

Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A.C.

**EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA
SOBRE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS, LA
COMPOSICIÓN PROTEICA Y LA CALIDAD
PANADERA DE HARINAS DE TRIGO**

POR

KARLA DINHORA CHÁVEZ QUIROZ

TESIS APF013ADA POI;;LA

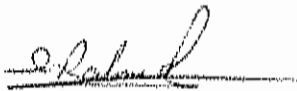
COORDINACIÓN DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS DE
ORIGEN VE:GETAL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

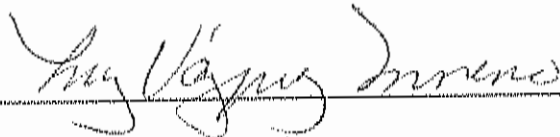
MAESTRÍA EN CIENCIAS NOVIEMBRE, DICIEMBRE

APROBACIÓN

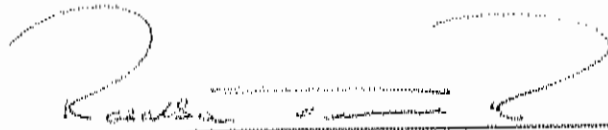
Los miembros del comité designado para revisar la tesis de Karla Dínhora Chávez Quiroz, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dra. Alma Rosa Islas Rubio
Directora de Tesis



Dra. Luz Vázquez Moreno



Dra. Rosalba Troncoso Rojas

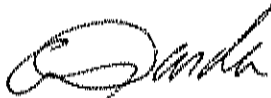


Dr. Alberto González León

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen las citas del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se de el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro en Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión, del director o directora de tesis.



Dr. Alfonso Gardea Béjar
Director General

DEDICATORIA

A mis padres Miguel Chávez y Ma. Carlota Quiroz, por apoyarme siempre, por creer en mí, por ser el motor que me alienta a seguir adelante, pero sobre todo por habernos criado a mis hermanos y a mí rodeados siempre de cariño y amor. Este logro más en mi vida es por ustedes y para ustedes. Los quiero muchísimo. Gracias por ser mi ejemplo a seguir.

A mis hermanos Carlos Miguel, Cristina y Daniel, por hacer mi vida feliz, por apoyarme siempre, por ser los mejores amigos y hermanos que Dios pudo elegir para mí. Los quiero mucho niños.

A mi pequeña sobrina Mara Valeria, por recordarme a la niña que llevo dentro y por sus inocentes y espontáneas muestras de cariño. Te quiero hasta el infinito y más allá Vale, como dice tu tía Cristy.

A mi amiga Brenda, porque siempre me alentó a seguir adelante, porque me enseñó a ver el mejor lado de las cosas que nos suceden y porque siempre estuvo a mi lado ayudándome y apoyándome incondicionalmente. Te quiero mucho Brenduchis.

A mi amiga Fabiola, por ser mi familia aquí en Hermosillo, por escucharme, aconsejarme, por haber compartido conmigo su tiempo, amistad y cariño, y por preocuparse siempre por mi bienestar. Te quiero mucho faby, eres una gran persona.

A mi amiga Eneida, porque siempre ha creído en mí, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por todos tus consejos, cariño y preocupación. Muchas gracias por todo miya chula, te quiero mucho Ene.

A mis amigos Cinthia Islas y Jesús García, por su gran amistad y apoyo. Los quiero mucho a los dos. Gracias por estar a mi lado siempre.

A mis amigas y compañeras Eneida Soto, Fabiola Armenta, Mónica Castro, Magali Vera, Daniela González, Patricia Durán, Verónica López y Elsa Chavarría, muchas gracias

por su amistad, por todos esos momentos juntas, por las risas, consejos y por haber formado todas juntas el club de las V.I.P.

A mis amigos Luis Conde y Gerardo Reyna por toda su ayuda y atenciones, mil gracias por hacer mi estancia en la biblioteca del CIAD más amena. A mi amiga Teresa Maldonado por su amistad incondicional, por creer siempre en mí y por considerarme un buen ejemplo a seguir, gracias Terelu por tu amistad, cariño y por siempre echarme porras. A mi amiga la M.C. Mildred Quintero por estar siempre a mi lado y por su sincera amistad. Muchas gracias por todo Mildred, te quiero muchísimo.

A esa persona que fue muy especial en mi vida y que me hizo soñar tantas veces. Gracias por tus consejos, por la ilusión, por las sonrisas, por los momentos bonitos y por tu cariño, nunca te voy a olvidar.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme la fuerza y salud necesaria para poder realizar un sueño más en mi vida, por sostenerme en los momentos difíciles y por no dejarme caer jamás, pero sobre todo por haberme dado la hermosa familia que tengo.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría y por todo el apoyo otorgado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y al Centro de Investigación Regional del Noroeste (CIRNO), en especial al Dr. Miguel Alfonso Camacho Casas por el apoyo que nos brindó al proporcionarnos las muestras de trigo para la realización de este trabajo de tesis.

Al departamento de docencia a cargo de la Dra. Ana María Calderón de la Barca, por todo el apoyo brindado durante la realización de mis estudios de postgrado. Un especial agradecimiento a Ana Isabel por haber sido mi ángel salvador tantas veces, a Verónica, a Héctor y a Laurita. Muchas gracias a todos por su ayuda.

A todo el personal del Departamento de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, especialmente a Mónica Villegas, Sr. Luis Robles, Jesús García, Sra. Elsa Bringas y Sr. Jorge Mercado por ayudarme durante toda mi estancia en CIAD. A todos muchas gracias por su tiempo, ayuda y por su amistad.

A la Dra. Alma Rosa Islas Rubio por la asesoría y apoyo en la realización de este proyecto. Por la confianza que me brindó desde que llegué a CIAD, por ser quien me abrió las puertas a la investigación, pero sobre todo por alentarme a seguir adelante siempre. Mil gracias por todo Dra.

A los integrantes de mi comité de tesis: Dra. Luz Vázquez Moreno, Dra. Rosalba Troncoso Rojas y al Dr. Alberto González León por la asesoría proporcionada.

A la M.C. Brenda Silva, gracias por toda tu ayuda, enseñanza, amistad, apoyo y cariño. Muchas gracias por todo Brenda. Te quiero mucho.

Un agradecimiento profundo para la Q.B. Ma. del Carmen Granados Nevárez y al M.C. Francisco Vásquez Lara quienes son los encargados del Laboratorio de Tecnología de Cereales, por la ayuda y apoyo brindado en la realización de este trabajo y por la amistad que siempre me han brindado. Muchas gracias Pame y Francisco.

Gracias a todos y cada una de las personas que me ayudaron y alentaron en mi vida para llegar a este logro más.

A medida que avanzamos surgen sucesos inesperados que retrasan nuestra búsqueda. En esos momentos debemos ser fuertes y atrevernos a seguir hasta la conquista. Vale la pena arriesgarnos, ya que el premio es la concreción de nuestros sueños. Llegaremos, más tarde o más temprano y cada uno a su tiempo; sólo es cuestión de perseverar.

Paulo Coelho.

INDICE

	Pág.
LISTA DE CUADROS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	3
Trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.).....	3
Constitución Genética del Trigo Panadero.....	3
Calidad del Trigo.....	4
Usos de la Harina y Principales Componentes de la masa.....	5
Almidón.....	6
Proteínas.....	6
Lípidos.....	7
Agua.....	7
Pentosanas.....	7
Proteínas de Trigo y su Clasificación.....	8
Albúminas y globulinas.....	9
Gliadinas.....	10
Gluteninas.....	11
Estructura del Gluten.....	12
Factores que Afectan la Distribución de Tamaño de las Proteínas Poliméricas del Gluten.....	13
Fertilización Nitrogenada.....	14
Evaluación de la Calidad Panadera.....	15
Métodos para el Estudio de las Proteínas en Harinas de Trigo.....	17

Propiedades Reológicas de la Masa	19
Desarrollo de la Masa y Rompimiento.....	19
Instrumentos para la Medición de Propiedades Reológicas de las Harinas de Trigo.....	21
Farinógrafo.....	21
Mixógrafo.....	21
Extensógrafo.....	22
Alveógrafo.....	22
Analizador de textura TA-XT2.....	23
Justificación y Objetivos.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
Materiales.....	25
Métodos.....	26
Propiedades Reológicas de las Harinas de Trigo.....	26
Tiempo óptimo de amasado.....	26
Fuerza y extensibilidad de la masa.....	26
Composición Química de las Harinas.....	27
Contenido de humedad.....	27
Contenido de proteína.....	27
Contenido de cenizas.....	28
Extracción de Proteína.....	28
Determinación de la Composición Proteica de las Harinas.....	29
Volumen de Pan.....	31
Análisis Estadístico.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
Propiedades Reológicas de las Harinas de Trigo.....	32
Tiempo Óptimo de Amasado.....	32

Fuerza y Extensibilidad de la Masa.....	36
Composición Química.....	41
Contenido de Humedad.....	41
Contenido de Proteína.....	41
Contenido de Cenizas.....	45
Composición Proteica de las Harinas.....	47
Volumen de Pan.....	54
CONCLUSIONES.....	57
BIBLIOGRAFÍA.....	58

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Origen de las líneas experimentales de trigo.....	25
2. Esquemas de fertilización nitrogenada.....	26
3. Tiempo optimo de amasado de las harinas de líneas experimentales de trigo.....	33
4. Mediciones reológicas de la masa de las líneas experimentales de trigo.....	37
5. Contenido de humedad de las harinas de líneas experimentales de trigo.....	42
6. Contenido de proteína de las harinas de líneas experimentales de trigo.....	43
7. Contenido de cenizas de las harinas de líneas experimentales de trigo.....	46
8. Composición proteica de las líneas experimentales de trigo.....	48
9. Matriz de correlación para parámetros de calidad y composición proteica de las harinas de líneas experimentales de trigo.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Clasificación tradicional de las proteínas del gluten.....	9
2. Separación de los extractos proteicos de la proteína total (A), proteína extraíble (B) y proteína no extraíble (C) de una de las harinas mediante SE-HPLC.....	30
3. Proporción de proteína polimérica en la harina de líneas experimentales de trigo.....	50
4. Proporción de proteína polimérica no extraíble total de líneas experimentales de trigo.....	51
5. Proporción de proteína polimérica no extraíble en la harina de líneas experimentales de trigo.....	53
6. Volumen de pan de líneas experimentales de trigo.....	55

RESUMEN

La calidad del trigo está determinada por factores genéticos y ambientales. Estos factores, afectan al contenido y composición de su proteína, y por lo tanto a la funcionalidad del gluten. La aplicación de nitrógeno es una práctica cultural importante que incide en la cantidad de proteína acumulada en el grano. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada (FN) en las propiedades reológicas, composición proteica y calidad panadera de 5 líneas experimentales (LE) de trigo cultivadas en el Campo Experimental Valle del Yaqui en Cd. Obregón, Sonora, durante el ciclo 2002-2003 bajo 5 esquemas de FN. Las propiedades reológicas de la masa fueron evaluadas con el mixógrafo National y el analizador de textura TA-XT2. Las cantidades relativas de proteína poliméricas (PPT) y monoméricas se determinaron en los extractos en buffer-SDS separados en el sistema SE-HPLC. La calidad panadera (volumen de pan) fue evaluado mediante la prueba de panificación de masa directa. Se establecieron las relaciones entre los parámetros reológicos, la composición proteica y el volumen de pan. El tiempo de amasado (TAM), la resistencia máxima (Rmax), la extensibilidad, el trabajo de deformación, el contenido y composición de la proteína y el volumen de pan fueron influenciados por la aplicación de N. El grado de afectación dependió de la LE, el esquema de fertilización utilizado y de su interacción. El aplicar nitrógeno incrementó el contenido de proteína, disminuyó la cantidad de proteína polimérica (PPT), incrementó el contenido de gliadinas y modificó la distribución de tamaño de los polímeros. El TAM se correlacionó positiva y significativamente con PPT, PPNET y PPNEH. Rmax se correlacionó positivamente con PPT y PPNEH. Por otra parte, la extensibilidad mostró una relación inversa con PPNET. Las fracciones proteicas que tuvieron una mayor influencia en el volumen del pan fueron la PPNET, PPH y PPNEH. La mejor respuesta a la aplicación del nitrógeno la presentó la LE 4 y se recomienda aplicarle 300 kg de urea/ha, ya sea en aplicación única o fraccionada 100-100-100. La cantidad y el momento de aplicación del fertilizante pueden manipularse para mejorar la calidad panadera de los trigos.

fueron la PPNET, PPH y PI'NEH, La mejor respuesta a la aplicación de nitrógeno la presentó la U. 4 y se recomienda aplicarle 300 kg de urea/ha, ya sea en aplicación única o fraccionada 100"100"100. La cantidad y el momento de aplicación del fertilizante pueden manipularse para mejorar la calidad panadera de los trigos.

INTRODUCCIÓN

El trigo es uno de los principales cultivos a nivel mundial. Esto debido a que crece en un amplio rango de condiciones climáticas. Este cereal es muy importante para la alimentación humana, pues es la base para la elaboración de productos que se consumen en grandes volúmenes tales como el pan, tortillas, pastas, galletas y pasteles, entre otros. Además, contribuye con una parte importante de los carbohidratos y proteínas que consume el hombre (Pomeranz, 1987).

Las características de uso final de las harinas de los trigos están fuertemente determinadas por las proteínas del gluten (Weegels et al., 1996), las cuales son de particular importancia para la calidad panadera y consiste de dos principales fracciones: gliadinas y las gluteninas poliméricas (Sapirstein y Fu, 1998; Singh y MacRitchie, 2001). Variaciones en el contenido de proteína y su composición modifican significativamente la calidad de la harina para panificación. De esta manera, la composición proteica del grano de trigo depende principalmente del genotipo y de factores ambientales y sus interacciones (Graybosch et al., 1996; Triboí et al., 2000; Zhu y Khan, 2001).

El medio ambiente afecta la concentración de las proteínas, la cantidad de diferentes grupos de proteínas y la cantidad y distribución de tamaño de las proteínas poliméricas (Graybosch et al., 1996; Johansson et al., 2001 y 2002). La composición proteica del trigo le confiere importantes propiedades viscoelásticas a las masas elaboradas a partir de su harina, las cuales permiten la producción de pan.

La mayor demanda del cereal en nuestro país la tiene la industria harinera, que a su vez provee de materia prima a los fabricantes de la industria del pan. Las variedades comerciales de trigo con el tiempo se vuelven susceptibles a plagas y enfermedades, las cuales provocan cambios en la expresión genética que modifican la funcionalidad de las proteínas del trigo afectando su calidad. Es por esto que existe la necesidad de crear y liberar nuevas y mejores variedades que satisfagan los requerimientos de la industria panadera.

Por muchos años se ha tratado de correlacionar las propiedades reológicas de la masa con su calidad panadera. En la última década, se ha avanzado en el conocimiento de las distintas fracciones proteicas que le confieren las características viscoelásticas a las masas y cómo esta composición proteica se relaciona con ciertos parámetros reológicos. No existen estudios que consideren simultáneamente la composición proteica, las propiedades reológicas de la masa y la calidad panadera. Es por esto que en esta investigación se evaluaron las relaciones entre las distintas fracciones proteicas y las propiedades reológicas de la masa con la calidad panadera. El conocer el efecto de la fertilización nitrogenada sobre las propiedades reológicas de la masa, la composición proteica y su relación con la calidad panadera, proveerá una base para una mejor manipulación de los atributos de calidad en los programas de mejoramiento genético y en el manejo del cultivo de trigo.

ANTECEDENTES

Trigo (*Triticum aestivum* L.)

El origen del trigo se localiza en la región asiática comprendida entre los ríos Tigris y Eufrates, en el Medio Oriente. El cultivo del trigo se difundió en todas direcciones de esta región. Las primeras formas de trigo recolectadas por el hombre, hace más de doce mil años, eran del tipo *Triticum monococcum* y *T. dicoccum*, caracterizadas fundamentalmente por tener espigas frágiles que se disgregan al madurar (Falder-Rivero, 2002).

Aunque se conocen diversos tipos de trigos, los cultivos comercialmente relevantes son limitados. Para todos los propósitos prácticos se resumen a cuatro especies del género *Triticum*: *T. monococcum* (diploide), *T. turgidum* (tetraploide), *T. timopheevi* (tetraploide) y *T. aestivum* (hexaploide). De éstos el *T. aestivum* (que incluye a los trigos comunes panificables y galleteros) y el *T. turgidum* (trigos para pastas) son los más ampliamente cultivados (Falder-Rivero, 2002).

Constitución Genética del Trigo Panadero

Los trigos panaderos son hexaploides, contienen tres genomas diploides diferentes (AA, BB y DD). Cada genoma consiste de siete pares de cromosomas, dando un total de 21 pares en el núcleo. A cada par de cromosomas se le da un número seguido de una letra, la letra se refiere al

genoma del cual el par es heredado. A los cromosomas de los diferentes genomas que son genéticamente similares u homólogos entre ellos se les da el mismo número; por ejemplo, cromosoma 1A, 1B y 1D (Vasil et al., 2001). Los genomas A, B y D codifican juegos de proteínas de almacenamiento que son diferentes y distinguibles por electroforesis, esto debido a las mutaciones que han sufrido sus genes estructurales y la divergencia resultante de los ancestros (Payne et al., 1984).

