros productos a los que se adicionó germen de trigo y mejoraron la aceptabilidad general fueron panes planos (*Barbari bread*) (Majzoobi et al., 2012) y galletitas dulces antiaglutinantes (Bansal & Sudha, 2011). En el primero, las mejores puntuaciones se obtuvieron para el máximo nivel de sustitución (15%), resultando más agradable el agregado de germen tratado en estufa con respecto al agregado de germen no tratado. El GT se dice que favorece la ocurrencia de reacciones de Maillard, y sus productos se asocian a propiedades de color y sabor que mejoren el aspecto de la corteza. En galletitas dulces se adicionó germen de trigo hasta un 40% de sustitución, obteniéndose muestras de sabor más dulce y agradable hasta un 30% de sustitución.

En galletitas dulces adicionadas con GT deslipidizado (Arshad et al., 2007) la puntuación sensorial de aceptabilidad general fue similar a la del control hasta un 15% de sustitución, umbral sobre el cual se calificaron las muestras como oscuras y quebradizas.

5.4. CONCLUSIÓN

Es posible utilizar germen de trigo estabilizado como ingrediente en la formulación de galletitas tipo *crackers* de agua. La sustitución parcial de harina por germen de trigo produjo un debilitamiento

estructural de la masa, lo que se relacionó con la dilución y la interferencia de la red de gluten y una menor disponibilidad de agua. Las propiedades de la masa fueron sensibles a la cantidad de germen de trigo en la formulación. Mayores proporciones de germen requirieron mayor cantidad de agua y energía para la formación de la masa. Fenómenos como la gelatinización y retrogradación del almidón también fueron reducidos por la sustitución de harina por germen de trigo. Si bien se observaron diferencias en las propiedades de absorción y formación de masa en las formulaciones con el agregado de GT, las dimensiones del producto final no fueron sensibles al cambio. Asimismo, se mejoraron parámetros relacionados a la estabilidad del producto como el contenido de humedad y la actividad de agua, y se favoreció el desarrollo de color.

Las muestras suplementadas con germen de trigo tuvieron una buena calidad lipídica, con índices de peróxidos inferiores a 8,5 meq. O₂/kg aceite. El agregado de germen mejoró el perfil nutricional, con incrementos significativos en el contenido de proteínas y minerales, alcanzando incrementos del 59% en ambos parámetros para la muestra con un 30% de sustitución, con respecto al control (0%). El análisis sensorial mostró resultados satisfactorios, con un máximo de preferencia para la muestra con 20% de sustitución, seguida por la de 30%.



Conclusiones generales



CONCLUSIONES GENERALES

El trigo es uno de los principales cultivos de Argentina, encontrándose entre los mayores productores de este cereal a nivel mundial. El producto principal derivado del procesamiento del trigo es la harina, y como productos secundarios, el germen y el salvado. Ambos se separan del endospermo durante el proceso de molienda ya que otorgan tonalidades más oscuras al producto final, y particularmente el germen por su facilidad de enranciamiento.

El principal problema para el aprovechamiento del germen de trigo en alimentación es la rapidez con la que se deterioran los lípidos (los que representan ~13% en peso del germen), que trae consecuencias químicas y sensoriales negativas. La vida útil del germen se puede extender al reducir la actividad de las enzimas involucradas en este proceso, las lipasas y lipoxigenasas.

En el presente trabajo de Tesis Doctoral se evaluó la efectividad de dos tecnologías para la estabilización del germen de trigo y sus efectos sobre la calidad física, química y nutricional. Durante el tratamiento con aire caliente la enzima que presentó mayor resistencia térmica fue la lipasa (energía de activación de 98 kJ/mol para lipasa versus 24 kJ/mol para lipoxigenasa), lográndose una actividad residual de la enzima lipasa inferior al 5%, para tratamientos de 9 min a 200 °C, y 20 min a 180 °C. Por otra parte, para el tratamiento con microondas se logró la inactivación de la enzima lipasa luego de 20 min a 70 °C, mientras que a 60 °C la actividad residual fue próxima al 20%. La actividad lipoxigenásica presentó baja sensibilidad al tratamiento con microondas.

Se determinó el efecto de las tecnologías sobre las propiedades físicas, observándose cambios en algunos parámetros, con respecto al material no tratado térmicamente. Durante el tratamiento con aire caliente la pérdida de humedad afectó la actividad de agua, ángulo de reposo y desarrollo de color debido al pardeamiento no enzimático, contrariamente a lo que sucedió con microondas, donde no se observaron cambios significativos en estos parámetros debido a los tratamientos. Las propiedades geométricas y físicas no mostraron variaciones debido a los tratamientos térmicos. Por su parte, el análisis sorcional mostró un buen ajuste al modelo de GAB en el intervalo de a_w de 0-0,9 mientras el valor del contenido de humedad de monocapa disminuyó levemente en muestras tratadas por ambas tecnologías ensayadas, con respecto al control.

Desde otra perspectiva, ambos tratamientos mantuvieron la calidad lipídica del germen de trigo. Se observaron leves incrementos graduales del índice de peróxidos con la temperatura y tiempo de exposición en ambos casos, alcanzando valores máximos de 3,36 meq. O₂/kg aceite, lo que resulta bajo respecto a los límites legales establecidos por el Código Alimentario Argentino (10 meq. O₂/kg

aceite). Por otra parte, la acidez de los aceites no presentó variaciones para el tratamiento con aire caliente. Además, el perfil de ácidos grasos, con una alta preponderancia de compuestos poliinsaturados, se mantuvo invariante en muestras tratadas con ambas tecnologías. El contenido de tocoferoles totales tampoco mostró sensibilidad por el tratamiento con aire caliente y microondas, manteniéndose en todos los casos en el rango general encontrado en bibliografía, y resultando superlativo en relación a otras fuentes naturales.

Por otra parte, ambas tecnologías provocaron una pérdida de solubilidad de las proteínas, mostrando mayor influencia el tratamiento con aire caliente que el de microondas. Esto se evidenció en el grado de desnaturalización proteica, que para 20 min de tratamiento con aire caliente a 180 °C fue de 77%, mientras que para microondas a 70 °C fue del 30%. Este fenómeno provocó la pérdida de solubilidad de algunas proteínas de masa molecular inferior a 100.000 Da, e incrementó propiedades funcionales, como la capacidad de retención de agua y aceite para el tratamiento con microondas.

El mecanismo principal de la actividad antioxidante de extractos etanólicos de germen de trigo fue por acción antirradicalaria, capacidad que se vio potenciada luego del tratamiento con microondas.

La resolución de los balances de materia y energía durante el calentamiento del germen de trigo permitió predecir la evolución de la temperatura y contenido de humedad de las muestras tratadas con aire caliente, así como la actividad enzimática residual y actividad de agua del producto final a través de un modelo matemático de base física. Los avances realizados en el modelado del tratamiento de germen de trigo también suman a la biblioteca de recursos para el desarrollo de otros modelos, o ampliaciones del mismo, ya que para este tipo de calentamiento no se encontraron estudios relacionados.

El reemplazo de harina de trigo por el germen en un producto horneado resultó satisfactorio, logrando galletitas con mejoras nutricionales en cuanto al contenido de proteínas, minerales y fibras, además de una buena calidad sensorial, siendo las formulaciones preferidas las del 20% y 30% de sustitución.

