

CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD QUERÉTARO

Modelos de relajación de esfuerzos y *creep* en grano y masa de trigo,
y su relación con sus propiedades viscoelásticas y funcionales.

Tesis que presenta

Zorba Josué Hernández Estrada

para obtener el Grado de

Doctor en Ciencias

en la Especialidad de

Materiales

Director de la Tesis:

Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas

Santiago de Querétaro, Qro.

(Diciembre de 2013)

CINVESTAV
IPN
ADQUISICION
LIBROS

CLASIF.. CQ 2223
ADQUIS.. AQ-223-1
FECHA: 01-02-2000
PROCED.. 00-200
\$ _____

ID: 216303-2001

AGRADECIMIENTOS

Al CINVESTAV Querétaro, por la formación e instalaciones brindadas.

Al CONACyT por la beca proporcionada para la continuación de mis estudios de doctorado.

Al CIMMyT, en especial al laboratorio de calidad de cereales por las facilidades brindadas para este presente trabajo.

A Oklahoma State University, en especial al Robert M. Kerr Food & Agricultural Products Center, por las facilidades prestadas para realizar parte de la experimentación y apoyo para este trabajo.

Al Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas, quien motivó este proyecto.

A mi comité de Tesis: Dra. Patricia Rayas Duarte, Gerónimo Arámbula, Dr. J. Gabriel Luna Bárcenas, Dr. Héctor Eduardo Martínez Flores, por sus valiosas aportaciones, observaciones y tiempo dedicado.

Al CICATA, en específico al Dr. Eduardo Morales Sánchez por su colaboración en algunas pruebas reométricas.

Al M.C. José Juan Veles Medina por su asistencia y ayuda en el laboratorio.

A familiares y amigos que me apoyaron en todo momento.

Contenido

Índice de figuras	v
Índice de tablas.....	ix
Resumen.....	xi
Abstract	xiii
I. Introducción	1
1.1. Importancia del trigo	1
1.1.1. Producción de trigo en el mundo y en México	1
1.1.2. Comercialización del trigo en México	2
1.2. Proteínas del trigo.....	3
1.2.1. Importancia de las proteínas del trigo	3
1.2.2. Clasificación de las proteínas del trigo	4
1.3 Modelo del comportamiento reológico de soluciones de polímeros	13
1.4. Conceptos básicos de reología	17
1.4.1. Sistemas biológicos y propiedades mecánicas	18
1.4.2. Pruebas reológicas tradicionales de la masa de trigo	21
1.4.3. Pruebas reológicas fundamentales	23
II. Justificación	25
III. Objetivos.....	27
3.1. General	27
3.2. Particulares	27
IV. Materiales y métodos.....	29
4.1. Material vegetativo	30

4.1.1. Material vegetativo para pruebas de trigo en grano (relajación de esfuerzos y <i>creep</i>)	30
4.1.2. Material vegetativo para la prueba en masa.....	32
4.2. Caracterización tradicional	33
4.2.1. Proteína de la harina	33
4.2.2. Caracterización de gluteninas.....	33
4.2.3. Volumen de Sedimentación (SDS)	34
4.2.4. Farinógrafo.....	35
4.2.5. Alveógrafo de Chopin	36
4.2.6. Mixógrafo de Swanson	38
4.2.7. Calidad panadera	39
4.3. Métodos para medición de las pruebas mecánicas de trigo en grano	40
4.3.1. Trabajo elástico y plástico	41
4.3.2. Relajación de esfuerzos y el modelo generalizado de Maxwell	41
4.3.3. Método de la prueba de <i>creep</i> en granos de trigo	43
4.3.4. Pruebas en masa de trigo (<i>creep</i> y recuperación).....	47
4.3.4.1 Mediciones de <i>creep</i> y recuperación	47
4.4. Análisis estadístico	50
V. Resultados y discusión	51
5.1. Relajación de esfuerzos en granos de trigo.....	51
5.1.1. Propiedades viscoelásticas del grano de trigo.....	51
5.1.2. Selección del modelo.....	52
5.1.3. Influencia de las gluteninas en las propiedades fisicoquímicas, reológicas y mecánicas del trigo.....	53

5.1.4. Efecto de la composición de gluteninas de bajo y alto peso molecular en el comportamiento viscoelástico del trigo en la relajación de esfuerzos.....	54
5.1.5. Relación entre los coeficientes de relajación de esfuerzos y calidad indicada como volumen de sedimentación y propiedades reológicas.	60
5.1.6. Conclusiones	63
5.2. Prueba de <i>creep</i> en granos de trigo	65
5.2.1. Selección de la fuerza en compresión y modelo para la evaluación del <i>creep</i>	67
5.2.3. Efecto de las SG-APM y SG-BPM en la comportamiento dependiente del tiempo de la curvas de complianza del trigo en grano	68
5.2.4. Comparación de los coeficientes de <i>creep</i> de los loci de Glu-1 y Glu-3 estimados utilizando el modelo generalizado de Kelvin-Voigt.	71
5.2.5. Relación de los coeficientes de la prueba de <i>creep</i> y la calidad del trigo ...	73
5.2.6. Conclusiones	76
5.3. <i>Creep</i> y recuperación en masa de trigo.	77
5.3.1. Selección de las condiciones para evaluar la viscoelasticidad (lineal) en masa.	78
5.3.2. Parámetros de calidad tradicional del trigo por subunidad de glutenina de alto peso molecular.	79
5.3.3. Efecto de las SG-APM en las propiedades viscoelásticas de la masa medidas por <i>creep</i>	80
5.3.4. Efecto de las SG-APM en las propiedades viscoelásticas de la masa en la recuperación del <i>creep</i>	84
5.3.5. Correlaciones de Pearson entre la calidad tradicional y los coeficientes de <i>creep</i> en masa de trigo	85
5.3.6. Conclusiones	88

VI. Conclusiones generales.....	89
VII. Bibliografía	93
Apendices	103
Apendice A.....	103
Apendice B. Definición de términos relacionados con las propiedades mecánicas ..	104
Anexos.....	111
Anexo A. Listado de artículos publicados	111
Anexo B. Artículos publicados	

Índice de figuras

Figura 1. Producción mundial de trigo y principales países productores (2011).	1
Figura 2. Clasificación del trigo con base a la calidad del gluten según los alveógramas requeridos por la industria harinera y de la panificación en los diferentes usos.	2
Figura 3. Estructura de a) gliadinas y SG-BPM. b) SG-APM.	7
Figura 4. Subunidades de glutenina de BPM identificadas por SDS-Page en dos pasos. .	8
Figura 5. Modelo molecular computacional de una cadena central de una SG-APM.	9
Figura 6. Variación alélica de las SG-APM en sus tres genomas, basada en las fracciones de SDS-PAGE, y su relación con la calidad panadera.	10
Figura 7. Factores que influyen en la reología de la masa de trigo.	12
Figura 8. Diagrama del modelo propuesto para los entrecruzamientos de las redes de polímeros de APM durante la tensión.	14
Figura 9. Efecto del peso molecular en el módulo elástico dinámico transversal para soluciones de poliestireno.	15
Figura 10. Modelo esquemático de la estructura de los polímeros de las SG-APM, basado en el mapeo de los enlaces disulfuro.	16
Figura 11. Clasificación de los materiales de acuerdo a su comportamiento reológico.	17
Figura 12. Pruebas reológicas utilizadas para evaluar las propiedades del trigo.....	19
Figura 13. Equipos utilizados en la evaluación de las propiedades reológicas del trigo (de izquierda a derecha infrarrojo cercano, alveógrafo, farinógrafo, reómetro).	21
Figura 14. Alveograma típico de una masa de trigo.....	22
Figura 15. Pruebas para determinar la viscoelasticidad de los materiales.....	24
Figura 16. Esquema general de la metodología para la caracterización reológica del trigo en grano y en masa.	29
Figura 17. Equipo para determinación de proteína. A) Infratec 1255 NIR. B) digestor de Kjeldahl.....	33

Figura 18. Identificación de subunidades de glutenina en gel electroforético SDS page.	34
Figura 19. Farinograma típico de una masa de trigo.....	35
Figura 20. Esquema de trazado de alveógrama.....	37
Figura 21. Mixograma típico de un amasado de una harina de trigo.	38
Figura 22. Medición de las dimensiones del grano de trigo (A); medición de la fuerza en texturómetro (B y C), medición del área de contacto en ImageJ (D).	40
Figura 23. Prueba de relajación de esfuerzos aplicada a granos de trigo	42
Figura 24. Representación mecánica del modelo generalizado de Maxwell.....	42
Figura 25. Prueba de <i>Creep</i> aplicada a granos de trigo.....	44
Figura 26. Representación mecánica del modelo generalizado de Kelvin-Voigt.	44
Figura 27. Equipo empleado para la prueba de <i>creep</i> y recuperación. De izquierda a derecha farinógrafo E, prensa y reómetro.	48
Figura 28. Transformación de las curvas de deformación a curvas de recuperación de la prueba de recuperación.	49
Figura 29. Modelo generalizado para la recuperación.	49
Figura 30. Curva típica de la relajación de esfuerzos, indicando los elementos del modelo generalizado de Maxwell.	52
Figura 31. Curvas de relajación de esfuerzos por A) SG-APM y B) SG-BPM.....	59
Figura 32. Relación del tiempo de relajación τ_3 con el volumen de sedimentación y tiempo de mezclado.....	63
Figura 33. Curva de <i>creep</i> , con un modelo de generalizado de Kelvin-Voigt de 8 elementos. D_0 complianza puramente elástica D_1 , D_2 complianza de los elementos de Kelvin y η_0 viscosidad.....	66
Figura 34. Curvas de <i>creep</i> a 80 N y 70 N de fuerza.	67
Figura 35. Curvas de <i>creep</i> generadas a partir de la media de los coeficientes de regresión por subunidad de glutenina de A) alto y B) bajo peso molecular en granos de trigo intactos.	69
Figura 36. Correlación entre la complianza D_2 y coeficiente de viscosidad μ_2 de granos de trigo.....	75

Figura 37. Curva típica de la prueba de <i>creep</i> y recuperación	77
Figura 38. Curvas de <i>creep</i> de masa desarrollada a diferentes esfuerzos. A) masa analizada inmediatamente después de preparación. B) muestra relajada por 40 min, y con aceite para el análisis.	79
Figura 39. Curvas de <i>creep</i> y recuperación por subunidad de glutenina.....	82
Figura 40. Localización de genes para la síntesis de proteínas del trigo. El brazo largo de cada cromosoma ("L") se extiende hacia la izquierda, conteniendo solo el Glu-1 a la izquierda del (círculo) centrómero (Békés <i>et al.</i> , 2004).	103
Figura 41. Componentes de fuerza por unidad de área dA , con orientación normal en las direcciones x, y, z	106
Figura 42. Ejemplo del cálculo de diferentes módulos.	107
Figura 43. Curva típica de <i>creep</i> ejemplificando las tres fases.....	109

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación, y funcionalidad de las proteínas del trigo.....	5
Tabla 2. Valores de calidad del trigo por subunidad de glutenina.....	11
Tabla 3. Composición de subunidades de glutenina de bajo y alto peso molecular de 36 líneas de trigo por alelo.....	31
Tabla 4. Composición de las gluteninas de alto peso molecular para 19 líneas de trigo rojo duro de invierno.....	32
Tabla 5. Ingredientes para panificación método AACC 10-09.....	39
Tabla 6. Valores de F para el análisis de varianza en una sola dirección de las características fisicoquímicas del trigo por locus de SG de BPM y APM.....	54
Tabla 7. Valores de F del análisis de varianza en una sola dirección para los coeficientes de esfuerzos y tiempos de relajación por locus de gluteninas de bajo y alto peso molecular.....	55
Tabla 8. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Maxwell para la relajación de esfuerzo por subunidades de glutenina.....	57
Tabla 9. Coeficientes de correlación de los parámetros de relajación de esfuerzos de trigo en grano vs. volumen de sedimentación, reología de la masa y propiedades mecánicas del trigo en grano (N=36).....	61
Tabla 10. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Kelvin-Voigt para la prueba de <i>creep</i> por subunidad de glutenina de alto y bajo peso molecular.....	70
Tabla 11. Coeficientes de correlación entre los coeficientes del <i>creep</i> y parámetros de calidad del trigo utilizando volumen de sedimentación y propiedades reológicas.....	74
Tabla 12. Parámetros de calidad tradicional del trigo por SG-APM.....	80
Tabla 13. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Kelvin-Voigt para la prueba de <i>creep</i> por SG-APM.....	81
Tabla 14. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Kelvin-Voigt para la fase de recuperación de la prueba de <i>creep</i> por SG-APM.....	83

Tabla 15. Coeficientes de correlación de Pearson entre los indicadores empíricos de calidad y coeficientes de <i>creep</i> en masa de trigo.	87
Tabla 16. Proteínas del gluten, la localización de sus genes en los cromosomas y la formación de enlaces β sulfuro.	103

Resumen

Se estudiaron 36 líneas de trigo en grano y 19 líneas en masa, y su composición de subunidades de gluteninas de bajo y alto peso molecular (SG-BPM, -APM), determinando su relación entre la viscoelasticidad de los granos de trigo y sus características fisicoquímicas, reológicas y de calidad panadera. Se analizó la relajación de esfuerzos en granos de trigo utilizando el modelo generalizado de Maxwell con 4 unidades de Maxwell ($R^2 > 0.999$). La prueba sugirió dos fases de relajación: una a tiempos cortos de 1 a 10 s (τ_1 y τ_2), y otra a tiempos largos de 50 a 450 s (τ_3 y τ_4). Los tiempos largos de relajación se asociaron con la calidad y propiedades mecánicas; mientras que los tiempos cortos se correlacionaron con las propiedades mecánicas de y de amasado. El tiempo de relajación τ_3 fue mayor para genotipos con mayores volúmenes de sedimentación y tiempos de mezclado largos. Los genotipos con τ_3 de 45-60 s presentaron combinaciones de SG-BPM y SG-APM asociadas a buena calidad panadera. Los genotipos con tiempos de relajación y amasado cortos y bajos volúmenes de sedimentación contenían: *Glu-A1* null, *Glu-B3* j(1B/1R), y *Glu-A3* e. En relación a la prueba de *creep* en granos de trigo, ésta presentó la ventaja para calcular la parte puramente viscosa, utilizando el modelo generalizado Kelvin-Voigt con dos unidades de Kelvin ($R^2 \approx 0.94$). Las SG-BPM mostraron que el locus *Glu-A3* presentó gran influencia en los coeficientes del *creep*, seguido de *Glu-B3*. Los módulos elásticos y la viscosidad fueron altos en combinaciones de alélicas de SG-BPM y SG-APM de buena calidad, comparadas con los grupos de baja calidad panadera. El *Glu-A1* nulo presentó menor módulo elástico comparado con *Glu-A1* 1 and 2*. El módulo elástico, especialmente E_0 se correlacionó positivamente con el volumen de sedimentación y las propiedades reológicas. En las líneas estudiadas en masa totalmente desarrollada se analizó el efecto de las SG-APM en la viscoelasticidad por medios del *creep* y recuperación a grandes deformaciones. La tendencia de la complianza del *creep* en granos y en masa fue similar. Los módulos de elasticidad transversal en masa G_0 , G_1 y G_2 se correlacionaron con el volumen de pan. *Glu-D1* 5+10 mostró mayor G_0 , G_1 y G_2 comparado con *Glu-D1* 2+12. *Glu-B1* 17+18 presentó mayores módulos de elasticidad comparado con 7+8 and 7+9. La viscosidad η_0 en la masa mostró mayores valores comparados con η_1 y η_2 . Las viscosidades η_0 , η_1 y η_2 fueron altas en *Glu-D1* 5+10 y 17+18. La viscosidad η_1 se correlacionó con: la extensibilidad, G and P/L. Los métodos reológicos fundamentales desarrollados en esta investigación fueron adecuados para la caracterización de trigo en grano y propiedades funcionales de la masa. La metodología es factible, fácil, rápida y no destructiva. Por lo tanto, la caracterización puede ser utilizada en programas de mejoramiento así como en la industria de la panificación, complementando las pruebas utilizadas a la fecha.

Palabras claves: Trigo, creep, relajación de esfuerzos viscoelasticidad, calidad.

Abstract

Thirty six wheat kernel lines and 19 doughs of high and low molecular weight glutenin subunits (HMW- and LMW-GS), were used to determine the relationship among viscoelasticity of wheat kernels and physicochemical, rheological and bread making quality. Stress relaxation of kernels using 4-element Maxwell model ($R^2 > 0.999$) was used. Stress relaxation on kernels suggests two relaxation phases, at shorter times of 1 to 10 s (τ_1 and τ_2) and longer times of 50 to 450 s (τ_3 and τ_4). Longer relaxation time (RT) was associated with quality and rheological properties; while shorter RT was correlated with kernel mechanical properties and dough mixing. The τ_3 was high for genotypes of good quality with high sedimentation volume (SDSS) and long mixing time. Genotypes with 45-60 s of τ_3 usually had HMW-GS and LMW allelic associated with good quality. Genotypes with short relaxation and mixing times and poor SDSS were *Glu-A1* null, *Glu-B3 j 1B/1R*, and with *Glu-A3 e*. Regarding creep tests in kernels, the main advantage of creep compliance tests is that the viscous element can be estimated by using the Kelvin–Voigt models with two exponential terms ($R^2 \approx 0.94$). LMW-GS showed that locus *Glu-A3* had highest influence on creep coefficients followed by *Glu-B3*. Higher elastic moduli and viscosity were found in HMW-GS and LMW-GS of good quality compared to poor quality performance genotypic groups. *Glu-A1* null presented lower elastic modulus and viscosity compared to *Glu-A1* 1 and 2*. Elastic moduli, especially E_0 were positively correlated with SDSS and rheological properties. Effects of HMW proteins on creep and recovery viscoelasticity of fully developed dough at large strains were also investigated. Creep compliance of kernels and dough show similar tendency. Dough elasticity G_1 and G_2 of HMW-GS correlated with quality while shear modulus G_0 seems to contribute in a less extent. *Glu-D1* 5+10 showed higher elasticity G_0 , G_1 and G_2 compared to *Glu-D1* 2+12. *Glu-B1* 17+18 showed higher elasticity for G_0 , G_1 and G_2 compared to 7+8 and 7+9. Viscosity η_0 in dough showed higher correlation than viscosities η_1 and η_2 . Viscosities η_0 , η_1 and η_2 were higher in *Glu-D1* 5+10 and 17+18. Creep viscosity η_1 seems to play minor role but are important in extensibility, G and P/L. Fundamental rheological methods developed in this research were well suited for the characterization of wheat kernels and functional dough properties. The methodology is reliable, easy, rapid, and nondestructive. Therefore, characterization can be useful in breeding programs as well as bread industry complementing the information from characterization tests performed at the present time.

Keywords: wheat, creep, stress relaxation, viscoelasticity, quality.

I. Introducción

1.1. Importancia del trigo

1.1.1. Producción de trigo en el mundo y en México

El grano de trigo es una de las principales fuentes de calorías y proteínas de la población mundial (Chaves *et al.*, 2013); y representa un importante componente de la dieta humana, debido a su capacidad de adaptación agronómica en diferentes ambientes, lo que lo hace disponible a la población, además de tener la facilidad de almacenarse en grano, el cual a su vez puede transformarse en harina para la fabricación de alimentos comestibles, de sabor agradable y satisfactorio. Las masas producidas a partir de harina de trigo se diferencian de la de otros cereales en sus propiedades viscoelásticas únicas (Curtis, 2002).

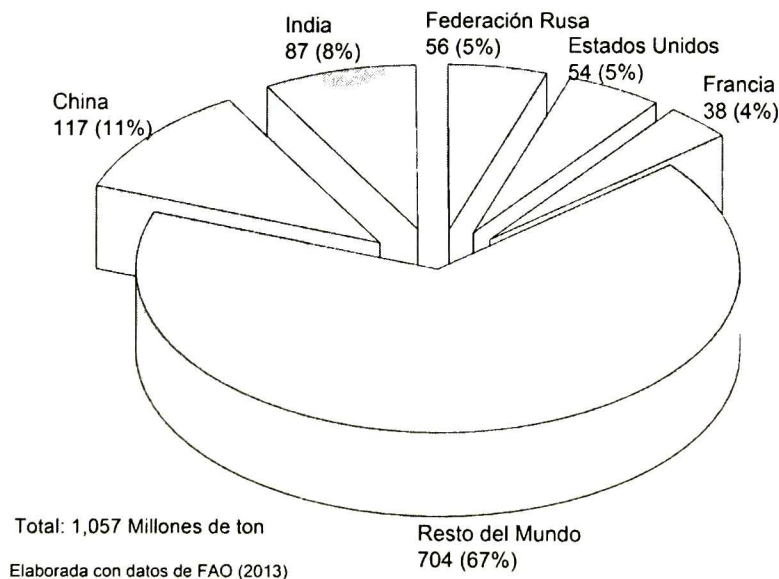


Figura 1. Producción mundial de trigo y principales países productores (2011).

En el 2011 se cosecharon 1,057 millones de ton de trigo en grano en el mundo (Figura 1), siendo China el principal productor con una producción de 117 millones de ton, seguido de India, la Federación Rusa, Estados Unidos y Francia; estos 5 países produjeron el 50% del total (FAO, 2013). México en el mismo año tuvo una producción de trigo en grano de 2,475,303 ton cosechadas en una superficie de 401,882 ha (SAGARPA, 2013). Sin embargo, el consumo de trigo en el país es de alrededor de 7 millones de toneladas anuales por lo que se ha importado, el trigo faltante, principalmente de Estados Unidos y Canadá.

1.1.2. Comercialización del trigo en México

En México el trigo para su comercialización se clasifica de acuerdo la Norma Mexicana (NMX-FF-036-1996) en: trigo panificable (*Triticum aestivum* L.), que es el trigo que se utiliza en la elaboración de harinas para pan, galletas, tortillas y otros, en el cual se identifican cuatro grupos (grupo 1, 2, 3 y 4), de acuerdo a las características de calidad del gluten y no panificable (*Triticum durum* Desf.) del grupo 5 que se destina a la elaboración de pastas como se observa en la Figura 2.

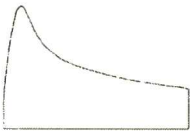
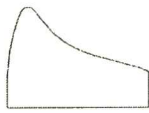



				
Gluten fuerte y elástico para la industria mecanizada de la panificación. Mejoradores de trigos débiles en los molinos.	Gluten medio fuerte y elástico. Para la industria mecanizada de la panificación. Mejoradores de trigos débiles en los molinos.	Gluten débil suave, extensible. Para la industria galletera.	Gluten corto tenaz. Para la industria pastelera y galletera.	Gluten corto tenaz. Para la industria de las pastas y macarrones.

Figura 2. Clasificación del trigo con base a la calidad del gluten según los alveógramas requeridos por la industria harinera y de la panificación en los diferentes usos.

1.2. Proteínas del trigo

1.2.1. Importancia de las proteínas del trigo

De todos los cereales, el trigo es único, porque su harina tiene la habilidad de formar una masa con las propiedades reológicas necesarias para la producción de panes leudados y una gran diversidad de alimentos como: panes no leudados, pastas, tallarines, galletas, (Veraverbeke y Delcour 2002), y tortillas, todos estos productos desarrollados para tomar ventaja de las cualidades del trigo. Las propiedades únicas del trigo residen principalmente en la formación de gluten a partir de las proteínas de almacenamiento del endospermo. En general son las propiedades viscoelásticas de la masa las responsables de que el trigo sea una de las más importantes fuentes de proteínas en la dieta del hombre (Gianibelli *et al.*, 2001).

Para la elaboración de pastas se utilizan trigos duros tetraploides (*Triticum durum* Desf.), el producto de su molienda es llamado semolina (Delcour *et al.*, 2012). Para la panificación se utiliza harina elaborada a partir de trigos hexaploides con tres genomas AABBDD de la especie *Triticum aestivum* L. (Delcour *et al.*, 2012; Veraverbeke y Delcour 2002), que son especies reconocidas como trigo común panadero, que en Norteamérica se dividen en variedades duras (o fuertes) y suaves, basado en la fuerza requerida para romper el grano de trigo. Los trigos fuertes (10-14% de proteína), son utilizados principalmente en panificación, y los trigos suaves (8-10% de proteína) para pasteles, galletas dulces y/o saladas. El uso más común de las proteínas del gluten es como componente de la harina de trigo empleada para panificación, que determina la calidad del volumen de pan (Delcour *et al.*, 2012).

1.2.2. Clasificación de las proteínas del trigo

Las proteínas de los cereales son clasificadas, generalmente, con base a su solubilidad en diferentes solventes siguiendo una extracción secuencial con el procedimiento, el cual fue originalmente desarrollado por Osborne en 1924, y presenta pequeñas variaciones para aislar diferentes fracciones de proteína de trigo. Alternativamente las proteínas del trigo son clasificadas por funcionalidad (Delcour *et al.*, 2012)

1.2.2.1. Clasificación de las proteínas del trigo basada en su solubilidad

Esta clasificación de las proteínas de las plantas, está basada en una extracción secuencial en los solventes siguientes: (1) agua, (2) soluciones salinas diluidas, (3) alcohol, (4) soluciones ácidas o alcalinas diluidas. Utilizando este esquema las proteínas del trigo se clasifican en albúminas, globulinas, gliadinas y gluteninas (Tabla 1). Adicionalmente se tiene una fracción significativa de proteínas de trigo no extraíble (al menos con los solventes mencionados). Sin embargo esta clasificación de Osborne no proporciona una clara separación entre las proteínas para poder diferenciarlas bioquímica, genéticamente o en funcionalidad durante la elaboración de pan. Actualmente los nombres gliadinas y gluteninas son generalmente usados para indicar la relación bioquímica/funcional para la panificación (Goesaert *et al.*, 2005).

1.2.2.2. Clasificación de las proteínas en base a su funcionalidad

Las proteínas de los granos de trigo se pueden dividir en dos grandes grupos: las proteínas del gluten, que son las de mayor importancia para la panificación (Goesaert *et al.*, 2005) y aquellas no formadoras de gluten. Estas últimas representan el 15-20% del contenido total, son extraíbles en agua y soluciones salinas diluidas, encontrándose fracciones de albúmina y globulina (Tabla 1). Estas últimas proteínas son mayormente monoméricas con pesos moleculares menores a 25,000 Da (Veraverbeke y Delcour

2002), son fisiológicamente activas o estructurales, y físicamente se encuentran principalmente en las capas exteriores del grano de trigo. Existen además un pequeño grupo de proteínas poliméricas (globulinas) de almacenamiento llamadas tritricinas, las cuales se encuentran fuera de la clasificación de Osborne y su papel en la panificación no está claro (Veraverbeke y Delcour 2002).