La disponibilidad de diferentes líneas aneuploides (les falta parte del material genético), junto con el refinamiento de las técnicas electroforéticas, han permitido completar la asignación de genes que codifican a proteínas de trigo (Lafiandra et al., 2000). La constitución genética del trigo es muy importante ya que todas las características de calidad resultan de la expresión de genes y de su interacción con el medio ambiente (Gianibelli et al., 2001).

Calidad del Trigo

Las sustancias que determinan la calidad del trigo son las proteínas que se encuentran en el complejo insoluble denominado gluten. La calidad del gluten es más importante que la cantidad, pero esta calidad no es fácilmente medible. Los criterios de calidad para el trigo son muy amplios. Estos criterios, dependen básicamente de su constitución genética, del ambiente en el cual se desarrolle dicho cultivo y del manejo del grano una vez cosechado (Gianibelli et al., 2001; Johansson et al., 2003).

Para los productores de trigo y para las industrias molineras y panaderas es de gran importancia tener un trigo de buena calidad. El contenido de proteína del grano de trigo es uno de los factores de mayor importancia para determinar

la calidad panadera. Mediante manejo agronómico se puede lograr que el trigo tenga más proteína, pero esto no implica que se obtenga harina con mejores cualidades (Echeverría, 2003). Para poder contar con mejores variedades, es importante conocer qué cultivar y qué variaciones en el medio ambiente afectan ciertas características de la proteína, sobre todo aquellas variables que podamos controlar, tal como es el caso del manejo de la fertilización nitrogenada.

En la expresión de la calidad de una variedad, además del aspecto genético hay una serie de factores que influyen sobre la cantidad y composición de las proteínas de reserva, como lo son la fertilidad del suelo, disponibilidad de agua y la temperatura durante la formación y llenado del grano (Johansson et al., 2003; Gianibelli et al., 2001; Zhu y Khan, 2001). Se ha observado que la fertilización nitrogenada es un factor que afecta significativamente el contenido de proteína (Zhu y Khan, 2001). Un pequeño estudio de harinas de cuatro cultivares de trigo sueco sembrado durante tres años, mostró que el fundamento para la variación estacional en la calidad panadera, puede ser la variación en la cantidad y distribución de tamaño de las proteínas poliméricas (Johansson et al., 2003).

Usos de la Harina y Principales Componentes de la Masa

La harina de trigo es utilizada en la elaboración de pan, pasta y tallarines, cereales para desayuno, bebidas fermentadas, obtención de almidón y gluten. En el caso particular del pan hablar de calidad es complejo, ya que las demandas de los consumidores, la tecnología en la preparación de pan (MacRitchie, 1984; Mesdag, 1985) y las tradiciones culturales difieren enormemente entre ciudades. También las pruebas de calidad en las harinas usadas para la preparación de pan no son fácilmente repetibles, debido a que

las pruebas de cocción dependen del horno y las diferencias tecnológicas del proceso (MacRitchie, 1984). Por otro lado, es complicado formular un criterio aplicable universalmente para la calidad de pan. Tradicionalmente, el volumen del pan ha sido considerado como el criterio más importante para producir pan (MacRitchie, 1984). Las características reológicas deseables de la masa (pegajosidad, tiempo de amasado, absorción de agua) junto con el color y la apariencia de la miga son también importantes (Finney et al., 1987), además del balance e interacción entre los diferentes componentes de la harina como almidón, proteínas, lípidos, agua y pentosanas.

Almidón. El almidón es el componente principal de la fracción de carbohidratos contribuyendo cerca del 65-75% del peso seco del grano. Las diferencias en el tamaño y distribución de las partículas de almidón de trigo y la cantidad de gránulos de almidón dañados son importantes para una buena cocción (horno) (Hoseney et al., 1971). La forma y tamaño de los gránulos varían con la especie y el origen del cultivar (Soulaka y Morrison, 1985). El daño en el almidón depende principalmente de las condiciones de molienda y de la dureza del grano (Bass, 1988). Sin embargo, las diferencias en la concentración de la proteína tienen una influencia mayor sobre la calidad del pan que el tamaño del gránulo de almidón (Lelievre et al., 1987).

Proteínas. Se ha reportado ampliamente que la fracción proteica juega un rol más esencial en la elaboración de pan (Morrison, 1988; Wall, 1979). La calidad de pan se correlaciona con la presencia o ausencia de proteínas específicas y subunidades proteicas (Gupta et al., 1989; Johansson et al., 1993; Payne et al., 1987). Además, la calidad depende de la proporción de proteínas monoméricas a poliméricas (Sapirstein y Fu, 1998) y la distribución de tamaño de las proteínas poliméricas (Gupta et al., 1993; Johansson et al., 2001).

Lípidos. Los lípidos de trigo constituyen cerca del 1-2 % del peso total de la harina. A pesar de la pequeña cantidad, los lípidos afectan la calidad en la preparación de pan (Morrison, 1988). Una parte de los lípidos están unidos al almidón (no covalentemente). Por otra parte, tienen interacciones con las proteínas de la harina (MacRitchie et al., 1990). Ambas conexiones son importantes para la calidad de pan (Frazier et al., 1981). Basado en su capacidad de interactuar con el agua, los lípidos de la harina de trigo pueden ser clasificados en una fracción polar (glicolípidos y fosfolípidos) y lípidos no polares (principalmente triglicéridos) (Eliasson y Larsson, 1993). Los lípidos polares tienen efectos positivos en la cocción, mientras que los lípidos no polares tienen efectos adversos (MacRitchie, 1984).

Agua. El agua es el elemento fundamental para solubilizar los ingredientes en la elaboración del pan, activar la levadura y las enzimas de la malta, hidrata e hincha a los gránulos de almidón y sobre todo es el agente necesario para el desarrollo y formación del gluten, una vez que la harina hidratada es sujeta a la acción mecánica del mezclado o amasado. Generalmente las harinas panaderas son hidratadas con 60-66% de agua. La distribución del agua en la masa es generalmente de 31% con las gliadinas y gluteninas, 46% con el almidón y 23% con las pentosanas (Serna-Saldívar, 1996).

Pentosanas. Estos carbohidratos tienen la habilidad de ligar agua, por lo que se les denomina comúnmente gomas (Serna-Saldívar, 1996). La harina de trigo contiene pentosanas solubles e insolubles en agua. La fracción soluble en agua ha mostrado ser importante en la producción de un óptimo volumen de pan. El mecanismo de acción todavía no está claro, pero puede consistir en sólo un incremento en la viscosidad de la fase acuosa (Hoseney, 1998).

Proteínas de Trigo y su Clasificación

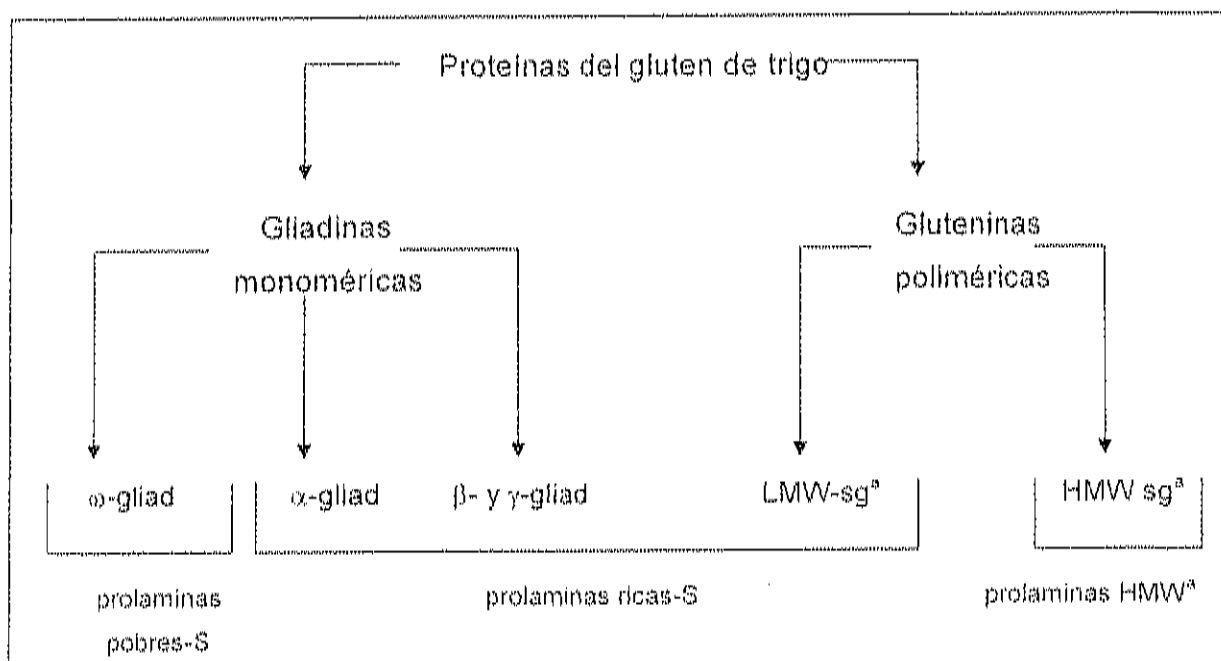
La habilidad de la harina de trigo de ser procesada para la obtención de diferentes alimentos se debe principalmente a las proteínas del gluten (Weegels et al., 1996). Las proteínas del gluten tienen propiedades y una estructura única que las ha hecho de especial interés para diversos estudios acerca de sus propiedades funcionales (Shewry y Tatham, 1997, 2000; Gianibelli, et al., 2001; Lafiandra, et al., 2000).

Los granos maduros de trigo contienen de 8-20 % de proteínas. Dentro de las proteínas del gluten, las gliadinas y gluteninas, constituyen 80-85 % del total proteico en la harina. Estas proteínas le confieren propiedades de viscoelasticidad a las masas que son esenciales para la funcionalidad de las harinas de trigo (Shewry et al., 1990), y constituyen cada una cerca del 50% de las proteínas del gluten.

Osborne fue el primero en clasificar a las proteínas del grano de trigo en base a su solubilidad: albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones salinas), gliadinas (solubles en soluciones acuosas y etanol) y gluteninas (solubles en ácidos diluidos o álcalis) (Osborne, 1907). Debido a los hallazgos de que las fracciones encontradas por Osborne son heterogéneas y contienen tipos de proteínas traslapadas unas con otras, los métodos de fraccionamiento de proteínas han mejorado hoy en día (MacRitchie et al., 1990). El sistema de clasificación proteica usado hoy en día está basado en características biológicas de las proteínas junto con su relación química y genética, permitiendo diferenciar estados de agregación en soluciones disociantes (Shewry y Tatham, 1990; Shewry et al., 1986). De esta manera, las gliadinas son una mezcla de polipéptidos monoméricos y las gluteninas

consisten de polipéptidos agregados por enlaces disulfuro (Fig. 1, Shewry y Tatham, 1990; Singh y MacRitchie, 2001).

Ambos tipos de proteínas de almacenamiento, gliadinas y gluteninas forman el gluten y determinan las propiedades del pan (Branlard y Dardevet, 1985, a, b).



^a LMW-sg = subunidades de glutenina de bajo peso molecular, HMW-sg = subunidades de glutenina de alto peso molecular, HMW = alto peso molecular.

Fig.1- Clasificación tradicional de las proteínas del gluten (Lafiandra et al., 2000).

Albúminas y globulinas. Las albúminas y globulinas constituyen del 10 al 22% del total de las proteínas en la harina (Singh y MacRitchie, 2001). Las albúminas pueden tener funciones duales, como reservas de nutrientes para la germinación embrionaria y como inhibidores de insectos y patógenos fúngicos antes de la germinación. Generalmente se piensa que albúminas y globulinas no juegan un

papel crítico en la calidad de la harina (Schofield y Booth, 1983). Ambas fracciones proteicas son importantes desde el punto de vista nutricional, debido a que tienen cantidades altas de aminoácidos esenciales.

Gliadinas. Las gliadinas están divididas en cuatro grupos, alfa- (α -), beta- (β), gamma- (γ -) y omega- (ω -) gliadinas, basadas en su movilidad electroforética a bajo pH (Woychik et al., 1961). La composición de aminoácidos de α -, β -, γ - y ω -gliadinas es similar entre ellas (Tatham et al., 1990), aunque, las ω -gliadinas contienen poco o no cisteína o metionina y sólo pequeñas cantidades de aminoácidos básicos. Todas las gliadinas son monómeros con enlaces no disulfuro (ω -gliadinas) o enlaces disulfuro intra-cadenas (α -, β -, y γ -gliadinas) (Müller y Wieser, 1995, 1997). Los pesos moleculares de las ω -gliadinas están entre 46,000 y 74,000 Da, y las α -, β - y γ -gliadinas tienen pesos moleculares bajos, que están en el rango de 30,000-45,000 Da, por su secuenciación de aminoácidos en electroforesis disociante en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) (Kasarda et al., 1983). Una posterior aproximación ha mostrado que las α - y β -gliadinas están relacionadas muy cercanamente y por eso seguido se refieren a ellas como gliadinas tipo α -. La mayoría de las gliadinas tipo α - contienen 6 residuos de cisteína. Debido al carácter monomérico de las gliadinas tipo α -, y a la ausencia de grupos sulfhidrilo libres, se ha asumido que los residuos de cisteína están unidos por tres enlaces disulfuro intra moleculares (Kasarda et al., 1987).

Las gliadinas tipo α - son proteínas monoméricas simples con enlaces intra catenarios y se considera que son el tipo ancestral de prolaminas ricas en azufre (Lafiandra et al., 2000).

En la formación de la masa, se considera que las gliadinas no pueden llegar a estar unidas covalentemente en una gran red elástica como las

gluteninas, pero actúan como un "plastificante" promoviendo un flujo viscoso y la extensibilidad, las cuales son características reológicas importantes de la masa. Pueden interactuar a través de interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno (Belton, 1999).

Gluteninas. La fracción de las gluteninas está formada por una mezcla de polímeros, subunidades de glutenina de alto peso molecular (HMW-sg, por sus siglas en inglés) y subunidades de glutenina de bajo peso molecular (LMW-sg, por sus siglas en inglés). Los polímeros de glutenina grandes son estabilizados por enlaces disulfuro inter-cadenas (Field et al., 1983). Las HMW-sg tienen pesos moleculares en el rango de 80,000-160,000 Da y las LMW-sg entre 30,000-51,000 Da usando SDS-PAGE (Payne et al., 1986).

Las HMW-sg consisten de dominios no repetitivos de 88-104 y 42 residuos en el N- y C- terminal, respectivamente, separados por un dominio repetitivo muy largo (481-690 residuos). La variación en el dominio repetido es responsable de la mayoría de la variación en el tamaño de la proteína completa, y está basado en segmentos repetidos de hexapéptidos o nonapéptidos al azar y entremezclados con tripéptidos también presentes en las subunidades tipo x solamente. A pesar del alto grado de similitud en la estructura general y en las secuencias de aminoácidos de las HMW-sg tipo x y tipo y, algunas diferencias importantes son potencialmente críticas para la estructura y funcionalidad de los polímeros de glutenina. Hay tres diferencias principales: 1)- El peso molecular (el tipo x es más grande que el tipo y) debido a la diferencia en longitud del dominio repetitivo central; 2)- la estructura repetitiva en el dominio central; 3)- el número y distribución de los residuos de cisteína (Shewry et al., 1992). Las LMW-sg se parecen más en secuencia a las γ -gliadinas (Müller et al., 1998) y comprende cerca del 20-30% de la proteína total (Gupta et al., 1992).

Estructura del Gluten

Varios modelos de la estructura del gluten de trigo han sido propuestos. De acuerdo a modelos anteriores, la glutenina tiene solamente enlaces disulfuro intra-cadenas. Los enlaces disulfuro intra catenarios se considera que coaccionan a las moléculas de glutenina en conformaciones específicas que facilitan la interacción de moléculas de glutenina adyacentes a través de enlaces no covalentes, causando de esta manera agregación (Kasarda et al., 1976).

Estudios más recientes han mostrado que los polímeros de proteínas del gluten tienen un amplio rango de distribución molecular por arriba del millón (M, s posiblemente exceden a 1×10^7) (Larroque et al., 1996; Wrigley, 1996).

Se ha reportado que proteínas con pesos moleculares más altos tienen una correlación más fuerte con propiedades de masas fuertes (MacRitchie, 1984). Una cierta cantidad de estos polímeros no pueden ser extraídos en varios sistemas extrayentes (solución ácido acético o búfer fosfato-dodecil sulfato de sodio (SDS)). La proporción de proteína polimérica no extraíble en la proteína polimérica total (PPNET) se ha reportado como una medición de la cantidad y distribución de tamaño de la proteína polimérica (Gupta et al., 1992; Field et al., 1983). Valores altos de PPNET se relacionan con una mayor proporción de glutenina que es insoluble en SDS (dodecil sulfato de sodio) y por esta razón es considerada que sea de más alto peso molecular (MacRitchie y Singh, 2004). De esta manera, un trigo con una mayor PPNET se espera que tenga una masa más resistente (elasticidad) y un requerimiento de mezclado mayor que los que tienen una menor proporción de proteína polimérica no extraíble (Gupta et al., 1993).