En resumen, se lograron resultados satisfactorios en la calidad química del producto estabilizado por aire caliente y por microondas. Por otro lado, las galletitas de germen de trigo, representan un aporte novedoso y de gran aplicabilidad por la facilidad de producción y buena disponibilidad de recursos, por lo que implican una posible vía de inserción del germen de trigo en la dieta.

REFERENCIAS

- AACC. (2000). *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemistry* (9th ed.). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemistry.
- Adam, D. (2003). Out of the kitchen. *Nature*, *421*, 571–572.
- Ahmed, M., Pickova, J., Ahmad, T., Liaquat, M., Farid, A., & Jahangir, M. (2016). Oxidation of Lipids in Foods. *Sarhad Journal of Agriculture*, *32*, 230–238.
- Ajila, C. M., Leelavathi, K., & Prasada Rao, U. J. S. (2008). Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *Journal of Cereal Science*, *48*, 319–326.
- Al-Marazeeq, K. M., & Angor, M. M. (2017). Chemical characteristic and sensory evaluation of biscuit enriched with wheat germ and the effect of storage time on the sensory properties for this product. *Food and Nutrition Sciences*, *8*, 189–195.
- Al-Muhtaseb, A. H., Hararah, M., Megahey, E. K., McMinn, W. A. ., & Magee, T. R. A. (n.d.). Moisture adsorption isotherms of microwave-baked Madeira cake. *LWT - Food Science and Technology*, *43*, 1042–1049.
- Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, W. A. M., & Magge, T. R. A. (2002). Moisture sorption isotherm characteristics of food products : A review. *Food and Bioproducts Processing*, *80*, 118–128.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, *119*, 770–778.
- Anjum, F., Anwar, F., Jamil, A., & Iqbal, M. (2006). Microwave roasting effects on the physico-chemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *83*, 777–784.
- Añón, M. C., & Lupano, C. E. (1986). Denaturation of wheat germ proteins during drying. *Cereal Chemistry*, *63*, 259–262.
- AOCS. (2009). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society* (5th ed.). Champaign, IL: AOCS Press.
- Arshad, M. U., Anjum, F. M., & Zahoor, T. (2007). Nutritional assessment of cookies supplemented with defatted wheat germ. *Food Chemistry*, *102*, 123–128.
- Arslan, D., & Ozcan, M. M. (2011). Dehydration of red bell-pepper (*Capsicum annuum* L.): Change in drying behavior, colour and antioxidant content. *Food and Bioproducts Processing*, *89*, 504–513.
- ASHRAE. (2006). Thermal Properties of Foods. In *ASHRAE Handbook of Refrigeration Systems and Applications*, (pp. 9.1-9.31). Atlanta.
- Aviara, N. A., Ajibola, O. O., & Oni, S. A. (2004). Sorption Equilibrium and Thermodynamic Characteristics of Soya Bean. *Biosystems Engineering*, *87*, 179–190.
- Avilés-Gaxiola, S., Chuck-Hernández, C., Rocha-Pizaña, M. del R., García-Lara, S., López-Castillo, L. M., & Serna-Saldívar, S. O. (2018). Effect of thermal processing and reducing agents on trypsin inhibitor activity and functional properties of soybean and chickpea protein concentrates. *LWT - Food Science and Technology*, *98*, 629–634.
- Ayadi, M., Mabrouk, S. Ben, Zouari, I., & Bellagi, A. (2014). Kinetic study of the convective drying

- of spearmint. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13, 1–7.
- Bansal, S., & Sudha, M. L. (2011). Nutritional, microstructural, rheological and quality characteristics of biscuits using processed wheat germ. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62, 474–479.
- Barbosa-Cánovas, G., & Vega-Mercado, H. (1996). *Dehydration of Foods*. (J. M. Aguilera, W. Hartel, Richard, J. Kokini, M. L. Mc Carthy, M. R. Okos, M. Peleg, ... J. Welti-Chanes, Eds.). International Thomson Publishing.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Fontana, A. J., Schmidt, S. J., & Labuza, T. P. (2007). *Water activity in foods. Fundamentals and applications* (1st ed.). Blackwell Publishing.
- Beakawi Al-Hashemi, H. M., & Baghabra Al-Amoudi, O. S. (2018). A review on the angle of repose of granular materials. *Powder Technology*, 330, 397–417.
- Behera, G., & Sutar, P. P. (2018). A comprehensive review of mathematical modeling of paddy parboiling and drying: Effects of modern techniques on process kinetics and rice quality. *Trends in Food Science and Technology*, 75, 206–230.
- Benjakul, S., & Karnjanapratum, S. (2018). Characteristics and nutritional value of whole wheat cracker fortified with tuna bone bio-calcium powder. *Food Chemistry*, 259, 181–187.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- Bircan, C., & Barringer, S. A. (1995). Use of dielectric properties to detect whey protein denaturation. *Journal Microwave Power Electromag Energy*, 36, 179–186.
- Blümich, B. (2005). Basic Principles. In *Essential NMR For Scientists and Engineers* (2nd ed., pp. 9–33). Springer.
- Boldor, D., Sanders, T. H., & Simunovic, J. (2004). Dielectric properties of in-shell and shelled peanuts at microwave frequencies. *Transactions of the ASAE*, 47, 1159–1170.
- Bordón, M. G., Meriles, S. P., Ribotta, P. D., & Martinez, M. L. (2019). Enhancement of composition and oxidative stability of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil by blending with specialty oils. *Journal of Food Science*, 85, 1035–1044.
- Boukid, F., Folloni, S., Ranieri, R., & Vittadini, E. (2018). A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 120–133.
- Brandolini, A., & Hidalgo, A. (2012). Wheat germ: not only a by-product. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63, 71–74.
- Broyart, B., Trystram, G., & Duquenoy, A. (1998). Predicting colour kinetics during cracker baking. *Journal of Food Engineering*, 35, 351–368.
- Brunauer, S., Deming, L. S., W., D. E., & Teller, E. (1940). On a Theory of the van der Waals Adsorption of Gases. *J Am Chem Soc*, 62, 1723–1732.
- CAA. (2012a). CAP VII. Alimentos grasos aceites alimenticios. In *Código Alimentario Argentino*.
- CAA. (2012b). Capítulo IX. Alimentos Farináceos-Cereales, Harinas y derivados. In *Código Alimentario Argentino*.
- Caballero, B. (Ed.). (2003). *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd ed.). Academic Press.
- Cain, J. (2002). An alternative technique for determining ANSI/CEMA standard 550 flowability ratings for granular materials. *Powder Hand. Proc.*, 14, 218–220.