Tabla 1. Clasificación, y funcionalidad de las proteínas del trigo ^a.

Fración de Osborne	Solvente	Composición	Función biológica	Funcionalidad
Albúminas	Agua	Proteínas no del gluten (monoméricas)	Metabólico y estructural	Variable
Globulinas	Sol. Salina diluida	Proteínas no del gluten (monoméricas)	Metabólico y estructural	Variable
Gliadinas	Alcohol	Proteínas del gluten (gliadinas monoméricas, G-BPM poliméricas)	Prolaminas de almacenamiento	Viscosidad/plasticidad de la masa
Glutenina	Ácido acético	Proteínas del gluten (G-APM poliméricas)	Prolaminas de almacenamiento	Elasticidad/tenacidad de la masa
Residuo	No extraíbles	Proteínas del gluten (G-APM) y poliméricas no del gluten (tritricinas)	Prolaminas de almacenamiento y globulinas (tritricinas) de almacenamiento	variable

^a: (Adaptada de Goesaert *et al.*, 2005).

Las proteínas del gluten se denominan proteínas de almacenamiento, constituyen alrededor del 80-85% del total y pertenecen al grupo de las prolaminas que son proteínas de almacenamiento (Shewry y Halford, 2002). Físicamente se encuentran en el endospermo maduro de los granos de trigo donde forman una matriz continua alrededor de los gránulos de almidón. Las proteínas del gluten son muy insolubles en agua o soluciones salinas; se pueden agrupar en monoméricas y poliméricas (Goesaert *et al.*, 2005).

1.2.2.3. Gliadinas

Las gliadinas son proteínas llamadas monoméricas debido a que no se unen entre ellas. Tienen un peso entre 28,000-50,000 Da. Pueden agruparse estructuralmente en tres grupos α -, γ - y ω -gliadinas de acuerdo a los residuos de cisteína. La α - (6 residuos de cisteína) y γ - (8 residuos de cisteína) se encuentran en posiciones altamente conservadoras en medio de enlaces disulfuro entre cadenas, evitando con esto su participación en la estructura cuaternaria de las gluteninas. Las α - y γ -gliadinas pueden quedar inmersas en reacciones de intercambio (SH-SS) a condiciones ambientales. En contraste las ω -gliadinas carecen de colas de cisteína.

La estructura primaria de las gliadinas consiste de varios dominios de diferentes tamaños (Figura 3a). El dominio corto del N-terminal consiste de 5 a 14 residuos de aminoácidos. El dominio central repetitivo contiene arriba de 100 residuos organizados en secuencias repetidas de uno o dos motivos construidos principalmente de glutamina, prolina, y aminoácidos hidrofóbicos (fenilalanina o tirosina). Finalmente, el dominio no repetitivo del C-terminal es una sucesión de poliglutamina y una única lisina y una secuencia rica en arginina que incluye todos los aminoácidos que contienen azufre (Müller y Wieser, 1997).

1.2.2.4. Gluteninas

Las proteínas del trigo de mayor importancia para la panificación son las gluteninas. Las gluteninas por su gran tamaño son altamente insolubles en la mayoría de los solventes comunes. Sin embargo las subunidades de glutenina (SG), de acuerdo a sus fracciones construidas, tienen solubilidades comparables con las gliadinas. Las subunidades pueden ser obtenidas por tratamiento de las gluteninas con un agente reductor del enlace bisulfuro, pero se necesitan drásticas condiciones de extracción

dificultando el estudio de la estructura nativa de estas proteína poliméricas (Delcour *et al.*, 2012).

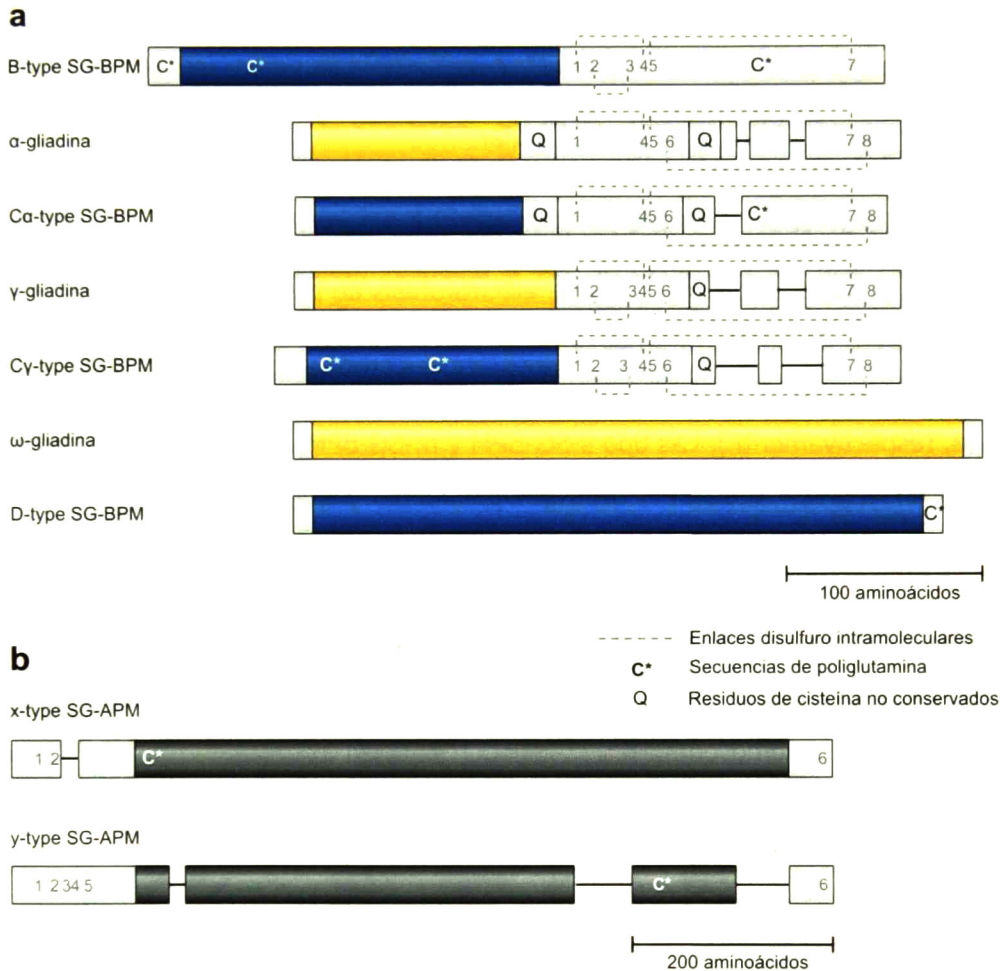


Figura 3. Estructura de a) gliadinas y SG-BPM. b) SG-APM. Los dominios repetitivos son coloreados y los no repetitivos blancos los números arábigos indican las posiciones de las cisteínas (adecuado de Delcour *et al.*, 2012).

Las gluteninas se dividen de acuerdo a su peso molecular (PM), en subunidades de glutenina de alto peso molecular (SG-APM), con PM de 70,000 a 90,000 Da, y en subunidades de glutenina de bajo peso molecular (SG-BPM), con PM de 30,000 a

45,000 Da. Las estructuras primaria y secundaria de las SG-BPM, son similares a las de α - y γ -gliadinas (Delcour *et al.*, 2012) como se observa en la Figura 3a, estas difieren en los enlaces bisulfuro dentro de las cadenas y entre cadenas que se presentan en los polímeros de gluteninas.

1.2.2.4.1. Gluteninas de bajo peso molecular

Las subunidades de gluteninas de bajo peso molecular son clasificadas en tipos B, C y D, de acuerdo a su movilidad en geles de electroforesis de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato de sodio. Alternativamente, se reconocen tres grupos: s-, m- e i-SG-BPM, de acuerdo a su primer residuo de aminoácido (serina, metionina o isoleucina, respectivamente). Las tipo s-SG-BPM y m-SG-BPM, son predominantemente secuencias en el grupo B-SG-BPM de trigos panaderos y duros, y están relacionados con la calidad para producción de pastas.

Las SG-BPM son difíciles de identificar, debido a que se encuentran en un estado agregado. Estas gluteninas se encuentran en los locus Glu-A3, Glu-B3 y Glu-D3 en los brazos cortos de los cromosomas 1A, 1B, y 1D (Gianibelli *et al.*, 2001). En la Figura 4 se ilustra la posición de las combinaciones SG-BPM en gel electroforético SDS-Page.

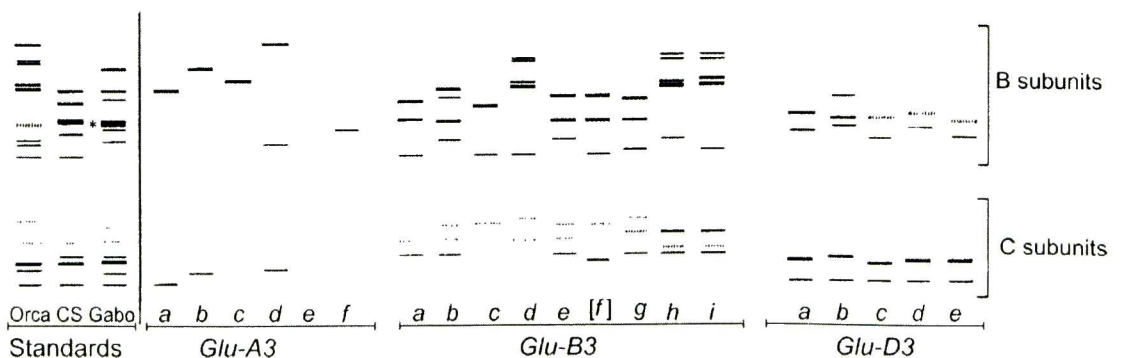


Figura 4. Subunidades de glutenina de BPM identificadas por SDS-Page en dos pasos (tomado de Gupta y Shepherd, 1990).

1.2.2.4.2. Gluteninas de alto peso molecular

Las subunidades de glutenina de alto peso molecular se clasifican, de acuerdo a su peso molecular, en α -SG-APM (PM de 83,000 a 88,000 Da) y en γ -SG-APM (PM de 67,000 a 74,000 Da), como se observa en la Figura 3b. En teoría los trigos panaderos y duros contienen 6 y 4 diferentes SG-APM, respectivamente. Sin embargo considerando que pueden existir genes silenciosos o nulos (Delcour *et al.*, 2012), estos trigos tendrían un gen menos (5 y 3 genes respectivamente). Aunque las SG-APM se encuentran en menor cantidad, respecto a las SG-BPM, son las que mayormente determinan la elasticidad y funcionalidad del gluten, y son factor clave para la panificación (Gianibelli *et al.*, 2001).

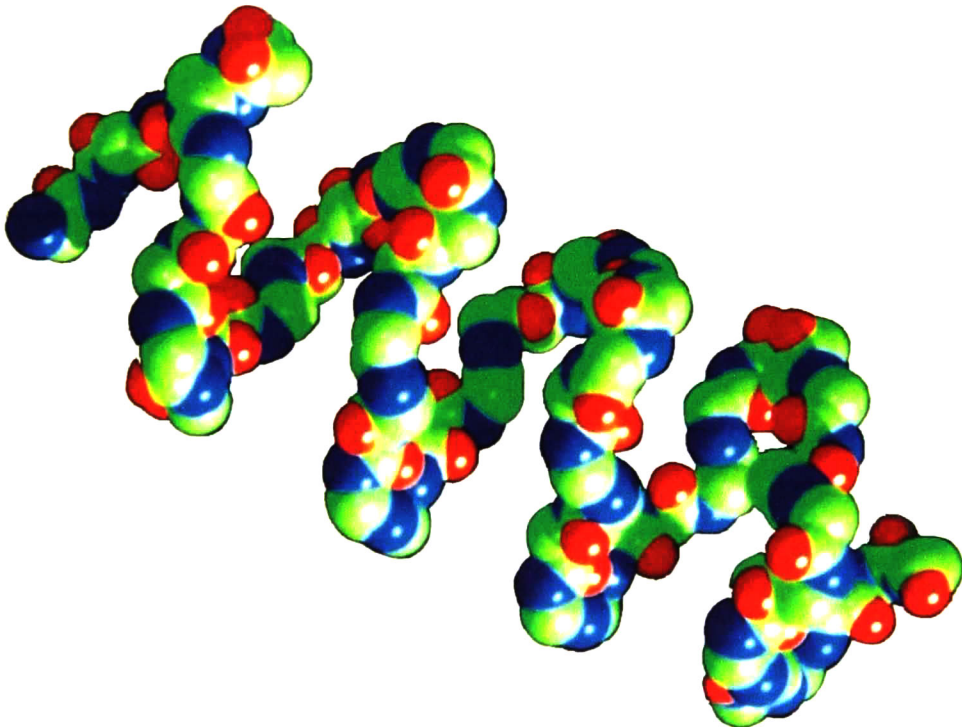


Figura 5. Modelo molecular computacional de una cadena central de una SG-APM (tomado de Tatham y Shewry, 2000).

Las x-SG-APM e y-SG-APM tienen típicamente una estructura de tres dominios: dos dominios relativamente pequeños en los N- y C-terminal flanqueando al dominio central (Figura 3b). Mientras el dominio del C-terminal tiene un tamaño constante (42 residuos de aminoácidos) y el dominio del N-terminal varía en la cantidad de los residuos aproximadamente entre 80 y 100 aminoácidos; el dominio central varía entre 600 y 850 residuos de aminoácidos (Delcour *et al.*, 2012). En la Figura 5 se observa un modelo molecular por computadora de una cadena central de una SG-APM.

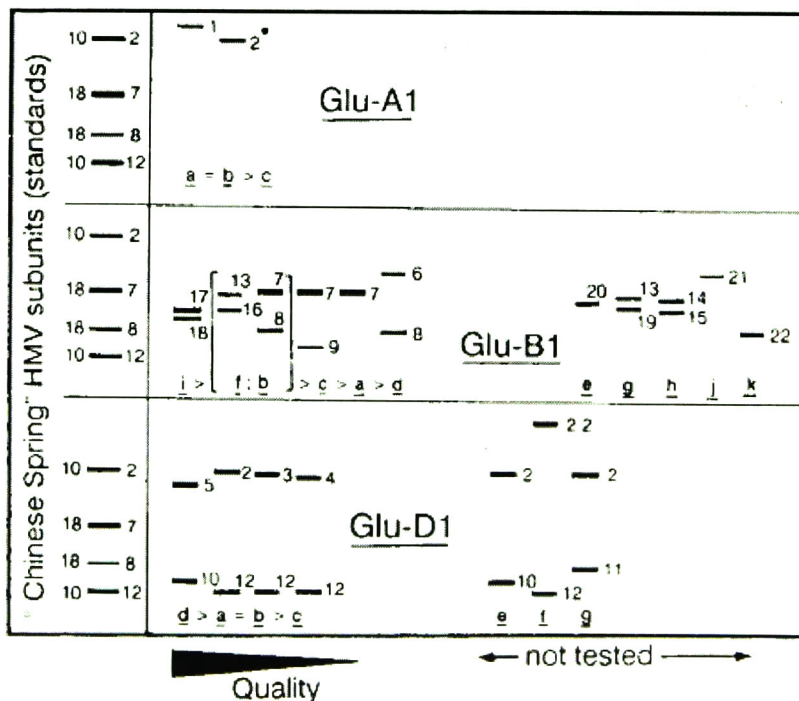


Figura 6. Variación alélica de las SG-APM en sus tres genomas, basada en las fracciones de SDS-PAGE, y su relación con la calidad panadera (tomado de Payne et al., 1984).

Todos los residuos de cisteína están localizados cerca de las terminaciones de las subunidades de glutenina de alto peso molecular (Figura 3b). La estructura secundaria de los dominios N- y C-terminal está predominantemente organizada en α -hélice. En contraste, el dominio central posee secuencias repetidas ricas en glutamina, prolina y glicina. Esto supone, que se produce una serie de superposiciones de estructuras de

giro de reversa que forman una súper estructura secundaria de β -espiral (Figura 5). Es conocido que las SG-APM adoptan una conformación similar a una barra rígida, debido a su dominio central repetitivo (Shewry *et al.*, 1992).

Tabla 2. Valores de calidad del trigo por subunidad de glutenina ^a.

Subunidad de glutenina	Volumen SDS ^b	W Alveógrafo ^b	Resistencia ^c
<u>Glu-A1</u>			
2*	3	5	3
1	3	3	3
Nulo	1	2	1
<u>Glu-A2</u>			
13+16	-	-	3
17+18	3	5	2
7+9	2	5	1
7+8	3	-	2
6+8	1	1	
9	1	2	
<u>Glu-D1</u>			
5+10	4	6	4
2+12	2	2	1

^a: Mayor valor de "escore" o calificación indica mayor calidad.

^b: (Peña *et al.*, 2002);

^c: (Wrigley *et al.*, 2009)

La composición genética de las subunidades de glutenina de alto peso molecular está asociada con la calidad de panificación. Se ha mostrado que las cruas entre variedades conducen a cierta composición de subunidades con diferente calidad de gluten (Payne *et al.*, 1981; Payne *et al.*, 1984). En la Figura 6 se ilustra la ubicación de las subunidades de gluteninas de alto peso molecular de acuerdo al resultado del gel electroforético SDS-Page. En particular las SG-APM, han sido bien relacionadas encontrándose diferencias en fuerza de la masa y calidad en la elaboración de pan entre diferentes variedades de trigo (Macritchie y Lafiandra, 1997; Weegels *et al.*, 1996). Sin embargo, el mecanismo molecular responsable de esta variación no está claro, porque la información acerca del tamaño y estructura molecular de esta fracción

es inaccesible mediante las técnicas convencionales para la determinación de tamaño del polímero. Por lo que la reología está siendo utilizada como indicador de cambios en la estructura de los polímeros de alto peso molecular (Dobraszczyk y Morgenstern, 2003).

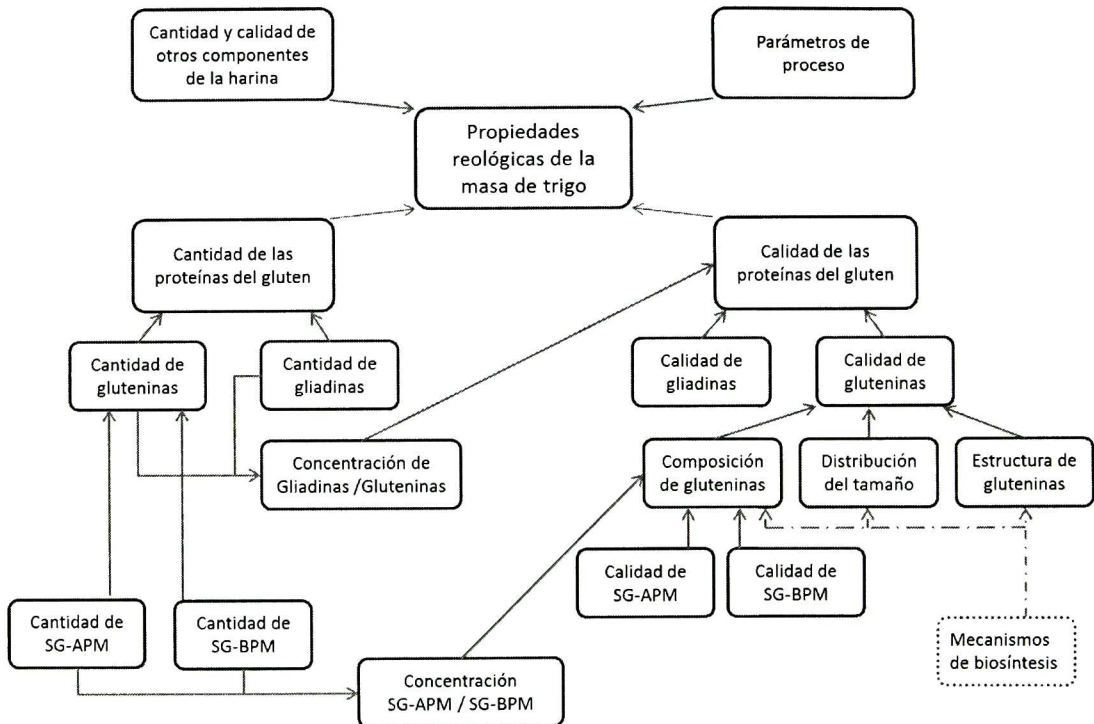


Figura 7. Factores que influyen en la reología de la masa de trigo (adaptado de Gianibelli et al., 2001).

En el contexto del mejoramiento de la calidad de la proteína (v.g. gran extensibilidad, fuerza apropiada de la masa) por los mejoradores de trigo, muchas investigaciones han concluido que las gluteninas son de gran importancia con especial énfasis en las de alto peso molecular (Figura 7 y Tabla 2), particularmente las controladas por el genoma D (Branlard y Dardevet, 1985; Gupta y MacRitchie, 1994; Payne *et al.*, 1981; Popineau *et al.*, 1994). El énfasis en las SG-APM aparece con la accesibilidad para los análisis, siendo el más recurrido el patrón de gel de electroforesis (utilizando la rutina del método con SDS-PAGE), separando todas las bandas (Figura 6) de polipéptidos

(Gianibelli *et al.*, 2001). Las SG-APM han sido calificadas en base a su calidad expresada como volumen de sedimentación SDS, trabajo del alveógrafo, y resistencia a la extensibilidad de la masa (extensógrafo); en la Tabla 2 se muestran las calificaciones o "score" asignado a las subunidades de glutenina.

1.3 Modelo del comportamiento reológico de soluciones de polímeros

Para entender la influencia de los aspectos físicos y moleculares en las propiedades reológicas se han propuestos varios modelos. Algunos modelos relacionan los aspectos físicos de los polímeros, como el tamaño y estructura de los estos con las propiedades reológicas, de rendimiento y su uso final. Por ejemplo, el modelo "pom-pom" describe el comportamiento reológico de soluciones de polímeros sintéticos de alto peso molecular (MacLeish y Larson, 1998), esta clase de polímero se prevé relativamente como una cadena central flexible a la cual están unido un número de ramificaciones ("pom-poms"). Este modelo predice, para el primer tiempo, el fenómeno de endurecimiento por deformación bajo un flujo de extensión planar y uniaxial y ablandamiento en cizalla visto en soluciones de polímeros de APM ramificados y en gluten. Las ramificaciones entrecruzadas con los polímeros circundantes y el estiramiento de la cadena central flexible entre los entrecruzamientos producen el endurecimiento por deformación. Este modelo predice que el número de ramificaciones y la distancia entre los entrecruzamientos tienen mayor efecto en el endurecimiento por deformación (Dobraszczyk y Morgenstern, 2003).

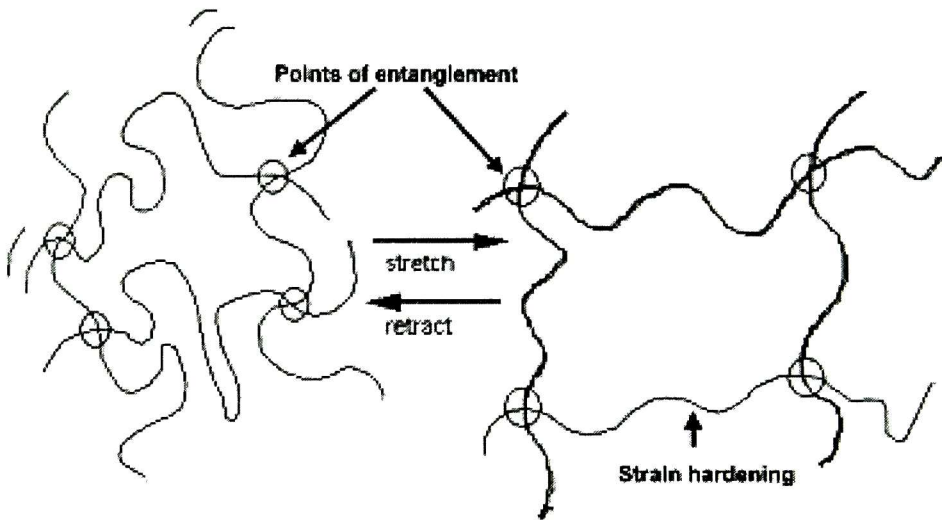


Figura 8. Diagrama del modelo propuesto para los entrecruzamientos de las redes de polímeros de APM durante la tensión (tomado de Dobraszcyk y Morgenstern, 2003).

Para soluciones poliméricas después de un peso molecular crítico (PMc), característico de cada polímero, la viscosidad de cizallamiento (η_0) comienza a aumentar rápidamente cuando aumenta el PM, siguiendo la relación $\eta_0 = PM^{3.4}$, independientemente de la química del polímero. Por encima de este PMc, los polímeros comienzan a entrecruzarse, dando lugar a un rápido aumento en la viscosidad con el aumento del PM. Las ramificaciones tienen el efecto de aumentar la viscosidad y la resistencia a la deformación, aunque el aumento de la viscosidad se desplaza más rápido con el aumento del PM y el incremento de las ramificaciones, dando una disminución efectiva de la viscosidad en un PM constante. Los entrecruzamientos también dan lugar al incremento de la rigidez y de la viscosidad; con la deformación se presenta el endurecimiento por deformación. Los entrecruzamientos pueden considerarse como restricciones físicas entre los segmentos de cadenas poliméricas, como nudos (Figura 8), donde las cadenas poliméricas se unen (Figura 10) y no son libres de moverse (Dobraszcyk y Morgenstern, 2003).