Factores que Afectan la Distribución de Tamaño de las Proteínas Poliméricas del Gluten

Son cuatro los factores composicionales principales de la proteína que gobiernan la distribución de tamaño de la proteína polimérica del gluten: 1) la relación de HMW/LMW-sg (MacRitchie, 1999); 2) la variación alélica en el loci Glu-1 (por ejem. la presencia de subunidades de glutenina de alto peso molecular 1Dx5+1Dy10 vs 1Dx2+1Dy12) (MacRitchie, 1999); 3) la presencia de terminadores de cadena (ω -gliadinas, las cuales contienen un sólo residuo de cisteína (MacRitchie, 1999) y α - y γ -LMW-sg (Masci et al., 1995) y 4) la cantidad y formas alélicas de LMW-sg (residuos de cisteína) (Consalvi et al., 2004; Dachkevitch y Autran, 1989). Además de estos factores, el medio ambiente también muestra una fuerte influencia en la cantidad y distribución de tamaño de las proteínas poliméricas (MacRitchie, 1999; Altenbach et al., 2003; Johansson et al., 2001, 2002).

Los factores ambientales que afectan la cantidad, composición y/o polimerización de las proteínas del gluten se encuentran la fertilidad del suelo, disponibilidad de agua así como la temperatura durante la formación y llenado del grano (Johansson et al., 2001, 2002, 2003, 2004; Müller et al., 1998). Previo a la antesis (momento en el que se abre el capullo floral), el medio ambiente afecta principalmente al rendimiento, a través de la germinación del grano de trigo, fotosíntesis, formación del tallo y desarrollo de la inflorescencia, impactando de esta manera el número de granos (Herzog, 1986). Después de antesis, las condiciones ambientales primeramente afectan el tamaño del grano así como la concentración y composición de la proteína. Incrementos en el contenido proteico en el grano, en el porcentaje de gliadinas y en la relación de HMW-sg/LMW-sg fueron observados con el incremento de nitrógeno (N) como fertilizante (Johansson et al., 2001, 2003; Gupta et al., 1992; Müller et al., 1998).

El tiempo de aplicación del N afecta la PPNET (Johansson et al., 2005). Altas temperaturas, por arriba de los 30°C mostraron una correlación negativa con la PPNET (Randall y Moss, 1990).

Fertilización Nitrogenada

El nitrógeno es un elemento esencial para lograr altos rendimientos y calidad en trigo. Su absorción y distribución en la planta se encuentran determinadas en gran medida por la disponibilidad y demanda durante varios estados fisiológicos del cultivo (Golik et al., 2003). La disponibilidad temprana de N se traduce normalmente en mejores rendimientos; mientras que su aplicación en etapas tardías puede mejorar la cantidad y calidad de las proteínas en grano. Esto depende tanto de la cantidad de N acumulado, como de la eficiencia en su distribución hacia el grano, lo que puede diferir entre distintos genotipos (Gianibelli y Sarandon, 1999; Golik et al., 2003).

Se estima que dos tercios del N en grano de trigo a madurez fisiológica, son derivados del N asimilado por el cultivo en pre-antesis y solamente un tercio proviene de la asimilación post-antesis. Sin embargo, esto varía dependiendo fundamentalmente del contenido de humedad en el suelo y de la disponibilidad de N durante el llenado de los granos (Golik et al., 2003).

Se ha encontrado que la dosis de fertilizante, así como el medio ambiente afectan la cantidad total de grupos de proteínas y la cantidad y distribución de tamaño de las proteínas poliméricas (Johansson et al., 2003; Gianibelli y Sarandon, 1999).

Por lo general, una variedad con un contenido de proteína inferior al 11% tiene una calidad deficiente debido a la falta de proteína para formar el gluten, el cual es responsable de la estructura de la masa en la panificación. De allí la importancia de sembrar en lotes con buena fertilidad natural o química, y si es necesario, reforzar con una fertilización nitrogenada para mejorar el rendimiento y la calidad del grano de trigo (Zhu y Khan, 2001).

La urea es el fertilizante más usado, aunque en sistemas con residuos en superficie puede llevar a pérdidas importantes por volatilización y su aprovechamiento se retrasa hasta que se ha hidrolizado en el suelo. La utilización de fertilizantes compuestos como el nitrato de amonio podría mejorar la eficiencia con respecto a la urea (Golik et al., 2003).

La fertilización nitrogenada influye en el valor nutritivo, ya que aumenta el contenido de proteína y disminuye los carbohidratos estructurales. Cuando se utilizan dosis bajas de N, el contenido de proteína es menor y las plantas acumulan carbohidratos, particularmente almidones y polifruktosana, limitando de esta manera la síntesis de los compuestos nitrogenados orgánicos (Kemp, 1976).

Evaluación de la Calidad Panadera

Existen varios criterios utilizados para evaluar la calidad del trigo en programas de mejoramiento genético. Entre ellos se encuentra el uso de tamaños de muestras pequeñas, procesar una gran cantidad de información en poco tiempo, alta reproducibilidad y tener la habilidad de relacionar la variabilidad genética con las propiedades funcionales de las muestras usadas para valorar la calidad final; por ejem, mostrar una fuerte correlación con los

parámetros de calidad y tener la habilidad de clasificar muestras de trigo similares en diferentes localizaciones de crecimiento. La proteína polimérica ha mostrado tener una relación causa efecto con las propiedades de la harina incluyendo la calidad panadera (Gupta et al., 1993).

La calidad panadera es mucho más difícil de evaluar que la cantidad de proteína. La mayoría de las evaluaciones de calidad de las harinas de trigo están basadas en las propiedades viscoelásticas que tienen las masas (Antes y Wieser, 2001; Pomeranz, 1988). Sin embargo, el criterio final de evaluación será el de la prueba de panificación.

Algunos de los criterios para evaluar la calidad de panificación son: la absorción de agua, tiempo de mezclado y tolerancia a la fermentación bajo condiciones estrictas de temperatura y humedad relativa, entre otras. En el pan se mide su volumen, color y textura de la miga y características de la corteza (Serna-Saldivar, 1996).

Las proteínas de almacenamiento son reconocidas como el componente más importante que gobierna la calidad panadera (Pomeranz, 1988). Se ha reportado que un alto contenido de proteína esta relacionado con calidad panadera. El contenido proteico no explica por sí solo todas las variaciones en la calidad panadera, sin embargo, otro factor como la calidad de la proteína también es muy importante (Weegels et al., 1996). Estudios previos han mostrado que el complejo formado por las subunidades de glutenina de bajo peso molecular y de alto peso molecular puede explicar cerca del 70% de la variación en la resistencia a la extensión de la masa (Gupta et al., 1991; Gupta et al., 1992). En otra investigación realizada con líneas transgénicas de trigo, se encontró que la expresión de subunidades de glutenina de alto peso molecular incrementó la fuerza de la masa (Barro et al., 1997).

Kieffer y col. (1998) desarrollaron una prueba de micro-extensión de la masa y la relacionaron con pruebas de panificación usando composiciones de masa equivalentes, encontrando que la prueba de micro-extensión de la masa en combinación con la determinación del contenido de proteína en la harina, son métodos muy útiles para la estimación de la calidad panadera. Además, encontraron una alta correlación entre las propiedades reológicas y el volumen del pan.

Diversos estudios han correlacionado a las subunidades de glutenina de alto peso molecular con calidad (Bekes et al., 1994; Gupta et al., 1992; Lookhart et al., 1993; Payne et al., 1987). Se ha establecido que estas subunidades contribuyen principalmente al mezclado y calidad de horneado de los trigos panaderos. El 67% de la variación en calidad ha sido atribuida a las subunidades de glutenina de alto peso molecular entre variedades o líneas (Payne et al., 1987) y 13% para diferentes lotes de trigos (Rousset et al., 1992). Payne y col. (1987) propusieron una calificación basada en correlaciones de calidad de subunidades individuales de glutenina de alto peso molecular para predecir el mezclado y la calidad panadera de variedades de trigo. Los resultados enfocaron la atención a las subunidades 5+10 (heredadas siempre juntas) como asociadas con una mejor calidad y superior en este aspecto a las subunidades 2+12.

Métodos para el Estudio de las Proteínas en Harinas de Trigo

Aunque la importancia de la composición proteica en harinas de trigo es reconocida, quizás uno de los principales problemas en su estudio sea la complejidad de las mismas, por lo que se ha requerido de la adecuación de la metodología analítica. El uso de la electroforesis en varias de sus modalidades

(electroforesis tradicional o ácida en geles de poliacrilamida, SDS-PAGE o A-PAGE), así como la cromatografía de alta presión en fase reversa (RP-HPLC), la electroforesis capilar de alta resolución (CE-HPLC) han sido ampliamente utilizadas para la determinación de la composición proteica en trigo (Weegels et al., 1995; Wieser et al., 1994; Huebner et al., 1999; Marchylo et al., 1999; Werner et al., 1999), pero varios de estos métodos presentan algunas limitantes y deficiencias. Por otro lado, la cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño (SE-HPLC, por sus siglas en inglés) ha sido útil para caracterizar y cuantificar con alta reproducibilidad y rapidez las fracciones proteicas de las harinas (Batey et al., 1991; Singh et al., 1990a y 1990b).

Gupta y col. (1993) extrajeron la proteína de harina de trigo utilizando buffer de fosfato-SDS al 0.5% y mediante SE-HPLC separaron a las proteínas en tres fracciones: la proteína polimérica total, la proteína polimérica extraíble y la no-extraíble. Este es un método directo y muy simple para estimar la distribución de tamaño relativo de la proteína polimérica, basado en la relación inversa entre la extractabilidad y el tamaño molecular. En este estudio la proporción de proteína polimérica no extraíble en la proteína total (PPNET), así como en la proteína de la harina (PPNEH) se correlacionaron positivamente con las propiedades de fuerza de la masa (resistencia máxima a la extensión (R_{max}), tiempo óptimo de amasado en el mixógrafo, así como también en el farinógrafo). Los autores concluyeron que estas fracciones pueden explicar cerca del 90% de la variación en estos parámetros reológicos. La medición relativa de la distribución de tamaño de la proteína polimérica total provee un criterio bioquímico confiable para la predicción de la fuerza de la masa de harinas de trigos en programas de mejoramiento genético.

El procedimiento de extracción con SDS, sonicación y cuantificación mediante SE-HPLC provee un método simple y confiable para la medición

exacta de la proteína polimérica total (PPT) y la PPNET de las harinas de trigo. Esto puede ser usado como una herramienta en programas de mejoramiento genético para derivar un simple índice de calidad funcional de las harinas de trigo. El papel de las proteínas poliméricas puede ser evaluado cuantitativamente así como su distribución de tamaño, aunque la distribución de tamaño tiene un mayor efecto en la calidad. Sin embargo, el tamaño relativo de la proteína polimérica depende más de su composición, particularmente la relación de subunidades de glutenina de alto peso molecular/bajo peso molecular y los tipos de subunidades individuales. La variación cuantitativa en la PPT no puede relacionarse significativamente con los parámetros de fuerza de la masa si hay una gran diferencia composicional en la proteína polimérica (Batey et al., 1991; Gupta et al., 1992; Gupta et al., 1993; Cuniberti et al., 2003).

Propiedades Reológicas de la Masa

Las propiedades reológicas de la masa se han utilizado para la predicción de uso final de las harinas de trigo. La medición de estas propiedades reológicas implica la preparación de la masa, la cual se realiza con diversos tipos de instrumentos y su posterior evaluación.

Desarrollo de la Masa y Rompimiento

Tres factores son requeridos para formar una masa: harina, agua y energía. Las masas son sistemas concentrados donde las fuerzas al corte y la tensión impartidas por el mezclado o laminado causa la unión de las proteínas y forman una red en la masa (MacRitchie, 2003). Durante el desarrollo, la masa adquiere propiedades viscoelásticas que llegan a ser óptimas en el pico de

mayor consistencia. A nivel molecular, el desarrollo de la masa involucra el uso de fuerzas de corte y de tensión para extender las grandes moléculas de glutenina de su equilibrio conformacional. El aumento de las moléculas extendidas restablecen las fuerzas elásticas, esto es similar a lo que ocurre en la elasticidad de la goma o caucho. Los valores altos de elasticidad se originan principalmente del enredamiento acoplado de las moléculas de glutenina que retrasan el retraimiento molecular, durante el mezclado las gluteninas se retraen de su conformación extendida. La tensión del mezclado produce la orientación de las moléculas. Las moléculas poliméricas responden a la aplicación de tensión por tres procesos principalmente: desenredamiento, orientación de la cadena y ruptura de enlace. Todas pueden ocurrir durante el mezclado de la masa. La escisión (división) de las moléculas más grandes de glutenina resulta de cadenas que no pueden ser deslizadas libremente al punto de enredamiento lo suficientemente rápido en respuesta al estrés (Singh y MacRitchie, 2001).

Los enlaces covalentes que son rotos son los enlaces disulfuro localizados entre las subunidades de glutenina. Es importante que la tensión más alta ocurra en los centros de las moléculas donde la probabilidad de la escisión de la cadena sea mayor (Singh y MacRitchie, 2001).

El rol de los componentes individuales del gluten en la funcionalidad de la masa es compleja (Gupta et al., 1991; Khatkar et al., 2002). Cuando gluteninas aisladas se mezclan con almidón y agua, se forma un material completamente viscoso, el cual no es un estado que se presente en una masa común de perfil proteico normal. En contraste, al mezclar puras gliadinas con almidón y agua, sólo se forma un material gomoso con baja extensibilidad. Las propiedades elásticas que aparecen en la masa durante el mezclado es debido a las gluteninas (MacRitchie y Singh, 2004).

Diversas propuestas han tratado de explicar la base molecular de las interacciones de las proteínas de la masa (Létang et al., 1999). La masa no desarrollada es definida como la harina de trigo que ha sido hidratada completamente sin ser deformada (por ejem. no sujeta a acción mecánica). Una masa desarrollada es descrita como la harina de trigo que ha sido hidratada completamente y ha estado sujeta a acción mecánica (Campos et al., 1997).

Instrumentos para la Medición de Propiedades Reológicas de las Harinas de Trigo

Los instrumentos más utilizados para evaluar las propiedades reológicas de las harinas son el farinógrafo Brabender, el mixógrafo National, el extensógrafo Brabender y el alveógrafo Chopin. En los últimos años, otro instrumento que ha sido utilizado para medir las características extensionales de las masas, entre muchas otras aplicaciones, es el analizador de textura TA-XT2 (SMS Stable Micro System, UK).

Farinógrafo. Aparato que mide la resistencia que opone la masa al mezclado (esfuerzo mecánico) y el principio se basa en determinar por medio de prueba y error la cantidad óptima de agua para lograr una consistencia ideal (óptima) de la masa (500 Unidades Brabender). La curva farinográfica cuantifica importantes parámetros como: tiempo de llegada, tiempo de salida, tiempo de desarrollo, estabilidad e índice de tolerancia al mezclado (Serna-Saldívar, 1996).

Mixógrafo. Aparato que tiene principios similares al farinógrafo. Sin embargo, es el método preferido por fitomejoradores ya que sólo utiliza 10 o 35 g de muestra y el ensayo tiene una duración de solamente 7 u 8 min (Método 54-40A, AACC, 1995). La absorción de agua y peso de la muestra dependen del contenido proteico y humedad de la harina. El aparato grafica una curva que muestra un

punto de mayor consistencia denominado tiempo de desarrollo, en el cual la masa posee la mayor fuerza o mejores propiedades reológicas (Serna-Saldívar, 1996).

Extensógrafo. Instrumento que mide las propiedades reológicas de una masa formada óptimamente (absorción de agua y tiempo óptimo de desarrollo) en el farinógrafo. La masa (150 g) es formada en un cilindro, el cual es posteriormente almacenado bajo condiciones de alta humedad y temperatura de 30°C por períodos (3) de 45 min. El cilindro es posteriormente fijado a los brazos del extensógrafo y sujeto a una fuerza de tensión con un desplazamiento constante hasta lograr su eventual rompimiento (Método 54-10, AACC, 1995). El instrumento grafica la resistencia o tenacidad R en el eje de las "Y" (R cuando la masa se elongó 50 mm y R_{max} o altura máxima de la curva) y la extensibilidad E en el eje de las "X". La relación R/E es un factor importante para determinar la fuerza y características funcionales de la harina de trigo. El área bajo la curva, es el trabajo realizado por el instrumento para romper la masa y da una indicación de la fuerza de la misma (Serna-Saldívar, 1996).

Alveógrafo. Mide la tenacidad y extensibilidad de las masas (250 g) en discos de masas de dimensiones estandarizadas mediante inyección de aire (simulando efectos de fermentación). La curva típica muestra dos valores principales: la tenacidad o altura máxima de la curva (P) y extensibilidad de la masa representada por la longitud de la curva (L). La relación P/L es un indicador fuerte de la calidad y uso potencial de la harina. Al igual que el extensógrafo, el trabajo para deformar la masa (W) es proporcional al área bajo la curva y está fuertemente relacionado con el contenido proteico o fuerza de la harina (Serna-Saldívar, 1996).

Analizador de textura TA-XT2. Instrumento que mide las propiedades reológicas de una masa formada óptimamente (absorción de agua y tiempo óptimo de desarrollo) en el mixógrafo. Este aparato es muy versátil y puede utilizarse para medir diversas variables, entre ellas la fuerza y extensibilidad de la masa a micro-escala. Algunas de las ventajas de utilizar esta prueba a micro-escala, en lugar de utilizar el extensógrafo Brabender, es que requiere sólo 10 g de harina contra 300 g utilizados en el extensógrafo. El área bajo la curva al igual que en todos los parámetros evaluados se obtienen directamente del aparato sin necesidad de usar un planimetro o cálculos a mano y la facilidad del manejo de los datos para su análisis posterior.