- Calorimetry Sciences Corporation. (2006). Characterizing Protein Stability by DSC. *Life Sciences Application Note*, (20211021306).
- Capitani, M., Mateo, C. M., & Nolasco, S. M. (2011). Effect of temperature and storage time of wheat germ on the oil tocopherol concentration. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *28*, 243–250.
- Castro, A. M., Mayorga, E. Y., & Moreno, F. L. (2018). Mathematical modelling of convective drying of fruits: A review. *Journal of Food Engineering*, *223*, 152–167.
- Chan, D.-S., & Kuo, M.-I. (2018). Wheat Germ Drying with Different Time-Temperature Combinations in a Fluidized Bed Dryer. *Processes*, *6*, 245.
- Chan, D. S., Chan, J. S., & Kuo, M. I. (2018). Modelling Condensation and Simulation for Wheat Germ Drying in Fluidized Bed Dryer. *Processes*, *6*, 71.
- Chang, Y. K., Steel, C. J., & Pedrosa Silva Clerici, M. T. (2011). Use of Microwave Radiation to Process Cereal-Based Products. In S. Grundas (Ed.), *Advances in Induction and Microwave Heating of Mineral and Organic Materials* (pp. 531–552). InTech.
- Chemat, F., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Strube, J., Uhlenbrock, L., Gunjevic, V., & Cravotto, G. (2019). Green extraction of Natural Products. Origins, Current Status, and Future Challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *118*, 248–263.
- Chen, C. C., Reddy, P. M., Devi, C. S., Chang, P. C., & Ho, Y. P. (2016). Study of microwave effects on the lipase-catalyzed hydrolysis. *Enzyme and Microbial Technology*, *82*, 164–172.
- Choi, Y., & Okos, M. R. (1986). Effects of temperature and composition on the thermal properties of foods. In M. LeMaguer & P. Jelen (Eds.), *Food Engineering and Process Applications* (pp. 93–101).
- Ciarmiello, L. F., Piccirillo, P., Gerardi, C., Piro, F., De Luca, A., D'Imperio, F., ... Santino, A. (2013). Microwave Irradiation for Dry-Roasting of Hazelnuts and Evaluation of Microwave Treatment on Hazelnuts Peeling and Fatty Acid Oxidation. *Journal of Food Research*, *2*, 22–35.
- Claver, I. P., & Zhou, H. (2005). Enzymatic hydrolysis of defatted wheat germ by proteases and the effect on the functional properties of resulting protein hydrolysates. *Journal of Food Biochemistry*, *29*, 13–26.
- Colombo, A., Ribotta, P. D., & León, A. E. (2010). Differential scanning calorimetry (DSC) studies on the thermal properties of peanut proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*, 4434–4439.
- COMSOL Multiphysics. (2015). Heat Transfer Module COMSOL Multiphysics 5.0. *Manual*, 1–222.
- Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion* (2nd ed.). Oxford University Press.
- Curet, S., Rouaud, O., & Boillereaux, L. (2008). Microwave tempering and heating in a single-mode cavity: Numerical and experimental investigations. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *47*, 1656–1665.
- Curet, S., Rouaud, O., & Boillereaux, L. (2014). Estimation of dielectric properties of food materials during microwave tempering and heating. *Food and Bioprocess Technology*, *7*, 371–384.
- Darvishi, H., Rezaie, A., Asghari, A., Azadbakht, M., Najafi, G., & Khodaei, J. (2014). Study of the drying kinetics of pepper. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *13*, 130–138.
- Datta, A. K. (2007). Porous media approaches to studying simultaneous heat and mass transfer in food processes. I: Problem formulations. *Journal of Food Engineering*, *80*, 80–95.

- Datta, A., & Ramaswamy, A. (Eds.). (2001). *Microwave technology for food applications*. Marcel Dekker.
- De La Hoz, A., Díaz-Ortiz, Á., & Moreno, A. (2005). Microwaves in organic synthesis. Thermal and non-thermal microwave effects. *Chemical Society Reviews*, *34*, 164–178.
- De Vasconcelos, M. C. B. M., Bennett, R., Castro, C., Cardoso, P., Saavedra, M. J., & Rosa, E. a. (2013). Study of composition, stabilization and processing of wheat germ and maize industrial by-products. *Industrial Crops and Products*, *42*, 292–298.
- Delcour, J. A., & Hosney, R. C. (2010). Structure of Cereals. In *Principles of Cereal Science and Technology* (3rd ed.). Amer Assn of Cereal Chemists.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2011). InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Cordoba. Retrieved from <http://www.infostat.com.ar>.
- Dima, J. B., Barón, P. J., & Zaritzky, N. E. (2012). Mathematical modeling of the heat transfer process and protein denaturation during the thermal treatment of Patagonian marine crabs. *Journal of Food Engineering*, *113*, 623–634.
- Doblado-Maldonado, A. F., Pike, O. A., Sweley, J. C., & Rose, D. J. (2012). Key issues and challenges in whole wheat flour milling and storage. *Journal of Cereal Science*, *56*, 119–126.
- Elgamal, R., Ronsse, F., & Pieters, J. G. (2013). Modeling deep-bed grain drying using Comsol Multiphysics. In *COMSOL Conference*.
- Elgamal, R., Ronsse, F., Radwan, S. M., & Pieters, J. G. (2014). Coupling CFD and Diffusion Models for Analyzing the Convective Drying Behavior of a Single Rice Kernel. *Drying Technology*, *32*, 311–320.
- Ertaş, N. (2015). Effect of wheat bran stabilization methods on nutritional and physico-mechanical characteristics of cookies. *Journal of Food Quality*, *38*, 184–191.
- FAO/WHO. (1973). Energy and protein requirements. In *FAO Nutrition Meetings Report Series N° 52*. Rome.
- FAO/WHO. Evaluación de la calidad de la proteína de la dieta en nutrición humana. Consulta de expertos (2013). Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y Fundación Iberoamericana de Nutrición (FINUT).
- FAO/WHO. Norma para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales, CODEX STAN Codex Alimentarius. Normas internacionales de los alimentos § (2015).
- Fellows, P. J. (2000). *Food Processing Technology: Principles and Practice* (4th ed.). Woodhead Publishing Series.
- Fennema, O. R. (Ed.). (1996). *Food Chemistry* (3rd ed.). Marcel Dekker.
- Frankel, E., Evans, C. D., & Cooney, P. M. (1959). Tocopherol oxidation in natural fats. *Agricultural and Food Chemistry*, *7*, 438–441.
- Galdeano, M. C., Tonon, R. V., De Carvalho, C. W. P., Menezes, N. S., Nogueira, R. I., Leal-Junior, W. F., & Minguita, A. P. S. (2018). Moisture sorption isotherms of raw and extruded wholemeal sorghum flours studied by the dynamic and salt slurry methods. *Brazilian Journal of Food Technology*, *21*.
- Galli, F., Azzi, A., Birringer, M., Cook-Mills, J. M., Eggersdorfer, M., Frank, J., ... Özer, N. K. (2017). Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radical Biology and Medicine*, *102*, 16–36.