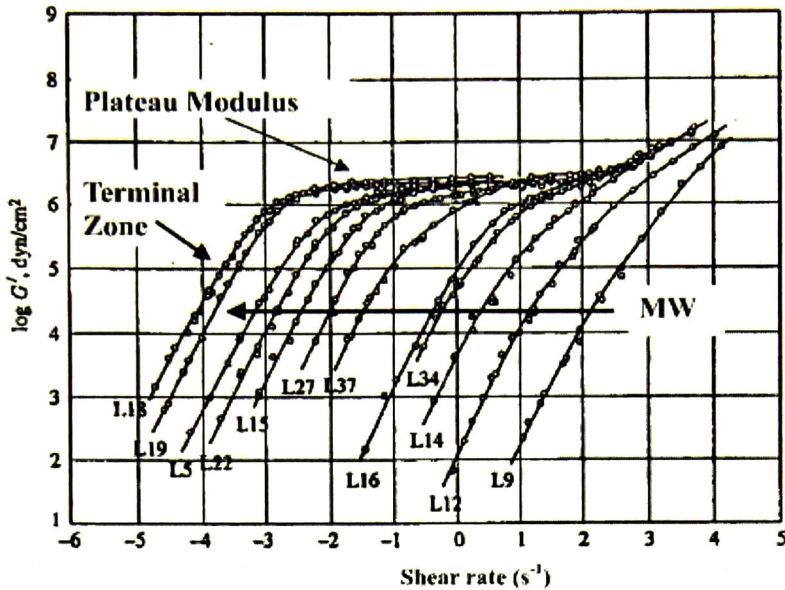


Figura 9. Efecto del peso molecular en el módulo elástico dinámico transversal para soluciones de poliestireno. (tomado de Dobraszcyk y Morgenstern, 2003)

Los entrecruzamientos moleculares de polímeros de alto peso molecular bajo gran deformación están relacionados con los cambios en su espectro de relajación y el endurecimiento por deformación extensional, que reflejan las diferencias cualitativas previstas en la distribución del peso molecular subyacente de polímeros de glutenina. Las propiedades de corte dinámico como G' y tiempos de relajación, son sensibles al PM y a los entrecruzamientos. La Figura 9 muestra el efecto del incremento del peso molecular en el módulo elástico dinámico transversal para una solución de un polímero lineal de poliestireno. A medida que el PM se incrementa, comienza aparecer una meseta en el módulo elástico. La meseta representa el efecto de los entrecruzamientos, los cuales a cierto tamaño de polímero la estructura se cierra en una red temporal tridimensional (Dobraszcyk y Morgenstern, 2003). En el gluten calentado, la altura de la meseta del módulo aumenta en los extractos con proporción de fracciones de pesos moleculares más altos (Lefebvre *et al.*, 2000).

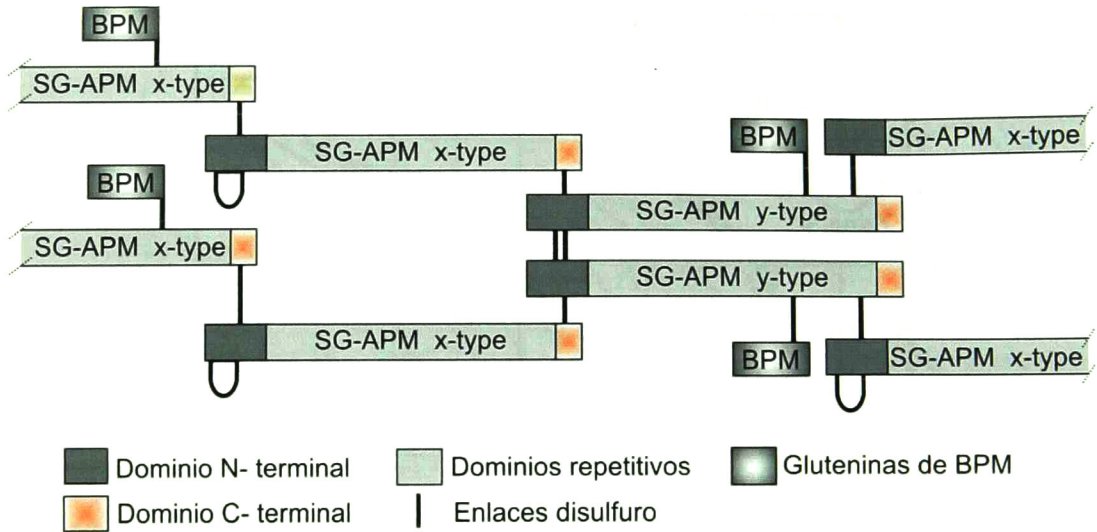


Figura 10. Modelo esquemático de la estructura de los polímeros de las SG-APM, basado en el mapeo de los enlaces disulfuro (adaptado de Shewry *et al.*, 2002).

Con base a estudios realizados en el mapeo de enlaces disulfuro (Shewry *et al.*, 2002) propusieron un modelo esquemático de la estructura de los polímeros de las subunidades de glutenina de alto peso molecular, y en la Figura 10 se muestra como las SG-APM se unen entre ellas (entre cadenas) y con algunas SG-BPM. Mencionan también que la elasticidad de las SG-APM puede estar relacionada a el número de enlaces disulfuro y a las propiedades e interacciones de los dominios repetitivos.

En resumen el peso molecular afecta la dureza y viscosidad, así como las ramificaciones y los entrecruzamientos. Por otro lado el peso molecular es diferente para cada tipo de SG-APM, dado por los dominios repetitivos. Las ramificaciones y entrecruzamientos están dados también por los tipos de gluteninas de APM y su capacidad de generar enlaces disulfuro. Lo anterior sustenta el hecho de que las SG-APM son las responsables de las propiedades viscoelásticas del trigo.

1.4. Conceptos básicos de reología

En el trigo las propiedades reológicas de la masa son factor esencial en la determinación de la calidad de panificación. Lo que hace importante conocer la reología del trigo, no solo de manera empírica, sino también de manera fundamental.

La reología, es la ciencia que estudia el flujo y la deformación de los materiales (Mohsenin, 1986). Por lo tanto, cuando la acción de las fuerzas resulta en la deformación o flujo del material, las propiedades mecánicas son llamadas propiedades reológicas. Además la reología considera el efecto del tiempo durante la aplicación de las fuerzas. Reológicamente el comportamiento mecánico de un material cuenta con tres variables: fuerza, deformación y tiempo (*creep*, relajación de esfuerzos, viscosidad, entre otros).

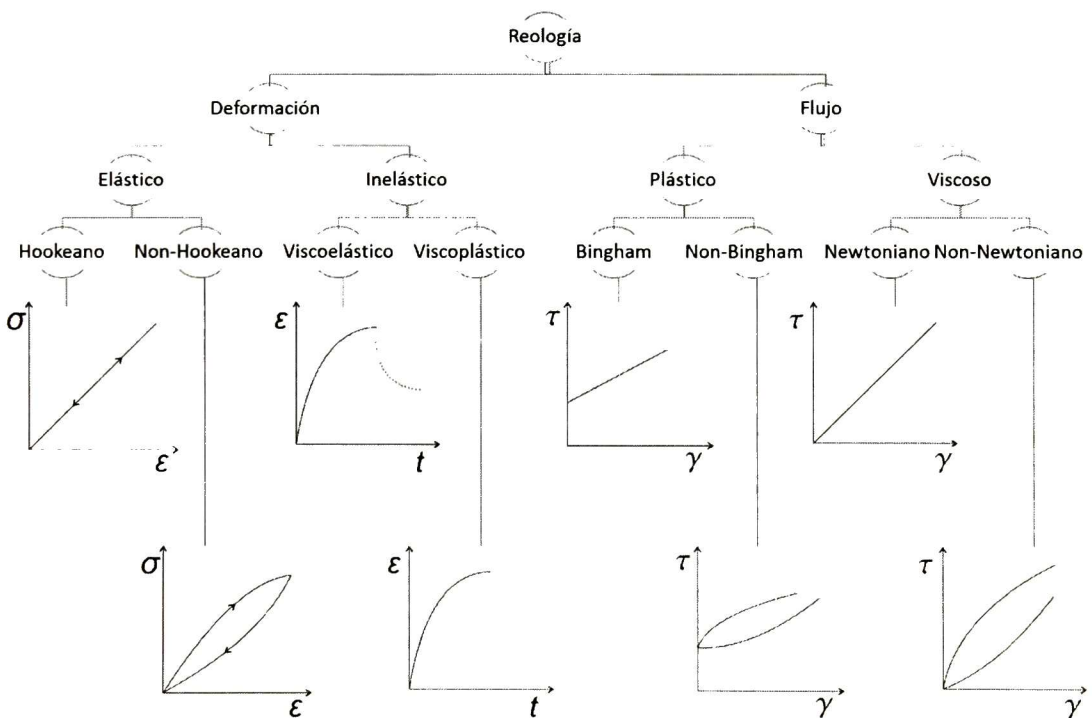


Figura 11. Clasificación de los materiales de acuerdo a su comportamiento reológico (adaptado de Mohsenin 1986).

Las propiedades mecánicas son aquellas que estudian el comportamiento de los materiales cuando se les ejerce un esfuerzo aplicado. De acuerdo a esta definición, las propiedades del comportamiento esfuerzo – deformación de un material bajo cargas estáticas o dinámicas, así como, las características de flujo del material pueden clasificarse de acuerdo al comportamiento de sus propiedades mecánicas como se muestra en la Figura 11 (Mohsenin, 1986).

Para más conceptos de reología y propiedades mecánicas, ver apéndice B.

1.4.1. Sistemas biológicos y propiedades mecánicas

Cada tipo de alimento y materiales alimenticios seleccionados de los productos agrícolas, son sistemas biológicos, los cuales están “vivos” y constantemente están sujetos a cambios de tamaño, forma, respiración, entre otros aspectos relacionados con los procesos de la vida. Durante su desarrollo y almacenamiento estos sistemas son sensibles al medio ambiente como humedad, temperatura, oxígeno, consumo de energía, así como su interacción con los factores internos, los cuales son muy difíciles de controlar. Esta compleja situación, ocasiona que la reología de los sistemas biológicos sea una aproximación (Mohsenin, 1986), pero muy necesaria para el diseño, manejo y transformación de los alimentos.

Las propiedades reológicas de alimentos sólidos son de importancia para el investigador, en la industria de los alimentos al igual que para el consumidor. Las razones de estudios de estas propiedades son las siguientes:

1. Para hacer un acercamiento a la estructura del material, porque la manifestación física de un material es debida: a la estructura química. Un ejemplo son los enlaces entrecruzados en los polímeros.
2. Como pruebas de control de calidad en la industria de los alimentos.

3. Para el diseño de maquinaria y manejo de alimentos sólidos
4. Para correlacionar la aceptación del consumidor con alguna propiedad reológica (Rao y Quintero, 2005).

Las propiedades reológicas de un alimento sólido pueden dividirse en dos amplias clases. Las pruebas fundamentales que miden las propiedades que son inherentes al material, es decir, que no dependen de la forma ni del tamaño de la muestra, tampoco del equipo y/o condiciones de carga. Ejemplos de estos son el módulo de elasticidad, el número de Poisson, el tiempo de relajación, entre otros. Las pruebas imitativas o empíricas, las cuales son usadas para determinar propiedades tales como fuerza de punción, energía de extrusión, y todas aquellas dónde la geometría, la velocidad de la prueba, etc., influyen en la magnitud del parámetro estimado (Rao y Quintero, 2005) En la Figura 12 se muestran diferentes pruebas utilizadas para evaluar las propiedades reológicas del trigo.

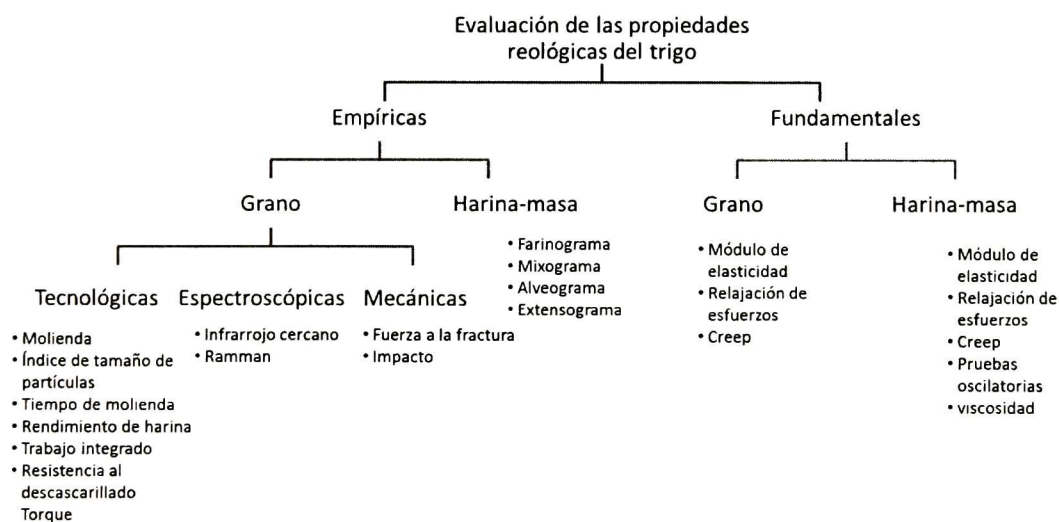


Figura 12. Pruebas reológicas utilizadas para evaluar las propiedades del trigo.

La reología puede relacionarse con la funcionalidad del producto: muchas pruebas reológicas intentan predecir la calidad del producto final, tales como el

comportamiento en el mezclado, laminado y panificación. Esto basado en el análisis estructural de los materiales, que realiza en el laboratorio mediciones mecánicas a pequeña escala, para extrapolarlas al comportamiento de grandes estructuras de ingeniería. Así entonces pequeñas muestras de alimentos en condiciones bien definidas al analizarse podremos inferir sobre sus propiedades más complejas en situaciones de multicomponentes encontradas en las condiciones de proceso (Dobraszczyk y Morgenstern, 2003).

Los modelos reológicos y la estructura molecular

Los modelos moleculares en la reología tienen el objetivo de relacionar las propiedades reológicas a la estructura molecular, usando los datos reológicos como una herramienta de diagnóstico para tratar de conocer la conformación molecular de los polímeros de los alimentos y la organización estructural de materiales complejos. Para entender este aspecto, es necesario idealizar la arquitectura molecular o conformación, las cuales conducen a la teoría molecular de la reología (Dogan y Kokini, 2007).

1.4.2. Pruebas reológicas tradicionales de la masa de trigo

Tradicionalmente para evaluar la calidad del trigo se han utilizado diferentes pruebas empíricas y/o imitativas a fin de poder predecir su calidad y comportamiento. Estas pruebas empíricas aunque proporcionan información importante y útil; en muchas ocasiones no es posible comparar datos de otros laboratorios, ejemplo de ellas son: el farinograma, alveógrama, mixograma entre otros que se citan en la Figura 12. Algunos equipos utilizados en la reología del trigo se observan en la Figura 13.

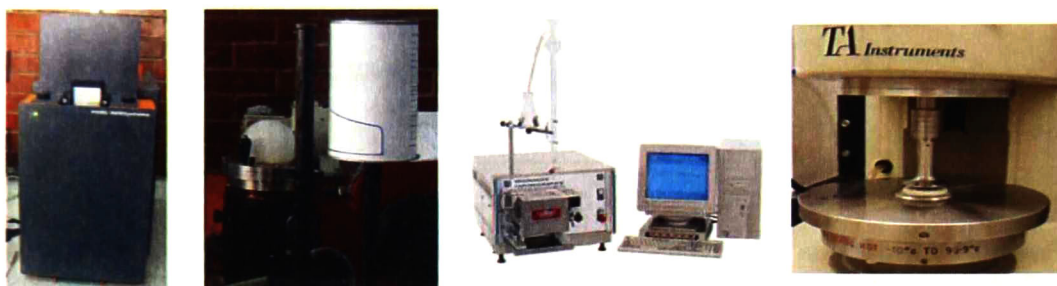


Figura 13. Equipos utilizados en la evaluación de las propiedades reológicas del trigo (de izquierda a derecha infrarrojo cercano, alveógrafo, farinógrafo, reómetro).

1.4.2.1. Alveógrafo de Chopin

Este equipo emplea una prueba biaxial en masa para medir su resistencia a deformarse y su capacidad de extenderse. Durante dicho análisis, un disco de masa es insuflado con aire presurizado, simulando la deformación que esta sufre como consecuencia de los gases que se generan durante el proceso de fermentación (Serna-Saldívar, 1996). El método empleado es el 54-30.02 de AACC, (Asociación Americana de Químicos en Cereales), obteniéndose los parámetros mostrados en la figura 17 (AACC International, 2010).

Tenacidad (P): resistencia de la masa a ser deformada, representada en la altura máxima de la curva del alveógrama.

Extensibilidad (L): Capacidad de la masa de continuar deformándose, antes de romperse; y se mide como la longitud de la base del alveógrama.

Fortaleza o fuerza de la harina (W): representada en el área bajo la curva graficada en el alveógrama.

Relación tenacidad / extensibilidad (P/L): indica si la masa es equilibrada.

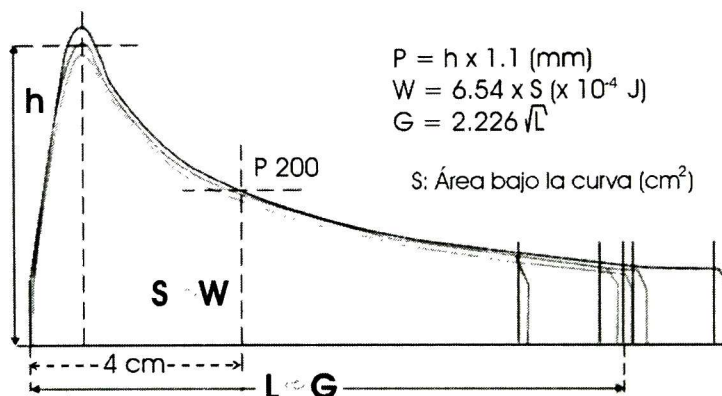


Figura 14. Alveograma típico de una masa de trigo (P = tenacidad, mm; L = extensibilidad, mm; W = trabajo alveográfico, J x 10⁻⁴)

1.4.2.2 .Farinógrafo

Este equipo mide las propiedades de amasado y capacidad de absorción de agua de las harinas, para lograr una consistencia de 500 Unidades Brabender (UB). Los parámetros reportados son: tiempo de desarrollo (TdFar, min), absorción de agua (Abs, %), estabilidad (Est, min) e índice de tolerancia al amasado (ITA). El TdFar es el tiempo que tarda la masa en adquirir su consistencia óptima (500 UB). La estabilidad y el ITA son parámetros importantes, en la industria de panificación, para estimar la tolerancia al sobreamasado; y es una guía para elaborar productos consistentes con harinas de diferentes calidades. La industria panadera prefiere harinas con alta absorción de agua, tiempos de mezclado largos y alta estabilidad.

1.4.2.3. Volumen de sedimentación

Esta determinación está, basada en la velocidad de expansión y sedimentación de las proteínas de la harina, midiendo el volumen de sedimentación después de cinco minutos de descanso de la harina hidratada y tratada con una solución acuosa de bromofenol y otra solución débil de ácido acético con isopropanol. Las harinas con más alto contenido de gluten tienen mayores valores de sedimentación. De acuerdo a la literatura (Martínez-Cruz *et al.*, 2007) esta prueba es una medida indirecta de la fuerza de la harina.

1.4.3. Pruebas reológicas fundamentales

Las pruebas reológicas fundamentales que se aplican a los alimentos sólidos pueden clasificarse en dos grupos: aquellos que son conducidos en condiciones estáticas o carga cuasiestática, y los que son llevados a cabo en condiciones dinámicas. En general, los tipos de cargas aplicadas determinarán si la prueba es dinámica o cuasiestática. El término cuasiestático es empleado en lugar de estático, porque teóricamente no puede haber pruebas teóricamente estáticas con la imposición de una carga, luego entonces hay pequeños movimientos relativos inducidos en las partículas (Rao y Quintero, 2005).

1.4.3.1. Pruebas cuasiestáticas

Desde el punto de vista de la reología se presentan dos comportamientos extremos como resultado de la aplicación de una fuerza a un material: deformación solamente elástica, para el caso de un sólido ideal, y solamente flujo, para el caso de un líquido ideal. Adicionalmente el flujo puede dividirse en viscoso y plástico. En este sentido, la elasticidad, la plasticidad y viscosidad son las tres propiedades con las que el comportamiento reológico de un material puede ser descrito, y se representan

clásicamente por tres materiales ideales. Material Hookeano, material de St. Venant y líquido Newtoniano. En la realidad no existen materiales perfectamente elásticos, viscosos o plásticos; son tres cuerpos ideales que han sido utilizados para servir de comparación en el análisis de un material real.

Las pruebas más comunes para medir la viscoelasticidad de los materiales son 4, La relajación de esfuerzos, la prueba de *creep*, pruebas oscilatorias y el perfil de viscosidad, las cuales se describen en la Figura 15.

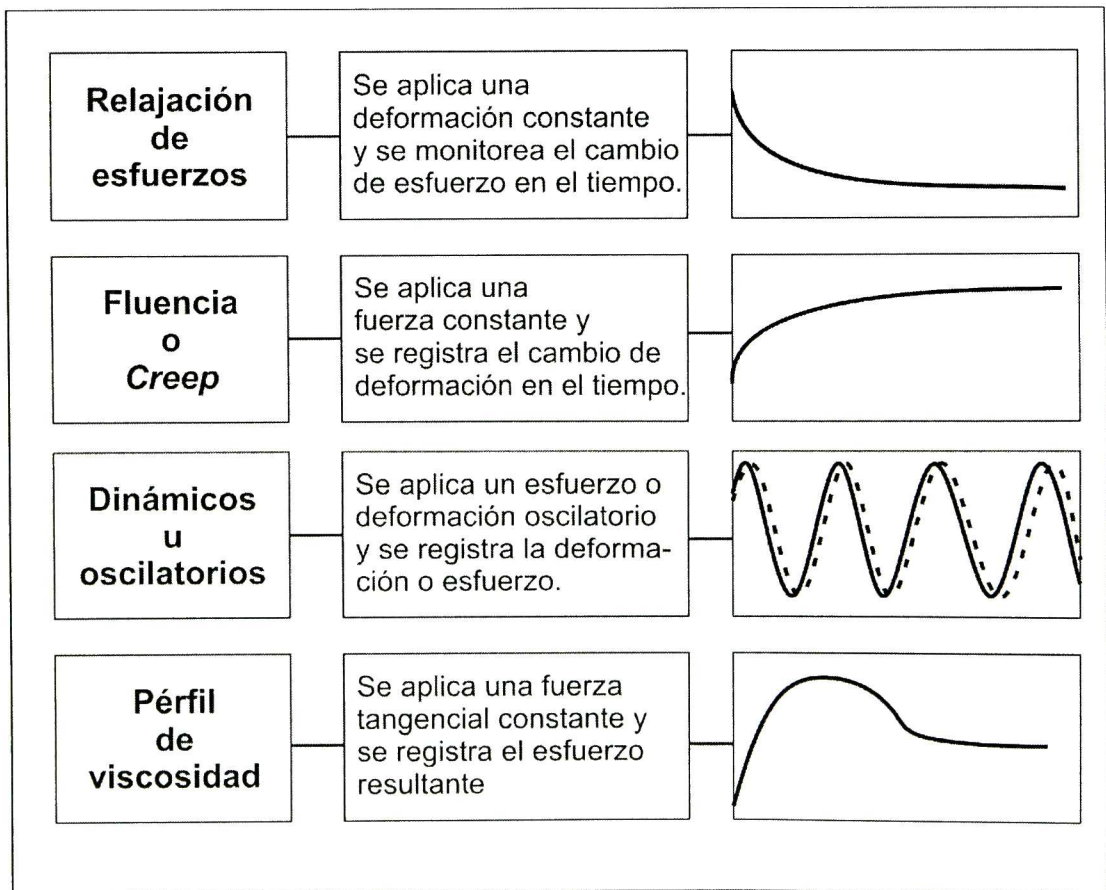


Figura 15. Pruebas para determinar la viscoelasticidad de los materiales (Adaptado de Barnes, 2000).

II. Justificación

Las pruebas reológicas y de calidad del trigo son de gran importancia, ya sea para su comercialización, manejo o procesamiento, pero sobre todo para determinar el uso final del cereal. Sin embargo estas pruebas empíricas, empleadas para la clasificación y selección del trigo en fitomejoramiento y en la industria, presentan limitantes ya que requieren gran cantidad de material en forma de harina, se requiere de mucho tiempo para la molienda y ejecución de la prueba y no es posible aplicarlas a gran cantidad de materiales y contar con la información generada en tiempo y forma.

En este sentido, el presente trabajo se enfocó para desarrollar metodologías para obtener las propiedades reológicas de los granos de trigo de una manera rápida, barata y precisa. Así el presente trabajo evaluó la viscoelasticidad de granos de trigo intactos, con la ayuda de los conceptos y teoría de la reología fundamental, utilizando modelos reológicos para describir el comportamiento viscoelástico del trigo, y relacionar los parámetros obtenidos con la composición de las gluteninas, las cuales han sido identificadas como las responsables principales de las propiedades reológicas del trigo. De igual manera correlacionar los resultados de los modelos con parámetros de calidad tradicional obtenidos con los métodos empíricos. Por último se verificó la correspondencia de la reología del trigo en grano con la reología de la masa de trigo.

III. Objetivos

3.1. General

Establecer procedimientos para evaluar las propiedades viscoelásticas de trigo en grano y masa con el fin de relacionar los resultados con la composición proteica y calidad funcional del trigo.

3.2. Particulares

1. Evaluar la relajación de esfuerzo de los granos de trigo aplicando el modelo generalizado de Maxwell; su relación con la composición de gluteninas de bajo y alto peso molecular del trigo y sus parámetros de calidad funcional de los mismos.
2. Evaluar la fluencia o *creep* de los granos de trigo aplicando el modelo generalizado de Kelvin-Voigt; su relación con la composición de gluteninas de bajo y alto peso molecular del trigo y sus parámetros de calidad funcional de los mismos.
3. Evaluar las propiedades viscoelásticas de la masa de trigo con la prueba de *creep* y recuperación en el reómetro; su relación con la composición de gluteninas de alto peso molecular del trigo y sus parámetros de calidad funcional de los mismos.

IV. Materiales y métodos

La metodología general para las pruebas reológicas se describe esquemáticamente en la Figura 16. Para las pruebas de relajación de esfuerzos y *creep* en grano se utilizó un texturómetro y para la prueba de masa utilizamos un reómetro. Se obtuvieron las curvas correspondientes, las cuales fueron ajustadas a diferentes modelos generalizados de Maxwell y de Kelvin-Voigt para la relajación de esfuerzos y *creep*, respectivamente. Posteriormente los coeficientes de los modelos fueron correlacionados con parámetros de calidad tradicional para verificar si existe relación con éstos; y poder seleccionar el modelo a estudiar.