Justificación y Objetivos

Las proteínas son las que determinan la calidad panadera de las harinas de trigo. Se conoce que la fertilización nitrogenada afecta a la cantidad de proteína del grano y que las variedades de trigo responden de manera diferente a ésta. Por otra parte, no se conoce hacia cuales fracciones proteicas se destina el N acumulado en el grano de trigo ni la relación que esto pudiera tener con las propiedades reológicas y la calidad de panificación. El conocer como afecta la fertilización nitrogenada a la composición proteica y la relación de ésta con las propiedades de la masa y la calidad panadera de los trigos proveería una herramienta para descartar materiales no promisorios en programas de mejoramiento genético de trigos panaderos.

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada en el cultivo de distintas líneas experimentales de trigo sobre la composición proteica y propiedades funcionales de la harina y su relación con la calidad panadera. Los objetivos específicos fueron: (1) caracterizar química y reológicamente las harinas de cinco líneas experimentales de trigo cultivadas bajo cinco esquemas de dosificación de nitrógeno, (2) obtener los extractos proteicos de las harinas de trigo y determinar mediante SE-HPLC la proporción relativa de las principales fracciones proteicas, (3) realizar pruebas de panificación con las harinas y (4) correlacionar la composición proteica y las propiedades reológicas con la calidad panadera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se utilizaron 5 líneas experimentales (LE) de trigo cultivadas en el Campo Experimental Valle del Yaqui (Cuadro 1), en Ciudad Obregón, Sonora. Las líneas forman parte del programa de mejoramiento genético de trigo (INIFAP-CIRNO), cuyo responsable es el Dr. Miguel Alfonso Camacho Casas. Se estableció una fecha de siembra con una rotación con sorgo sin fertilizar y cinco esquemas de fertilización nitrogenada (EFN) (0-0-0; 150-0-0; 300-0-0; 50-50-50 y 100-100-100), distribuidas en base a la combinación de las etapas: 1)- presembrado; 2)- primer riego de auxilio y 3)- segundo riego de auxilio (Cuadro 2).

Cuadro 1- Origen de las líneas experimentales de trigo.

Línea Experimental (LE)	Cruza
1	PRL / 2*PASTOR_(2)
2	VEE / KOEL/SIREN / 3 / ARIV92
3	WHEATHER
4	MUNIA/CHTO/3/PFAU/BOW//VEE#9/4/CHEN/AEGILOPS_SQUARROSA_(TAUS)/BCN
5	WEEBILL_(35Y)

Cuadro 2- Esquemas de fertilización nitrogenada.

Esquema de fertilización nitrogenada*	Aplicación*		
	Presiembra	Primer auxilio	Segundo auxilio
1	0	0	0
2	150	0	0
3	300	0	0
4	50	50	50
5	100	100	100

*Kg de urea/ha.

Métodos

Propiedades Reológicas de las Harinas de Trigo

Tiempo óptimo de amasado (TAM): Se corrieron los mixogramas utilizando el mixógrafo National (National Manufacturing Co., N.J.) para 10 g de harina, siguiendo el método 54-40 de la AACC (1995). Se determinó el porcentaje de absorción de agua y el tiempo óptimo de amasado (TAM) en min, el cual se utilizó en las pruebas de panificación.

Fuerza y extensibilidad de la masa: Se midió la fuerza, extensibilidad de la masa y el trabajo requerido para estirar la masa (área bajo la curva) a una velocidad de prueba de 3.3 mm/seg en el Analizador de Textura TAXT2 (SMS Micro System, UK) con el SMS/ Kieffer Rig (Kieffer et al. 1998). La realización de las mediciones reológicas con el analizador de textura TA-XT2 a intervalos de tiempo de 45 min (2 intervalos) se hizo para simular el procedimiento que se lleva a cabo por medio del método oficial (54-10 AACC) en el extensógrafo. La

masa reposada es sometida a un estiramiento con el gancho tensor y se registra su resistencia a la extensión (g), el trabajo necesario para estirar la masa hasta romperla (gcm) y su extensibilidad (cm). Después del primer y segundo estiramiento, la masa es redondeada y reformada. Esto se hace para simular el período de fermentación en el proceso de panificación convencional que es interrumpido por el ponchado y el moldeado. La ventaja de usar esta prueba sobre otras convencionales (alveógrafo y extensógrafo) es que sólo requiere de 10 g de harina, lo cual es muy apropiado para utilizar con muestras de trigo provenientes de programas de mejoramiento genético donde la cantidad de semilla cosechada es limitada.

Composición Química de las Harinas

Se determinó la composición química de las harinas utilizando los siguientes métodos oficiales.

Contenido de humedad. Se determinó el contenido de humedad mediante el método 44-19 de la AACC (1995), el cual consiste en poner 2 g de la muestra en una estufa de circulación forzada a 100°C hasta obtener un peso constante. La humedad se determinó por diferencia de peso.

Contenido de proteína. Se determinó utilizando el método 46-13 (AACC, 1995), convirtiendo a sulfato de amonio el nitrógeno de las proteínas y otros compuestos orgánicos por medio de la digestión con ácido sulfúrico en ebullición y en presencia de un ión metálico (cobre) como catalizador. El residuo de la digestión se enfrió, se diluyó con agua y se le agregó hidróxido de sodio. El amonio presente se destiló y se recibió en una solución de ácido bórico que posteriormente se valoró con una solución ácida estandarizada. Se reportó el %

de proteína, multiplicando el contenido de nitrógeno por un factor de conversión de 5.75.

Contenido de cenizas. Se empleó el método 08-01 de la AACC (1995). Se pesaron 2 g de muestra en un crisol (por triplicado) y se colocaron en una mufla (Thermolyne modelo 30400) a 550°C durante 5 h. El contenido de cenizas se determinó por diferencia de peso.

Extracción de Proteína

Para la extracción de proteína total (PT), se pesaron 10 mg de cada harina en tubos de microcentrifuga; a cada tubo se le agregó 1 mL de SDS-buffer (0.5% SDS en 0.05 M fosfato, pH 6.9) y se agitó la suspensión en un vortex por 5 min. Posteriormente, se colocó el tubo con la suspensión en un sonicador y se introdujo el vástago (3 mm de diámetro) 1/3 de la distancia del fondo del tubo Eppendorf. La potencia y el tiempo de sonicación fueron 6 W y 15 s (Batey et al., 1991). La muestra fue centrifugada a 12000 rpm por 20 min en una microcentrifuga Eppendorf 5417C. El sobrenadante fue puesto en viales y se calentaron por 2 min a 80 °C. Inmediatamente, las muestras fueron enfriadas con agua para posteriormente ser analizadas mediante cromatografía líquida de alta resolución de exclusión por tamaño (SE-HPLC).

La proteína extraíble (PE) se obtuvo al coleccionar el sobrenadante una vez que la suspensión de harina en SDS-buffer (10 mg en 1 mL) fue agitada por 5 min (no sonicación) y centrifugada a 12000 rpm por 20 min. Se colocó la muestra en viales, se calentó por 2 min a 80 °C y se enfriaron con agua para después ser analizadas mediante SE-HPLC.

Para la determinación de la proteína no extraíble (PNE), el precipitado de la extracción que no incluyó sonicación se mezcló con 1 mL de SDS-buffer (0.5% SDS en 0.05 M fosfato, pH 6.9) y se procedió de manera similar a la determinación de proteína total, excepto que la potencia y tiempo de sonicación fueron de 14 W y 25 s (Batey et al., 1991). Después de centrifugar las muestras, estas se colocaron en viales para analizarlas mediante SE-HPLC.

Determinación de la Composición Proteica de las Harinas

Los extractos proteicos de las harinas de trigo se fraccionaron y cuantificaron en un HPLC marca Agilent serie 1100, utilizando una columna BioSep-SEC-S 4000 (Phenomenex, Torrence, CA) con un detector UV-VIS a 214 nm. El solvente de arrastre fue acetonitrilo (ACN) y agua (50:50) conteniendo 0.05% de ácido trifluoroacético (ATF) con un flujo de 0.5 ml/min. El perfil cromatográfico (SE-HPLC) presentó las fracciones 1, 2 y 3 correspondientes a la proteína polimérica total (PPT o gluteninas), proteína monomérica (gliadinas) y albúminas/globulinas, respectivamente, de acuerdo al porcentaje de área de las fracciones obtenidas de la extracción de la proteína total. Los tiempos de elusión para estas fracciones fueron: fracción 1 de 0-16.5 min, fracción 2 de 16.51-20 min y fracción 3 de 20.01-22 min. La figura 2 muestra los cromatogramas típicos (perfiles HPLC) que se obtienen con los extractos de la proteína total, de la extraíble y de la no extraíble de una harina. Además, se registró el área absoluta y la relativa de cada fracción. Se calculó la proporción de proteína polimérica no extraíble en la proteína total (PPNET) dividiendo el área de la fracción 1 de la proteína no extraíble entre la suma de las áreas de la proteína extraíble y la no extraíble (fracción 1 proteína extraíble + fracción 1 proteína no extraíble), una medida de la distribución de tamaño relativo de la proteína polimérica. El porcentaje de proteína polimérica en la

proteína de las harinas (PPH) se calculó multiplicando el contenido de proteína en la harina y la proporción de proteína polimérica, mientras que el porcentaje de proteína polimérica no extraíble de las harinas (PPNEH) se calculó multiplicando el contenido de proteína en la harina y la proporción de proteína polimérica no extraíble total.

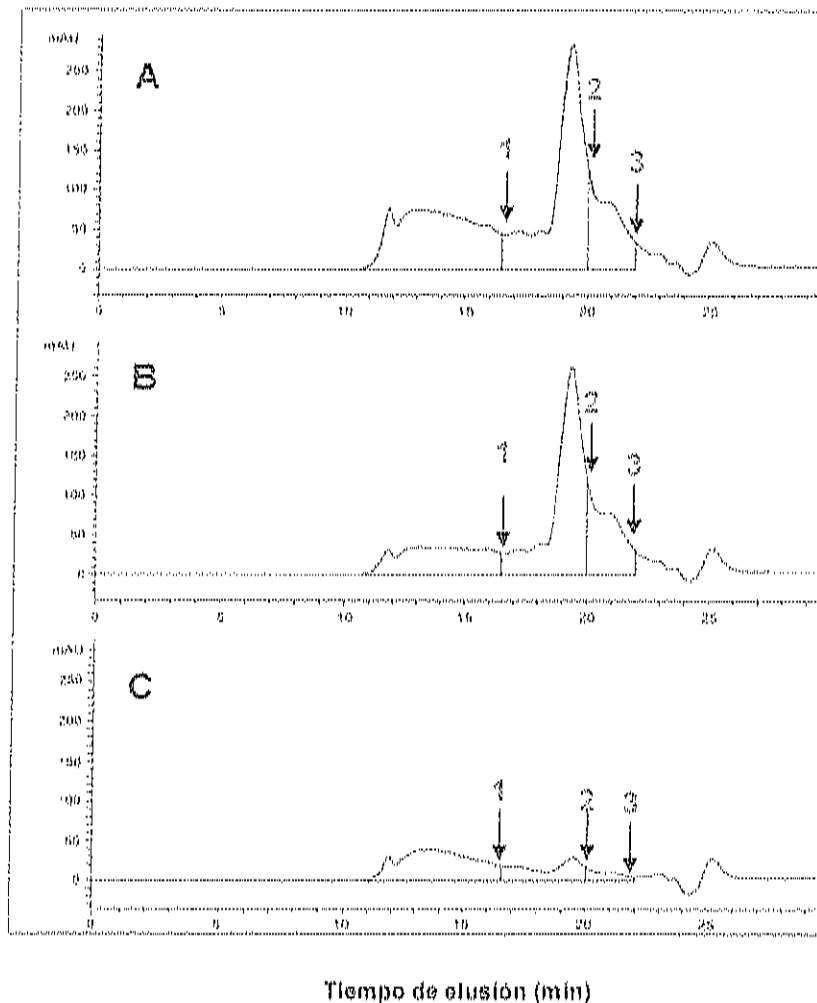


Fig. 2- Separación de los extractos de la proteína total (A), proteína extraíble (B) y proteína no extraíble (C) de una de las harinas mediante SE-HPLC con una columna Biosep-SEC-S4000 Phenomenex. ↓ Indica la demarcación de cada fracción (1, 2 y 3).

Volumen de Pan

Se realizaron las pruebas de panificación siguiendo el método 10-10B de la AACC (1995), utilizando 35 g de harina, 0.7 g de levadura seca deshidratada, 0.53 g de sal, 2.1 g de azúcar, 1.05 g de manteca vegetal y la cantidad de agua varió de acuerdo al contenido de proteína de cada harina. El tiempo de fermentación fue de 40 min a $30^{\circ}\text{C} \pm 1$ y $94\% \pm 1$ humedad relativa. El tiempo y temperatura de horneado fueron de 17 min y 215°C . Se utilizó una harina control para estas pruebas proporcionada por el USDA-Grain Marketing Research Laboratory, Manhattan, KS. Al término del horneado, se midió el volumen de cada hogaza de pan (cm^3) mediante desplazamiento de semillas de colza.

Análisis Estadístico

Se llevó a cabo un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 5×5 con tres repeticiones, en donde el factor A fue el esquema de fertilización y el factor B fue la muestra experimental de trigo. Se realizó una prueba de ANOVA y regresión lineal con un nivel de significancia de 0.05. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS, 2001.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades Reológicas de las Harinas de Trigo

Las propiedades reológicas de las harinas comúnmente se utilizan para estimar el uso potencial de una harina. Las harinas presentaron gran variación en sus características reológicas (tiempo óptimo de amasado, resistencia máxima a la extensión, extensibilidad de la masa y trabajo de deformación de la masa).

Tiempo Óptimo de Amasado (TAM)

Los valores del mixógrafo se obtuvieron con la harina, agua y cloruro de sodio. La adición de cloruro de sodio prolonga el tiempo de desarrollo de la masa (Belitz et al., 1990), por lo que los tiempos de desarrollo reportados son ligeramente mayores a los que se obtuvieran sin la adición de sal.

El tiempo de amasado varió de 3.46 a 6.59 min (Cuadro 3) y el porcentaje de absorción de agua (datos no mostrados) varió de 57.7 a 64.3%. Por lo general, entre más proteína contiene una harina requiere de mayor cantidad de agua para su amasado óptimo. Las LE 4 y 3 presentaron un TAM más prolongado en todos los EFN, pero solamente la LE 4 presentó un TAM significativamente mayor (>6 min); mientras que las LE 1 y 5 no presentaron diferencias significativas en este parámetro. La LE 2 mostró los menores tiempos de amasado en todos los tratamientos, excepto en (300-0-0).

Cuadro 3- Tiempo óptimo de amasado de las harinas de líneas experimentales de trigo^a.

LE* \ EFN*	1	2	3	4	5
1	4.28 ± 0.09	3.98 ± 0.45	5.73 ± 0.54	4.16 ± 0.28	4.19 ± 0.38
2	4.70 ± 0.07	4.28 ± 0.26	5.79 ± 1.12	6.54 ± 0.17	5.13 ± 0.28
3	4.33 ± 0.24	4.11 ± 0.12	5.56 ± 0.04	6.59 ± 0.01	4.10 ± 0.34
4	3.73 ± 0.41	3.46 ± 0.09	4.98 ± 0.20	6.58 ± 0.52	4.36 ± 0.13
5	3.88 ± 0.07	3.60 ± 0.18	4.65 ± 0.11	6.59 ± 0.41	3.88 ± 0.28

^aValores promedio de triplicados ± desviación estándar.

* LE = línea experimental, EFN = esquema de fertilización nitrogenada.

En los tratamientos en donde la FN fue aplicada al inicio (una sola aplicación), las líneas experimentales presentaron un mayor requerimiento de amasado que las harinas experimentales de trigo en donde se hicieron aplicaciones fraccionadas del fertilizante. El tratamiento (150-0-0) fue el que presentó el mayor tiempo de amasado comparado con el control para todas las LE, excepto para la LE 4. Los tratamientos en donde el fertilizante fue aplicado al inicio (150-0-0 y 300-0-0) presentaron mayores tiempos de amasado que las aplicaciones fraccionadas (50-50-50 y 100-100-100) de fertilizante. Como puede notarse, el momento de aplicación del fertilizante al cultivo sí influye en los tiempos de amasado. El tiempo de amasado se ha asociado a la fracción proteica de gluteninas de la harina de trigo (Hoseney, 1998).

El tiempo de amasado, es el tiempo requerido para que una masa alcance una consistencia óptima. Cuanto mayor es el tiempo de amasado, mayor es la fuerza de la masa y mejor la calidad panadera de la harina utilizada (Serna-Saldívar, 1996). Una harina panadera requiere de al menos tres minutos de tiempo de mezclado para llegar a la consistencia óptima y una harina débil tiene un tiempo de mezclado más corto. Los tiempos mayores a 6 min indican que una harina es fuerte y que puede crear una masa rígida, nada flexible, pero que puede ser adecuada para pan de horno de leña o corteza de pizza (Cuniberti y Riberi, 2005).