- Ge, Y., Sun, A., Ni, Y., & Cai, T. (2000). Some nutritional and functional properties of defatted wheat germ protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*, 6215–6218.
- Gelmez, N., Kincal, N. S., & Yener, M. E. (2009). Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from roasted wheat germ based on yield, total phenolic and tocopherol contents, and antioxidant activities of the extracts. *Journal of Supercritical Fluids*, *48*, 217–224.
- Gely, M. C., & Giner, S. A. (2000). Water - corn equilibrium: temperature dependency of the G.A.B. model parameters and calculation of the heat of sorption. *Drying Technology*, *18*, 1449–1464.
- Ghafoor, K., Özcan, M. M., AL-Juhaimi, F., Babiker, E. E., Sarker, Z. I., Ahmed, I. A. M., & Ahmed, M. A. (2017). Nutritional composition, extraction, and utilization of wheat germ oil: A review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *119*, 1–9.
- Gili, R. D. (2018). *Estabilización de germen de trigo mediante lecho fluidizado*. Universidad Nacional de Córdoba.
- Gili, R. D., Palavecino, P. M., Penci, M. C., Martinez, M. L., & Ribotta, P. D. (2017). Wheat germ stabilization by infrared radiation. *Journal of Food Science and Technology*, *54*, 71–81.
- Gili, R. D., Penci, M. C., Torrez Irigoyen, M. R., Giner, S. A., & Ribotta, P. D. (2018). Effect of wheat germ heat treatment by fluidised bed on the kinetics of lipase inactivation. *Food Bioprocess Technol*, *11*, 1002–1011.
- Gili, R. D., Torrez Irigoyen, R. M., Penci, M. C., Giner, S. A., & Ribotta, P. D. (2017). Physical characterization and fluidization design parameters of wheat germ. *Journal of Food Engineering*, *212*, 29–37.
- Gili, R. D., Torrez Irigoyen, R. M., Penci, M. C., Giner, S. A., & Ribotta, P. D. (2018). Wheat germ thermal treatment in fluidised bed. Experimental study and mathematical modelling of the heat and mass transfer. *Journal of Food Engineering*, *221*, 11–19.
- Giner, Sergio A., & Mascheroni, R. H. (2001). Diffusive drying kinetics in wheat, part 1: potential for a simplified analytical solution. *Journal of Agricultural Engineering Research*, *80*, 351–364.
- Giner, Sergio Adrián, & Gely, M. C. (2005). Sorptional parameters of sunflower seeds of use in drying and storage stability studies. *Biosystems Engineering*, *92*, 217–227.
- Giordano, D., Vanara, F., Reyneri, A., & Blandino, M. (2016). Effect of dry-heat treatments on the nutritional value of maize germ. *International Journal of Food Science and Technology*, *51*, 2468–2473.
- Gómez, M., González, J., & Oliete, B. (2012). Effect of extruded wheat germ on dough rheology and bread quality. *Food and Bioprocess Technology*, *5*, 2409–2418.
- Gómez Pallarés, M., León, A. E., & Rosell, C. M. (2007). Trigo. In A. E. León & C. Rosell (Eds.), *De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación en Iberoamérica* (1st ed., pp. 17–72). Hugo Báez Editor.
- Guiotto, E. N., Ixtaina, V. Y., Nolasco, S. M., & Tomás, M. C. (2014). Effect of storage conditions and antioxidants on the oxidative stability of sunflower-chia oil blends. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *91*, 767–776.
- Gurrieri, N. (2004). Cereal proteins. In R. Yada (Ed.), *Proteins in Food processing* (pp. 176–196). Whashington: Woodhead Publishing Limited.

- Gutierrez, J. D., Catalá-Civera, J. M., Bows, J., & Peñarda-Foix, Felipe, L. (2017). Dynamic measurement of dielectric properties of food snack pellets during microwave expansion. *Journal of Food Engineering*, *202*, 1–8.
- Halder, A., Dhall, A., & Datta, A. K. (2011). Modeling Transport in Porous Media With Phase Change: Applications to Food Processing. *Journal of Heat Transfer*, *133*, 031010.
- Han, J., Janz, J. A. M., & Gerlat, M. (2010). Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions. *Food Research International*, *43*, 627–633.
- Hassan, H., Afify, A. S., Basyiony, A. E., Ahmed, G. T., & Ghada, A. T. (2010). Nutritional and Functional Properties of Defatted Wheat Protein Isolates. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *4*, 348–358.
- Hemis, M., Choudhary, R., & Watson, D. G. (2012). A coupled mathematical model for simultaneous microwave and convective drying of wheat seeds. *Biosystems Engineering*, *112*, 202–209.
- Hemis, M., Gariépy, Y., Choudhary, R., & Raghavan, V. (2017). New coupling model of microwave assisted hot-air drying of a capillary porous agricultural product: Application on soybeans and canola seeds. *Applied Thermal Engineering*, *114*, 931–937.
- Hettiarachchy, N. S., Griffin, V. K., & Gnanasambandam, R. (1996). Preparation and functional properties of a protein isolate from defatted wheat germ. *Cereal Chemistry*.
- Huang, D., Boxin, O. U., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*, 1841–1856.
- Ibanoğlu, E. (2002). Kinetic study on color changes in wheat germ due to heat. *Journal of Food Engineering*, *51*, 209–213.
- Incropera, F. P., DeWitt, D. P., Bergman, T. L., & Lavine, A. S. (2007). *Fundamentals of Heat and Mass Transfer* (6th ed.). John Wiley and Sons.
- Jha, P. K., Kudachikar, V. B., & Kumar, S. (2013). Lipase inactivation in wheat germ by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, *86*, 136–139.
- Jovanovich, G., Puppo, C., Giner, S. A., & Añon, M. C. (2003). Water uptake by dehydrated soy protein isolates Comparison of equilibrium vapour sorption and water imbibing methods. *Journal of Food Engineering*, *56*, 331–338.
- Jurkovic, N., & Colic, I. (1993). Effect of thermal processing on the nutritive value of wheat germ protein. *Die Nahrung*, *37*, 538–543.
- Kaya, A., & Aydin, O. (2009). An experimental study on drying kinetics of some herbal leaves. *Energy Conversion and Management*.
- Kermasha, S., Bisakowski, B., Ramaswamy, H., & Van de Voort, R. (1993). Thermal and Microwave Inactivation of soybean Lipoxygenase. *LWT - Food Science and Technology*, *26*, 215–219.
- Kermasha, S., Bisakowski, B., Ramaswamy, H., & Voort, F. Van De. (1993). Comparison of microwave, conventional and combination heat treatments on wheat germ lipase activity. *International Journal of Food Science & Technology*, *28*, 617–623.
- Khaled, A. R. A., & Vafai, K. (2003). The role of porous media in modeling flow and heat transfer in biological tissues. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, *46*, 4989–5003.
- Kim, Y. S., Flores, R. A., Chung, O. K., & Bechtel, D. B. (2003). Physical, chemical, and thermal characterization of wheat flour milling coproducts. *Journal of Food Process Engineering*, *26*, 469–488.