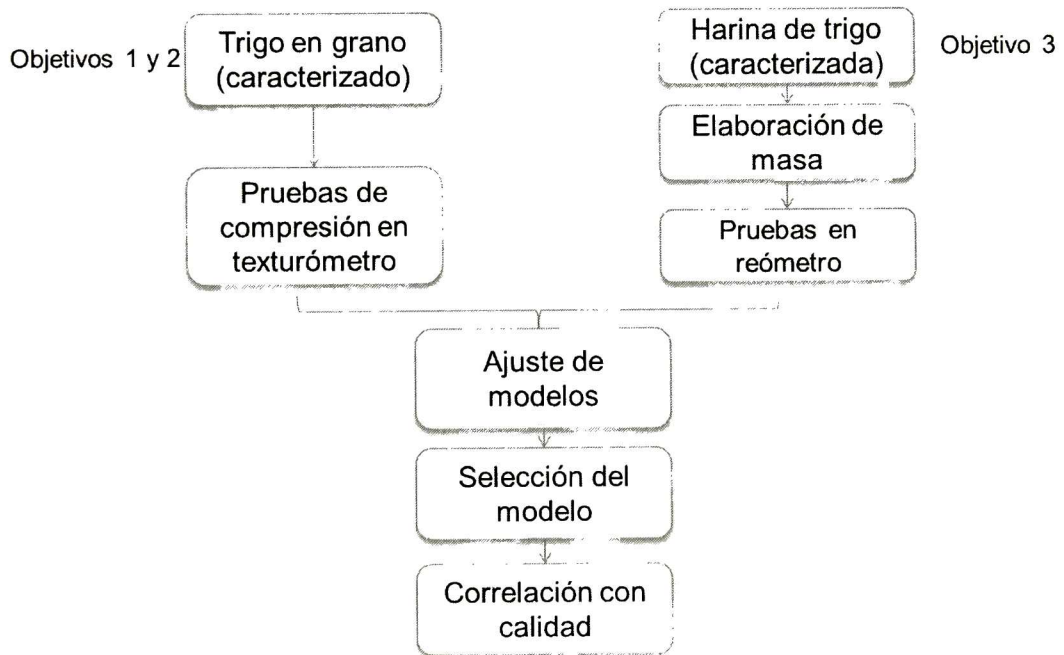


Figura 16. Esquema general de la metodología para la caracterización reológica del trigo en grano y en masa.

4.1. Material vegetativo

4.1.1. Material vegetativo para pruebas de trigo en grano (relajación de esfuerzos y *creep*)

Para las pruebas de trigo en grano, relajación de esfuerzos y *creep* se trabajó con 36 líneas de trigo cosechado en 2007, proporcionadas por el CIMMyT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y trigo), las cuales se muestran en la Tabla 3, junto con su composición de gluteninas con el objeto de observar la variabilidad, con lo que se pretendió tener diferentes calidades para encontrar diferencias en la reología del trigo en grano.

Tabla 3. Composición de subunidades de glutenina de bajo y alto peso molecular de 36 líneas de trigo por alelo.

ID	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	<i>Glu-A3</i>	<i>Glu-B3</i>	<i>Glu-D3</i>
1	1	17+18	5+10	<i>c</i>	<i>G</i>	<i>b</i>
2	nulo	7+8	2+12	<i>e</i>	<i>I</i>	<i>b</i>
3	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
4	2*	13+16	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
5	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>a</i>
6	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
7	2*	7+9	5+10	<i>e</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
8	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
9	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
10	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
11	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
12	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
13	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
14	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
15	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
16	2*	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
17	2*	7+9	5+10	<i>b</i>	<i>h</i>	<i>a</i>
18	2*	7+9	5+10	<i>e</i>	<i>i</i>	<i>b</i>
19	1	17+18	5+10	<i>e</i>	<i>f</i>	<i>c</i>
20	2*	7+9	5+10	<i>e</i>	<i>j</i>	<i>b</i>
21	2*	7*	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
22	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>b</i>
23	1	7+9	5+10	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>b</i>
24	1	7+9	5+10	<i>b</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
25	2*	7+9	5+10	<i>d</i>	<i>h</i>	<i>b</i>
26	2*	7+9	5+10	<i>b</i>	<i>h</i>	<i>a</i>
27	2*	7+9	5+10	<i>b</i>	<i>h</i>	<i>a</i>
28	2*	13+16	5+10	<i>b</i>	<i>h</i>	<i>a</i>
29	2*	7+9	2+12	<i>b</i>	<i>d</i>	<i>a</i>
30	2*	13+16	5+10	<i>b</i>	<i>h</i>	<i>c</i>
31	2*	17+18	5+10	<i>c</i>	<i>h</i>	<i>c</i>
32	2*	17+18	5+10	<i>e</i>	<i>h</i>	<i>a</i>
33	2*	17+18	5+10	<i>c</i>	<i>i</i>	<i>a</i>
34	nulo	17+18	5+10	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>d</i>
35	2*	7+9	5+10	<i>e</i>	<i>j</i>	<i>a</i>
36	1	7+8	5+10	<i>e</i>	<i>d</i>	<i>b</i>

Glu-A3 e = nulo y *Glu-B3 j* = 1B/1R translocación centeno.

4.1.2. Material vegetativo para la prueba en masa

Para estas pruebas se utilizaron 19 líneas de trigo duro rojo de invierno cultivado en Estados Unidos en 2010, las cuales se encuentra en la Tabla 4, donde se muestra además la composición de gluteninas de alto peso molecular.

Tabla 4. Composición de las gluteninas de alto peso molecular para 19 líneas de trigo rojo duro de invierno.

Id	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>
1	2*	7+9	5+10
2	2*	7+8	5+10
3	1	7+8	5+10
4	2*	7+9	2+12
5	2*	7+8	5+10
6	2*	7+8	5+10
7	2*	7+9	5+10
8	2*	7+9	5+10
9	2*	17+18	5+10
10	2*	7+9	2+12
11	2*	7+9	2+12
12	2*	7+8	5+10
13	1	7+9	5+10
14	2*	17+18	5+10
15	2*	7+8	5+10
16	1	7+8	5+10
17	2*	7+8	5+10
18	2*	7+9	2+12
19	1	7+9	5+10

4.2. Caracterización tradicional

4.2.1. Proteína de la harina

La proteína (%) se determinó por reflectancia de luz dentro del rango del infrarrojo cercano, con el método 39-10.01 de la AACC, utilizando para esta determinación el analizador Infratec 1255 NIR Food and Feed Grain (Ultra Tec Manufacturing Inc., Santa Ana, CA) calibrado con los valores de contenido de proteína determinados por el método Kjeldahl 46-11.02 de la AACC (AACCI, 2010). En la Figura 17 se observa el equipo utilizado.

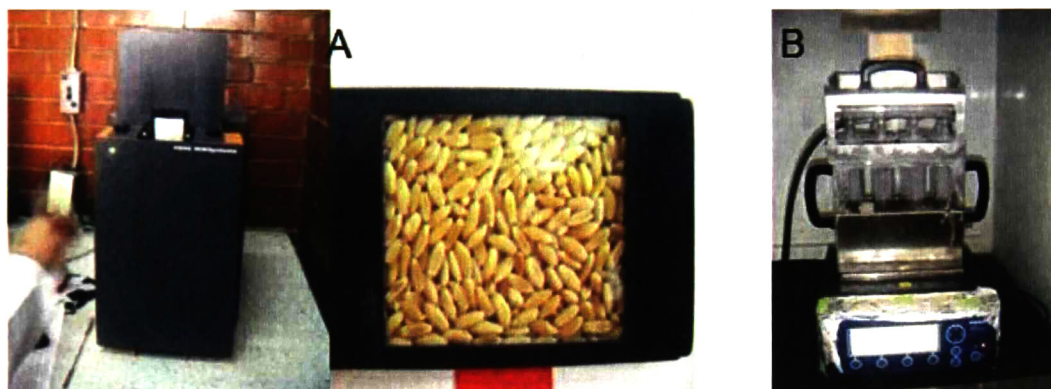


Figura 17. Equipo para determinación de proteína. A) Infratec 1255 NIR. B) digestor de Kjeldahl (Equipo de CIMMyT).

4.2.2. Caracterización de gluteninas

Para la identificación de las proteínas de los trigos utilizados en las pruebas reológicas de granos intactos se obtuvo harina integral y se utilizó un gel electroforético en presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS-Page) de acuerdo al protocolo (Singh y Shepherd, 1988), con las modificaciones (Peña *et al.*, 2004) para indicar la composición de SG-APM y SG-BPM.

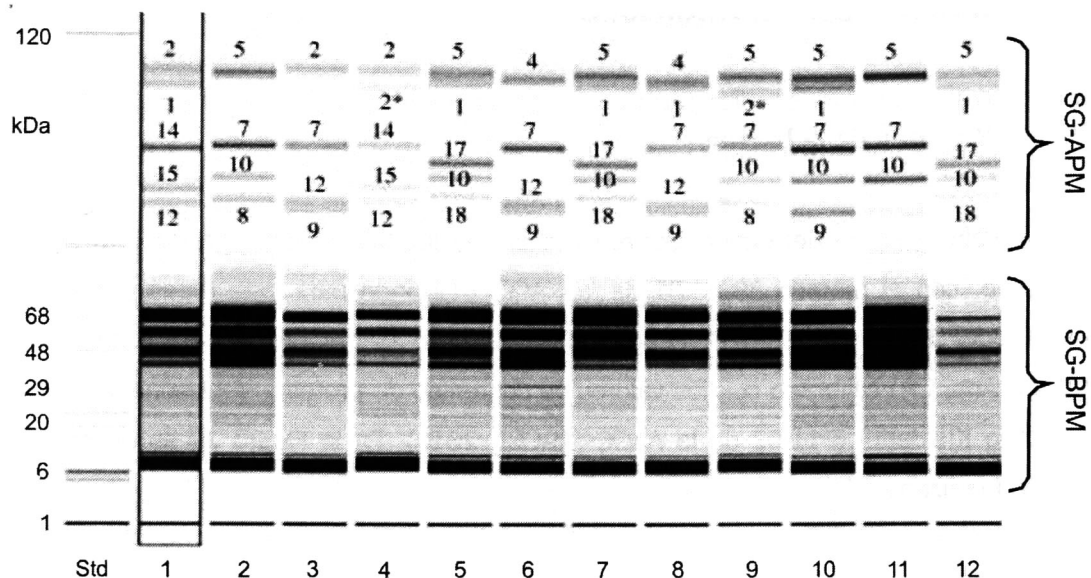


Figura 18. Identificación de subunidades de glutenina en gel electroforético SDS page (Rhazi *et al.*, 2009).

En el caso de las 19 líneas evaluadas por *creep* y recuperación en masa, las SG-APM fueron separadas de acuerdo al protocolo (Naeem y Sapirstein, 2007) y determinadas por RP-HPLC (por sus siglas en inglés, Cromatografía Líquida de Alta Eficacia Fase Reversa) utilizando el Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies Inc. Wilmington DE, USA).

4.2.3. Volumen de Sedimentación (SDS)

El volumen de sedimentación (ml) se determinó con un gramo de harina, a la que se le agrega 8 ml de solución acuosa de bromofenol (4 mg/l), para colorear y apreciar la medición, además de una solución de ácido láctico y agua en una relación 1:8, más la solución de SDS (dodecil sulfato de sodio). Las dos últimas soluciones se mezclaron en una relación 1:48, respectivamente, antes de usarse en la prueba, que después de una serie de mezclado, agitación y reposo; el volumen de sedimentación se leyó en la probeta de 25 ml (Peña *et al.*, 1990).

4.2.4. Farinógrafo

El método utilizado para llevar esta prueba fue 54-22.01 (AACC International, 2010), realizada en un Farinógrafo-E equipado con una cubeta para 10 g (C.W. Brabender Instruments, Hackensack, NJ), variando la cantidad de agua adicionada para tener una consistencia máxima de 500 unidades Brabender (UB), de donde se obtienen los siguientes parámetros (Figura 19):

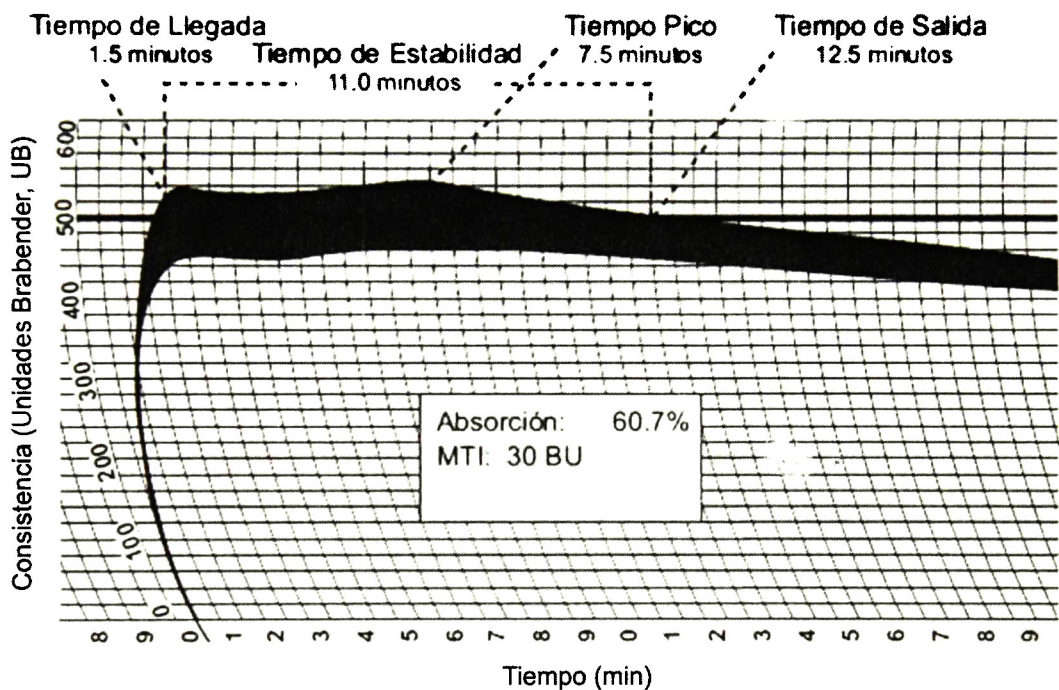


Figura 19. Farinograma típico de una masa de trigo.

Tiempo de llegada, es el tiempo requerido por la curva para alcanzar la línea de las 500 UB.

Tiempo Pico, este es el tiempo requerido por la harina para alcanzar el desarrollo total; e indica el tiempo óptimo de mezclado de la masa.

Tiempo de Salida, es el tiempo en el cual la curva deja las 500 UB.

Tiempo de Estabilidad, es el intervalo entre el tiempo de llegada y el tiempo de salida. Nombrado también tolerancia al sobre amasado de la harina. Un valor alto significa que la harina es más tolerante.

Absorción, es el porcentaje de agua requerida para centrar la curva en la línea de las 500 UB, a la máxima consistencia de la masa (Pico).

MTI (Índice de Tolerancia al Mezclado), es la diferencia en unidades Brabender entre el tope de la curva en el Tiempo al pico y el tope de la curva cinco minutos después de que es alcanzado el Tiempo al pico. Un valor alto significa que la harina se debilitara rápidamente después de alcanzar el máximo desarrollo.

4.2.5. Alveógrafo de Chopin

La prueba del alveógrafo mide las propiedades de tenacidad y elasticidad de las masas, mediante la inyección de aire en la masa en forma de disco de dimensiones estandarizadas.

Esta determinación se realizó de acuerdo al método AACC 54-30.02 (AACC International, 2010). Y consistió en amasar 60 g de harina utilizando el criterio de consistencia constante (absorción variable, 50 -57%), y ajustando el tiempo de mezclado de 7 a 9 min, para obtener una masa tersa. La cantidad de agua salina a utilizar está determinada en función al porcentaje de humedad inicial de la harina, así como del tipo de trigo, en función de su utilidad industrial. La masa resultante es laminada con un rodillo para obtener un espesor constante (12 mm), ésta es cortada en discos de diámetro y grosor uniforme, los cuales son lubricados, con aceite de cocina. Los discos son introducidos en la cámara de fermentación o reposo del aparato. Después de 20 min. de reposo se realizan los ensayos. El disco de masa se coloca en el centro de la platina fija o placa de soporte del alveógrafo, posteriormente se cierra y se presiona de una manera estandarizada mediante el movimiento lento de la platina superior.

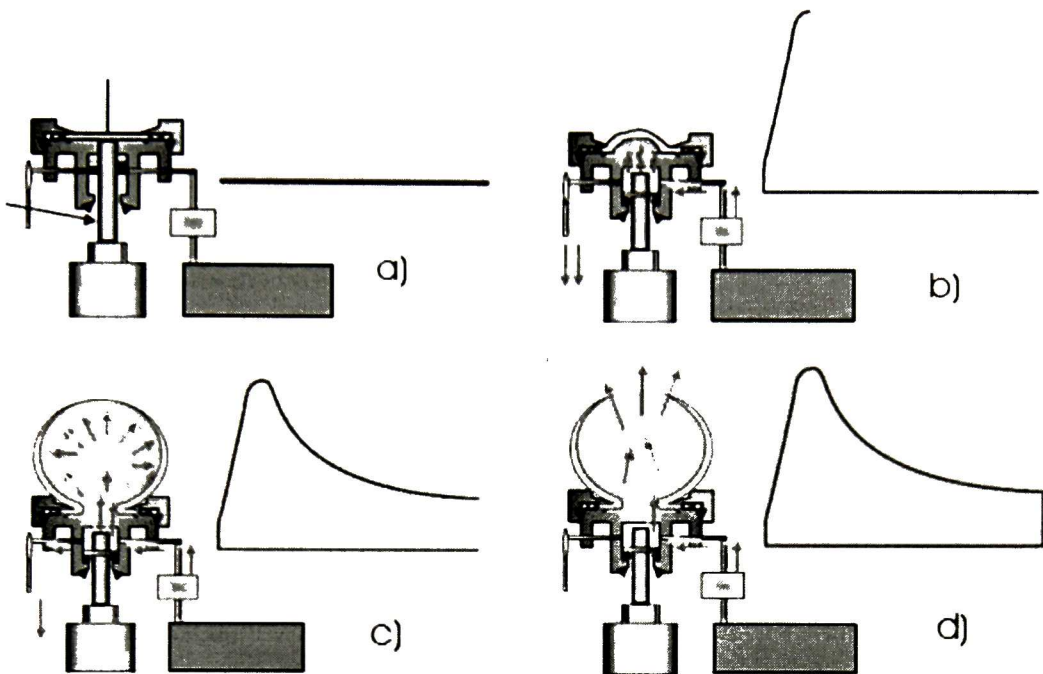


Figura 20. Esquema de trazado de alveógrama: a) posición de partida, b) resistencia de la masa (tenacidad), c) deformación de la masa en una burbuja (extensibilidad) d) rotura de la burbuja (fin del ensayo)

Finalmente se remueve la tapadera, se inyecta manualmente aire con el objetivo de despegar el disco de la masa y se inyecta aire a presión constante. El aire inyectado (insuflado) provoca la formación de una burbuja, la cual se hincha formando un pequeño globo, el cual opondrá una fuerza a deformarse, hasta que finalmente se rompa. El alveograma, se va trazando según el paso que se esté realizando (Figura 20).

La información que se obtiene de un alveograma (Figura 14) es la siguiente:

Altura del pico ajustado (P , mm), está relacionado con la fuerza máxima que opone la masa a ser deformada.

Longitud de la curva (L , mm), es proporcional al volumen obtenido antes ruptura. El valor L es generalmente relacionado con la extensibilidad de la masa y predice las características de manejo de la masa.

Trabajo (W, J), el valor de W es la cantidad de trabajo requerido para la deformación de la masa y se relaciona con la cocción "fuerza" de la de harina.

Relación P/L , indica el equilibrio de la masa. Se utiliza para conocer la cantidad de trabajo adecuada para cada harina.

4.2.6. Mixógrafo de Swanson

Esta prueba nos proporciona información referente a las propiedades del mezclado de la harina y amasado, la absorción de agua está en función de agua y peso de la muestra están en función del contenido de proteína y humedad de la muestra, se basa en el método 54-40.02 de AACC (AACC International, 2010) utilizando el mixógrafo de Swanson. En la Figura 21 tenemos un mixograma típico, indicando los datos que pueden ser obtenidos con esta técnica, para nuestro caso tomaremos solo el tiempo de mezclado, que es el tiempo que transcurre desde la adición de agua hasta que alcanza la altura máxima (pico), ya que es el que se tarda en desarrollarse la masa a su máxima consistencia.

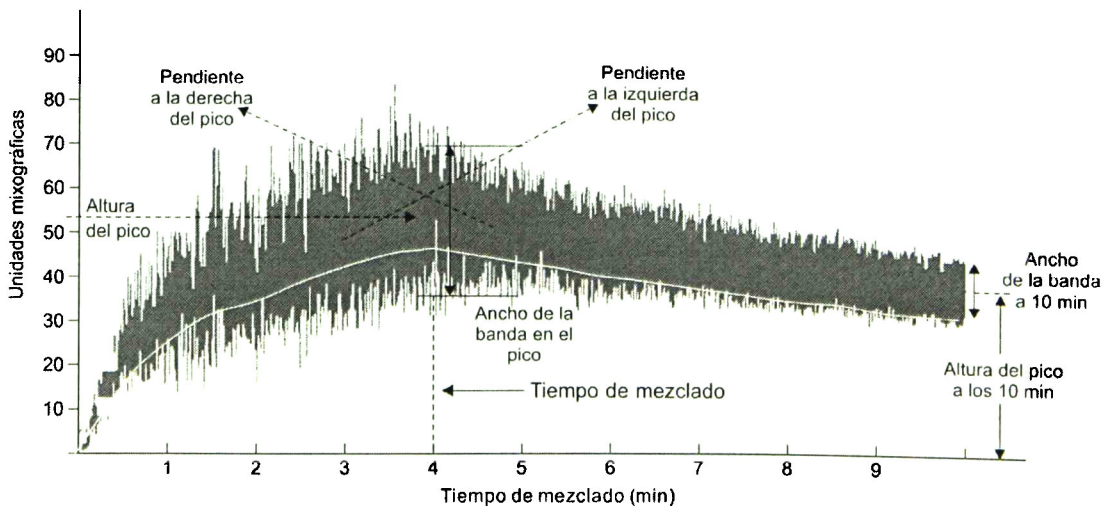


Figura 21. Mixograma típico de un amasado de una harina de trigo.

4.2.7. Calidad panadera

Para evaluar la calidad de panificación del trigo, se utilizó la técnica de panificación de masa directa, utilizando el método AACC 10-09 (1995), sin adición de oxidantes u otro tipo de aditivo que pudiera interferir con la expresión de las características reológicas; con la formulación de ingredientes de la Tabla 5.

Tabla 5. Ingredientes para panificación método AACC 10-09

Ingrediente	Cantidad
Harina refinada (14% de humedad)	100 g
Leche en polvo	3 g
Grasa vegetal	3 g
Solución de levadura al 12%	25 ml
Solución de azúcar – sal (20 y 4%)	25 ml
Agua destilada	según absorción

La harina y demás ingredientes se mezclaron en un microamasador, hasta obtener una masa bien desarrollada, homogénea y cohesiva. Posteriormente se fermentó en la cámara de fermentación a 30 °C y una humedad relativa de 95%; durante 3 horas 55 min, en este lapso de tiempo se realizaron 2 desgasificaciones con la finalidad de eliminar el exceso de CO₂ para que las levaduras aprovecharan al máximo los azúcares, además de distribuir uniformemente las celdillas, cuidando de no romperlas; se realizó además el moldeo, que es la formación de un cilindro, el cual se colocó en un molde. Seguido de esto se llevó a cabo el horneado a 220 °C durante 25 min; saliendo del horno los panes se retiraron del molde, se pesaron y se les determinó el volumen con ayuda de un volutómetro (Olán *et al.*, 2010) por desplazamiento de semillas de colza (*Brassica sp.*).

4.3. Métodos para medición de las pruebas mecánicas de trigo en grano

Se atemperaron granos de trigo de las 36 líneas evaluadas en una cámara a 25 °C con 24 h de anticipación para homogeneizar la temperatura y humedad de las muestras a analizar.

Se midió individualmente el largo ancho y altura de cada grano de trigo de acuerdo a la Figura 22A (ASABE, 2009), para posteriormente saturarlo de tinta en un cojín (para poder marcar la huella de la superficie de contacto), se colocaron los granos individualmente en la base del analizador de textura TA.XT2 (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY/Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK) con una celda de 25 kg, en la parte superior del grano se les colocó un papel para poder medir la huella marcada por la superficie de contacto, la cual fue medida (Figura 22) después de digitalizarla con el software ImageJ (Wayne Rasband, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA), para análisis de imágenes; esta área fue utilizada en el cálculo del esfuerzo, a partir de la fuerza indicada por el texturómetro de acuerdo a la metodología propuesta por Ponce-García, *et al.* (2008). Este procedimiento fue utilizado para la prueba de relajación de esfuerzos y *creep*.

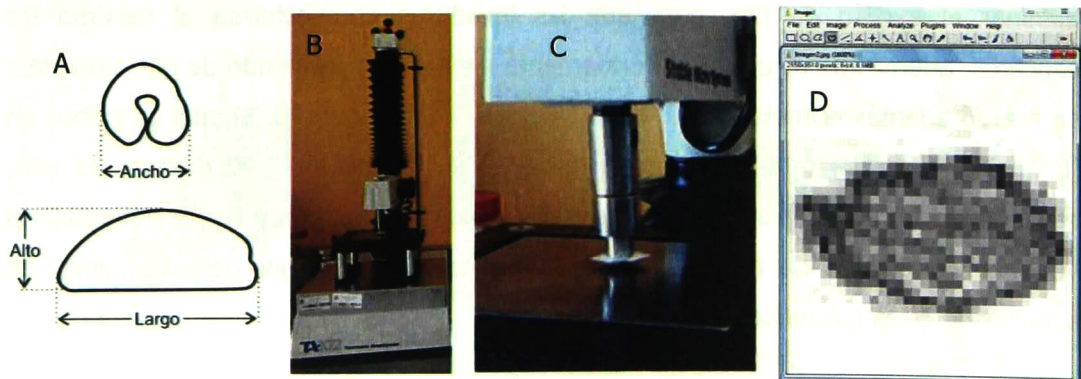


Figura 22. Medición de las dimensiones del grano de trigo (A); medición de la fuerza en texturómetro (B y C), medición del área de contacto en ImageJ (D).

4.3.1. Trabajo elástico y plástico

El trabajo plástico y elástico de los granos de trigo en compresión se calcularon de las curvas de carga y descarga (Ponce-García *et al.*, 2008). El área bajo la curva de carga corresponde a el trabajo total realizado sobre el trigo, durante la compresión. Durante la descarga el área bajo la curva, representa el trabajo que se recupera en el trigo, y es la parte elástica, del trabajo total. El trabajo disipado por la deformación plástica no es recuperado, y está representado por la diferencia de las curvas de trabajo total menos el trabajo elástico en la curva esfuerzo-deformación (Gubicza *et al.*, 1996).