Se encontraron correlaciones significativas y positivas entre el tiempo de amasado y algunas fracciones proteicas (PPT, $r=0.51$; PPNET, $r=0.68$; PPNEH, $r=0.32$). Además, el TAM mostró tener una asociación significativa e inversa con algunos parámetros reológicos (extensión de la masa reposada 45 y 90 min, $r= -0.35$ y $r= -0.50$, respectivamente); así como con el trabajo de deformación o área bajo la curva del analizador de textura TA-XT2 de la masa reposada 90 min ($r=-$

0.32) y mostró tener una asociación negativa con la fracción proteica de gliadinas ($r = -0.45$) (Cuadro 9).

Se ha reportado que la composición proteica del gluten es importante para el requerimiento de mezclado (TAM). La presencia de subunidades específicas (5+10, 17+18, 7+8, 1 y 2') tienen efectos positivos sobre el tiempo de mezclado y la fuerza de la masa. Por otro lado, subunidades como la 6+8, 2+12, 3+12 y 20 fueron positivamente relacionadas con tiempos de mezclado cortos y masas débiles. Ambos efectos cualitativos y cuantitativos pueden contribuir a las diferencias en calidad asociadas con alelos específicos de subunidades de glutenina de alto peso molecular. Gupta y MacRitchie (1994) reportaron que las subunidades de glutenina de alto peso molecular 5+10 y 2+12, 17+18 y 20, así como 1 y 2' son producidas en cantidades similares. Ellos concluyeron que las diferencias cualitativas en estas subunidades son responsables de los diferentes valores de tiempo de desarrollo de la masa (TAM) y de la máxima resistencia en el extensógrafo (R_{max}). En otro estudio, las diferencias encontradas en el tiempo de desarrollo de la masa entre un trigo de excelente calidad panadera (México 8156) y un trigo de moderada calidad panadera (Halberg) fueron atribuidas a las diferencias en sus proporciones de gluteninas (Lundh y MacRitchie, 1989).

Estudios realizados en el mixógrafo con muestras de harinas y gluten indican que las diferencias en las características de mezclado entre cultivares de trigos débiles y "extra fuertes" son debidas principalmente a las diferencias entre la calidad de la proteína del gluten y el contenido de proteína, jugando este último solamente un papel menor (Khatkar et al., 1996; 2002).

En un estudio usando harinas reconstituidas, se encontró que la variación en el TAM es función de la cantidad de proteína y dependiente tanto del cultivar como del nivel proteico. Para algunos cultivares, el tiempo de mezclado

incrementó con el aumento del contenido de proteína para valores bajos, mientras que para otros cultivares el tiempo de mezclado se incrementó cuando el contenido de proteína aumenta para valores relativamente altos (Uthayakumaran et al., 1999).

El TAM es un parámetro de calidad ampliamente usado para la selección de nuevas variedades y para la evaluación de la calidad de harinas, variaciones en el contenido de proteína en las muestras pueden influenciar el tiempo de mezclado y debe ser considerado cuidadosamente en tales evaluaciones. Además, se ha reportado que el TAM está fuertemente relacionado con la composición proteica de los genotipos (Khatkar et al., 1996; 2002).

Fuerza y Extensibilidad de la Masa

Las masas presentaron diferencias significativas en los parámetros reológicos evaluados con el analizador de textura TA-XT2 (cuadro 4). En la prueba de fuerza y extensibilidad de la masa a micro-escala se obtuvieron valores de máxima resistencia a la extensión a los 45 min de reposo (F_{max-45}) entre 20.7 y 92.8 g, y a los 90 min se obtuvieron valores (F_{max-90}) entre 33.3 y 133.6 g, mientras que la extensibilidad a los 45 min ($Ext-45$) varió de 5.1 a 7.3 cm y a los 90 min ($Ext-90$) varió de 2.3 a 4.7 cm. El área bajo la curva, una indicación del trabajo requerido para extender la masa antes de romperse, presentó valores a los 45 min entre 101.2 y 441.6 gcm, y a los 90 min entre 117.0 y 528.9 gcm.

En la resistencia máxima a la extensión a los 45 min de reposo, solamente las LE 2 y 4 presentaron diferencias significativas entre el no fertilizar (0-0-0) o fertilizar en cualquiera de las dosis (otros tratamientos). Se encontraron

Cuadro 4 - Mediciones reológicas de la masa de las líneas experimentales de trigo^a.

LE ^a	EFN ^a	Masa reposada 45 min			Masa reposada 90 min		
		F _{max} ^a (g)	Ext ^a (cm)	Área (gcm)	F _{max} ^a (g)	Ext ^a (cm)	Área (gcm)
1	1	42.7 ± 14.5	6.9 ± 0.3	200.7 ± 35.9	91.5 ± 1.9	2.9 ± 0.3	286.9 ± 3.3
1	2	39.0 ± 0.6	6.2 ± 0.1	199.4 ± 8.5	46.9 ± 4.3	2.7 ± 0.5	155.7 ± 8.5
1	3	20.7 ± 2.04	5.9 ± 0.2	101.2 ± 16.7	33.3 ± 5.2	3.2 ± 0.4	117.1 ± 9.5
1	4	52.0 ± 11.8	6.7 ± 0.7	261.9 ± 68.4	128.2 ± 20.1	3.6 ± 0.4	350.1 ± 85.3
1	5	92.8 ± 0.8	5.7 ± 0.4	441.6 ± 5.8	133.6 ± 12.8	3.7 ± 0.4	528.9 ± 5.5
2	1	34.7 ± 9.1	7.3 ± 0.7	176.5 ± 12.2	78.1 ± 6.6	3.2 ± 0.3	316.1 ± 27.5
2	2	40.7 ± 6.8	6.5 ± 0.1	219.4 ± 5.3	47.7 ± 4.5	3.9 ± 0.6	184.7 ± 8.5
2	3	32.6 ± 1.2	5.5 ± 0.7	140.1 ± 6.0	44.7 ± 2.8	4.2 ± 0.4	202.1 ± 34.3
2	4	67.6 ± 10.3	6.4 ± 0.6	332.8 ± 31.2	81.9 ± 25.7	4.7 ± 0.5	438.1 ± 55.5
2	5	61.5 ± 2.7	6.4 ± 0.1	300.1 ± 13.4	83.8 ± 3.01	4.7 ± 0.5	372.7 ± 17.3
3	1	45.9 ± 14.1	5.5 ± 1.0	189.1 ± 16.2	68.4 ± 14.8	2.3 ± 0.3	210.5 ± 1.5
3	2	50.6 ± 9.7	5.1 ± 0.8	205.4 ± 9.7	57.2 ± 10.2	2.8 ± 0.7	143.7 ± 10.0
3	3	29.6 ± 1.9	6.3 ± 0.3	142.3 ± 14.3	39.8 ± 2.3	3.3 ± 0.3	148.8 ± 9.7
3	4	54.7 ± 6.7	6.2 ± 0.8	321.9 ± 28.8	69.6 ± 16.4	3.2 ± 0.8	200.4 ± 23.4
3	5	31.3 ± 1.7	6.3 ± 0.5	162.9 ± 16.3	38.8 ± 3.4	3.9 ± 0.2	171.6 ± 2.8
4	1	43.5 ± 1.5	6.8 ± 0.8	231.6 ± 17.7	64.8 ± 6.6	3.0 ± 0.8	242.3 ± 27.6
4	2	73.5 ± 5.3	5.5 ± 0.5	400.9 ± 19.9	92.3 ± 10.3	2.8 ± 0.3	284.2 ± 13.1
4	3	40.2 ± 1.1	5.6 ± 0.3	189.5 ± 3.4	50.6 ± 4.1	3.2 ± 0.1	169.4 ± 8.9
4	4	75.0 ± 12.8	5.6 ± 0.7	273.1 ± 37.6	82.8 ± 11.8	2.7 ± 0.1	230.9 ± 17.8
4	5	43.7 ± 2.1	6.1 ± 0.4	229.6 ± 6.5	46.3 ± 9.3	3.3 ± 0.6	181.5 ± 15.6
5	1	38.6 ± 1.8	6.2 ± 0.5	205.5 ± 22.5	66.6 ± 9.01	2.5 ± 0.2	178.9 ± 26.8
5	2	42.6 ± 10.6	5.7 ± 0.5	180.8 ± 10.4	58.5 ± 13.2	2.5 ± 0.2	147.0 ± 14.0
5	3	26.9 ± 3.2	5.4 ± 0.2	127.7 ± 0.7	34.8 ± 3.1	3.4 ± 0.1	118.5 ± 0.1
5	4	29.3 ± 2.4	5.4 ± 1.3	123.1 ± 7.8	36.7 ± 2.2	3.2 ± 0.8	129.8 ± 10.1
5	5	34.5 ± 2.6	5.4 ± 0.02	156.4 ± 15.1	42.5 ± 5.0	3.7 ± 0.2	157.7 ± 10.0

^aValores promedio de triplicados ± desviación estándar. LE = línea experimental, EFN = esquema de fertilización nitrogenada, F_{max} = resistencia máxima a la extensión, Ext = extensibilidad.

diferencias significativas en la aplicación única o fraccionada de fertilizante, reportando valores más altos de máxima resistencia a la extensión en los esquemas de fertilización fraccionadas para las LE 1 y 2, mientras que para las LE 3 y 4 fue la aplicación de 150 kg urea/ha independientemente de su modo de aplicación (fraccionada o única). La LE 5 presentó los valores más bajos de máxima resistencia de la masa y no se observó una buena respuesta a la fertilización nitrogenada, excepto cuando se le aplicó el tratamiento 150-0-0.

En las masas reposadas 90 min se observó el mismo comportamiento que a los 45 min. La LE 1 mostró la mayor resistencia a la extensión en los tratamientos donde la fertilización fue fraccionada. La LE 2 también presentó la mayor resistencia a la extensión en las aplicaciones fraccionadas de fertilizante, mientras que las LE 3 y 4 mostraron su máxima resistencia a la extensión cuando se les aplicó 150 kg urea/ha indistintamente del momento de aplicación y la LE 5 mostró los menores valores de resistencia a la extensión en todos los tratamientos, excepto en 150-0-0.

En la extensibilidad de la masa reposada 45 min no se encontraron diferencias significativas en las LE 3 y 5, siendo la línea experimental 2 la que presentó la mayor extensibilidad de la masa. No se encontraron diferencias significativas en el momento de aplicación de 300 kg de urea/ha, solamente el tratamiento 50-50-50 presentó diferencias significativas en la extensibilidad de sus harinas.

La masa de la LE 2 reposada 90 min presentó la mayor extensibilidad en todos los esquemas de aplicación de nitrógeno y solamente las LE 1 y 4 no presentaron diferencias significativas en la medición de este parámetro reológico entre tratamientos. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, pero sí se observaron diferencias significativas en cuanto al

momento de aplicación del fertilizante, ya que para las LE 1, 2, 3 y 5 fueron las fertilizaciones fraccionadas las que permitieron obtener mayor extensibilidad de la masa, mientras que para la LE 4 fue indistinta la aplicación única o fraccionada de 300 kg urea/ha y fue la que reportó la mayor extensibilidad en la masa.

El área bajo la curva en masa reposada 45 min, presentó valores entre 101.2 y 441.6 gcm, mientras que en la masa reposada 90 min varió de 117.0 a 528.9 gcm. La masa de la LE 1 reposada 45 min fue la que reportó la mayor área para el tratamiento 100-100-100. En el caso de la LE 2 le favorecieron las fertilizaciones fraccionadas, siendo el tratamiento 50-50-50 el que reportó la mayor área para ésta línea. La LE 3 no presentó diferencias significativas en este parámetro, mientras que la LE 4 presentó la mayor área bajo la curva cuando se le aplicó una sola dosis de 150 kg de urea/ha y la LE 5 no incrementó el área bajo la curva con ninguna de las aplicaciones de nitrógeno, ya que se encontró que la mayor área fue la que produjo la harina de esta línea cultivada sin fertilizante 0-0-0.

Las masas de las LE 1, 2 y 4 reposadas 90 min no presentaron diferencias significativas comparadas con el control. La LE 3 y 5 si presentaron diferencias significativas en el área bajo la curva. La LE 1 respondió mejor a la fertilización fraccionada de 300 kg de urea/ha, mientras que la LE 2 presentó la mayor área bajo la curva en el tratamiento 50-50-50. La LE 4 mostró la mayor área cuando se le aplicó 150 kg urea/ha de manera fraccionada y las harinas de las LE 3 y 5 no mostraron ningún aumento en este parámetro con ninguno de los esquemas de fertilización aplicados, ya que el control reportó las mayores áreas para estas dos LE. Como se puede observar, algunas harinas perdieron fuerza y capacidad de retener gas durante periodos prolongados de fermentación y/o descanso y esto concuerda con lo reportado por Serna-Saldivar (1996).

La masa que ha sido reformada después del reposo, muestra un remarcado incremento en la fuerza, lo cual fue atribuido al proceso oxidativo que ocurre en la red del gluten con el oxígeno o a un mejor entrecruzamiento de los polímeros de glutenina, permitiendo más interacciones físicas entre ellos (Kieffer y Stein, 1999).

Básicamente, la extensibilidad del gluten está relacionada con la variedad de trigo y una selección cuidadosa del trigo puede resultar en conformidad con estándares de calidad. Tanto la extensibilidad como la resistencia a la extensión pueden ser modificadas en algún grado por el tratamiento de maduración (Mailhot y Patton, 1988). De ahí que es recomendable que la evaluación reológica de una harina se realice al menos 15 días después de haberse realizado la molienda.

La resistencia máxima de la masa reposada tanto por 45 min como por 90 min se correlacionó positivamente con PPT ($r=0.30$ y $r=0.36$, respectivamente) y con PPNEH ($r=0.32$ y $r=0.23$, respectivamente). Además la resistencia máxima a los 45 min de reposo presentó una asociación negativa con la fracción de gliadinas ($r= -0.29$), mientras que a los 90 min de reposo fue de $r= -0.36$. La extensibilidad de la masa reposada 45 min presentó una correlación negativa y significativa con PPNET ($r=-0.42$) y la reposada 90 min se correlacionó negativamente con PPT ($r=-0.51$) y con la fracción de alb/glob ($r= -0.44$), mientras que con otras fracciones proteicas se correlacionó positivamente (gliadinas, $r= 0.59$; PPH, $r=0.53$; PPNEH, $r=0.27$). El trabajo para deformar la masa reposada 45 min se correlacionó positivamente con las fracciones proteicas PPT y PPNEH ($r=0.30$ y $r=0.32$ respectivamente), y la fracción de gliadinas presentó una correlación negativa, $r= -0.30$; y el de la masa reposada 90 min se correlacionó con PPH ($r=0.26$) y con PPNEH ($r=0.28$) (Cuadro 9). Algunas de estas relaciones ya han sido reportadas por otros autores

(MacRitchie, 1992; Gupta et al., 1992,1993; Weegels et al, 1996; Cuniberti et al., 2003; Islas-Rubio et al., 2005). Estos resultados demuestran que la proteína polimérica juega un papel importante en la determinación de las propiedades reológicas de la masa.

Composición Química

Contenido de Humedad

El contenido de humedad de las harinas de las líneas experimentales de trigo se muestra en la cuadro 5. El contenido de humedad varió de 11.4 a 13.7%. La determinación de la humedad es un paso crítico en la evaluación de la calidad de granos y cereales. Generalmente, el costo de los cereales se establece tomando como referencia el 12% de humedad para grano ó el 14% para harinas. Los granos con mayor humedad son penalizados ya que tienen menos sólidos, son menos estables al almacenamiento y más propensos a deteriorarse. La determinación del contenido de humedad es también muy importante en la evaluación de la materia prima de las industrias molineras, ya que está vinculada con los requerimientos de acondicionamiento (Serna-Saldivar, 1996).

Contenido de Proteína

El efecto de la fertilización nitrogenada en el contenido de proteína de las muestras experimentales de trigo se muestra en el cuadro 6. El contenido de

Cuadro 5- Contenido de humedad de las harinas de líneas experimentales de trigo^a.

LE* EFN*	1	2	3	4	5
1	11.41 ± 0.50	11.78 ± 0.25	12.62 ± 0.15	13.45 ± 0.28	12.97 ± 0.30
2	12.94 ± 0.26	12.35 ± 0.15	13.60 ± 0.24	13.27 ± 0.17	13.35 ± 0.09
3	13.33 ± 0.19	13.30 ± 0.13	13.38 ± 0.36	13.61 ± 0.23	13.49 ± 0.12
4	12.98 ± 0.22	12.55 ± 0.35	13.72 ± 0.07	13.44 ± 0.18	13.39 ± 0.25
5	12.75 ± 0.06	13.71 ± 0.11	13.36 ± 0.23	12.94 ± 0.19	13.11 ± 0.39

^aValores promedio de triplicados ± desviación estándar.

* LE = línea experimental, EFN = esquema de fertilización nitrogenada.

Cuadro 6- Contenido de proteína de las harinas de líneas experimentales de trigo^a.

LE* \ EFN*	1	2	3	4	5
1	9.66 ± 0.14	11.05 ± 0.02	8.79 ± 0.34	10.05 ± 0.38	8.64 ± 0.19
2	9.66 ± 0.20	11.30 ± 0.42	9.87 ± 0.02	10.64 ± 0.29	9.86 ± 0.01
3	11.56 ± 0.13	13.61 ± 0.26	11.79 ± 0.38	11.33 ± 0.21	11.20 ± 0.07
4	11.48 ± 0.51	12.16 ± 0.37	10.43 ± 0.33	11.98 ± 0.10	10.36 ± 0.25
5	11.28 ± 0.37	13.56 ± 0.4	11.88 ± 0.38	12.22 ± 0.12	11.59 ± 0.22

^aValores promedio de triplicados ± desviación estándar.