- Krings, U., & Berger, R. G. (2001). Antioxidant activity of some roasted foods. *Food Chemistry*, *72*, 223–229.
- Krings, U., Johansson, L., Zorn, H., & Berger, R. G. (2006). In vitro DNA-protective activity of roasted wheat germ and fractions thereof. *Food Chemistry*, *97*, 712–718.
- Krings, Ulrich, El-Saharty, Y. S., El-Zeany, B. a., Pabel, B., & Berger, R. G. (2000). Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ. *Food Chemistry*, *71*, 91–95.
- Ktenioudaki, A., & Gallagher, E. (2012). Recent advances in the development of high-fibre baked products. *Trends in Food Science & Technology*, *28*, 4–14.
- Kubo, M. T. K., Curet, S., Augusto, P. E. D., & Boillereaux, L. (2019). Multiphysics modeling of microwave processing for enzyme inactivation in fruit juices. *Journal of Food Engineering*, *263*, 366–379.
- Labuza, T. P., & Dugan Jr, L. R. (1971). Kinetics of lipid oxidation in foods. *C R C Critical Reviews in Food Technology*, *3*, 355–405.
- Laemmli, U. K. (1970): (1970). Cleavage of Structural Proteins during Assembly of Head of Bacteriophage-T4. *Nature*, *227*, 680–685.
- Laguna, L., Varela, P., Salvador, A., & Fiszman, S. (2013). A new sensory tool to analyse the oral trajectory of biscuits with different fat and fibre contents. *Food Research International*, *51*, 544–553.
- Lauková, M., Karovičová, J., Minarovičová, L., & Kohajdová, Z. (2019). Wheat bran stabilization and its effect on cookies quality. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, *13*, 109–115.
- Lespinard, A. R., Bambicha, R. R., & Mascheroni, R. H. (2012). Quality parameters assessment in kiwi jam during pasteurization. Modelling and optimization of the thermal process. *Food and Bioproducts Processing*, *90*, 799–808.
- Lezcano, E. (2015). Galletitas y Bizcochos. *Alimentos Argentinos. Informe de Producto N° 4*, *1*, 2–37.
- Li, B., Zhao, L., Chen, H., Sun, D., Deng, B., Li, J., ... Wang, F. (2016). Inactivation of lipase and lipoxygenase of wheat germ with temperature-controlled short wave infrared radiation and its effect on storage stability and quality of wheat germ oil. *PLoS One*, *11*, e0167330.
- Lienhard IV, J. H., & Lienhard V, J. H. (2016). *A heat transfer textbook* (4th ed.). Cambridge, Massachusetts: Phlogiston Press.
- Ling, B., Lyng, J. G., & Wang, S. (2018). Radio-frequency treatment for stabilization of wheat germ: Dielectric properties and heating uniformity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *48*, 66–74.
- Ling, B., Ouyang, S., & Wang, S. (2019). Radio-frequency treatment for stabilization of wheat germ: Storage stability and physicochemical properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *52*, 158–165.
- Liu, F., Wang, L., Wang, R., & Chen, Z. X. (2014). Calcium-induced disaggregation of wheat germ globulin under acid and heat conditions. *Food Research International*, *62*, 27–34.
- Liu, Fengru, Chen, Z., Shao, J., Wang, C., & Zhan, C. (2017). Effect of fermentation on the peptide content, phenolics and antioxidant activity of defatted wheat germ. *Food Bioscience*, *20*, 141–148.
- Liu, S., Ogiwara, Y., Fukuoka, M., & Sakai, N. (2014). Investigation and modeling of temperature

- changes in food heated in a flatbed microwave oven. *Journal of Food Engineering*, *131*, 142–153.
- Ma, C. Y., & Harwalkar, V. R. (1991). Thermal analysis of food proteins. *Advances in Food and Nutrition Research*, *35*, 317–366.
- Maestri, D., Martínez, M., Bodoira, R., Rossi, Y., Oviedo, A., Pierantozzi, P., & Torres, M. (2015). Variability in almond oil chemical traits from traditional cultivars and native genetic resources from Argentina. *Food Chemistry*, *170*, 55–61.
- Magariño, M., Mateo, C. M., & Nolasco, S. M. (2015). Kinetics of tocopherol degradation during the storage of wheat germ oil. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, *93*, 1999–2004.
- Mahmoud, A. A., Mohdaly, A. A. A., & Elneairy, N. A. A. (2015). Wheat germ: an overview on nutritional value, antioxidant potential and antibacterial characteristics. *Food and Nutrition Sciences*, *6*, 265–277.
- Majzoobi, M., Farhoodi, S., Farahnaky, A., & Taghipour, M. J. (2012). Properties of dough and flat bread containing wheat germ. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *14*, 1053–1065.
- Malekian, F., Rao, R. M., Prinyawiwatkul, W., & Marshall, W. E. (2000). Lipase and Lipoxygenase Activity, Functionality, and Nutrient Losses in Rice Bran During Storage, (870), 1–69.
- Malumba, P., Vanderghem, C., Deroanne, C., & Béra, F. (2008). Influence of drying temperature on the solubility, the purity of isolates and the electrophoretic patterns of corn proteins. *Food Chemistry*, *111*, 564–572.
- Martens, M., Scheerlinck, N., De Belie, N., & De Baerdemaeker, J. (2001). Numerical model for the combined simulation of heat transfer and enzyme inactivation kinetics in cylindrical vegetables. *Journal of Food Engineering*, *47*, 185–193.
- Meriles, S. P., Steffolani, M. E., Leon, A. E., Penci, M. C., & Ribotta, P. D. (2019). Physico-chemical characterization of protein fraction from stabilized wheat germ. *Food Science and Biotechnology*, *28*, 1327–1335.
- Mghazli, S., Ouhammou, M., Hidar, N., Lahnine, L., Idlimam, A., & Mahrouz, M. (2017). Drying characteristics and kinetics solar drying of Moroccan rosemary leaves. *Renewable Energy*, *108*, 303–310.
- Millar, K. A., Barry-Ryan, C., Burke, R., McCarthy, S., & Gallagher, E. (2019). Dough properties and baking characteristics of white bread, as affected by addition of raw, germinated and toasted pea flour. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *56*, 102189.
- Mir, L. R. (2016). *Influencia de la textura del grano de trigo (Triticum aestivum L.) sobre la calidad industrial de galletitas dulces y crackers*. Universidad Nacional de Córdoba.
- Mohamed, B., Ramadan, F., & Showky, H. E. (2008). Comparison between the effect of γ - irradiation and roasting on the profile and antioxidant activity of wheat germ lipids. *Grasas y Aceites*, *59*, 166–173.
- Morales-Polanco, E., Campos-Vega, R., Gaytán-Martínez, M., Enriquez L, G., & Loarca-Piña, G. (2017). Functional and textural properties of a dehulled oat (*Avena sativa* L) and pea (*Pisum sativum*) protein isolate cracker. *LWT - Food Science and Technology*, *86*, 418–423.
- Moreau, R. A., & Hicks, K. B. (2006). Reinvestigation of the effect of heat pretreatment of corn fiber and corn germ on the levels of extractable tocopherols and tocotrienols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*, 8093–8102.