4.3.2. Relajación de esfuerzos y el modelo generalizado de Maxwell

Esta prueba realizada a granos individuales de trigo, se realizó en un analizador de textura TA.XT2 (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY/Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK), equipado con una probeta TA-510 (diámetro = 10 mm), y con las siguientes condiciones: desplazamiento en compresión a una velocidad de 0.1 mm/s hasta un desplazamiento de 0.5 mm, distancia a la que se mantuvo constante la deformación durante 600 s, registrando el cambio en la fuerza.

Los datos obtenidos presentaron una tendencia similar a la curva que se muestra en la Figura 23, y para analizarlos igualamos $t_0=0$, para poder resolver la ecuación diferencial que da como resultado el modelo generalizado de Maxwell descrito por Hernández *et al.* (2012a).

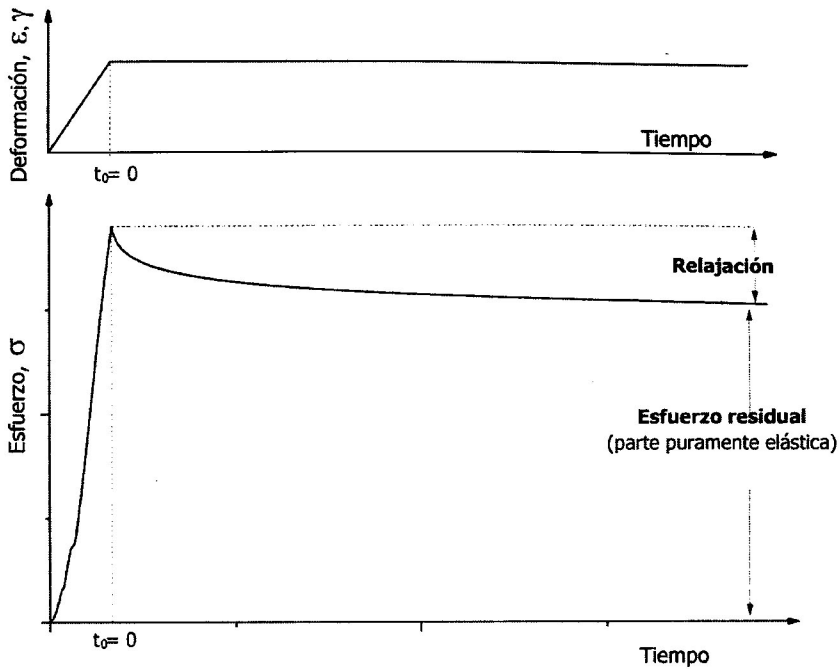


Figura 23. Prueba de relajación de esfuerzos aplicada a granos de trigo (0.5 mm de deformación durante 600 s)

Posteriormente la curva se ajusta al modelo generalizado de Maxwell, el cual está representado en la Figura 24 como un modelo mecánico sin masa, y que matemáticamente se representa de acuerdo a la ecuación 1.

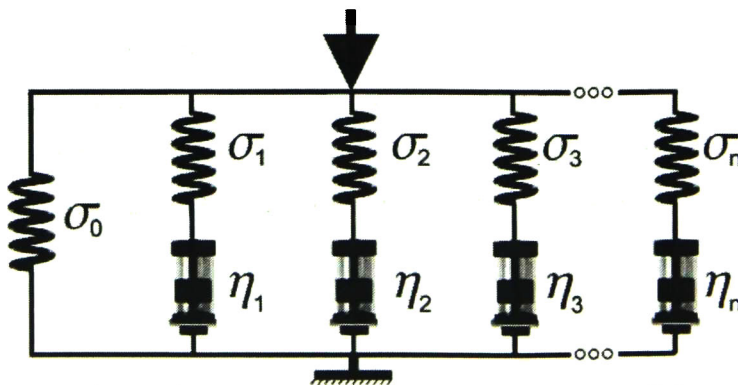


Figura 24. Representación mecánica del modelo generalizado de Maxwell (Hernández *et al.*, 2012a).

$$\sigma(t) = \sigma_0 + \sigma_1 e^{-t/\tau_1} + \sigma_2 e^{-t/\tau_2} + \sigma_3 e^{-t/\tau_3} + \dots + \sigma_n e^{-t/\tau_n} \quad (1)$$

Donde

$\sigma(t)$ = Relajación de esfuerzos en función del tiempo

σ_0 = Esfuerzo residual o puramente elástico

$\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3, \sigma_n$ = Esfuerzos relajados en el i-ésimo elemento de Maxwell

$\tau_1, \tau_2, \tau_3, \tau_n$ = i-ésimo tiempo de relajación de esfuerzo

4.3.3. Método de la prueba de *creep* en granos de trigo

Esta prueba realizada a granos individuales de trigo previamente atemperados y medidos de la misma forma que para la prueba de relajación de esfuerzos, se realizó en un analizador de textura TA.XT2 (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY/Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK), equipado con una probeta TA-510 (diámetro =10 mm), con las siguientes condiciones: desplazamiento en compresión a una velocidad de 0.1 mm/s y con dos niveles de compresión una de 80 y la otra de 70 N de fuerza en compresión, la que se mantuvo constante durante 1,200 s, registrando el cambio en la fuerza. Posteriormente se calculó el esfuerzo con el área de contacto de acuerdo a la metodología propuesta por Ponce-García *et al.* (2008).

Los datos obtenidos son como los presentados en la Figura 25 de donde eliminamos el tiempo durante el cual el esfuerzo se va incrementando, para igualar $t_0 = 0$, condición necesaria para resolver la ecuación diferencial para poder ajustar los datos a el modelo generalizado de Kelvin-Voigt descrito por Hernández *et al.* (2012b)

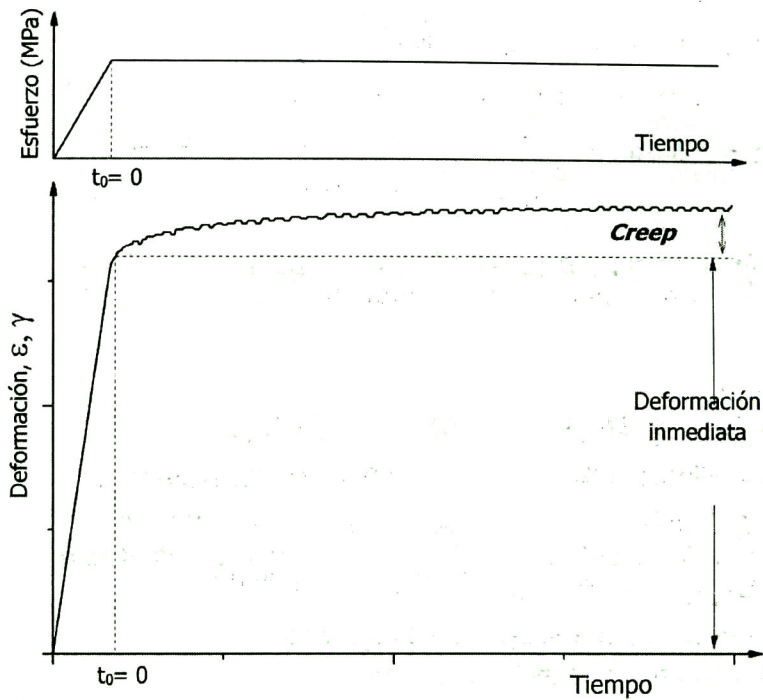


Figura 25. Prueba de *Creep* aplicada a granos de trigo (mantenemos el esfuerzo constante, y evaluamos la deformación).

Posteriormente se ajustó al modelo generalizado de Kelvin-Voigt, con 1, 2, y 3 elementos de Kelvin, en la Figura 26 se muestra una representación mecánica del modelo generalizado de Kelvin-Voigt, y que de forma matemática se representa de acuerdo a la ecuación 2.

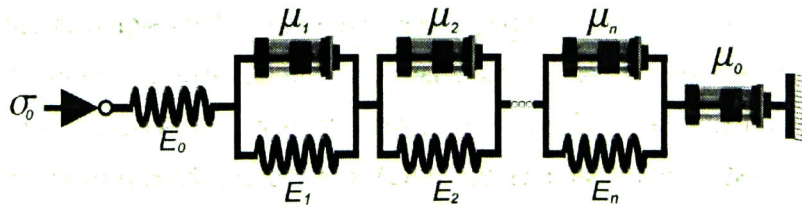


Figura 26. Representación mecánica del modelo generalizado de Kelvin-Voigt (σ_0 : esfuerzo aplicado, E : módulo de elasticidad, μ : coeficiente de viscosidad) (Hernández *et al.* 2012b).

$$\frac{1}{E}(t) = \frac{1}{E_0} + \frac{1}{E_1}(1 - e^{-t/\lambda_1}) + \frac{1}{E_2}(1 - e^{-t/\lambda_2}) + \dots + \frac{1}{E_n}(1 - e^{-t/\lambda_n}) + \frac{t}{\mu_0} \quad (2)$$

con

$$\lambda_i = \frac{\mu_i}{E_0}$$

O en términos de complianza

$$D(t) = D_0 + D_1(1 - e^{-t/\lambda_1}) + D_2(1 - e^{-t/\lambda_2}) + \dots + D_n(1 - e^{-t/\lambda_n}) + \frac{t}{\mu_0} \quad (3)$$

Donde:

$E(t) =$	Módulo de elasticidad en función del tiempo
$E_0 =$	Módulo de elasticidad de la parte puramente elástica
$E_1, E_2, E_n =$	Módulo de elasticidad del i-ésimo elemento de Kelvin
$\mu_1, \mu_2, \mu_n =$	Coefficiente de viscosidad del i-ésimo elemento de Kelvin
$\lambda_1, \lambda_2, \lambda_n =$	i-ésimo tiempo de retardación
$\mu_0 =$	Coefficiente de viscosidad del flujo viscoso
$D(t) =$	Complianza en función del tiempo
$D_0 =$	Complianza de la parte puramente elástica
$D_1, D_2, D_n =$	Complianza del i-ésimo elemento de Kelvin

La prueba de *creep*, se realiza por el monitoreo de la deformación de un espécimen bajo compresión o sujeto a carga muerta. Este tipo de carga es la más simple desde un punto de vista técnico, y es la forma más popular de carga aplicada (Peleg, 1985). Entonces la aplicación de una carga muerta es equivalente a una fuerza constante, sin embargo en el espécimen el esfuerzo no es constante, particularmente si la deformación es suficientemente grande para causar cambios significativos en el área de la sección transversal. Para estudiar estas implicaciones, varios autores han sugerido procedimientos y fórmulas matemáticas para corrección (Calzada y Peleg, 1978; Peleg, 1985; Purkayastha *et al.*, 1985), con las que fueron evaluados los datos experimentales.

En ingeniería, la aproximación de Cauchy en relación a la deformación (ϵ_c), es $\epsilon_c = \alpha - 1$. Para un espécimen incompresible bajo una prueba ideal, i.e. donde solo las

dimensiones del espécimen cambian, pero no su forma, la relación entre deformación y el área de la sección transversal.

$$A(\alpha) = A_0/\alpha$$

Donde: $A(\alpha)$ es el área actual (en el instante), A_0 el área inicial (en nuestro caso en el inicio del *creep*) y α la relación entre la altura de la muestra y la altura inicial (inicio del *creep*); para compresión utilizando los datos del experimento.

$$\alpha = (H_f + \Delta H)/H_f$$

Donde: H_f es la altura final y ΔH el cambio en la altura de la muestra durante el *creep*. En este experimento α y ΔH son funciones del tiempo que más apropiadamente se escribirían $\alpha(t)$ y $\Delta H(t)$.

La complianza en compresión uniaxial $D(t)$ es definida como la deformación, $\varepsilon(t)$ por unidad de esfuerzo, $\alpha(t)$ o

$$D(t) = \varepsilon(t)/\sigma$$

Una forma no corregida por el cambio en el área, para muy pequeñas deformaciones puede escribirse como

$$D(t) = A_0\varepsilon(t)/W$$

Donde el esfuerzo es la aplicación de una fuerza constante, W por unidad de área, A_0 , sí el cambio de área de la sección transversal es pequeño, y el esfuerzo es similar a la complianza corregida, $D_c(t)$.

$$D_c(t) = A_0\varepsilon(t)/W\alpha(t)$$

En la presente investigación los granos de trigo con 12% de contenido de humedad presentaron en promedio un *creep* de 0.02%, que tiene una diferencia de 0.78 MPa, la cual no fue diferente estadísticamente ($P < 0.05$) entre las complianzas $D(t)$ y $D_c(t)$, por lo que la corrección no fue necesaria (Hernández *et al.*, 2012b). Sin embargo para deformaciones más grandes o mayores contenidos de humedad, la corrección puede ser necesaria.

4.3.4. Pruebas en masa de trigo (*creep* y recuperación)

Este procedimiento se implementó con el objetivo de corroborar los resultados obtenidos en las pruebas de relajación de esfuerzo y *creep* en grano, y así analizar la reología de la masa de trigo y poder determinar si existe relación con las pruebas realizadas directamente en granos de trigo intactos.

4.3.4.1 Mediciones de *creep* y recuperación

La preparación de la muestra para este análisis reológico consistió en 10 g de harina (14% de humedad) a una absorción óptima en el farinógrafo (500 UB). Las masas fueron preparadas en el farinógrafo, mezcladas hasta el desarrollo óptimo más 1 min adicional para garantizar la homogeneidad de la muestra, posteriormente fue manipulada para darle forma redondeada y colocada en una prensa (lubricada) con un plato superior de 2.5 kg y un claro de 2.5 mm durante 40 min a temperatura ambiente. De donde se obtuvo un disco o galleta de 25 mm de diámetro, el cual se colocó en la base del reómetro AR1000 (TA Technologies Instruments, New Castle, DE), se cubren con aceite mineral para evitar deshidratación y errores por fricción (ver Figura 27).

La geometría utilizada fue la de platos paralelos con un claro de 2.5 mm y un plato superior de 25 mm de diámetro. La superficie de contacto de la base y la probeta utilizada fue de cuadros estriados para mantener un mejor control de la muestra. Después de bajar la probeta los discos fueron recortados cuidadosamente para evitar errores por fricción. La temperatura se mantuvo constante a 25 °C durante la prueba que se llevó a cabo durante 100 s a 100 Pa de esfuerzo para el *creep* y 100 s para la fase de recuperación o "*recovery*". Los datos fueron colectados con la opción muestra rápida "fast sampling" del reómetro.

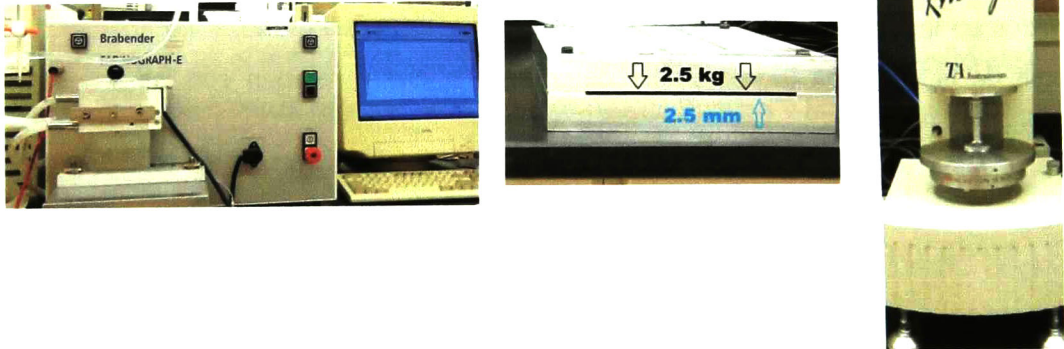


Figura 27. Equipo empleado para la prueba de *creep* y recuperación. De izquierda a derecha farinógrafo E, prensa y reómetro (equipo de Oklahoma State University).

El análisis de trigo se realizó utilizando también el modelo de Kelvin-Voigt como el presentado en la sección anterior (ver Figura 26), con modificaciones en la nomenclatura, debido a que en este caso la prueba en el reómetro se llevó a cabo con deformación transversal a diferencia del grano en la que la deformación fue axial. La nomenclatura utilizada es en este caso fue la sugerida por la IUPAC (por sus siglas en inglés, Unión Internacional de Química Pura y Aplicada), para deformaciones transversales (Kaye *et al.*, 1998).

J : para la complianza en deformación transversal

G : para el módulo elástico

η : para el coeficiente de viscosidad

Para el análisis de la recuperación se analizará considerando que la deformación máxima de la prueba es recuperación cero; la deformación final será la máxima recuperación, y el tiempo a la máxima deformación exigimos que sea cero para poder resolver la ecuación diferencial que resuelve el modelo (Figura 28). El modelo empleado será similar al generalizado de Kelvin-Voigt, sin la parte puramente viscosa,

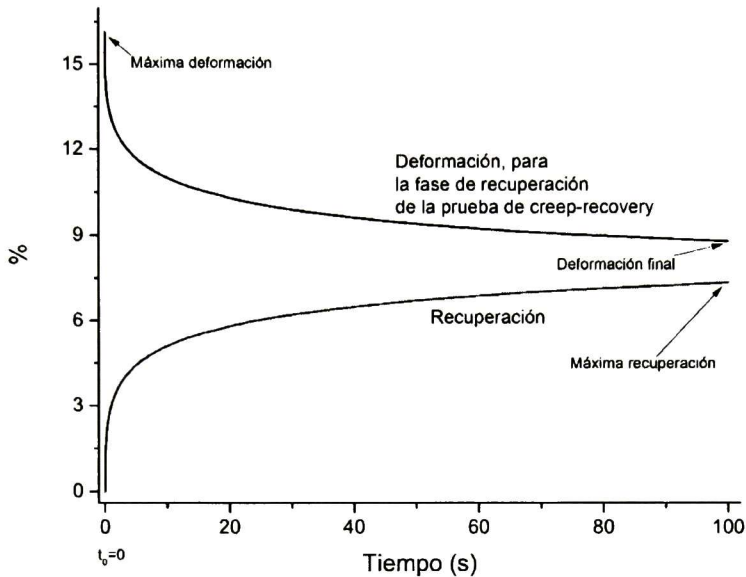


Figura 28. Transformación de las curvas de deformación a curvas de recuperación de la prueba de recuperación.

El modelo mecánico generalizado a utilizado para el análisis de este comportamiento viscoelástico se muestra en la Figura 29, el cual es muy similar al modelo generalizado de Kelvin (Figura 26) sin la parte puramente viscosa.

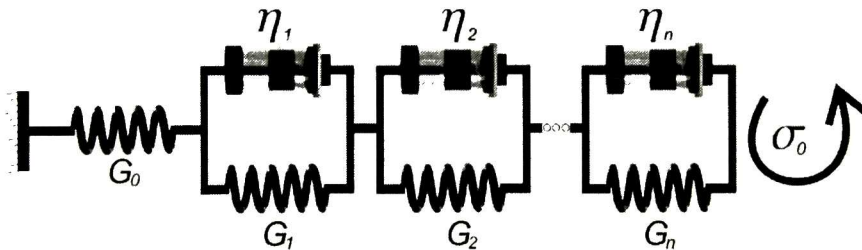


Figura 29. Modelo generalizado para la recuperación.

Y se ajustó a la expresión matemática de la ecuación 4.

$$\frac{1}{G}(t) = \frac{1}{G_0} + \frac{1}{G_1}(1 - e^{-t/\lambda_1}) + \frac{1}{G_2}(1 - e^{-t/\lambda_2}) + \dots + \frac{1}{G_n}(1 - e^{-t/\lambda_n}) \quad (4)$$

con

$$\lambda_i = \frac{\eta_i}{G_0}$$

O en términos de complianza

$$J(t) = J_0 + J_1(1 - e^{-t/\lambda_1}) + J_2(1 - e^{-t/\lambda_2}) + \dots + J_n(1 - e^{-t/\lambda_n}) \quad (5)$$

Donde:

$G(t) =$	Módulo de elasticidad en función del tiempo
$G_0 =$	Módulo de elasticidad de la parte puramente elástica
$G_1, G_2, G_n =$	Módulo de elasticidad del i-ésimo elemento de Kelvin
$\eta_1, \eta_2, \eta_n =$	Coefficiente de viscosidad del i-ésimo elemento de Kelvin
$\lambda_1, \lambda_2, \lambda_n =$	i-ésimo tiempo de retardación
$J(t) =$	Complianza en función del tiempo
$J_0 =$	Complianza de la parte puramente elástica
$J_1, J_2, J_n =$	Complianza del i-ésimo elemento de Kelvin

4.4. Análisis estadístico

Para el ajuste de regresión de los modelos generalizado de Maxwell y de Kelvin-Voigt, ambos exponenciales (no-lineales), se utilizó el software Origin Pro 9 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA), para lo cual se programó las ecuaciones para realizar los ajustes.

Con el software SAS, versión 9.2 (SAS Institute, 2009) los coeficientes de regresión fueron analizados por una comparación de medias por subunidades de glutenina utilizando la prueba de Duncan ($\alpha \leq 0.05$), además de evaluar las correlaciones de Pearson de los parámetros obtenidos de reología con métodos tradicionales.

V. Resultados y discusión

5.1. Relajación de esfuerzos en granos de trigo

5.1.1. Propiedades viscoelásticas del grano de trigo

Varios estudios han indicado que las gluteninas exhiben una propiedad viscoelástica única, cuando son hidratadas son las responsables en gran medida de las propiedades reológicas de la masa de trigo, lo cual ha sido ampliamente estudiado. Sin embargo poca investigación existe sobre la viscoelasticidad de los granos de trigo con limitadas cantidades de agua, recientes estudios se han realizado al respecto sobre las propiedades mecánicas de trigo en grano (Figueroa *et al.*, 2009; Maucher *et al.*, 2009; Ponce-García *et al.*, 2008). Pero poca ha sido sobre la influencia de las gluteninas y la viscoelasticidad directamente en granos de trigo (Figueroa *et al.*, 2011c).

Los granos de trigo están continuamente sujetos a una serie de cargas estáticas y dinámicas durante la cosecha, manejo, transporte, almacenamiento, procesamiento y molienda. Estas cargas causan daños al trigo, demeritando su calidad intrínseca, asociada a su composición de SG-APM y SG-BPM; e incrementa la susceptibilidad al deterioro durante el almacenamiento. El daño ocasionado depende de la magnitud y tipo de carga a las cuales está sujeto el trigo y de la composición de las gluteninas, las cuales tienen un comportamiento viscoelástico, por lo que sus propiedades mecánicas están en función del tiempo similarmente a la gran mayoría de los alimentos.

Se desarrolló una metodología para que a partir de granos de trigo individuales sujetos a una relajación de esfuerzos, un posterior ajuste de las curvas con el modelo generalizado de Maxwell, para analizar los coeficientes de regresión por subunidades de glutenina y su relación con la calidad funcional.

La Figura 30 ilustra una curva típica del modelo generalizado de Maxwell con 4 elementos de Maxwell o exponenciales, así como una parte puramente elástica, representada con un resorte en el modelo mecánico que analizaremos en la presente sección.

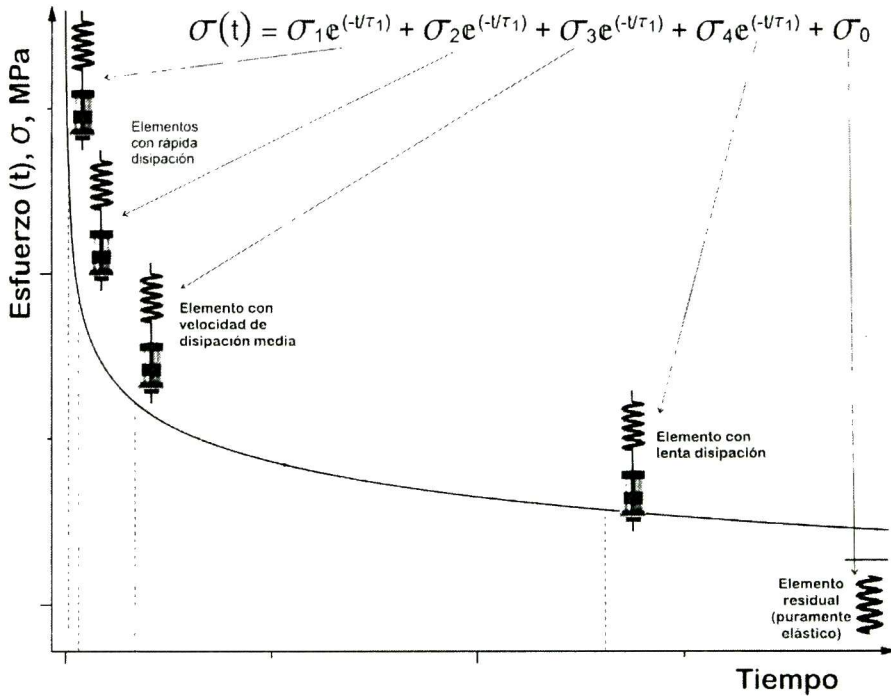


Figura 30. Curva típica de la relajación de esfuerzos, indicando los elementos del modelo generalizado de Maxwell.

5.1.2. Selección del modelo

En trabajos previos en granos de trigo (Figuroa *et al.*, 2011a) se reportó que 3 elementos de Maxwell con 0.5 mm de desplazamiento, y una velocidad de carga de 0.1 mm/s fueron apropiados para obtener importantes datos de calidad de diferentes tipos de trigo a diferentes contenidos de humedad y desplazamientos. Sin embargo, para la prueba de relajación de esfuerzos faltaba certeza de haber llegado al equilibrio (Figuroa *et al.*, 2011a), por lo que la fase de relajación se evaluó hasta 600 s. En

otros trabajos (Matsumoto *et al.*, 1974), se estudió la relajación de la masa utilizando un extensógrafo, reportando que el comportamiento de la masa no puede ser representado por un modelo con solo un elemento de Maxwell, pero sí con varios elementos distribuidos en el rango de 1 a 1,000 s en los tiempos de relajación. En la presente investigación se utilizaron 600 s para la fase de relajación de esfuerzos, y se ajustaron las curvas a modelos con 3, 4, 5 y 6 elementos de Maxwell. En el modelo de 5 elementos de Maxwell, algunas repeticiones de los granos de trigo mostraron un cuadrado de la media del residual menor a 1.1×10^{-4} y un alto coeficiente de determinación R^2 (>0.9999) para el análisis de regresión de la ecuación exponencial, sin embargo presentó una menor correlación con el volumen de sedimentación y las propiedades reológicas de la masa, comparada con los modelos de 3 y 4 elementos de Maxwell. El ajuste del modelo de 6 elementos presentó mejores parámetros estadísticos, pero con algunos coeficientes negativos, lo cual es físicamente improbable para el modelo. Por lo que se trabajó con el modelo generalizado de Maxwell de 4 elementos exponenciales, que presentó un R^2 de 0.999 y un cuadrado medio del residual de 1.3×10^{-4} a 6.6×10^{-6} .