*LE = línea experimental, EFN = esquema de fertilización nitrogenada.

proteína de las harinas varió de 8.64 a 13.61%. Las harinas con más alto contenido proteico se obtuvieron con las líneas experimentales (LE) 2 y 4. Tres de las harinas (LE 1, 3 y 5) presentaron contenidos de proteína menores al 10% en los esquemas de fertilización nitrogenada (150-0-0) y (0-0-0). En general, se puede observar que todas las LE aumentaron su contenido de proteína con la fertilización nitrogenada. La aplicación de 300 kg/ha (única o fraccionada) presentó los mayores contenidos proteicos para todas las LE, pero no se encontraron diferencias significativas entre estos tratamientos, siendo indistinto el momento de aplicación del fertilizante. Esto pudiera deberse a que al momento de llenado del grano, que es el momento donde se sintetizan y acumulan las proteínas en el grano de trigo, pudo haber un remanente de nitrógeno disponible en el suelo para la planta. Por otra parte, en los tratamientos de 150 kg de urea/ha en aplicación única o fraccionada si se observa una diferencia significativa del efecto que tiene el momento de aplicación del fertilizante, ya que con una sola aplicación el contenido de proteína fue significativamente menor, atribuyéndose a una menor disponibilidad de nitrógeno en las etapas tardías de desarrollo (formación y llenado del grano).

Por lo general, una harina panadera presenta un contenido de proteína del 10 al 13%. Por otro lado, harinas con contenido proteico del 7.5-10% son especiales para la producción de galletas o pasteles, son harinas débiles o blandas (Serna-Saldívar, 1996).

El contenido de proteína es importante porque se correlaciona con casi todas las propiedades de la harina (requerimiento de agua para el amasado, tolerancia al amasado, volumen de pan y características de la miga) (Pomeranz, 1987).

Se encontraron correlaciones significativas y positivas entre el contenido de proteína y algunas fracciones proteicas (Gliadinas, $r=0.54$; PPNET, $r=0.38$; PPH, $r=0.86$; PPNEH, $r = 0.61$), con la extensión de la masa reposada 90 min ($r=0.69$) y con el volumen de pan ($r=0.82$). Por otra parte, el contenido de proteína se correlacionó inversamente con la PPT ($r=-0.43$) y con Alb/Glob, $r = -0.65$ (Cuadro 9). Algunas de estas correlaciones encontradas concuerdan con lo reportado por varios autores (Islas-Rubio et al., 2005; Zhu y Khan, 2001; Cuniberti et al., 2003; Gupta et al., 1993).

Tanto la cantidad como la calidad de la proteína juegan un papel importante en la capacidad de retención de gas de la masa durante la fermentación y en estados tempranos del proceso de panificación (MacRitchie, 2003).

Contenido de Cenizas

El contenido de cenizas de las harinas de las líneas experimentales de trigo varió de 0.37 a 0.53% (Cuadro 7). Estos valores están dentro de los rangos permitidos para harinas panificables. Serna-Saldívar (1996) reporta valores entre 0.32-0.50%, mientras que Falder-Rivero (2002) menciona que las harinas blancas con una extracción normal para la panificación deben contener de 0.45 a 0.60% y que no son admisibles porcentajes mayores si se desea considerar la harina de buena calidad y apariencia.

El contenido de cenizas en una harina es importante porque nos indica la eficiencia de la molienda del grano y por otra parte, afecta el color de la harina; entre menor sea la remoción de pericarpio del grano durante la molienda, los

valores de cenizas serán más altos y la harina presentará una coloración más oscura (Serna-Saldivar, 1996; Hosney, 1998; Falder-Rivero, 2002).

Cuadro 7- Contenido de cenizas de las harinas de líneas experimentales de trigo^a.

LE* \ EFN*	1	2	3	4	5
1	0.46 ± 0.00	0.53 ± 0.00	0.49 ± 0.01	0.48 ± 0.01	0.48 ± 0.00
2	0.41 ± 0.01	0.48 ± 0.02	0.39 ± 0.02	0.43 ± 0.02	0.43 ± 0.00
3	0.38 ± 0.00	0.44 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.39 ± 0.00	0.38 ± 0.01
4	0.42 ± 0.03	0.50 ± 0.01	0.40 ± 0.00	0.45 ± 0.02	0.43 ± 0.01
5	0.39 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.40 ± 0.01	0.39 ± 0.01

^aValores promedio de triplicados ± desviación estándar.

* LE = línea experimental EFN = esquema de fertilización nitrogenada.

Composición Proteica de las Harinas

El porcentaje de proteína polimérica total, PPT (fracción 1, fig. 2A) varió de 43.1 a 49.9 %, el de gliadinas (fracción 2, fig. 2A) de 43.7 a 51.3 % y el de albúminas/globulinas (fracción 3, fig. 2A) de 5.2 a 7.1 %. Se encontraron diferencias significativas entre líneas experimentales y entre esquemas de fertilización nitrogenada (Cuadro 8). La LE 4 presentó el mayor contenido de PPT en todos los esquemas de fertilización nitrogenada. Esta LE no presentó diferencias significativas comparadas con el control, mientras que las LE 5 y 2 se destacaron por presentar contenido significativamente menor de PPT para todos los tratamientos. Es importante hacer mención que todas las LE presentaron un mayor porcentaje de PPT en el tratamiento 0-0-0 y que la fertilización nitrogenada no favoreció a esta fracción proteica, lo cual concuerda con los hallazgos de Gupta et al., 1992, estos autores reportaron que cuando hay un incremento debido a una mayor disponibilidad de nitrógeno, este se va a la síntesis de gliadinas, disminuyendo así las gluteninas. La proteína polimérica juega un papel muy importante en la determinación de las propiedades de la masa (Bekes et al., 1994). El área relativa de la fracción 1 en SE-HPLC (considerado principalmente glutenina) se ha encontrado que correlaciona positivamente con el volumen de pan, con la resistencia y extensibilidad de la masa medidas en el extensógrafo y con el TAM en el mixógrafo (Singh, et al., 1990b; Islas-Rubio et al., 2005). En otro estudio (Gupta, et al., 1993) se encontraron correlaciones significativas entre la proteína polimérica total (PPT, fracción 1 fig. 2A) y la fuerza de la masa.

La PPT se correlacionó positiva y significativamente con la PPNEH ($r=0.39$) y con algunas mediciones reológicas (máxima resistencia a la extensión de masa reposada 45 y 90 min ($r=0.30$ y $r=0.36$, respectivamente)) y el trabajo de

Cuadro 8- Composición proteica de las líneas experimentales de trigo^a.

LE ^a	EFN ^a	PPT ^a (%)	Gliadinas (%)	Alb/Glob ^a (%)
1	1	49.85 ± 0.37	43.98 ± 0.56	6.54 ± 0.22
1	2	48.18 ± 0.19	46.57 ± 0.27	5.90 ± 0.10
1	3	46.48 ± 0.02	47.08 ± 0.31	5.91 ± 0.35
1	4	47.02 ± 0.24	47.29 ± 0.17	6.09 ± 0.26
1	5	47.53 ± 0.20	45.72 ± 0.40	6.10 ± 0.28
2	1	47.71 ± 0.27	45.89 ± 0.41	6.66 ± 0.45
2	2	44.82 ± 0.69	51.28 ± 0.47	5.55 ± 0.30
2	3	43.05 ± 0.37	50.01 ± 0.30	5.61 ± 0.35
2	4	44.08 ± 0.48	51.24 ± 0.38	5.71 ± 0.10
2	5	43.32 ± 0.30	49.28 ± 0.73	5.90 ± 0.09
3	1	49.58 ± 0.10	43.73 ± 0.59	6.97 ± 0.14
3	2	46.80 ± 0.34	49.18 ± 0.35	5.22 ± 0.24
3	3	44.72 ± 0.22	47.62 ± 0.43	5.94 ± 0.08
3	4	46.45 ± 0.35	49.53 ± 0.32	5.74 ± 0.25
3	5	45.80 ± 0.42	46.50 ± 0.71	6.60 ± 0.56
4	1	48.97 ± 0.66	44.31 ± 0.59	6.72 ± 0.39
4	2	49.64 ± 0.20	46.66 ± 0.18	5.26 ± 0.37
4	3	48.74 ± 0.50	45.32 ± 0.59	5.76 ± 0.14
4	4	48.92 ± 0.70	45.87 ± 0.41	5.40 ± 0.14
4	5	49.00 ± 0.41	44.07 ± 0.44	6.29 ± 0.18
5	1	45.73 ± 0.34	46.85 ± 0.40	7.11 ± 0.26
5	2	44.32 ± 0.39	51.18 ± 0.34	5.43 ± 0.13
5	3	43.42 ± 0.34	49.94 ± 0.05	6.20 ± 0.44
5	4	43.87 ± 0.44	51.26 ± 0.13	5.33 ± 0.28
5	5	43.39 ± 0.41	49.25 ± 0.45	6.44 ± 0.06

^aValores promedio de triplicados ± desviación estándar, LE = línea experimental, EFN = esquema de fertilización nitrogenada, PPT = proteína polimérica total, Alb/Glob = albúminas y globulinas.

deformación de masa reposada 45 min ($r=0.30$). También se encontró una relación significativa e inversa con la extensibilidad de la masa reposada 90 min ($r=-0.51$) (Cuadro 9).

La proteína polimérica en la proteína de la harina (PPH) varió entre 4.01 y 5.99 % entre las diferentes líneas experimentales (Fig. 3). Las LE 4 y 2 fueron las que presentaron la mayor PPH en todos los esquemas de fertilización aplicada, mientras que la LE 5 presentó una proporción significativamente menor para todos los esquemas de fertilización nitrogenada. Se observaron diferencias significativas cuando se aplicaron 150 kg urea/ha (única o fraccionada) en las LE 1 y 4. La mayor proporción de PPH se presentó con la aplicación de 300 kg urea/ha, pero no se encontraron diferencias significativas en cuanto al momento de aplicación de esta dosis de fertilizante, lo cual puede indicar que una sola aplicación podría ser suficiente. La PPH presentó una correlación positiva con PPNEH ($r=0.91$) y con la extensibilidad y el trabajo de deformación de la masa reposada 90 min ($r=0.53$ y $r=0.26$, respectivamente) (Cuadro 9).

La proporción de proteína polimérica no extraíble en la proteína total (PPNET) varió de 37.9 a 54.7 % (Fig. 4). La LE 4 fue significativamente superior en este parámetro al resto de las harinas en todos los tratamientos, mientras que la LE 5 fue significativamente menor. Solamente la LE 3 no presentó diferencias significativas en PPNET para ninguno de los tratamientos de fertilización aplicados. En cuanto al efecto que tuvo el momento de aplicación del fertilizante en las líneas experimentales, se encontró que los tratamientos (50-50-50) y (300-0-0) presentaron diferencias significativas en PPNET, excepto en la LE 4. Además se encontraron diferencias significativas cuando las aplicaciones del fertilizante se hicieron fraccionadas o en una sola aplicación, favoreciendo más a esta fracción proteica los esquemas de fertilización en donde se hizo una sola aplicación al inicio del cultivo en todas las LE. Esta fracción proteica se ha

relacionado positivamente con la resistencia máxima medida en el extensógrafo (Gupta et al., 1993). Se ha reportado que el porcentaje de proteína polimérica no extraíble en la proteína total (PPNET) se correlaciona positiva y fuertemente con las propiedades de fuerza de la masa (Marchylo, et al., 1989). Un valor alto de PPNET puede

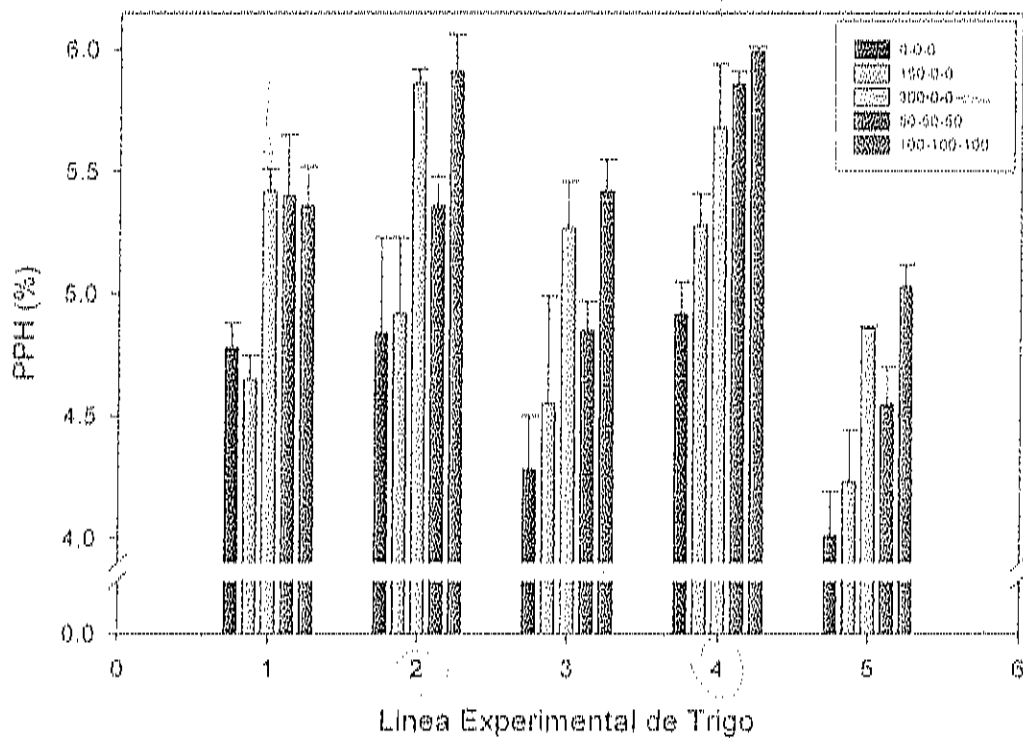


Fig. 3- Proporción de proteína polimérica en la harina de líneas experimentales de trigo.

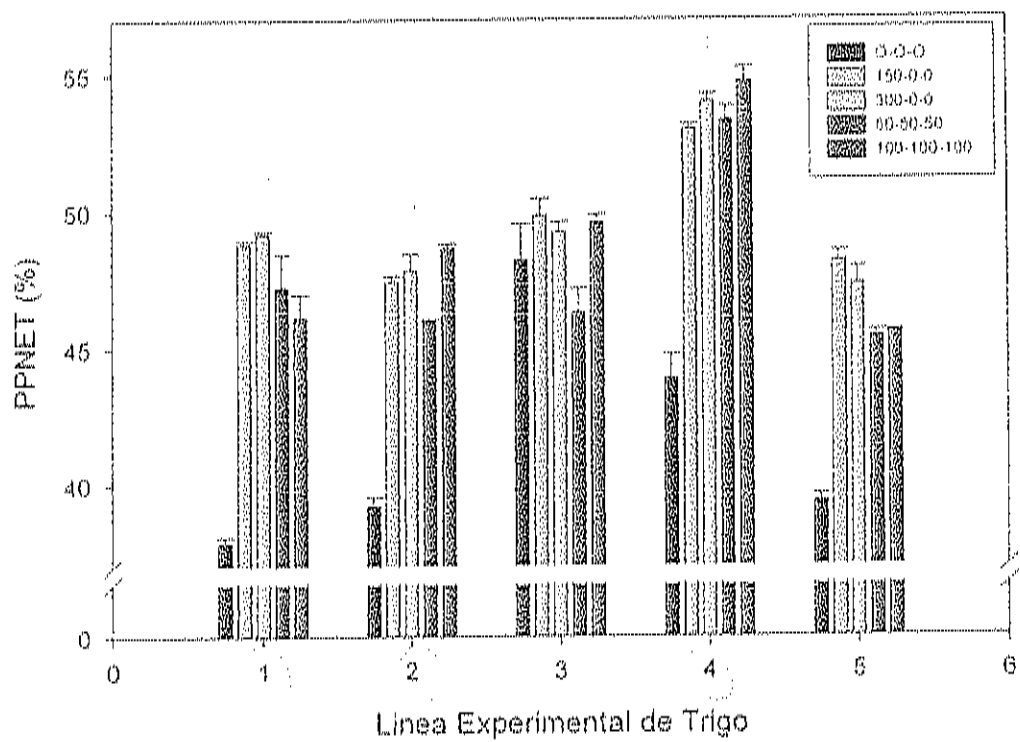


Fig. 4- Proporción de proteína polimérica no extraíble total de líneas experimentales de trigo.

deberse a una mayor cantidad de subunidades de glutenina de alto peso molecular en el trigo (Johansson et al., 2002).

La PPNET presentó una correlación significativa y positiva con PPH ($r=0.52$) y con PPNEH ($r=0.53$), mientras que con la extensibilidad de la masa reposada 45 min mostró una correlación negativa ($r=-0.42$) (Cuadro 9). Correlaciones similares ya habían sido reportadas (Islas-Rubio, et al., 2005).

La proteína polimérica no extraíble en la proteína polimérica de la harina (PPNEH) fluctuó entre 1.9 y 2.9 % (Fig. 5). La LE 4 presentó los mayores valores de PPNEH en todos los esquemas de fertilización nitrogenada, mientras que la LE 5 fue significativamente menor para todos los tratamientos. Las LE 1 y 2 no presentaron diferencias significativas en esta fracción proteica. El tratamiento 50-50-50 fué el único que presentó diferencias significativas en cuanto a esta fracción proteica. Se reportaron diferencias significativas entre la aplicación única o fraccionada del fertilizante para ambas cantidades 150 kg urea/ha y 300 kg urea/ha.