- Moreau, R. A., Hicks, K. B., & Powell, M. J. (1999). Effect of heat pretreatment on the yield and composition of oil extracted from corn fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *47*, 2869–2871.
- Morris, C. F., & Cauvain, S. P. (2016). Volume 3: Grain-based products and their processing. In C. Wrigley, H. Corke, K. Seetharaman, & J. Faubion (Eds.), *Encyclopedia of Food Grains* (2nd ed., pp. 37–50). Elsevier.
- Nelson, S. O. (2015). *Dielectric Properties of Agricultural Materials and Their Applications*. Elsevier.
- Niu, L., Jiang, S., Pan, L., Pang, M., Niu, L., Jiang, S., ... Pang, M. (2013). Characterization of wheat germ oil in terms of volatile compounds, lipid composition, thermal behavior, and structure. *International Journal of Food Properties*, *16*, 1740–1749.
- Osborne, T. B. (1924). The Vegetable Proteins. *Journal of the Society of Chemical Industry*, *43*, 440.
- Özbek, B., & Dadali, G. (2007). Thin-layer drying characteristics and modelling of mint leaves undergoing microwave treatment. *Journal of Food Engineering*, *83*, 541–549.
- Panchariya, P. C., Popovic, D., & Sharma, A. L. (2002). Thin-layer modelling of black tea drying process. *Journal of Food Engineering*, *52*, 349–357.
- Peng, W., Kong, X., Chen, Y., Zhang, C., Yang, Y., & Hua, Y. (2016). Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins. *Food Hydrocolloids*, *52*, 301–310.
- Player, M. E., Kim, H. J., Lee, H. O., & Min, D. B. (2006). Stability of α -, γ -, or δ -tocopherol during soybean oil oxidation. *Journal of Food Science*, *71*, 456–460.
- Puligundla, P. (2013). Potentials of Microwave Heating Technology for Select Food Processing Applications - a Brief Overview and Update. *Journal of Food Processing & Technology*, *04*, 278.
- Rahnan, S. (Ed.). (2002). *Handbook of Food Preservation*. Food Research International (2nd ed.). CRC Press.
- Ramaswamy, H., & Tang, J. (2008). Microwave and Radio Frequency Heating. *Food Science and Technology International*, *14*, 423–427.
- Rasiah, I. A., Sutton, K. H., Low, F. L., Lin, H. M., & Gerrard, J. A. (2005). Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. *Food Chemistry*, *89*, 325–332.
- 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.
- Renshaw, R. C., Dimitrakakis, G. A., Robinson, J. P., & Kingman, S. W. (2018). The relationship of dielectric response and water activity in food. *Journal of Food Engineering*, *244*, 80–90.
- Ribotta, P. D., Ausar, S. F., Morcillo, M. H., Pérez, G. T., Beltramo, D. M., & León, A. E. (2004). Production of gluten-free bread using soybean flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *84*, 1969–1974.
- Rizzello, C. G., Nionelli, L., Coda, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2010). Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chemistry*, *119*, 1079–1089.
- Rose, D. J., & Pike, O. A. (2006). A simple method to measure lipase activity in wheat and wheat bran as an estimation of storage quality. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *83*, 415–419.

- Rosell, C. M., Cortez, G., & Repo-Carrasco, R. (2009). Breadmaking use of andean crops quinoa, Kañiwa, Kiwicha, and Tarwi. *Cereal Chemistry*, *86*, 386–392.
- Ruiz-Ojeda, L. M., & Peñas, F. J. (2013). Comparison study of conventional hot-water and microwave blanching on quality of green beans. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *20*, 191–197.
- Runyon, J. R., Sunilkumar, B. A., Nilsson, L., Rascon, A., & Bergenståhl, B. (2015). The effect of heat treatment on the soluble protein content of oats. *Journal of Cereal Science*, *65*, 119–124.
- Sabarez, H. T. (2014). Mathematical modeling of the coupled transport phenomena and color development: finish drying of trellis-dried sultanas. *Drying Technology*, *32*, 578–589.
- Sablani, S. S., Datta, A. K., Rahman, S. M., & Mujumdar, A. S. (Eds.). (2006). *Handbook of Food and Bioprocess modeling techniques*. CRC Press.
- Saguy, I. S. (2016). Challenges and opportunities in food engineering: Modeling, virtualization, open innovation and social responsibility. *Journal of Food Engineering*, *176*, 2–8.
- Sakin-Yilmazer, M., Kemerli, T., Isleroglu, H., Ozdestan, O., Guven, G., Uren, A., & Kaymak-Ertekin, F. (2013). Baking kinetics of muffins in convection and steam assisted hybrid ovens (baking kinetics of muffin...). *Journal of Food Engineering*, *119*, 483–489.
- Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V., & Lampi, A. M. (2008). Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, *21*, 152–161.
- Secretaría de Agroindustria. (2019). Cadena de la Harina de Trigo. Ministerio de Producción y Trabajo. Presidencia de la Nación.
- Seppanen, C. M., Song, Q., & Saari Csallany, A. (2010). The antioxidant functions of tocopherol and tocotrienol homologues in oils, fats, and food systems. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *87*, 469–481.
- Serna Saldivar, S. O. (2016). Cereals: Dietary Importance. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 703–711). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00020-9>
- Shantha, N. C., & Decker, E. A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, *77*, 421–424.
- Sharanagat, V. S., Suhag, R., Anand, P., Deswal, G., Kumar, R., Chaudhary, A., ... Nema, P. K. (2019). Physico-functional, thermo-pasting and antioxidant properties of microwave roasted sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Journal of Cereal Science*, *85*, 111–119.
- 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.
- Shi, Y., Wang, L., Fang, Y., Wang, H., Tao, H., Pei, F., ... Hu, Q. (2018). A comprehensive analysis of aroma compounds and microstructure changes in brown rice during roasting process. *Lwt*, *98*, 613–621.
- Shiiba, K., Negishi, Y., Okada K, & Nagao, S. (1991). Purification and characterization of lipoxygenase isozymes from wheat germ. *Cereal Chemistry*, *68*(2), 115–122.
- Shrestha, A. K., & Noomhorm, A. (2002). Comparison of physico-chemical properties of biscuits supplemented with soy and kinema flours. *International Journal of Food Science and Technology*, *37*, 361–368.

- Shurpalekar, S. R., & Rao, P. H. (1977). Wheat Germ. *Adv. Food Res.*
- Siguemoto, É. S., Funcia, E. dos S., Pires, M. N., & Gut, J. A. W. (2018). Modeling of time-temperature history and enzymatic inactivation of cloudy apple juice in continuous flow microwave assisted pasteurization. *Food and Bioprocesses Processing*, *111*, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.06.004>
- Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *56*, 365–379.
- Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2009). *Introduction to Food Engineering*. (S. L. Taylor, Ed.) (4th ed.). Elsevier.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152–178). Academic press.
- Sjövall, O., Virtalaine, T., Lapveteläinen, A., & Kallio, H. (2000). Development of rancidity in wheat germ analyzed by headspace gas chromatography and sensory analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*, 3522–3527.
- Škrbic, B., & Cvejanov, J. (2011). The enrichment of wheat cookies with high-oleic sunflower seed and hull-less barley flour : Impact on nutritional composition , content of heavy elements and physical properties. *Fod Chemistry*, *124*, 1416–1422.
- Sosa-Morales, M. E., Valerio-Junco, L., Lopez-Malo, A., & Garcia, H. S. (2010). Dielectric properties of foods: Reported data in the 21st century and their potential applications. *LWT - Food Science and Technology*, *43*, 1169–1179.
- Srikiatden, J., & Roberts, J. S. (2007). Moisture Transfer in Solid Food Materials: A Review of Mechanisms, Models, and Measurements. *International Journal of Food Properties*, *10*, 739–777.
- Srivastava, A. K., Sudha, M. L., Baskaran, V., & Leelavathi, K. (2007). Studies on heat stabilized wheat germ and its influence on rheological characteristics of dough. *European Food Research and Technology*, *224*, 365–372.
- Steffe, J. F. (1994). Rheological methods. In *Agricultural Engineering* (Vol. 23).
- Steffolani, M. E., Ribotta, P. D., Pérez, G. T., & León, A. E. (2010). Effect of glucose oxidase, transglutaminase, and pentosanase on wheat proteins: Relationship with dough properties and bread-making quality. *Journal of Cereal Science*, *51*, 366–373.
- Sudha, M. L., Srivastava, A. K., & Leelavathi, K. (2007). Studies on pasting and structural characteristics of thermally treated wheat germ. *European Food Research and Technology*, *225*, 351–357.
- Sumnu, G., & Sahin, S. (2005). Recent Developments in Microwave Heating. In *Emerging Technologies for Food Processing* (pp. 419–444). Elsevier Ltd.
- Sun, D. (Ed.). (2006). *Thermal Food Processing. New Technologies and Quality Issues* (1st ed.). Taylor & Francis.
- Švec, I., & Hrušková, M. (2015). The Mixolab parameters of composite wheat/hemp flour and their relation to quality features. *LWT - Food Science and Technology*, *60*, 623–629.
- Szadziska, J., Kowalski, S. J., & Stasiak, M. (2016). Microwave and ultrasound enhancement of convective drying of strawberries: Experimental and modeling efficiency. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, *103*, 1065–1074.