5.1.3. Influencia de las gluteninas en las propiedades fisicoquímicas, reológicas y mecánicas del trigo.

Los locus *Glu-3* (Tabla 6) tienen mayor influencia en el volumen de sedimentación y elasticidad del grano que los locus *Glu-1*. *Glu-A1* muestra diferencias significativas en el esfuerzo y trabajo plástico. *Glu-A1* tiene diferencias solo en el esfuerzo. La influencia de *Glu-D1* con la mayoría de muestras conteniendo 5+10 no pudo ser evaluada de una manera amplia en este estudio debido a la limitada variabilidad genética de los materiales; sin embargo, se presentó un importante efecto de *Glu-D1* en el tiempo de mezclado y trabajo plástico. Por otro lado *Glu-A3* influye solo a las propiedades mecánicas del grano (E , esfuerzo, fuerza, W_e y W_p), mientras que *Glu-B3* muestra diferencias significativas tanto en los parámetros de calidad y las propiedades

mecánicas. Resultados similares han sido reportados (Figueroa *et al.*, 2011c; Tsenov *et al.*, 2010), que indicaron que los alelos *Glu-A3* y *Glu-B3* tienen gran influencia en la calidad y uso final del trigo.

Tabla 6. Valores de F para el análisis de varianza en una sola dirección de las características fisicoquímicas del trigo por locus de SG de BPM y APM ^a.

Grupo genotípico	Proteína	SDS Volumen	Tiempo de Mezclado	Alveógrafo				Propiedades mecánicas del trigo en grano				
				Trabajo	Tenacidad	Extensibilidad	P/L	Módulo de elasticidad	Esfuerzo	Fuerza	Trabajo elástico	Trabajo plástico
<i>Glu-A1</i>	0.17	1.48	1.69	2.73	0.63	0.94	0.54	2.64	5.14 *	2.42	1.94	3.78 *
<i>Glu-B1</i>	0.99	0.28	0.12	2.13	0.90	0.31	0.42	2.60	4.14**	1.44	0.98	1.33
<i>Glu-D1</i>	0.00	0.34	2.64†	2.02	1.90	1.98	1.75	0.79	0.55	0.01	0.61	5.63 *
<i>Glu-A3</i>	1.58	2.15	1.13	1.07	0.45	0.04	0.33	3.62*	4.20 *	6.19**	6.33**	4.63**
<i>Glu-B3</i>	0.66	4.45**	7.02**	6.35**	1.63	3.11 *	3.43 *	3.30 *	3.12 *	3.19 *	1.67	3.02 *
<i>Glu-D3</i>	2.45	0.10	1.66	3.01*	0.72	1.47	2.23	1.22	2.25	2.17	5.03**	1.87

* , ** , *** y †; Significativo a $\alpha < 0.05$, $\alpha < 0.01$, $\alpha < 0.001$, y $\alpha < 0.1$ respectivamente.

^a: 36 líneas de trigo analizadas.

5.1.4. Efecto de la composición de gluteninas de bajo y alto peso molecular en el comportamiento viscoelástico del trigo en la relajación de esfuerzos

Varios autores han indicado que ciertas gluteninas de alto peso molecular están relacionadas con la calidad de reológica y de panificación, especialmente las *Glu-D1* 5+10, *Glu-B1* 17+18 (Payne *et al.*, 1987). Varios estudios de propiedades reológicas se han realizado utilizando el farinógrafo, alveógrafo y reómetro para evaluar dichas propiedades, otros estudios bioquímicos han extraído las proteínas para medir dichas propiedades. Sin embargo, si las proteínas están en el grano no hay necesidad de extraerlas ya que alterarían sus propiedades intrínsecas del mismo por lo que en el presente estudio se propuso obtener dicha información del grano intacto por medio del uso del texturómetro, y utilizar modelos matemáticos para su interpretación.

El siguiente paso fue evaluar si estas proteínas presentaron diferencias en propiedades viscoelásticas que pudieran explicar dicha calidad. Para lo cual se emplearon las pruebas de relajación de esfuerzos directamente del grano de trigo intacto.

La influencia de los diferentes grupos genotípicos de las SG-BPM y -APM en los esfuerzos relajados σ_i y en los tiempos de relajación τ_i de la ecuación 1 calculados a partir de las curvas de compresión de granos intactos de trigo se muestra en la Tabla 7. Los valores de F de la prueba de Fisher para el análisis de varianza muestran que *Glu-A1* y *Glu-B1* son afectados significativamente en los esfuerzos: puramente elástico y el del cuarto elemento de Maxwell. Cabe aclarar que en los presentes datos solo 2 muestras poseían la subunidad 2+12 en el locus *Glu-D3*. El locus *Glu-3* correspondientes a las gluteninas de bajo peso molecular presentó influencia en las propiedades de relajación obtenidas especialmente *Glu-B3* y *Glu-A3*. Estos resultados están en concordancia con las observaciones de la influencia de las gluteninas en las propiedades fisicoquímicas, reológicas y mecánicas del trigo (sección anterior).

Tabla 7. Valores de F del análisis de varianza en una sola dirección para los coeficientes de esfuerzos y tiempos de relajación por locus de gluteninas de bajo y alto peso molecular ^a.

Grupo genotípico	σ_0	σ_1	τ_1	σ_2	τ_2	σ_3	τ_3	σ_4	τ_4	$\Sigma\tau_i$	$\Sigma\sigma_i$
<i>Glu-A1</i>	7.03 **	7.43 **	0.15	7.55 **	0.19	6.35 **	0.57	8.31 **	0.46	0.46	11.22 ***
<i>Glu-B1</i>	2.30	5.73 **	1.50	3.39 **	1.38	6.12 **	0.55	3.91 **	0.84	0.81	8.09 ***
<i>Glu-D1</i>	5.21 *	3.10	2.30	3.58	0.69	6.46 *	1.29	7.30 **	3.33	3.14	8.31 **
<i>Glu-A3</i>	8.55 ***	2.77 *	0.50	2.68 *	2.61 *	6.53 **	3.37 *	9.26 ***	3.33 *	3.48 *	6.83 **
<i>Glu-B3</i>	5.46 **	3.62 **	1.84	5.80 **	3.42 **	6.38 ***	4.89 **	5.76 ***	2.32 *	2.72 *	6.29 ***
<i>Glu-D3</i>	4.68 **	2.95 *	1.08	3.18 *	1.41	2.16	2.16	3.59 *	0.90	1.10	4.45 **

*, **, *** y †; Significativo a $\alpha < 0.05$, $\alpha < 0.01$, $\alpha < 0.001$, y $\alpha < 0.1$, respectivamente.

^a: 36 líneas de trigo analizadas.

En la Tabla 8 se tiene la media del análisis de varianza de los coeficientes estimados de la regresión ajustada a un modelo generalizado de Maxwell de 4 elementos exponenciales. Se observan diferencias significativas en las medias de la parte puramente elástica (σ_0) y en los esfuerzos de los elementos de Maxwell σ_1 , σ_2 , σ_3 y σ_4 de la subunidad nula o silenciosa de *Glu-A1* comparado con las subunidades 1 y 2*

del mismo locus. El grupo genotípico *Glu-B1* mostró diferencia en los esfuerzos σ_1 , σ_3 y σ_4 , mientras que para este estudio con limitada variabilidad en la composición del locus *Glu-D1*, las subunidades 5+10 y 2+12 mostraron diferencias en algunos esfuerzos. En lo que se refiere al loci *Glu-3*, todos los grupos alélicos mostraron diferencias significativas (Tabla 8), especialmente *Glu-B3* la cual también presentó diferencias en los tiempos de relajación.

El análisis de estos experimentos de relajación de esfuerzos en granos de trigo (Tabla 8) sugiere dos mecanismos de relajación: uno a tiempos cortos de 1 a 10 s (τ_1 y τ_2); y otro a tiempos largos \approx 50 a 450 s (τ_3 y τ_4). Varios investigadores han reportado similares tiempos de relajación en granos de trigo (Figuroa *et al.*, 2011a), en granos de cebada (Bargale y Irudayaraj, 1995), en gluten (Bohlin y Carlson, 1980; Li *et al.*, 2003) y en masa (Matsumoto *et al.*, 1975; Matsumoto *et al.*, 1974; Mita y Bohlin, 1983) utilizando diferentes equipos. Figuroa *et al.* (2011a) reportaron datos de granos de *Triticum aestivum* y *T. durum* en compresión con 13% de humedad y 17% de deformación, de alrededor de 1.5, 12 y 111 s para tiempos de relajación τ_1 , τ_2 y τ_3 , respectivamente (con un modelo de tres elementos de Maxwell).

Como referencia adicional, para granos de cebada a 10.1% de humedad y 4% de deformación se reportaron tiempos de relajación de 2.19, 7.58 y 20.8 s para τ_1 , τ_2 y τ_3 , respectivamente (Bargale y Irudayaraj, 1995).

Utilizando un reómetro (Bohlin y Carlson, 1980) reportaron tiempos de relajación de masa de trigo de 1 y 100 s; y en gluten modificado de 1 y 500 s (Mita y Bohlin, 1983) atribuible a la orientación estructural del gluten en masa. Otros investigadores indicaron (Rao *et al.*, 2001) que la fuerza de la masa de semolina-agua del trigo cristalino o duro, el cual tiene altas proporciones de gluteninas, para llegar a la iso-relajación presentó tiempos más largos entre 42.3 y 50.1 s, comparado con el intermedio de 20 a 22.3 s; y para masas débiles de 8.4 a 11.3 s.

Tabla 8. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Maxwell para la relajación de esfuerzo por subunidades de glutenina ^{a,b}.

Grupo genotípico	Alelo	σ_0 (MPa)	σ_1 (MPa)	τ_1 (s)	σ_2 (MPa)	τ_2 (s)	σ_3 (MPa)	τ_3 (s)	σ_4 (MPa)	τ_4 (s)
<u>Subunidades de glutenina de alto peso molecular</u>										
<i>Glu-A1</i>	nulo	18.01 b	1.13 b	1.02 a	1.01 b	8.10 a	0.94 b	47.33 a	1.24 b	367 a
<i>Glu-A1</i>	1	25.75 a	1.73 a	1.02 a	1.86 a	8.38 a	1.41 a	48.83 a	1.91 a	383 a
<i>Glu-A1</i>	2*	27.65 a	1.99 a	1.05 a	1.65 a	8.16 a	1.40 a	47.75 a	2.00 a	376 a
<i>Glu-B1</i>	7+8	30.36 a	1.51 bc	0.87 a	1.74 a	7.16 a	1.47 a	44.75 a	1.98 ab	351 a
<i>Glu-B1</i>	17+18	24.70 a	1.38 c	0.98 a	1.31 a	7.92 a	1.10 b	47.82 a	1.61 b	386 a
<i>Glu-B1</i>	7+9	26.04 a	1.98abc	1.05 a	1.75 a	8.28 a	1.42 ab	47.92 a	1.96 ab	377 a
<i>Glu-B1</i>	13+16	31.28 a	2.14 ab	1.22 a	1.84 a	9.23 a	1.54 a	48.18 a	2.25 a	377 a
<i>Glu-B1</i>	7	26.14 a	2.32 a	1.15 a	1.89 a	8.39 a	1.72 a	51.60 a	2.13 ab	398 a
<i>Glu-D1</i>	2+12	20.80 b	1.45 a	0.86 a	1.30 a	7.64 a	1.06 b	44.92 a	1.45 b	346 a
<i>Glu-D1</i>	5+10	26.84 a	1.88 a	1.05 a	1.70 a	8.26 a	1.40 a	48.01 a	1.95 a	379 a
<u>Subunidades de glutenina de bajo peso molecular</u>										
<i>Glu-A3</i>	<i>b</i>	30.7 a	2.18 a	1.03 a	1.79 a	8.46 a	1.54 a	47.70 a	2.16 a	371 a
<i>Glu-A3</i>	<i>c</i>	26.9 ab	1.78 a	1.69 a	1.73 a	8.50 a	1.40 ab	49.24 a	1.99 a	388 a
<i>Glu-A3</i>	<i>d</i>	24.1 b	2.02 a	0.94 a	1.76 a	7.33 a	1.48 a	45.83 a	1.93 a	354 a
<i>Glu-A3</i>	<i>e</i>	21.2 b	1.74 a	0.98 a	1.39 a	7.31 a	1.13 b	44.03 a	1.49 b	355 a
<i>Glu-B3</i>	<i>d</i>	30.1 a	1.52 ab	1.06 ab	1.99 a	9.39 a	1.49 a	52.69 a	2.03 a	392ab
<i>Glu-B3</i>	<i>f</i>	14.9 c	1.49 ab	0.81 b	1.10 c	6.58 b	0.87 bc	42.14 b	1.15 c	340 b
<i>Glu-B3</i>	<i>g</i>	20.8 bc	0.86 b	1.23 a	0.85 c	9.04 a	0.82 c	53.40 a	1.40 bc	426 a
<i>Glu-B3</i>	<i>h</i>	27.2 ab	1.98 a	1.05 ab	1.73 ab	8.23 ab	1.45 a	47.92ab	2.03 a	379ab
<i>Glu-B3</i>	<i>i</i>	21.8 bc	2.02 a	1.13 ab	1.44 abc	7.96 ab	1.17 abc	44.95 b	1.55 abc	360 b
<i>Glu-B3</i>	<i>j</i>	27.2 ab	1.70 a	0.75 b	1.32 bc	6.31 b	1.22 ab	40.18 b	1.78 ab	348 b
<i>Glu-D3</i>	<i>a</i>	29.6 a	1.99 a	0.96 a	1.60 a	7.76 a	1.38 a	46.08 b	2.01 a	371 a
<i>Glu-D3</i>	<i>b</i>	25.1 ab	1.87 a	1.07 a	1.74 a	8.29 a	1.39 a	48.36 b	1.89 a	379 a
<i>Glu-D3</i>	<i>c</i>	28.7 a	1.70 a	1.04 a	1.74 a	8.64 a	1.40 a	46.85 b	2.10 a	374 a
<i>Glu-D3</i>	<i>d</i>	20.50 b	0.98 b	1.20 a	0.87 b	9.60 a	0.93 b	55.17 a	1.21 b	415 a

^a Medias (n=6) seguidas de diferente letra en un mismo grupo y columna son significativamente diferentes (Duncan, P<0.05).

^b granos sujetos a una deformación de 0.5 mm durante 600 s de relajación.

σ_0 = esfuerzo residual o puramente elástico; $\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3$ y σ_4 = esfuerzo del i-ésimo elemento de Maxwell; τ_1 = tiempo de relajación del i-ésimo elemento de Maxwell. Esfuerzo inicial al tiempo cero = $\sigma_0 + \sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3 + \sigma_4$

También se han reportado dos procesos de relajación: uno menor a 1 s y otro de 10 a 1,000 s (Li *et al.*, 2003), lo cual indica que en el gluten este comportamiento corresponde a la estructura de red asociada a los entrecruzamientos y enlaces cruzados de los polímeros de proteínas. Sin embargo, en el grano de trigo pueden existir proteínas con orientaciones aleatorias; entrecruzamiento entre ellas y unidas con enlaces de hidrogeno con moléculas de agua. En la masa, las proteínas están sujetas a tensión durante el mezclado en una red de proteínas con almidón. Existe además un gran número de interacciones entre cadenas y el hecho que todas estas fuerzas actúen juntas (como resultado de alineación de las moléculas) genera un incremento en la fuerza de la masa. Esto es probablemente la razón por la que los tiempos de relajación reportados para la masa (Li *et al.*, 2003) son mucho más cortos que τ_1 y más largos que τ_4 que los obtenidos para el análisis en granos de la presente investigación.

En el presente trabajo, la relajación de esfuerzos se evaluó directamente en granos de trigo intactos analizando la influencia de la composición de SG-APM y -BPM. Los resultados del modelo generalizado de Maxwell con 4 elementos exponenciales sugieren que las diferencias en la relajación de esfuerzos puede ser explicada por la combinación de esfuerzos de SG-APM y -BPM, además de otros factores que influyen, y no han sido incluidos en este estudio, como son los polímeros no proteicos como los pentosanos y β -glucanos, que actúan como plastificantes (comportamiento viscoso) y disipan energía en el grano de trigo. Tiempos de relajación más cortos fueron se presentaron en líneas con alelos nulos o silenciosos y con menores volúmenes de sedimentación y tiempos de mezclado en el mixógrafo más cortos, mientras que tiempos de relajación más largos se presentaron en trigos con mayores volúmenes de sedimentación. Diferencias en la relajación de esfuerzos fueron encontradas en los diferentes alelos de gluteninas, especialmente en el loci *Glu-3*, y estas diferencias fueron relacionadas con el volumen de sedimentación y resultados del mixógrafo y alveógrafo.

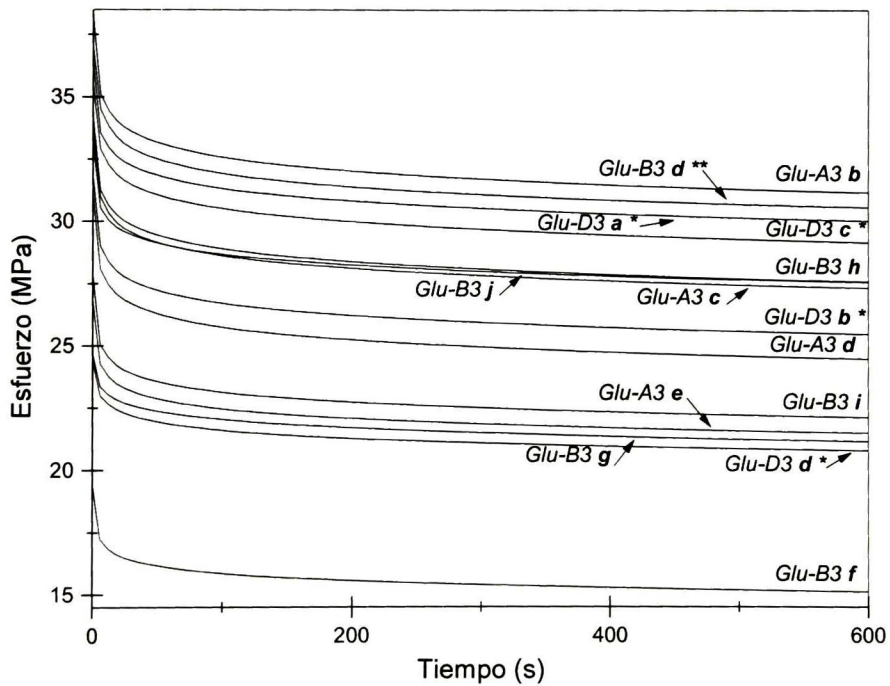
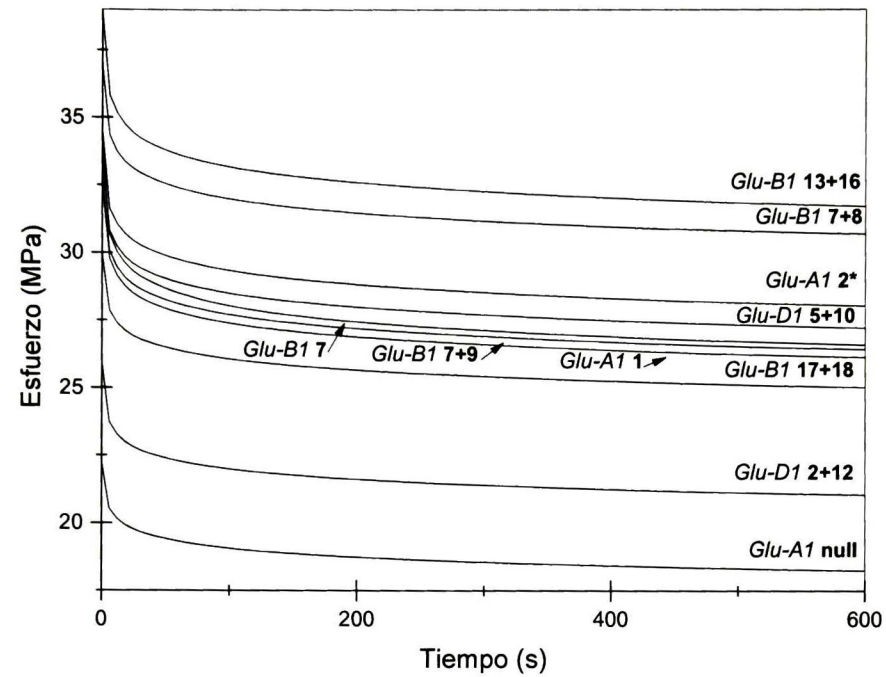


Figura 31. Curvas de relajación de esfuerzos por A) SG-APM y B) SG-BPM (generadas con datos de la tabla 8; alelos con * de *Glu-D3* y ** de *Glu-B3*; *Glu-B3 j*: translocación centeno/trigo).

Las curvas exponenciales fueron caracterizadas por una región de rápida relajación de esfuerzo (σ_1) con un tiempo de relajación (τ_1) entre 0.59 y 1.78 s; una segunda relajación de esfuerzos (σ_2) con un tiempo de relajación (τ_2) entre 5.63 y 11.05 s; el tercer esfuerzo relajado (σ_3) con tiempo de relajación (τ_3) entre 38.24 y 57.75 s; una región de meseta que tiende a hacerse asintótica en el tiempo de relajación (τ_3) de 315.69 a 439.69 s.

Las diferencias de los valores de esfuerzos entre 380 y 600 s fueron muy pequeñas y estadísticamente no significativas en todos los genotipos de trigo evaluados en una deformación de 0.5 mm. La Tabla 8 muestra que los esfuerzos iniciales a tiempo de relajación cero y 12% de humedad fueron relativamente bajos para *Glu-A1* nulo y *Glu-B3 f* con 22.33 y 19.53 MPa, respectivamente, y alto para algunos loci y alelos asociados con buena calidad tales como *Glu-A1 2**, *Glu-D1 5+10*, y *Glu-B3 h* con 34.69, 33.77, y 34.35 MPa, respectivamente (Figura 31). En estudios previos reportaron valores iniciales de esfuerzo 13.6, 24.1 y 24.6 MPa para trigos suaves y duros, respectivamente, con 13 a 20% de humedad y 0.5 mm de desplazamiento en el régimen elástico (Figuroa, *et al.*, 2011a). Valores más altos de esfuerzo han sido reportados para pruebas de relajación llevadas a cabo en el límite elástico, en endospermo (Haddad *et al.*, 2001) de trigo durum, reportando esfuerzos de 34 MPa y equilibrio en 1,000 s. Por otro lado en maíz dentado y corneo con 16 a 20% de humedad se reportaron esfuerzos de 15 a 20 MPa (Singh *et al.*, 1991), similares a los obtenidos en la presente investigación.

5.1.5. Relación entre los coeficientes de relajación de esfuerzos y calidad indicada como volumen de sedimentación y propiedades reológicas.

Los resultados de este análisis sugieren una relación lineal entre algunas propiedades de calidad y los datos de la relajación de esfuerzos directamente en granos de trigo

intactos. Se encontró una correlación lineal significativa entre la calidad y las propiedades viscoelásticas. Las propiedades mecánicas se correlacionaron con el primer esfuerzo relajado o decaído (σ_1), el trabajo plástico correlacionado negativamente con σ_0 y σ_4 , indicando que la región de decaimiento es más afectada por componentes plastificantes como los β -glucanos. El segundo y tercer decaimiento (esfuerzo σ_2 ; tiempos de relajación τ_2 , τ_3 , τ_4) mostraron relación con el volumen de sedimentación y resultados del alveógrafo. El tercer término con un rango de su tiempo de relajación con un rango de 40 a 60 s presentó una mayor correlación con la calidad (Tabla 9).

Tabla 9. Coeficientes de correlación de los parámetros de relajación de esfuerzos de trigo en grano vs. volumen de sedimentación, reología de la masa y propiedades mecánicas del trigo en grano (N=36)^a.

Parámetros	σ_0 (MPa)	σ_1 (MPa)	τ_1 (s)	σ_2 (MPa)	τ_2 (s)	σ_3 (MPa)	τ_3 (s)	σ_4 (MPa)	τ_4 (s)
Proteína ^b	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	Ns	ns	ns
Volumen SDS	ns	ns	ns	0.39 *	ns	ns	0.44 **	ns	ns
SDS Index	ns	ns	ns	0.36 *	ns	ns	0.41 *	ns	ns
Tiempo Mezclado	ns	ns	ns	0.44 **	0.35 *	ns	0.51 **	ns	ns
Trabajo Alveógrafo	ns	ns	ns	Ns	0.38 *	ns	0.60 ***	ns	0.44 *
Tenacidad	ns	ns	ns	Ns	ns	ns	0.52 **	ns	ns
Extensibilidad	-0.48 **	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
P/L	0.52 **	ns	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
Módulo Elástico	0.44 **	0.42 *	ns	0.40 *	ns	0.56 ***	ns	0.60 ***	ns
Esfuerzo	0.42 *	0.42 *	ns	0.38 *	0.35 *	0.53 **	0.32 *	0.51 **	ns
Fuerza	0.57 ***	0.35 *	ns	Ns	ns	0.54 **	ns	0.64 ***	ns
Trabajo Elástico	0.52 **	0.35 *	ns	Ns	ns	0.38 *	ns	0.45 **	ns
Trabajo Plástico	-0.43 **	ns	ns	Ns	ns	0.35 *	ns	-0.47 **	-0.37 *

*, ** y *** son significativas a $P < 0.05$, 0.01 y 0.0001 , respectivamente. No significativa = ns.

^a Granos sujetos a una deformación constante de 0.5 mm y 600 s de relajación.

σ_0 = esfuerzo puramente elástico; σ_1 , σ_2 , σ_3 y σ_4 = esfuerzo del i-ésimo elemento de Maxwell; τ_1 = tiempo de relajación del i-ésimo elemento de Maxwell.

^b Proteína del grano (humedad: 12.5%); Tiempo Mezclado (de la masa en mixógrafo); Trabajo elástico y plástico: áreas bajo la curva correspondiente.

En masas de semolina-agua se han reportado resultados similares (Rao *et al.*, 2001) donde los parámetros t_{50} y t_{75} fueron correlacionados con las propiedades de mezclado, resistencia máxima en el extensógrafo, la relación P/L del alveógrafo, energía de mezclado, tiempo de mezclado y volumen de pan.