La PPNEH mostró una correlación positiva con la resistencia máxima a la extensión de masa reposada 45 y 90 min ($r=0.32$ y $r=0.23$, respectivamente), con la extensibilidad de la masa a los 90 min ($r=0.27$) y con el trabajo de deformación de masa reposada 45 y 90 min ($r=0.32$ y $r=0.28$, respectivamente) (Cuadro 9). Varios autores han reportado que la proporción de proteína polimérica no extraíble tanto en la proteína total (PPNET) como en la proteína de la harina (PPNEH) pueden explicar cerca del 90% de la variación en parámetros relacionados con la fuerza de la masa (TAM, R_{max} y Ext). Es bien sabido que no todas las proteínas poliméricas contribuyen a la fuerza de la masa, solamente una fracción por arriba de cierto tamaño molecular (el tamaño molecular crítico para un enredamiento efectivo) (MacRitchie, 1992).

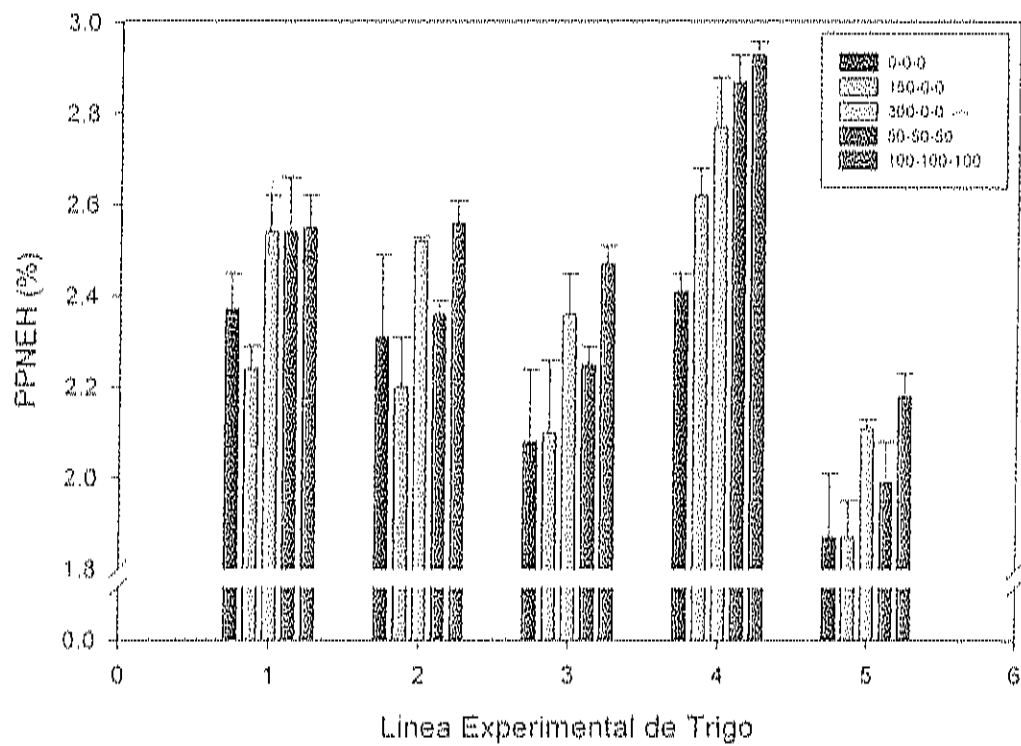


Fig. 5- Proporción de proteína polimérica no extraíble en la harina de líneas experimentales de trigo.

Volumen de Pan

Las harinas presentaron diferencias en su calidad panadera. El volumen de pan varió de 170.16 a 283.19 cm³. Las harinas de todas las líneas experimentales aumentaron significativamente el volumen de pan con la aplicación de nitrógeno (Fig. 6). El pan elaborado con la harina de la LE 2 en el tratamiento 100-100-100 fue significativamente mayor que el resto de las harinas. Los segundos mejores volúmenes de pan se obtuvieron con la harina de la LE 4 en todos los tratamientos. En general, se pudo observar que las harinas de las LE 2 y 4 fueron las que presentaron los mayores volúmenes de pan. La línea experimental 5 fue la que reportó un volumen significativamente menor para todos los tratamientos, excepto para el control. Ocho de las harinas produjeron pan de un volumen menor de 200 cm³.

Se encontraron diferencias significativas en el volumen de pan entre la aplicación de 150 kg urea/ha, observándose que la aplicación fraccionada 50-50-50 presentó volúmenes de pan significativamente mayores. En la aplicación de 300 kg/ha (única o fraccionada) no se observaron diferencias significativas en cuanto a este parámetro. El volumen de pan de las distintas LE se vio afectado con la fertilización fraccionada.

Las LE manejadas bajo los esquemas de FN de 300-0-0, 100-100-100 y 50-50-50 produjeron harinas con mayores volúmenes de pan. Esto coincide con los resultados sobre contenido de proteína para estos mismos tratamientos y con lo reportado en la literatura (Johansson et al., 2001; 2003) de que a mayor contenido de proteína mayor volumen de pan.

El volumen del pan se correlacionó positiva y significativamente con el contenido de proteína ($r=0.82$), con las fracciones proteicas (Gliadinas, $r=0.31$;

PPNET, $r=0.61$; PPH, $r=0.85$ y PPNEH, $r=0.70$), así como con la extensibilidad de la masa reposada 90 min ($r=0.53$). Además se encontró una asociación negativa entre el volumen de pan y Alb/Glob, $r=-0.68$ (Cuadro 9). El volumen del pan constituye uno de los criterios más importantes de la calidad panadera, porque es un indicador de la capacidad del gluten para expandirse y retener gas producido por la levadura durante la fermentación.

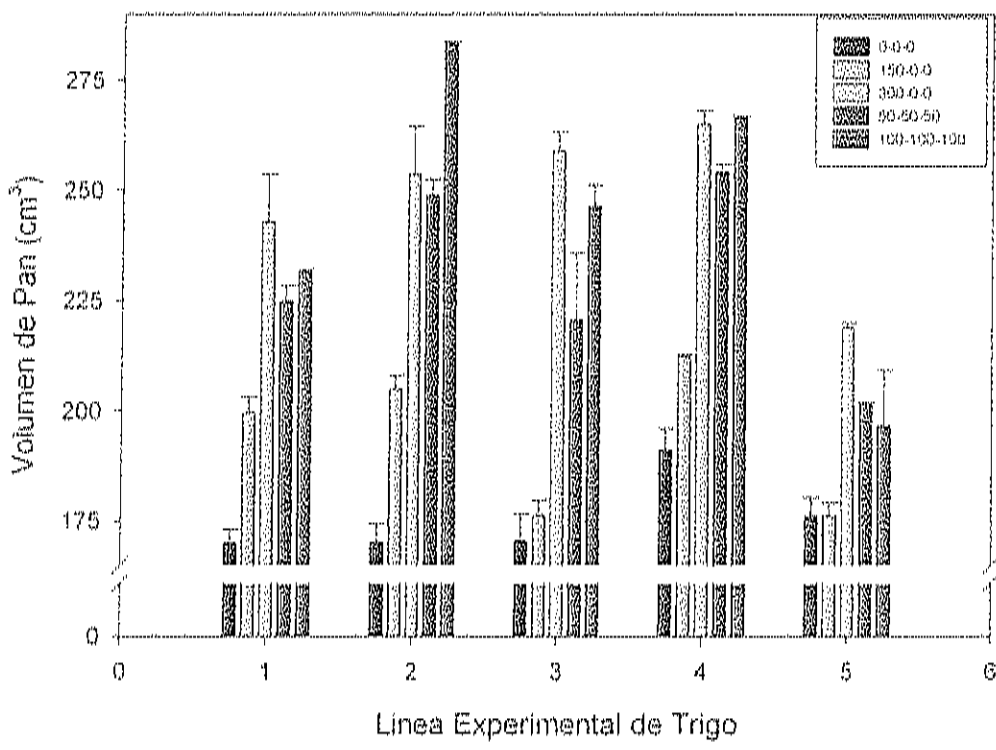


Fig. 6- Volumen de pan de líneas experimentales de trigo.

Cuadro 9- Matriz de correlación para parámetros de calidad y composición proteica de las harinas de líneas experimentales de trigo.

r	CP	PPT	Gluc	A-G	PPHE	PPHE1	PPH	PPNEH	VP	VE	Area-90	Area-45	Ext-90	Ext-45	F _{max} -90	F _{max} -45	TAM
TAM	-0.15	0.51	-0.45	-0.05	-0.68	0.68	0.17	0.31	0.13	0.12	-0.34	0.97	-0.49	-0.35	-0.15	0.15	1.0
F _{max} -45	0.07	0.30	-0.29	0.06	-0.17	0.16	0.22	0.32	0.15	0.15	0.73	0.90	0.11	-0.02	0.74	1.0	
F _{max} -90	-0.04	0.36	-0.36	0.23	0.20	-0.20	0.10	0.23	-0.06	-0.03	0.92	0.73	0.04	0.21	1.0		
Ext-45	0.02	0.12	-0.14	0.09	0.38	-0.42	0.07	0.11	-0.04	0.02	0.28	0.59	0.33	1.0			
Ext-90	0.69	-0.51	0.59	-0.44	-0.03	0.02	0.50	0.27	0.33	0.59	0.35	0.14	1.0				
Area-45	0.05	0.30	-0.30	0.03	-0.14	0.12	0.22	0.32	0.15	0.15	0.77	1.0					
Area-90	0.12	0.15	-0.12	0.06	0.21	-0.21	0.25	0.25	0.16	0.16	1.0						
VE	0.32	-0.32	0.30	-0.66	-0.59	0.56	0.84	0.59	0.95	1.0							
VP	0.31	-0.21	0.31	-0.59	-0.51	0.51	0.85	0.70	1.0								
PPNEH	0.61	0.39	-0.27	-0.33	-0.54	0.53	0.91	1.0									
PPH	0.65	-0.01	0.14	-0.57	-0.53	0.52	1.0										
PPHE1	0.38	0.11	-0.01	-0.45	-0.59	1.0											
PPE	-0.36	-0.14	0.03	0.48	1.0												
A-G	-0.65	0.24	-0.36	1.0													
Gluc	0.54	-0.95	1.0														
PPT	-0.43	1.0															
CP	1.0																

r = r_{1, r2} = significancias a <0.05, <0.005, <0.0001; PPT = proteína peptónica total; Gluc = glucógeno; A-G = almidón y glucógeno; PPE = proporción de proteína peptónica extraíble en la proteína; PPHE1 = proporción de proteína peptónica no extraíble en la proteína; PPH = proporción de proteína peptónica en la harina; PPNEH = proporción de proteína peptónica no extraíble en la harina; VP = volumen de pan; Area-90 = trabajo de deformación de la masa a los 90 min de reposo; Area-45 = trabajo de deformación de la masa a los 45 min de reposo; Ext-90 = extensibilidad a los 90 min de reposo; Ext-45 = extensibilidad a los 45 min de reposo; F_{max}-90 = resistencia máxima a los 90 min de reposo; F_{max}-45 = resistencia máxima a los 45 min de reposo; TAM = tiempo óptimo de amasado en el amlográfico.

CONCLUSIONES

Las propiedades reológicas de la masa, el contenido y composición de proteína y el volumen de pan fueron influenciados por la aplicación de N. El grado de afectación dependió de la línea experimental, el esquema de fertilización utilizado y de su interacción.

La aplicación de nitrógeno modificó la distribución de tamaño de los polímeros y las fracciones proteicas que tuvieron una mayor influencia sobre el volumen de pan fueron PPNET, PPH y PPNEH.

El volumen de pan de las distintas líneas experimentales se vio afectado diferentemente con la fertilización nitrogenada, siendo la aplicación única o fraccionada de 300 kg de urea/ha y la aplicación fraccionada de 150 kg de urea/ha las que más favorecieron a este parámetro de calidad.

La mejor respuesta a la aplicación de nitrógeno la presentó la línea experimental 4. Se recomienda aplicarle 300 kg de urea/ha, ya sea en aplicación única (presembrado) o fraccionada 100-100-100.

BIBLIOGRAFÍA

- AACC, 1995. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of The Assoc. of Cereal Chemists, 9th Ed. St. Paul, MN. Methods 54-40A, 54-10, 44-19, 46-13, 08-01 and 10-10B.
- Altenbach, S. B., DuPont, F.M., Kothari, K.M., Chan, R., Johnson, E.L., Lieu, D. 2003. Temperature, water and fertilizer influence the timing of key events during grain development in a USA spring wheat. *J. Cereal Sci.* 37, 9-20.
- Antes, S. and Wieser, H. 2001. Effects of high and low molecular weight glutenin subunits on rheological dough properties and breadmaking quality of wheat. *Cereal Chem.* 78(2): 157-159.
- Barro, F., Rooke, L., Bekes, F., Gras, P., Tatham, A.S., Fido, R., Lazzeri, P.A., Shewry, P.R. and Barcelo, P. 1997. Transformation of wheat with high molecular weight subunit genes results in improved functional properties. *Nature Biotech.* 15: 1295-1299.
- Batey, I.L., Gupta, R.B. and MacRitchie, F. 1991. Use of size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins: an improved chromatographic procedure. *Cereal Chem.* 68: 207-209.
- ✓ Bekes, F., Gras, P.W., Gupta, R.B., Hickman, D.R. and Tatham, A.S. 1994. Effects of a high M_r glutenin subunit (1Bx20) on the dough mixing properties of wheat flour. *J. Cereal Sci.* 19: 3-7.
- Belitz, H. D., Kieffer, R., Kim, J.J., Sellmeier, W. and Wieser, H. 1990. Some factors important for gluten functionality. In: *Interactions of Cereal Components and Their Implications for the Future*. Proc. Of ICC-AACC Symposium. Lasztity, R. and Hosenev, R.C. (eds). ICC Vienna. pp: 94-109.
- Belfon, P. S. 1999. On the elasticity of wheat gluten. *J. Cereal Sci.* 29, 103-107.

- Branlard, G., Dardevet, M. 1985a.** Diversity of grain protein and bread wheat quality. I. Correlation between gliadin bands and flour quality characteristics. *J. Cereal Sci.* 3, 329-343.
- Branlard, G., Dardevet, M. 1985b.** Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour characteristics. *J. Cereal Sci.* 3, 345-354.
- Campos, D. T., Steffe, J. F., Ng, P.K.W. 1997.** Rheological behavior of undeveloped and developed wheat dough. *Cereal Chem.* 74, 489-494.
- Consalvi, V., Chiaraluce, R., Patacchini, C., Lafandra, D., D'Ovidio, R., Masci, S. 2004.** Structural analysis of two heterologously expressed native and mutated low molecular weight glutenin subunits. Paper presented at: 8th Gluten Workshop, 8-10 September, 2003 (Viterbo, Italy).
- Cuniberti, M.B., Rooth, M.R. and MacRitchie, F. 2003.** Protein composition-functionality relationships of a set of Argentinean wheats. *Cereal Chem.* 80: 132-134.
- Cuniberti, M.B. y Riberi, L. 2005.** Calidad del trigo de la region central del pais. Campana 2003/04. INTA Marcos Juarez. <http://www.fyo.com.ar/granos/ampliar.asp?IdNoticia=30862&IdAutor=11637&IdTipoInformacion=22>.
- Dachkevitch, T and Autran, J-C. 1989.** Prediction of baking quality of bread wheats in breeding programs by size-exclusion high-performance liquid chromatography. *Cereal Chem.* 66: 448-456.
- Echeverría, H.E. 2003.** Fertilización nitrogenada en trigo: rendimiento y calidad. Unidad Integrada INTA-FCA Balcarce, Argentina.
- Ellason, A.C., Larsson, K. 1993.** Cereals in breadmaking: a molecular colloidal approach. NY, Basel, Hong Kong.
- Falder-Rivero, A. 2002.** Trigo, harina y pan. Enciclopedia de los alimentos. pp: 125-134.
- Frazier, P. J., Daniels, N.W.R., Russell Eggitt, P.W. 1981.** Lipid-protein Interactions during dough development. *J. Sci. Food Agric.* 32, 877-897.