- Takagi, S., Lenaga, H., Tsuchiya, C., & Yoshida, H. (1999). Microwave roasting effects on the composition of tocopherols and acyl lipids within each structural part and section of a soya bean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *79*, 1155–1162.
- Teslić, N., Bojanić, N., Rakić, D., Takači, A., Zeković, Z., Fišteš, A., ... Pavlić, B. (2019). Defatted wheat germ as source of polyphenols - Optimization of microwave - assisted extraction by RSM and ANN approach. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *143*, 107634.
- Thaiphanit, S., & Anprung, P. (2016). Physicochemical and emulsion properties of edible protein concentrate from coconut (*Cocos nucifera* L.) processing by-products and the influence of heat treatment. *Food Hydrocolloids*, *52*, 756–765.
- Thanonkaew, A., Wongyai, S., McClements, D. J., & Decker, E. a. (2012). Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa* L.). *LWT - Food Science and Technology*, *48*, 231–236.
- Torbica, A., Mocko Blažek, K., Belović, M., & Janić Hajnal, E. (2019). Quality prediction of bread made from composite flours using different parameters of empirical rheology. *Journal of Cereal Science*, *89*, 102812.
- Torki-Harchegani, M., Ghanbarian, D., Ghasemi Pirbalouti, A., & Sadeghi, M. (2016). Dehydration behaviour, mathematical modelling, energy efficiency and essential oil yield of peppermint leaves undergoing microwave and hot air treatments. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *58*, 407–418.
- Uquiche, E., Jeréz, M., & Ortíz, J. (2008). Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*Gevuina avellana* Mol). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *9*, 495–500.
- USDA Nutrient Database. (2019). USDA. Retrieved September 20, 2010, from <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
- van der Sman, R. G. M., & Bows, J. R. (2017). Critical factors in microwave expansion of starchy snacks. *Journal of Food Engineering*, *211*, 69–84.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J. Agric. Food Chem.*, *46*, 4113–4117.
- Venkatesh, M. S., & Raghavan, G. S. V. (2004). An overview of microwave processing and dielectric properties of agri-food materials. *Biosystems Engineering*, *88*(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2004.01.007>
- Vetrimani, R., Jyothirmayi, N., Haridas Rao, P., & Ramadoss, C. S. (1992). Inactivation of Lipase and Lipoxygenase in Cereal Bran, Germ and Soybean by Microwave Treatment. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie*, *25*(c), 532–535.
- Waananen, K. M., & Okos, M. R. (1996). Effect of porosity on moisture diffusion during drying of pasta. *Journal of Food Engineering*, *28*, 121–137.
- Wang, J., Xia, N., Yang, X., Yin, S., Qi, J., He, X., ... Wang, L. (2012). Adsorption and Dilatational Rheology of Heat-Treated Soy Protein at the Oil – Water Interface: Relationship to Structural Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*, 3302–3310.
- Wang, L., Ding, Y., Zhang, X., Li, Y., Wang, R., Luo, X., ... Chen, Z. (2017). Effect of electron beam on the functional properties and structure of defatted wheat germ proteins. *Journal of Food Engineering*, *202*, 9–17.

- Wang, Y., Wig, T. D., Tang, J., & Hallberg, L. M. (2003). Dielectric properties of foods relevant to RF and microwave pasteurization and sterilization. *Journal of Food Engineering*, *57*, 257–268.
- Xu, B., Zhou, S. L., Miao, W. J., Gao, C., Cai, M. J., & Dong, Y. (2013). Study on the stabilization effect of continuous microwave on wheat germ. *Journal of Food Engineering*, *117*, 1–7.
- Xu, Bin, Wang, L. K., Miao, W. J., Wu, Q. F., Liu, Y. X., Sun, Y., & Gao, C. (2016). Thermal versus Microwave Inactivation Kinetics of Lipase and Lipoxygenase from Wheat Germ. *Journal of Food Process Engineering*, *39*, 247–255.
- Yilmaz, N., Tuncel, N. B., & Kocabiyik, H. (2014). The effect of infrared stabilized rice bran substitution on nutritional, sensory, and textural properties of cracker. *European Food Research and Technology*, *239*, 259–265.
- Yöndem-Makascioğlu, F., Gürün, B., Dik, T., & Kincal, N. S. (2005). Use of a spouted bed to improve the storage stability of wheat germ followed in paper and polyethylene packages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *85*, 1329–1336.
- Youssef, H. M. K. E. (2015). Assessment of Gross Chemical Composition, Mineral Composition, Vitamin Composition and Amino Acids Composition of Wheat Biscuits and Wheat Germ Fortified Biscuits. *Food and Nutrition Sciences*, *6*, 845–853.
- Zhong, Y., Tu, Z., Liu, C., Liu, W., Xu, X., Ai, Y., ... Wu, J. (2013). Effect of microwave irradiation on composition, structure and properties of rice (*Oryza sativa* L.) with different milling degrees. *Journal of Cereal Science*, *58*, 228–233.
- Zhu, K., Lian, C., Guo, X., Peng, W., & Zhou, H. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, *126*, 1122–1126.
- Zhu, K. X., Zhou, H. M., & Qian, H. F. (2006). Proteins extracted from defatted wheat germ: Nutritional and structural properties. *Cereal Chemistry*, *83*, 69–75.
- Zhu, Ke Xue, Zhou, H. M., Chen, Z. C., Peng, W., Qian, H. F., & Zhou, H. M. (2010). Comparison of functional properties and secondary structures of defatted wheat germ proteins separated by reverse micelles and alkaline extraction and isoelectric precipitation. *Food Chemistry*, *123*, 1163–1169.
- Zou, Y., Gao, Y., He, H., & Yang, T. (2018). Effect of roasting on physico-chemical properties, antioxidant capacity, and oxidative stability of wheat germ oil. *LWT - Food Science and Technology*, *90*, 246–253.
- Zou, Y., Yang, M., Zhang, G., He, H., & Yang, T. (2015). Antioxidant activities and phenolic compositions of wheat germ as affected by the roasting process. *J Am Oil Chem Soc*, *92*, 1303–1312.
- Zydenbos, S., & Humphrey-Taylor, V. (2003). BISCUITS, COOKIES, AND CRACKERS/Nature of the Products. In B. Caballero (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd ed., pp. 524–528). Academic Press.