De las características, viscoelásticas arrojadas por el modelo generalizado de Maxwell con 4 elementos exponenciales, los tiempos de relajación (τ_2 , τ_3 y τ_4) fueron los mejores indicadores de la calidad (volumen de sedimentación, tiempo de mezclado trabajo y tenacidad de alveógrafo). Los valores de esfuerzos fueron correlacionados con las propiedades mecánicas (E , esfuerzo inicial, fuerza, trabajo plástico y elástico) de los granos de trigo. El tiempo de relajación τ_3 de 45 a 60 fueron correlacionados con altos volúmenes de sedimentación y tiempos de mezclado mayores, comparado con los bajos volúmenes de sedimentación y tiempos de mezclado cortos asociados a τ_3 menores de 45 (Figura 32). Se han reportado tiempos de relajación más cortos para trigos suaves comparado con trigos fuertes y duros (Figueroa *et al.*, 2011a). Como se esperaba los genotipos con tiempos de relajación cortos y bajos volúmenes de sedimentación se presentaron en muestras con *Glu-A1* nulo, con *Glu-B3 j* (1B/1R, traslocación de centeno y trigo) y con *Glu-A3 e* (silencioso). Los genotipos con alto volumen de sedimentación (> 17 ml) y tiempos de mezclado > 3.3 min presentaron tiempos de relajación $\tau_3 > 46$ s y composición buena de SG-APM como *Glu-A1* 1, 2*, *Glu-B1* 7+9, 17+18 y *Glu-D1* 5+10 asociados con variantes alélicas de *Glu-3* loci (SG-BPM), como, *Glu-A3 c*, y *b*, *Glu-B3 g*, *h*, *d*.

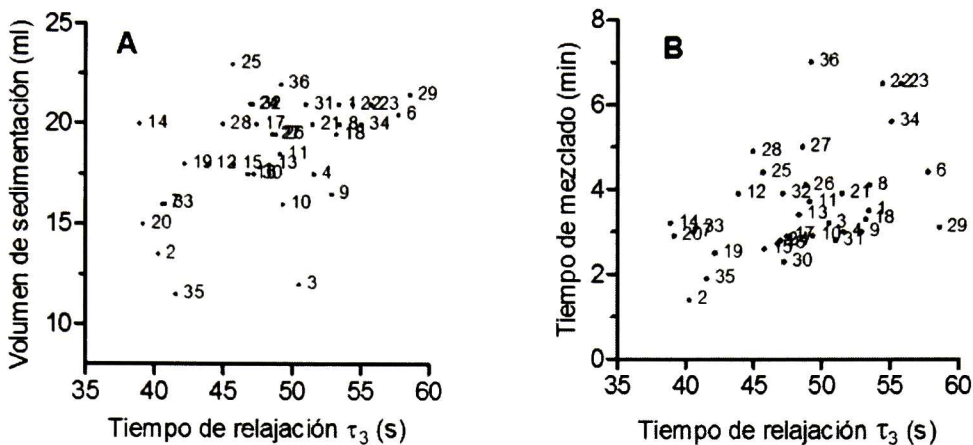


Figura 32. Relación del tiempo de relajación τ_3 con el volumen de sedimentación y tiempo de mezclado.

5.1.6. Conclusiones

El uso del modelo generalizado de Maxwell para describir el comportamiento de relajación de esfuerzos de las subunidades de glutenina de alto y bajo peso molecular en granos de trigo intactos fue utilizado en esta investigación para 36 líneas representando un amplio rango de calidades de trigo.

El modelo generalizado de Maxwell con cuatro elementos exponenciales se ajustó con $R^2 > 0.9998$ y cuadrado medio del residual $< 3.36 \times 10^{-5}$ sugiere que puede ser utilizado para determinar el comportamiento viscoelástico de los grupos genotípicos de las SG-APM y SG-BPM. Los tiempos de relajación presentaron dos contribuciones: la primera que son los tiempos cortos de relajación, la podríamos atribuir a una respuesta rápida endospermo del grano; la segunda descrita por tiempos largos de respuesta del endospermo. Por otro lado, una diferencia significativa fue encontrada entre los tiempos de relajación de los alelos investigados de buena y baja calidad. Los tiempos de relajación de 40 a 60 s (τ_3) fueron asociados con los parámetros de calidad y propiedades reológicas del trigo; mientras los tiempos de relajación cortos (1 a 10 s)

se correlacionaron con las propiedades mecánicas. El contenido de humedad se mantuvo constante en esta investigación, por lo que los grupos genotípicos y los alelos específicos de las SG-APM y SG-BPM del trigo fueron factores predominantes que afectan los coeficientes y tiempo de relajación de esfuerzos de los granos de trigo evaluados con esta metodología.

5.2. Prueba de *creep* en granos de trigo

Diferentes técnicas y equipos han sido utilizados para estudiar la viscoelasticidad del trigo y otros cereales, incluyendo el gluten (Bohlin y Carlson, 1980; Lefebvre *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2003); masa en con pruebas oscilatorias (Amemiya y Menjivar, 1992; Lefebvre y Mahmoudi, 2007) y grandes deformaciones (Amemiya y Menjivar, 1992; Mita y Bohlin, 1983), pruebas en el endospermo (Haddad *et al.*, 2001), y relajación de esfuerzos en granos de trigo (Figuroa *et al.*, 2011a; Hernández *et al.*, 2012a) y en granos de cebada (Bargale y Irudayaraj, 1995; López-Perea *et al.*, 2012), sin embargo, muchos investigadores han indicado que las pruebas de *creep* complianza pueden proveernos más información que las pruebas de relajación de esfuerzos (Alvarez *et al.*, 1998; Chakespari *et al.*, 2010). Aunque, ambas pruebas están interrelacionadas, la función del *creep* depende del esfuerzo y la función de la relajación de esfuerzos depende de la deformación (Oza *et al.*, 2003). La principal ventaja de la prueba de complianza en *creep* sobre la prueba de relajación de esfuerzos es especialmente el elemento correspondiente al flujo viscoso, que pueden ser estimados utilizando el modelo de Burguers o el modelo generalizado de Kelvin-Voigt (Alvarez *et al.*, 1998; Chakespari *et al.*, 2010), como el presentado en la Figura 33.

En las pruebas de *creep* y relajación de esfuerzos en grandes deformaciones han sido llevadas a cabo en diferentes alimentos, por ejemplo, la relativa recuperación de gluten cocido (Kovacs *et al.*, 1994) y la máxima deformación del trigo duro (Edwards *et al.*, 1999) han sido correlacionadas con la calidad de la pasta. A niveles altos de esfuerzos, las muestras biológicas usualmente exhiben comportamientos no lineales, lo cual complica el análisis de los datos. Para esfuerzos >10 Pa, fue encontrado que la masa de harina de trigo ya no exhibe un comportamiento lineal. El modelado del comportamiento no lineal requiere análisis matemáticos más complicados (Hibberd y Parker, 1979).

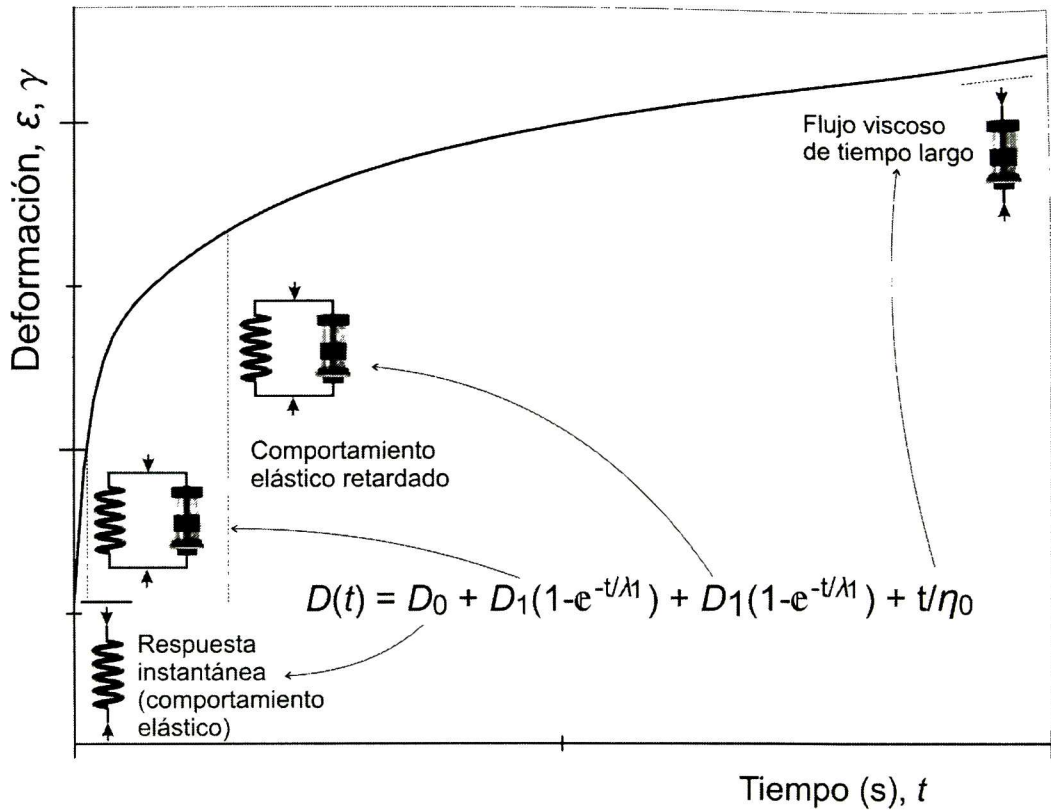


Figura 33. Curva de *creep*, con un modelo de generalizado de Kelvin-Voigt de 8 elementos. D_0 complianza puramente elástica D_1, D_2 complianza de los elementos de Kelvin y η_0 viscosidad.

En este sentido, el objetivo de este estudio fue investigar las propiedades viscoelásticas de granos de trigo intactos utilizando la prueba de *creep*. El ajuste de las curvas obtenidas a diferentes modelos reológicos fue también discutido. El trabajo presenta un análisis del comportamiento reológico de algunas líneas de trigo panadero mediante la prueba de *creep* en compresión. Los efectos de las SG-APM y SG-BPM en las propiedades mecánicas y reológicas fueron examinadas.

5.2.1. Selección de la fuerza en compresión y modelo para la evaluación del *creep*

La prueba de *creep* se llevó a cabo con dos niveles de fuerza, una a 70 N y otra a 80 N. En el nivel de 80 N de fuerza constante, algunos granos de trigo se fracturaron, llegando hasta a la fase terciaria de *creep* (Figura 34), lo cual no se puede ajustarse a el modelo generalizado de Kelvin, por lo que se analizó únicamente los experimentos con 70 N de fuerza en compresión.

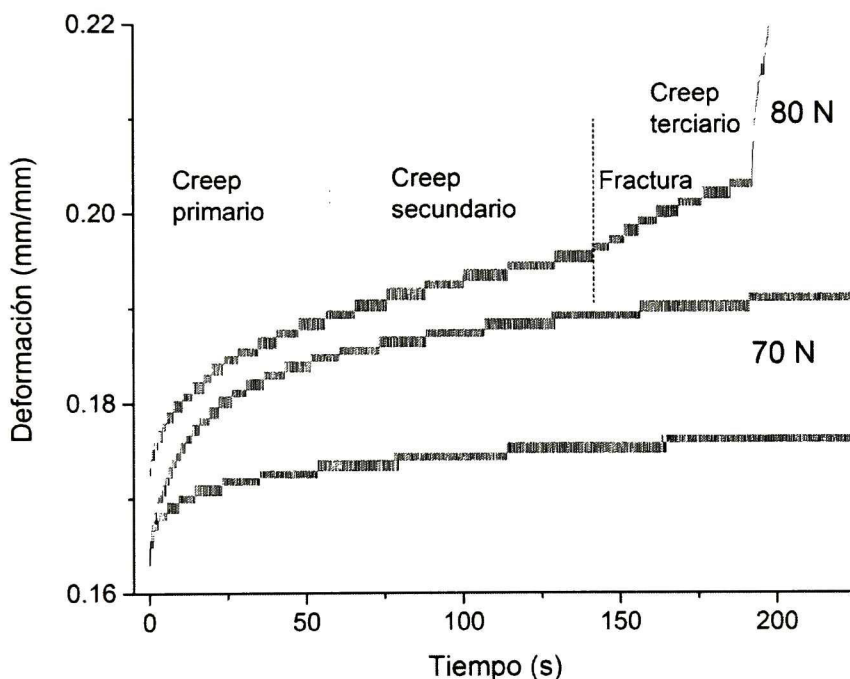


Figura 34. Curvas de *creep* a 80 N (los granos de trigo se fracturan y se llega a la fase terciaria de *creep*), y 70 N de fuerza (curvas bien comportadas, y pueden ser modeladas).

Las curvas de *creep* a 70 N de fuerza en compresión fueron ajustadas con los modelos generalizados de Kelvin-Voigt con 4, 6 y 8 elementos (1, 2 y 3 elementos de Kelvin-Voigt). Los datos experimentales mostraron que el modelo de Kelvin-Voigt con 4 elementos (también conocido como modelo de Burguers) presentó un coeficiente de determinación $R^2 \approx 0.92$ menor que el ajuste del modelo generalizado de 6 elementos

(2 elementos de Kelvin), el cual mostró un coeficiente de determinación $R^2 \approx 0.94$. Finalmente el ajuste de las curvas de *creep* a un modelo generalizado de 8 elementos (3 elementos de Kelvin) presentó un $R^2 \approx 0.95$ pero con este modelo algunos coeficientes presentaron valores negativos, lo cual no es físicamente posible, ya que no podría haber una viscosidad o módulo de elasticidad negativo. Con base a lo anterior el modelo generalizado de Kelvin-Voigt con 6 elementos fue seleccionado para evaluarlos en la presente investigación.

5.2.3. Efecto de las SG-APM y SG-BPM en la comportamiento dependiente del tiempo de la curvas de complianza del trigo en grano

La Figura 35 muestra que el equilibrio en la mayoría de las muestras se alcanzó entre 200 y 300 s después de la aplicación de 38 MPa (~ 70 N de fuerza). Esto parece ser una ventaja porque las evaluaciones de *creep* o fluencia pueden concluirse en unos pocos minutos (4 a 5 min), excepto por la significancia de los coeficientes de determinación de las regresiones de las curvas, que decrece de 0.94 a 0.92 cuando desciende el tiempo de 1,200 a 200-300 s, respectivamente. Utilizando los experimentos de relajación de esfuerzos para granos de trigo intactos Figueroa *et al.* (2011a) reportaron tiempos de relajación alrededor de 180 s para alcanzar el cuasi-equilibrio; motivo por el cual, en el presente estudio la prueba de *creep* se extendió hasta 1,200 s, a fin de poder detectar posibles cambios a periodos de tiempo largos.

Valores y tendencias similares fueron encontrados entre los tiempos de retardación (λ_1 y λ_2) de la prueba de *creep* de este estudio y los tiempos de relajación (τ_1 , τ_2) reportados por Figueroa *et al.* (2011a). Los granos de trigo con baja calidad mostraron tiempos cortos de retardación o relajación dependiendo de la metodología utilizada, indicando que ambas pruebas están interrelacionadas igual que lo reportado.

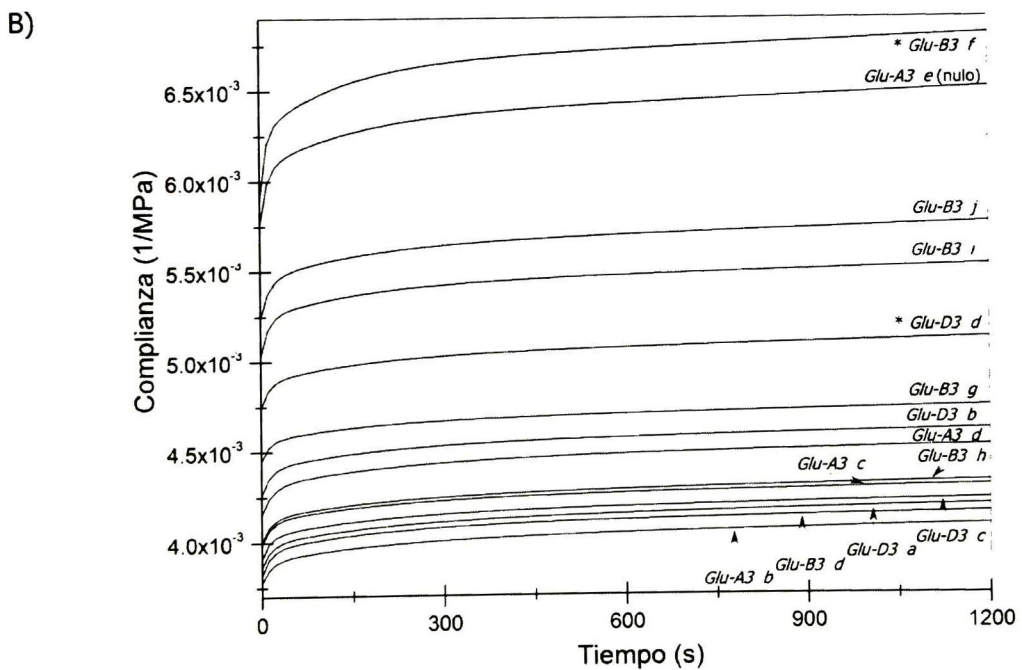
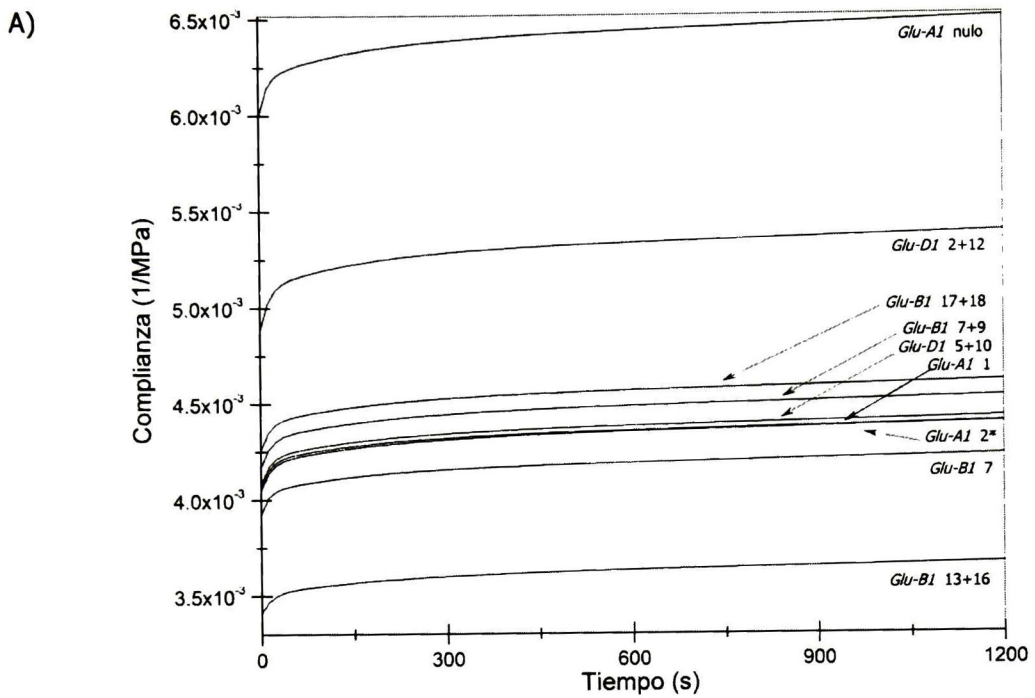


Figura 35. Curvas de *creep* generadas a partir de la media de los coeficientes de regresión por subunidad de glutenina de A) alto y B) bajo peso molecular en granos de trigo intactos.

Tabla 10. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Kelvin-Voigt para la prueba de creep por subunidad de glutenina de alto y bajo peso molecular.

Grupo Genotípico	Subunidad de glutenina	Módulo elástico y tiempo de relajación					Coeficiente de viscosidad (Pa·s)			Complianza (1/MPa)		
		E_0 (MPa)	E_1 (MPa) $\times 10^3$	λ_1 (s)	E_2 (MPa) $\times 10^3$	λ_2 (s)	μ_0 $\times 10^7$	μ_1 $\times 10^5$	μ_2 $\times 10^6$	D_0 $\times 10^{-3}$	D_1 $\times 10^{-4}$	D_2 $\times 10^{-4}$
Glu-A1	nulo	167 b	5.11 a	10.5 a	5.06 a	142 a	0.97 a	0.61 a	0.77 b	7.58 a	8.20 a	3.83 a
Glu-A1	1	246 a	7.59 a	13.2 a	7.69 a	176 a	1.68 a	1.02 a	1.37 a	4.29 b	1.68 b	1.66 b
Glu-A1	2*	247 a	7.41 a	13.7 a	7.50 a	179 a	1.49 a	1.02 a	1.36 a	4.35 b	2.06 b	1.76 b
Glu-B1	7+8	197 c	5.48 c	12.0 ab	5.76 c	173 a	2.58 a	0.80 b	1.15 b	6.72 a	7.54 a	3.49 a
Glu-B1	17+18	235 bc	7.40 bc	12.1 ab	7.28 bc	164 a	1.40 b	0.92 b	1.22 b	4.57 b	1.87 b	1.86 b
Glu-B1	7+9	240 bc	6.97 bc	13.8 a	7.22 bc	178 a	1.42 b	0.97 b	1.29 b	4.44 b	2.07 b	1.80 b
Glu-B1	13+16	293 a	10.8 a	14.6 a	10.1 a	195 a	1.98 ab	1.55 a	1.99 a	3.48 b	1.04 b	1.07 b
Glu-B1	7	255 ab	8.74 ab	10.0 b	8.54 ab	149 a	1.58 b	0.86 b	1.21 b	4.04 b	1.56 b	1.53 b
Glu-D1	2+12	205 b	4.58 b	13.0 a	5.16 b	161 a	1.19 a	0.69 a	0.90 b	6.64 a	7.94 a	3.68 a
Glu-D1	5+10	245 a	7.52 a	13.4 a	7.58 a	177 a	1.56 a	1.02 a	1.36 a	4.36 b	1.90 b	1.72 b
Glu-A3	b	265 a	8.61 a	14.5 ab	8.45 a	183 a	1.56 ab	1.24 a	1.57 a	3.97 b	1.40 b	1.40 b
Glu-A3	c	251 a	8.03 ab	13.4 bc	8.14 a	178 ab	1.71 a	1.07 a	1.44 a	4.17 b	1.46 b	1.42 b
Glu-A3	d	241 a	6.44 b	16.4 a	6.84 a	207 a	1.66 a	1.04 a	1.45 a	4.31 b	1.67 b	1.55 b
Glu-A3	e	174 b	3.17 c	10.7 c	3.43 b	148 b	0.76 b	0.36 b	0.53 b	6.50 a	6.52 a	4.11 a
Glu-B3	d	262 a	7.51 a	13.1 a	7.36 ab	178 a	1.80 a	1.00 ab	1.32 ab	3.99 b	1.55 b	1.56 b
Glu-B3	f	170 c	2.64 b	8.34 b	2.56 c	132 a	0.75 a	0.22 c	0.34 c	5.93 a	4.55 a	4.19 a
Glu-B3	g	225 ab	9.18 a	11.7 ab	9.04 a	156 a	1.56 a	1.05 ab	1.36 ab	4.51 b	1.12 b	1.13 b
Glu-B3	h	250 a	7.96 a	13.9 a	8.06 a	182 a	1.58 a	1.09 a	1.46 a	4.24 b	1.62 b	1.53 b
Glu-B3	i	199 bc	4.70 b	11.8 ab	5.33 b	163 a	1.18 a	0.73 ab	1.04 ab	6.52 a	7.17 a	3.65 a
Glu-B3	j	191 bc	4.78 b	13.4 a	5.19 b	156 a	0.96 a	0.66 b	0.87 bc	5.82 a	4.95 a	3.14 a
Glu-D3	a	259 a	8.04 a	14.4 a	7.89 a	183 a	1.45 a	1.15 a	1.46 a	4.08 a	1.44 a	1.47 a
Glu-D3	b	235 a	7.00 a	13.3 a	7.25 a	175 a	1.56 a	0.94 a	1.28 a	4.64 a	2.55 a	1.94 a
Glu-D3	c	256 a	8.20 a	12.0 a	7.97 a	171 a	1.62 a	1.07 a	1.46 a	4.28 a	2.12 a	1.99 a
Glu-D3	d	211 a	7.21 a	12.2 a	6.82 a	159 a	1.25 a	0.87 a	1.06 a	4.96 a	1.47 a	1.57 a

^a Medias seguidas de diferente letra en la misma columna y mismo grupo son diferentes significativamente (P<0.05).

^b Granos de trigo sometidos a una carga constante de 70 N en compresión por 1,200 s. *Glu-A3 e* = nulo, *Glu-B3 j* = IB/IR translocación con centeno.

La Figura 35 y la Tabla 10 muestran que las subunidades de glutenina con menor calidad tienen un menor tiempo de retardación (λ_1 y λ_2) tales como *Glu-A1* nulo, y *Glu-D1* 2+12; y los alelos como *Glu-A3* e, *Glu-B3* i, y j donde el grano de trigo continua deformando bajo la aplicación del esfuerzo y la mayoría de los alelos presentan cuasi-equilibrio alrededor de los 300s. Las muestras *Glu-B3* f y *Glu-D3* d no están bien representados, ya que están combinados con *Glu-A3* e (nulo) y *Glu-A1* nulo, respectivamente, los cuales influyen drásticamente el comportamiento viscoelástico (Figura 35B). Algunos autores han evaluado masas con reómetro, reportando que el equilibrio fue alcanzado a 300 s (Edwards *et al.*, 1999). Para muestras de endospermo de granos de trigo duro con forma de paralelepípedos con contenido de humedad de 12 a 17% se alcanzó el equilibrio a 300 s (Haddad *et al.*, 2001) a un esfuerzo de 40 MPa similar a las encontradas en las curvas de la Figura 35.

5.2.4. Comparación de los coeficientes de *creep* de los loci de Glu-1 y Glu-3 estimados utilizando el modelo generalizado de Kelvin-Voigt.