- Field, J., Shewry, P. R., Miflin, B. J. 1983. Solubilization and characterization of wheat gluten proteins; correlations between the amount of aggregated proteins and baking quality. *J. Sci. Food Agric.* 34: 370-378.
- Finney, K.F., Yamazaki, W.T., Youngs, V.L. and Rubenthaler, G.L. 1987. Quality of hard, soft and durum wheats. In: *Wheat and Wheat Improvement*, 2nd ed. Heyne, E. (ed). Amer. Soc. Agron., Madison, WI. pp. 677-748.
- ✓ Gianibelli, M.C., Larroque, O.R., MacRitchie, F. and Wrigley, C.W. 2001. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. *Cereal Chem.* Online, <http://www.aacnet.org/cerealchemistry/onlinereviewarticles.asp>
- Gianibelli, M.C. and Sarandon, S.J. 1999. Effect of late nitrogen fertilization on the gluten content and technological quality of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Gluten Proteins*. Bushuk, W. and Tkachuk, R. (eds). AACC, pp: 755-764.
- Golik, S.I., Chidichimo, H.O., Pérez, D. Y Pane, L. 2003. Acumulación, removilización, absorción post-antésis y eficiencia de utilización de nitrógeno en trigo bajo diferentes labranzas y fertilizaciones. *Pesq. Agrop. Bras.* 38(5): 619-626.
- Graybosh, R.A., Peterson, C.J., Shelton, D.R. Baenziger, P.S. 1996. Environmental modification of hard red winter wheat flour protein composition. *J. Cereal Sci.* 22: 45-51.
- ✓ Gupta, R. B., Batey, I.L., and MacRitchie, F. 1992. Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. *Cereal Chem.* 69: 125-131.
- Gupta, R.B., Bekes, F., and Wrigley, C.W. 1991. Prediction of physical dough properties from glutenin subunit composition in bread wheats: correlation studies. *Cereal Chem.* 68: 328-333.
- ✓ Gupta, R.B., Khan, K., and MacRitchie, F. 1993. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in quantity and size distribution of polymeric protein. *J. Cereal Sci.* 17: 23-41.
- Gupta, R.B., and MacRitchie, F. 1994. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1 of bread wheats: Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *J. Cereal Sci.* 19: 19-29.

- Gupta, R. B., Singh, N. K., Shepherd, K. W. 1989. The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on dough properties in the progeny of two bread wheats. *Theoretical and Applied Genetics* 77, 57-64.
- Herzog, H. 1986. Source and sink during the reproductive period of wheat. *Advances in Agronomy and Crop Sciences* 8: 1-104.
- Hoseney, R.C., 1998. Role of pentosans. In: *Principles of Cereal Science and Technology*, pp:251-252. American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Mn, USA.
- Hoseney, R. C., Finney, K. F., Shogren, M. D. and Pomeranz, Y. 1971. Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. VIII. *Starch. Cereal Chem.* 48, 191-201.
- Huebner, F.R., Christlanson, D.D., Nelsen, T.C. and Bietz, J.A. 1999. Gliadin and glutenin analysis by SE-HPLC for wheat classification. In: *Gluten Proteins*. Bushuk, W. and Tkachuk, R. (eds). AACC, St. Paul, MN. pp: 145-155.
- / Islas-Rubio, A., MacRitchie, F, Gandikota, S. and Hou, G. 2005. Relaciones de la composición proteinica y mediciones reológicas en masa con la calidad panadera de harinas de trigo. *Rev. Fitotec. Mex.* 28(3): 243-251.
- Johansson, E., Kuktaite, R., Anderson, A and Prieto-Linde, M.L. 2005. Protein polymer build-up during wheat grain development: Influences of temperature and nitrogen timing. *J. Sci. Food Agric.* 85: 473-479.
- Johansson, E., Henriksson, P., Svensson, G., Heneen, W. K. 1993. Detection, chromosomal location and evaluation of the functional value of a novel high Mr glutenin subunit found in Swedish wheats. *J. Cereal Sci.* 17, 237-245.
- / Johansson, E., Nilsson, H., Mazhar, H., Skerrit, J., MacRitchie, F. and Svensson, G. 2002. Seasonal effects on storage proteins and gluten strength in four Swedish wheat cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 82: 1305-1311.
- Johansson, E., Prieto-Linde, M.L. and Jönsson, J.Ö. 2001. Effects of wheat cultivar and nitrogen application on storage protein composition and breadmaking quality. *Cereal Chem.* 78: 19-25.
- Johansson, E., Prieto-Linde, M.L., and Svensson, G. 2004. Influence of nitrogen application rate and timing on grain protein composition and gluten strength in Swedish wheat cultivars. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 167: 345-350.

- ✓ Johansson, E., Prieto-Linde, M.L., Svensson, G. and Jönsson, J.Ö. 2003. Influences of cultivar, cultivation year and fertilizer rate on amount of protein groups and amount and size distribution of mono- and polymeric proteins in wheat. *J. Agric. Sci.* 140: 275-284.
- Kasarda, D. D., Adalsteins, A.E., Laird, N.F. 1987. γ -Gliadins with α -type structure coded on chromosome 6B of the wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar 'Chinese Spring'. Paper presented at: 3rd Workshop on Gluten Proteins.
- Kasarda, D. D., Autran, J. C., Lew, E. J. L., Nimmo, C. C., Shewry, P. R. 1983. N-terminal amino acid sequences of w-gliadins and w-secalins: Implications for the evolution of prolamin genes. *Biochimica et Biophysica Acta* 747, 138-150.
- Kasarda, D. D., Bernardin, J.E., Nimmo, C.C. 1976. *Advances in Cereal Science and Technology*, Vol 1, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.
- Kemp, D. 1976. The influence of cutting frequency and nitrogen fertilizer on the growth of kikuyu grass. *Australian J. Exp. Agric. and Anim. Husb.* 16: 382-386.
- Khatkar, B.S., Bell, A.E. and Schoeffeld, J.D. 1996. A comparative study of the inter-relationships between mixograph parameters and bread-making qualities of wheat flours and glutes. *J. Sci. Food Agric.* 72: 71-85.
- Khatkar, B. S., Fido, R. J., Tatham, A. S. and Schofield, J. D. 2002. Functional properties of wheat gliadins. I. Effects on mixing characteristics and bread making quality. *J. Cereal Sci.* 35, 299-306.
- ✓ Kleffer, R., and Stein, N. 1999. Demixing in wheat doughs-Its influence on dough and gluten rheology. *Cereal Chem.* 76(5): 688-693.
- Kleffer, R., Wieser, H., Henderson, M.H. and Graveland, A. 1998. Correlations of the breadmaking performance of wheat flour with rheological measurements on a micro-scale. *J. Cereal Sci.* 27: 53-60.
- Lafandra, D., Masci, S., D'Ovidio, R. And Margiotta, B. 2000. The genetics of wheat gluten proteins: an overview. In: *Wheat Gluten*. Shewry, P.R. and Tatham, A.S. (eds). Royal Society of Chemistry. MPG books Ltd, Bodmin, Cornwall, UK. pp: 3-9.
- Larroque, O. R., Gianibelli, M.C., Batey, I.L., MacRitchie, F. 1996. Identification of elution subfractions from the first peak in SE-HPLC chromatograms of wheat

storage protein. Paper presented at: 6th International Gluten Workshop, Cereal Chemists Division, Royal Australian Chemical Institute, North Melbourne, Australia.

Lelievre, J., Lorenz, K., Meredith, P., and Barush, D.W. 1987. Effects of starch particle size and protein concentration on bread-making performance. *Stärke/Stärke* 39:347-352.

Létang, C., Plau, M. and Verdier, C. 1999. Characterization of wheat flour-water doughs. Part I: rheometry and microstructure. *Journal of Food Engineering* 41, 121-132.

Lookhart, G.L., Hagman, K. and Kasarda, D.D. 1993. High-molecular-weight glutenin subunits of the most commonly grown wheat cultivars in the U.S. In 1984. *Plant Breeding* 110: 48-62.

Lundh, G., and MacRitchie, F. 1989. Size-exclusion-HPLC characterization of gluten protein fractions varying in bread making potential. *J. Cereal Sci.* 10: 247-253.

MacRitchie, F. 1984. Baking quality of wheat flours. *Advances in Food Nutrition Research* 29: 201-277.

MacRitchie, F. 1992. Physicochemical properties of wheat proteins in relation to functionality. *Adv. Food Nutr. Res.* 36: 1-87.

MacRitchie, F. 1999. Wheat proteins: characterization and role in flour functionality. *Cereal Foods World* 44, 188-193.

MacRitchie, F. 2003. Fundamentals of dough formation. *Cereal Foods World* 48:173-176.

MacRitchie, F., duCros, D.L., Wrigley, C.W. 1990. Flour polypeptides related to wheat quality. In *Advances in Cereal Science and Technology*, Y. Pomeranz, (ed). St. Paul, USA, American Association of Cereal Chemists. pp: 79-145.

MacRitchie, F. and Singh, H. 2004. Polymer concepts applied to gluten behavior in dough. Paper presented at: 8th Gluten Workshop, 8-10 September, 2003, Viterbo, Italy.

Mallhot, W.C. and Patton, J.C. 1988. Criteria of flour quality. In: *Wheat Chemistry and Technology*. Pomeranz, Y. (ed). AACC. St. Paul, MN. pp: 69-81.

Masci, S., Lew, E.J.L., Lafandra, D., Porceddu, E., Kasarda, D.D. 1995. Characterization of low molecular weight subunits in durum wheat by reversed-

phase high-performance liquid chromatography and N-terminal sequencing. *Cereal Chem.* 72, 100-104.

- ✓ **Marchylo, B.A., Kruger, J.E. and Hatcher, D.W. 1989.** Quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of wheat storage proteins as a potential quality prediction tool. *J. Cereal Sci.* 9: 113-130.
- Marchylo, B.A., Kruger, J.E. and Hatcher, D.W. 1999.** Quantitative analysis of HMW glutenin subunits by RP-HPLC. In: *Gluten Proteins*. Bushuk, W, and Tkachuk, R. (eds). AACC, St. Paul, MN. pp: 334-348.
- Mesdag, J. 1985.** Developments in breeding winter wheat for bread-baking quality in some north-western European countries. *Netherland Journal of Agricultural Sciences* 33: 215-234.
- Morrison, W. R. 1988.** Lipids. In: *Wheat: Chemistry and Technology*, Pomeranz, Y. (ed). St. Paul, MN. American Association of Cereal Chemists. pp: 373-439.
- Müller, S., Vensel, W. H., Kasarda, D. D., Köhler, P., and Wieser, H. 1998.** Disulphide bonds of adjacent cysteine residues in low molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 27: 109-116.
- Müller, S. and Wieser, H. 1995.** Disulphide bonds of alfa-type gliadins. *J. Cereal Sci.* 22: 21-27.
- Müller, S. and Wieser, H. 1997.** The location of disulphide bonds in monomeric gamma-gliadins. *J. Cereal Sci.* 26, 169-176.
- Osborne, T.B. 1907.** The proteins of the wheat kernel publ. No. 84, Carnegie Inst., Washington, D.C.
- Payne, P.I., Holt, L.M., Jackson, E.A. and Law, C.N. 1984.** Wheat storage proteins: Their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B* 304: 359-371.
- Payne, P.I., Nightingale, M.A., Kraftiger, A.F. and Holt, L.M. 1987.** The relationship between HMW glutenin subunit composition and the breadmaking quality of British-grown wheat varieties. *J. Sci. Food Agric.* 40: 51-65.
- Payne, P. I., Roberts, M. S., and Holt, L. M. 1986.** Location of genes controlling the D group of LMW glutenin subunits on the chromosome 1D of bread wheat. *Genet. Res.* 47:175-179.

- Pomeranz, Y. 1987. *Modern Cereal Science and Technology*. VCH Publishers, Inc. Washington, D.C. pp: 15.
- Pomeranz, Y. 1988. Composition and functionality of wheat flour components. In: *Wheat: Chemistry and Technology*. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN., pp: 219-370.
- Randall, P. J., Moss, H.J. 1990. Some effects of temperature regime during grain filling on wheat quality. *Australian Journal of Agricultural Research* 41: 603-617.
- Rousset, M., Carrillo, J.M., Qualset, C.O. and Kasarda, D.D. 1992. Use of inbred recombinant lines of wheat for study of associations of high-molecular-weight glutenin subunit alleles to quantitative traits. 2. Milling and breadbaking quality. *Theor. Appl. Genet.* 83: 403-412.
- Sapirstein, H. D., Fu, B. X. 1998. Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin, and residue protein in wheat flour and relationships to breadmaking quality. *Cereal Chem.* 75, 500-507.
- SAS Institute Inc., 2001. *SAS/STAT User's Guide*, Version 6. 4th. ed., Vol 1 and 2. Cary, NC.
- Schofield, J. D. and Booth, M. R. 1983. Wheat proteins and their technological significance. In: *Developments in food proteins.*, Hudson, B. J. F., (ed), London, Applied Science Publishers, pp: 1-65.
- Serna-Saldívar, S.R.O., 1996. *Química, Almacenamiento e Industrialización de los Cereales*. AGT editor, S.A., México, D.F., pp: 375-393.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., Tatham, A. S. 1992. High molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 15: 105-120.
- Shewry, P. R., and Tatham, A. S. 1990. The prolamin storage proteins of cereal seeds: structure and evolution. *Journal of Biochemistry*, 1-12.
- Shewry, P. R. and Tatham, A. S. 1997. Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.* 25: 207-227.
- Shewry, P. R. and Tatham, A. S. 2000. Wheat gluten. Paper presented at: 7th International Workshop of Gluten. University of Bristol.
- Shewry, P. R., Tatham, A.S., Forde, J., Kreis, M., Mifflin, B.J. 1986. The classification and nomenclature of wheat gluten proteins: a reassessment. *J. Cereal Sci.* 4: 97-106.

- Singh, H., Donovan, R. Batey, I.L. and MacRitchie, F. 1990a.** Use of sonication and size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins. I. Dissolution of total proteins in the absence of reducing agents. *Cereal Chem.* 67: 161-170.
- Singh, H., Donovan, R. and MacRitchie, F. 1990b.** Use of sonication and size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins. II. Relative quantity of glutenin as a measure of breadmaking quality. *Cereal Chem.* 67: 161-170.
- Singh, H., and MacRitchie, F. 2001.** Application of polymer science to properties of gluten. *J. Cereal Sci.* 33: 231-243.
- Soulaka, A. B., Morrison, W. R. 1985.** The amylose and lipid contents, dimensions, and gelatinization characteristics of some wheat starches and their A- and B- granule fraction. *J. Sci. Food Agric.* 36: 709-718.
- Tatham, A.S., Shewry, P.R., Belton, P.S. 1990.** Structural studies of cereal prolamines, including wheat gluten. In *Advances in Cereal Science and Technology*, Pomeranz, Y., (ed). American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Triboř, E., Michelena, A., Lloveras, J., Ollier, J.L., and Daniel, C. 2000.** Environmental effects on the quality of two wheat genotypes. I. Quantitative and qualitative variation of storage proteins. *European J. of Agron.* 13: 47-64.
- Uthayakumaran, S., Gras, P. W., Stoddard, F. L. and Bekes, F. 1999.** Effect of varying protein content and glutenin-to-gliadin ratio on the functional properties of wheat dough. *Cereal Chem.* 76: 389-394.
- Vasil, I.K., Bean, S., Zhao, J., McCluskey, P., Lookhart, G., Zhao, H. P., Altpeter, F., and Vasil, V. 2001.** Evaluation of baking properties and gluten protein composition of field grown transgenic wheat lines expressing high molecular weight glutenin gene 1Ax1. *J. Plant Physiol.* 158: 521-528.
- Wall, J. S. 1979.** The role of wheat proteins in determining baking quality. In: *Recent Advances in the Biochemistry of Cereals*. Laidman, D. L., and Wyn Jones. R. G., (eds). London, New York, Academy, pp: 275-311.
- Weegels, P.L., Hamer, R.J. and Schofield, J.D. 1995.** RP-HPLC and capillary electrophoresis of subunits from glutenin isolated by SDS and Osborne fractionation. *J. Cereal Sci.* 22: 211-224.

- Weegels, P.L., Hamer, R.J. and Schofield, J.D. 1996. Functional properties of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 23: 1-18.
- Werner, S., Belitz, H-D. and Wueser, H. 1999. Studies of glutenin subunits from different wheat varieties. In: *Gluten Proteins*. Bushuk, W, and Tkachuk, R. (eds), AACC, St. Paul, MN. pp: 287-295.
- Wieser, H., Seilmeler, W., and Kieffer, R. 1994. Relationship between the amount of gluten protein types and the rheological properties of different wheat cultivars. In: *Gluten Proteins 1993*. Assoc. Cereal Res. Detmold, Germany: Assoc. of Cereal Research, pp: 141-150.
- Woychik, J. H., Boundy, J. A., and Dimler, R. J. 1961. Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea. *Archival Biochemistry and Biophysics* 94:477-482.
- Wrigley, C. W. 1996. Giant proteins with flour power. *Nature* 381: 738-739.
- Zhu, J., and Khan, K. 2001. Effects of genotype and environment on glutenin polymers and breadmaking quality. *Cereal Chem.* 78: 125-130.

- Weegels, P.L., Hamer, R.J. and Schofield, J.D. 1996. Functional properties of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.* 23: 1-18.
- Werner, S., Belitz, H-D. and Wueser, H. 1999. Studies of glutenin subunits from different wheat varieties. In: *Gluten Proteins*. Bushuk, W, and Tkachuk, R. (eds), AACC, St. Paul, MN. pp: 287-295.
- Wieser, H., Seilmeier, W., and Kieffer, R. 1994. Relationship between the amount of gluten protein types and the rheological properties of different wheat cultivars. In: *Gluten Proteins 1993*, Assoc. Cereal Res. Detmold, Germany: Assoc. of Cereal Research. pp: 141-150.
- Woychik, J. H., Boundy, J. A., and Dimler, R. J. 1961. Starch gel electrophoresis of wheat gluten proteins with concentrated urea. *Archival Biochemistry and Biophysics* 94:477-482.
- Wrigley, C. W. 1996. Giant proteins with flour power. *Nature* 381: 738-739.
- Zhu, J., and Khan, K. 2001. Effects of genotype and environment on glutenin polymers and breadmaking quality. *Cereal Chem.* 78: 125-130.