ANEXO 1

Modelo de Planilla de evaluación sensorial

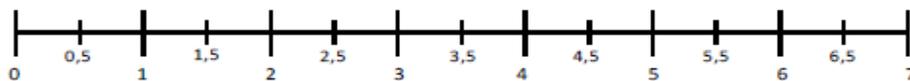
Producto: Galletitas saladas a base de harina y germen de trigo

Cuestionario Nº 1: Evaluación Descriptiva

Por favor, beba unos sorbos de agua antes de comenzar y entre muestra y muestra, Repita estos pasos las veces que considere necesario.

Evalúe cada galletita codificada e indique en la escala el valor que considera que mejor describe a la muestra. Escriba por encima de la misma, el código de la muestra respectiva.

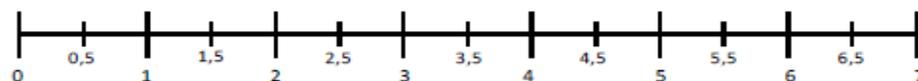
1- Textura en mano



Sin rugosidad

Muy rugoso

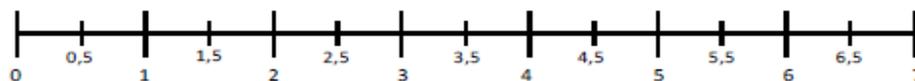
2- Crujencia



Poco crujiente

Muy crujiente

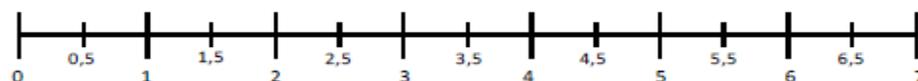
3- Dureza



Blando

Duro

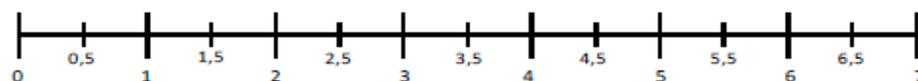
4- Masticabilidad



Poco masticable

Muy masticable

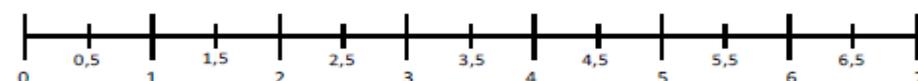
5- Cohesividad



Sin partículas

Con muchas partículas

6- Regusto Amargo



Sin regusto

Mucho regusto

Cuestionario N° 2: Prueba de Ordenamiento

Pruebe las muestras presentadas y ordénelas según su grado de preferencia, colocando en el primer lugar el código de la que más le agrade, y en el último lugar el código de la que menos le agrade,

COMENTARIOS:

Muchas gracias!!!

Divulgación de resultados y actividades de transferencia

Parte de los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis Doctoral dieron lugar a las siguientes publicaciones y presentaciones en reuniones científicas.

Trabajos publicados en revistas internacionales con referato:

- **Meriles SP**, Steffolani ME, León AE, Penci MC, Ribotta, PD. Physico-chemical characterization of protein fraction from stabilized wheat germ. *Food Sci Biotechnol* (2019). DOI: 10.1007/s10068-019-00594-9
- Bordón MG, **Meriles SP**, Ribotta PD, Martínez, ML. Enhancement of composition and oxidative stability of chia (*Salvia hispanica* L.) seed oil by blending with specialty oils. *Journal of Food Science*. (2019). DOI: 10.1111/17503841.14580
- **Meriles SP**, Penci MC, Steffolani ME, Ribotta, PD. Effect of heat-treated wheat germ on dough properties and crackers quality. *International Journal of Food Science and Technology* (2020). DOI: 10.1111/ijfs.14810
- **Meriles SP**, Piloni RV, Cáceres GV, Penci MC, Marín A, Ribotta PD, Martínez ML. Compositional characteristics, texture, shelf-life and sensory quality of snack crackers produced from non-traditional ingredients. *International Journal of Food Science and Technology* (2021). DOI: 10.1111/ijfs.15303
- **Meriles SP**, Steffolani ME, Penci MC, Curet S, Boillereaux L, Ribotta, PD. Effects of low-temperature microwave treatment of wheat germ. *J Sci Food Agric* (2021). DOI: 10.1002/jsfa.11595
- **Meriles SP**, Penci MC, Curet S, Boillereaux L, Ribotta, PD. Effect of microwave and hot air treatment on enzyme activity, oil fraction quality and antioxidant activity of wheat germ. *Food Chemistry* (2022). DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.132760
- **Meriles SP**, Penci MC, Curet S, Boillereaux L, Ribotta, PD. Thermo-physical properties of wheat germ: heat and mass transfer during convective heating. *J Food Process Eng* (2022). Accepted for publication.

Proyectos de transferencia:

- Cálculo y diseño de equipo para la estabilización de germen de trigo. Convenio específico de colaboración entre la Universidad Nacional de Córdoba y Molinos Marimbo SAIC (CUDAP: EXP-UNC:23047/2018). 2018.

Participación en congresos internacionales:

- 13th International Food Data Conference «Antioxidant activity of defatted wheat germ affected by hot air and microwaves» (Lisboa, Portugal). **Meriles SP**, Bordón MG, Penci MC, Boillereaux L, Curet S, Ribotta PD. Modalidad póster. 2019.
- 5th International ISEKI Food Conference. «Convective heating of wheat germ . Model development and experimental validation» (Stuttgart, Alemania). Ribotta PD, **Meriles SP**, Penci MC, Boillereaux L, Curet-Ploquin S. Modalidad póster. 2018.
- VII Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. «Efecto del tratamiento con microondas sobre la inactivación de enzimas lipasa y lipoxigenasa del germen de trigo» (Cba-Arg). **Meriles SP**, Penci MC, Boillereaux L, Curet-Ploquin S, Ribotta PD. (2018). Modalidad oral. Asistente 2018.
- IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba. «Efecto del tratamiento térmico sobre la cinética de inactivación de enzimas lipasa y lipoxigenasa del germen de trigo» (Cba-Arg). **Meriles SP**, Penci MC, Gili RD, Martínez ML, Ribotta PD. Póster y trabajo completo. Asistente. 2016.
- VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba. «Caracterización física y obtención de parámetros de fluidización de germen de trigo» (Cba-Arg). Gili RD, Torrez Irigoyen M, **Meriles SP**, Penci MC, Giner S, Ribotta PD. Póster y trabajo completo. Asistente. 2016.
- 2° Congreso Iberoamericano de Ingeniería de los Alimentos. «Efecto del tratamiento térmico sobre las propiedades funcionales de proteínas de germen de trigo» (Pta del Este, Uy). **Meriles SP**, Steffolani ME, León AE, Penci MC, Ribotta PD. Póster. 2016.

Participación en congresos y jornadas nacionales:

- IV Congreso Argentino de Ingeniería – X Congreso Argentino de Enseñanza de la Ingeniería. «Propiedades ingenieriles del germen de trigo involucradas en el modelado de tratamiento térmico» (Cba-Arg). **Meriles SP**, Gili RD, Penci MC, Curet-Ploquin S, Boillereaux L, Ribotta PD.(2018). Modalidad oral. Asistente. 2018.
- III Reunión Interdisciplinaria de Tecnología y Procesos Químicos. Universidad Nacional de Córdoba. «Elaboración de un alimento tipo snack a base de chía y germen de trigo». (Cba-Arg). **Meriles SP**, Cáceres GV, Ribotta PD, Penci MC, Martínez ML. Art. breve. Asistente. (2014).