La Tabla 10 muestra los valores de los coeficientes calculados de la curva canónica de *creep* de los valores ajustados al modelo generalizado de Kelvin-Voigt con dos unidades de kelvin. En general, el módulo de elasticidad fue de 242 MPa, valor que se encuentra en el rango de lo reportado por otros autores para la relajación de esfuerzos en granos de trigo intactos (Figuroa *et al.*, 2009; Ponce-García *et al.*, 2008). Los módulos de elasticidad retardados (E_1 , y E_2) incrementaron su valor alrededor de 5×10^3 MPa. En pruebas de *creep* en granos de canola utilizando el modelo de Burguers (Cenkowski *et al.*, 1991) reportaron una tendencia similar a la presentada en este estudio, la cual es que segundo elemento elástico (E_1) es mayor al módulo de elasticidad instantáneo (E_0) en un orden de magnitud como se muestra en la Tabla 10. Comparando los coeficientes de viscosidad determinados en la prueba de *creep* (μ_0) y las viscosidades, representadas por los amortiguadores en los elementos de Kelvin (μ_1 y μ_2), los valores de éstas disminuyeron de 1.6×10^7 MPa·s en μ_0 a

1.2×10^5 MPa·s para μ_1 diferentes por un factor de 100, similar a lo reportado en granos de canola por Cenkowski *et al.* (1991).

La Tabla 10 muestra que en el locus *Glu-A1* la subunidad nula presentó el más bajo módulo de elasticidad comparada con las subunidades 1 y 2* de *Glu-A1*. En cuanto a los coeficientes de viscosidad, asociados a los tiempos de retardación (λ_1 y λ_2), también fueron bajos. Las subunidades de glutenina 13+16 del locus *Glu-B1* presentaron el mayor módulo de elasticidad y coeficientes de viscosidad de los elementos de Kelvin, asociadas con buena reología de la masa y calidad panadera. La subunidad 7+8 también reportada como de buena calidad panadera (Wrigley *et al.*, 2009), presentó en este estudio un pobre desempeño de viscoelasticidad, debido a que las muestras presentaron una combinación alélica con *Glu-A1* nulo, *Glu-D1* 2+12 y *Glu-A3* e (nulo). En la Figura 35A se muestra como la curva de *creep* correspondiente a la subunidad *Glu-B1* 7+8, se encuentra debajo solo de *Glu-A1* nulo y *Glu-D1* 2+12. En el locus *Glu-D1* como se esperaba, presentó altos valores de módulos de elasticidad y viscosidad para la subunidad 5+10, así como bajos valores de complianza, comparado con las muestras conteniendo la subunidad 2+12. La subunidad *Glu-D1* 5+10 ha sido generalmente asociada con altos rangos de calidad y viscoelasticidad (Branlard *et al.*, 2001; Peña *et al.*, 2002; Wrigley *et al.*, 2009), y con un mayor desempeño que los polímeros de la línea *Glu-B1* 17+18 (Lefebvre *et al.*, 2000). En semolina de trigo duro, utilizando un modelo de Kelvin-Voigt, igual al que se empleó en este estudio, encontró que las masas enriquecidas con gluten de variedades fuertes, mostraron las menores complianzas y mayores viscosidades en el equilibrio.

En general en la Tabla 10 se tienen mayores módulos de elasticidad y coeficientes de viscosidad para las SG-APM y SG-BPM reportadas por varios autores (Luo *et al.*, 2001; Payne *et al.*, 1987; Tohver, 2007) como de buena calidad panadera comparadas con genotipos con combinaciones que presentan baja calidad para panificación. La tendencia general de la relación de la calidad de panificación, reología de la masa y composición de las SG-APM reportada anteriormente (Branlard y Dardevet, 1985;

Figuroa *et al.*, 2009; Figuroa *et al.*, 2011b; Luo *et al.*, 2001; Payne *et al.*, 1987; Tohver, 2007) fue consistente con los resultados de este trabajo.

Usualmente el comportamiento reológico del gluten puede ser explicado por modelos de polímeros sintéticos donde las propiedades reológicas de éstos reflejan el grado y tipo de entrecruzamientos de polímeros (Zaidel *et al.*, 2010). En estos modelos de gluten desarrollado incluye principalmente interacciones entre gluteninas unidas por enlaces disulfuro (Belton, 1999; Zaidel *et al.*, 2010). Al incrementar las interacciones ente los polímeros de proteína se incrementa la resistencia viscosa del gluten, así como la resistencia a la extensión. También se ha reportado que las gliadinas actúan como plastificantes promoviendo el flujo viscoso y extensibilidad del gluten (Belton, 1999). Sin embargo, para el caso de los granos de trigo intactos, se encontró que el comportamiento viscoelástico fue similar por subunidad de glutenina. Estudios de las propiedades viscoelásticas de las masas de trigo de líneas isogénicas donde se les evaluó sus diferencias composicionales en las SG-APM (Lefebvre y Mahmoudi, 2007), reportaron que las líneas 5+10 presentaron mayor viscosidad y mayor elasticidad (menor complianza) que 2+12. En el presente estudio, también se presentó esta tendencia para los granos de trigo con las mismas SG-APM.

5.2.5. Relación de los coeficientes de la prueba de *creep* y la calidad del trigo

Se encontraron correlaciones significativas entre las complianzas (D_0 , D_1 , D_2) y los parámetros de calidad (Tabla 11): volumen de sedimentación SDS, SDS-index, tiempo de mezclado en mixógrafo, y datos del alveógrafo (energía de deformación, W; tenacidad, P; extensibilidad, L). Los granos de trigo con alta viscosidad (μ_2) y valores bajos de complianza (D_2) fueron localizadas en la gráfica con muestras de SG-APM y SG-BPM de buena calidad relacionada al volumen de sedimentación y propiedades reológicas mientras que los genotipos asociados a baja calidad que contienen subunidades de alto peso molecular *Glu-A1* nulo, *Glu-D1* 2+12 y alelos de SG-BPM

como *Glu-A3 e* (nulo), *Glu-B3 f, i y j* (1B/1R translocación con centeno) presentaron baja viscosidad y altos valores de complianza (Figura 36). El módulo de elasticidad, especialmente el módulo instantáneo (E_0) del elemento puramente elástico (resorte), fue relacionado positivamente con los indicadores de calidad (Tabla 11).

Tabla 11. Coeficientes de correlación entre los coeficientes del *creep* y parámetros de calidad del trigo utilizando volumen de sedimentación y propiedades reológicas^{a,b}.

Parámetros	E_0	E_1	λ_1	μ_1	E_2	λ_2	μ_2	μ_0	D_0	D_1	D_2
Vol SDS	0.25 **	0.15 *	ns	ns	0.15 *	ns	ns	ns	-0.33***	-0.31***	-0.30***
SDS Index	0.25 **	0.15 *	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.34***	-0.33***	-0.31***
Tiempo	0.18 *	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.23 **	-0.23 **	-0.22 **
Mez											
W	0.18 *	0.16 *	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.23 **	-0.25 **	-0.25 **
P/G	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.16 *	-0.17 *
Tenacidad	0.16 *	0.20 **	ns	ns	0.18 *	ns	ns	ns	-0.19 **	-0.22 **	-0.24 **
E_i	1	0.76 ***	0.20 **	0.69 ***	0.72 ***	0.31 ***	0.70 ***	0.37 ***	-0.89***	-0.49***	-0.64***
E_f	0.99 ***	0.83 ***	0.21 **	0.74 ***	0.79 ***	0.31 ***	0.75 ***	0.40 ***	-0.88***	-0.52***	-0.69***
Esfuerzo	0.94 ***	0.68 ***	0.17 *	0.61 ***	0.63 ***	0.29 ***	0.63 ***	0.33 ***	-0.83***	-0.46***	0.58 ***
ϵ_i	-0.63***	-0.55***	-0.18 *	-0.51***	-0.54***	-0.21 **	-0.49***	-0.27 **	0.72 ***	0.45 ***	0.55 ***
ϵ_f	-0.66***	-0.71***	-0.24 **	-0.64***	-0.70***	-0.26***	-0.61***	-0.34***	0.77 ***	0.69 ***	0.79 ***

*, **, y *** son significativos a $P < 0.05$, 0.01 y 0.0001 , respectivamente. No significativos = ns.

^a Granos de trigo sometidos a 70 N en compresión por 1,200 segundos. E_0 = módulo de elasticidad instantáneo (MPa); E_i , E_2 = módulos de elasticidad retardados (MPa), D_1 y D_2 = complianzas retardadas (1/MPa), a λ_1 y λ_2 = primer y segundo tiempo de retardación (s), respectivamente; D_0 = complianza instantánea (1/MPa)

^b Vol SDS = volumen de sedimentación en harina (ml); Tiempo Mez = tiempo de amasado en mixógrafo (min); datos del alveógrafo W = trabajo (Joules $\times 10^{-4}$), Tenacidad (mm), y relación P/L.

Los tiempos de retardación λ_1 y λ_2 encontrados en el *creep* con el modelo generalizado de Kelvin-Voigt y los coeficientes de viscosidad no fueron correlacionados con la calidad, pero sí con las propiedades mecánicas de los granos de trigo. Estudios de la relación del trabajo elástico/plástico en SG-BPM (Maucher *et al.*, 2009) reportaron correlaciones solo con las propiedades mecánicas del grano de trigo y sin correlación con los parámetros de calidad. Sin embargo, otros estudios indicaron que la relación del trabajo elástico/plástico en SG-APM fue correlacionado con la calidad y las propiedades reológicas (Figueroa *et al.*, 2009). De acuerdo a los estudios de Maucher *et al.* (2009), la falta de correlación entre los coeficientes de viscosidad μ_0 , μ_1 y μ_2 y

los parámetros de calidad, puede estar relacionado al agua, y a algunas SG-BPM, gliadinas, lípidos pentosanos y otros carbohidratos que funcionan como plastificantes para la extensibilidad de la masa. La correlación entre el volumen de sedimentación, un parámetro de calidad del gluten, y E_0 y complianzas D_0 , D_1 y D_2 sugiere que la elasticidad de los granos de trigo está relacionada con los factores genéticos (v.g. composición de gluteninas).

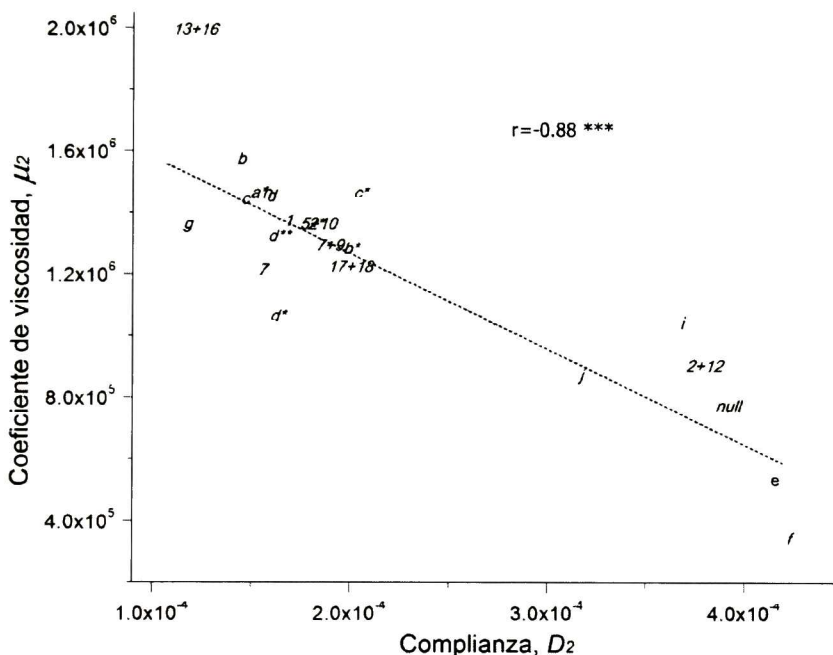


Figura 36. Correlación entre la complianza D_2 y coeficiente de viscosidad μ_2 de granos de trigo (los alelos *Glu-D3* a, b, c y d son identificados con un asterisco y *Glu-B3* d con doble asterisco).

Estos resultados también concuerdan con los estudios en masa que sugieren que las fracciones ricas SG-APM incrementan las propiedades elásticas, mientras que las fracciones ricas en SG-BPM imparten propiedades viscosas (Jood *et al.*, 2000). Sin embargo, para proveer suficiente evidencia de la participación de las SG-BPM, con respecto al comportamiento viscoso y su función como plastificante se requieren más investigaciones, además de mayor tamaño y diversidad en las muestra.

5.2.6. Conclusiones

Las curvas de la prueba de *creep* en granos de trigo encontraron el equilibrio a ≈ 300 s para la mayoría de los genotipos y el uso del modelo generalizado de Maxwell permitió la separación de los parámetros reológicos tales como la elasticidad, viscoelasticidad y flujo viscoso, así como las complianzas.

Los análisis de varianza mostraron mayor influencia de las SG-BPM en las propiedades viscoelásticas y de complianza que las SG-APM. Mayores módulos elásticos y coeficientes de viscosidad fueron encontrados para las SG-BPM y SG-APM asociadas con buena calidad comparada con la de los grupos genotípicos de baja calidad en la panificación.

Se encontró también una correlación negativa y significativa entre las complianzas (D_0 , D_1 , D_2) y los parámetros de calidad volumen de sedimentación SDS, SDS index, tiempo de mezclado en el mixógrafo; trabajo, tenacidad y relación P/L del alveógrafo. La metodología discutida en la presente investigación muestra ser una posible herramienta para la medición indirecta de las propiedades asociadas con la composición de SG-APM y SG-BPM del trigo., así como los factores que no son del gluten.

5.3. Creep y recuperación en masa de trigo.

Las proteínas del gluten juegan un papel clave en la determinación del proceso único y de la calidad panadera del trigo por influir directamente en la capacidad de absorción de agua, cohesividad, viscosidad y elasticidad de la masa (Wieser, 2007). Las gluteninas son de gran importancia en la explicación de la variación de las propiedades reológicas y de panificación del trigo. A nivel genético las proteínas del gluten son relativamente bien conocidas, pero la organización tridimensional específica del gluten, así como la contribución individual de las proteínas y sus propiedades, están lejos de ser completamente comprendidas (Lindsay y Skerit, 1999). La presencia de ciertas SG-APM ha sido significativamente asociada con varias pruebas de calidad del trigo (Luo *et al.*, 2001; Payne *et al.*, 1987; Tohver, 2007). A pesar de eso pocas publicaciones se han enfocado a estudiar la influencia de las gluteninas en las propiedades viscoelásticas (Lefebvre y Mahmoudi, 2007), sin embargo, su importancia e influencia en el manejo y moldeo de la masa, capacidad dinámica de retener el gas, y eventualmente la calidad de panificación es un aspecto que se está retomando con la aplicación de modelos (Bockstaele *et al.*, 2011).

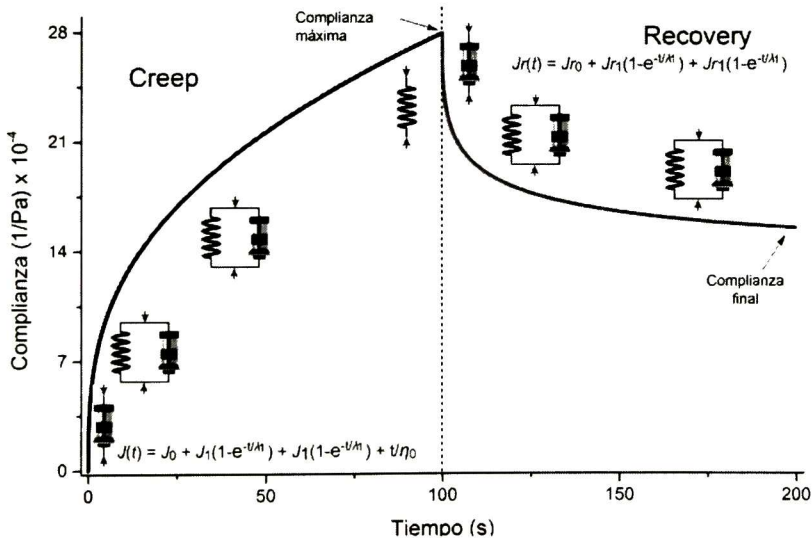


Figura 37. Curva típica de la prueba de *creep* y recuperación

El propósito de esta investigación fue documentar los comportamientos reológicas de las masas de trigo, en específico en masa totalmente desarrollada, como la utilizada en las operaciones comerciales. Un nivel óptimo de agua es requerido para desarrollar la masa viscoelástica con una fuerza característica de 500 UB, pero la cantidad de agua difiere entre las harinas (Zaidel *et al.*, 2010). Por lo tanto los resultados que se obtuvieron con diferente contenido de agua, de acuerdo a lo indicado por la absorción de agua del farinógrafo, sin embargo las muestras presentaron un rango reducido de absorción de agua. En la prueba cuasi-estática empleada en este estudio, es importante considerar que los efectos inerciales o de "ringing" se presentaron a tiempos menores de 0.1 s, y los resultados de tiempos de relajación son mayores que 0.1 por lo que el "ringing" no influye en los resultados obtenidos.

5.3.1. Selección de las condiciones para evaluar la viscoelasticidad (lineal) en masa.

Investigaciones anteriores han concluido que grandes deformaciones se relacionan mejor con los parámetros de calidad tradicional y panificación experimental (Bockstaele *et al.*, 2008, 2011), pero para poder determinar que el comportamiento viscoelástico puede ser modelado con ecuaciones fundamentales, es necesario que la viscoelasticidad sea lineal por lo que debió comprobarse primeramente que las pruebas realizadas se encontraran en el régimen lineal de viscoelasticidad (Brinson y Brinson, 2008; Steffe, 1996). La Figura 38A nos muestra curvas de *creep* a diferentes niveles de esfuerzos, sin haber sido relajadas previamente y no se les aplicó aceite, en las que tenemos resultados similares para las muestras sujetas a esfuerzos de 20, 50 y 100 Pa. Las muestras de masa con aceite mineral y previa relajación de la muestra presentaron curvas de *creep* a diferentes niveles de esfuerzo y normalizadas a 30 Pa mostraron que no existen diferencias para estos niveles de esfuerzo, justificando que el régimen de viscoelasticidad lineal está presente hasta 100 Pa de esfuerzo.

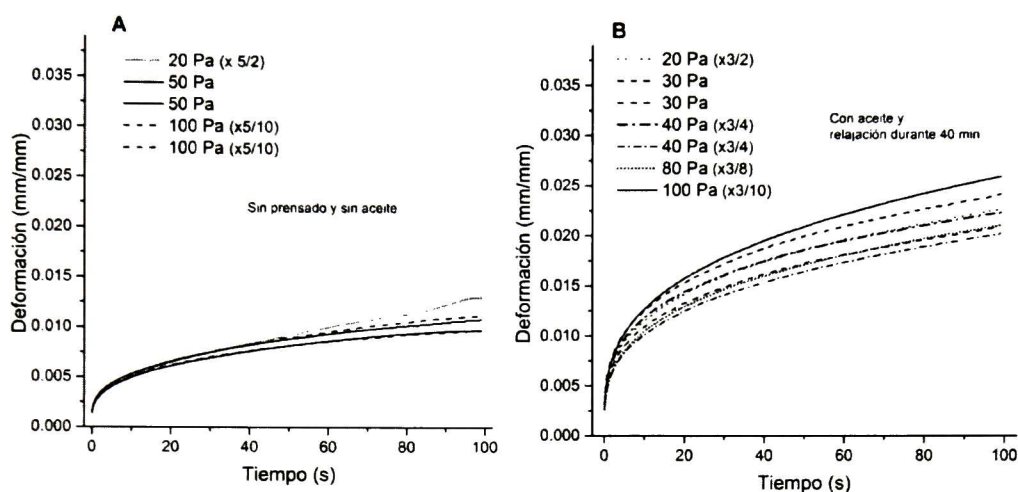


Figura 38. Curvas de *creep* de masa desarrollada a diferentes esfuerzos (normalizadas por el factor en paréntesis). A) masa analizada inmediatamente después de preparación. B) muestra relajada por 40 min, y con aceite para el análisis.

5.3.2. Parámetros de calidad tradicional del trigo por subunidad de glutenina de alto peso molecular.

La Tabla 12 muestra algunas diferencias en el volumen de panificación debido a la diferencia en su composición de subunidades de glutenina de alto peso molecular, las propiedades químicas del harina y masa como la proteína, y volumen de sedimentación no mostraron las diferencias esperadas, por ejemplo el gluten húmedo y la absorción de agua fue menor para 5+10 comparada con 2+12, en *Glu-D1*, aunque 5+10 presentó un mayor volumen de pan, esto último como se ha reportado (Wrigley *et al.*, 2009; Peña *et al.*, 2009). En el caso de *Glu-A1* aunque se encontraron algunas diferencias en peso hectolítrico, contenido de proteína, absorción de agua en el mixógrafo, tiempo de desarrollo y estabilidad en el farinógrafo, tenacidad en el alveógrafo, e incluso en el volumen de sedimentación, siendo mayores para *Glu-A1* 1, esto no se reflejó en el volumen de pan, este comportamiento fue igual en la parte reológica de la masa medida por *creep* y recuperación donde no se tienen diferencias significativas entre *Glu-A1* 1 y 2* (Tabla 13).

Tabla 12. Parámetros de calidad tradicional del trigo por SG-APM ^{a,b}.

SG-APM	Peso Hecto (kg)	Pro-teína (%)	Gluten húmedo (%)	Mixógrafo		Farinógrafo		Alveógrafo		Extensógrafo			Volumen sedimentación (mm ³)	Volumen de Pan (mm ³)	
				Absor Agua (%)	Tiempo mezclado (min)	Absor Agua (%)	Tiempo Desarrollo (min)	Estabilidad (min)	Tenacidad (mm)	Extensibilidad (mm)	Resis 30 mm (UB)	Resis 60 mm (UB)			Resis 90 mm (UB)
<i>Glu-A1</i>															
1	79.1 a	12.5 a	33.5 a	63.7 a	5.70 a	58.0 a	6.02 a	21.9 a	83.4 a	106 a	553 a	777 a	844 a	59.2 a	984 a
2*	78.1 b	11.7 b	32.5 a	62.3 b	4.66 b	57.3 a	4.86 b	18.2 b	70.5 b	105 a	468 b	686 b	741 b	53.4 b	996 a
<i>Glu-B1</i>															
7+8	78.7 a	11.8 a	32.1ab	62.5ab	5.13ab	57.3 a	5.0a	21.7 a	73.0 a	103 a	526 a	802 a	886 a	58.4 a	1032 a
7+9	78.0 a	12.0 a	33.6 a	62.8 a	4.51 b	57.7 a	5.4 a	18.0 b	72.9 a	109 a	438 b	628 b	672 b	53.0 b	961 b
17+18	78.4 a	11.7 a	30.7 b	61.9 b	5.87 a	57.3 a	4.0 b	12.6 c	76.8 a	93 b	582 a	716 ab	739 b	47.7 c	1005 a
<i>Glu-D1</i>															
2+12	79.4 a	12.4a	36.7 a	63.6 a	3.03 b	59.5 a	6.26 a	17.0 b	76.8 a	109 a	347 b	479 b	534 b	55.5 a	943 b
5+10	78.1 b	11.8 b	31.7 b	62.4 b	5.38 a	57.0 b	4.81 b	19.5 a	72.4 a	104 a	523 a	766 a	824 a	55.0 a	1007 a

^a Medias seguidas de diferente letra en la misma columna y mismo grupo son diferentes significativamente (Duncan, P < 0.05).

^b SG-APM= subunidad de glutenina de alto peso molecular; Hecto = hectolítrico; Absor = Absorción (a 14% de humedad); Tiempo Desa= Tiempo de desarrollo; Resis = Resistencia a los.

5.3.3. Efecto de las SG-APM en las propiedades viscoelásticas de la masa medidas por *creep*

No se esperaba tener diferencias significativas en las propiedades viscoelásticas de las SG-APM en la masa debido al efecto plastificante del contenido de agua, ya que las muestras fueron ajustadas a la absorción de agua necesaria para el desarrollo óptimo de la masa en el farinógrafo y esto pudiera dominar sobre el efecto individual de las diferentes gluteninas. Sin embargo la Tabla 13 y Figura 39 muestra algunas diferencias debido a la composición de proteínas entre las SG-APM. *Glu-A1* 1 y 2* tienen similares coeficientes de viscoelasticidad similar a lo reportado para grano. Para las subunidades 7+8 y 7+9 no se presentaron diferencias significativas en *Glu-B1*, pero sí al compararlas con *Glu-B1* 7+8, en la máxima deformación, tiempos de retardación, módulos de elasticidad, complianzas y coeficientes de viscosidad. La subunidad *Glu-B1* 17+18 presentó mayores valores en los módulos de elasticidad G_0 , G_1 y G_2 comparados con *Glu-B1* 7+8 y 7+9, así como un mayor coeficiente de

viscosidad η_0 afectado por el efecto plastificante del agua; la viscosidad η_2 en las gluteninas fue significativamente diferente entre *Glu-B1* 17+18 y 7+9, de acuerdo a lo reportado por Payne *et al.* (1984, 1987) que indicaron que 17+18 tiene mayor calidad para panificación que 7+9 y 7+8. Los tiempos de retardación fueron de 0.45 a 0.5 s para λ_1 y de 10 s para λ_2 como se muestra en la Tabla 13. Estos tiempos de retardación fueron de magnitudes similares a las reportadas (Figuroa *et al.*, 2013) para masa de trigo.

Tabla 13. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Kelvin-Voigt para la prueba de creep por SG-APM ^{a,b}.

Subunidad de glutenina	Deformación (%)	J_0 (1/Pa) $\times 10^{-4}$	J_1 (1/Pa) $\times 10^{-4}$	λ_1 (s)	J_2 (1/Pa) $\times 10^{-4}$	λ_2 (s)	η_0 (Pa·s) $\times 10^5$	G_0 (Pa)	G_1 (Pa)	G_2 (Pa)	η_1 (Pa·s) $\times 10^3$	η_2 (Pa·s) $\times 10^4$
<i>Glu-A1</i>												
1	19.2 a	1.19 a	2.88 a	0.45 a	6.18 a	9.86 a	1.10 a	8459 a	3527 a	1647 a	1.57 a	1.62 a
2*	20.1 a	1.20 a	3.00 a	0.46 a	6.63 a	9.96 a	1.17 a	8444 a	3532 a	1669 a	1.57 a	1.60 a
<i>Glu-B1</i>												
7+8	19.1 a	1.21 a	2.89 ab	0.45 ab	6.29 a	9.92 a	1.16 b	8382 b	3579 b	1656 b	1.59 a	1.63 ab
7+9	21.2 a	1.21 a	3.10 a	0.47 a	6.91 a	10.09 a	1.10 b	8411 b	3408 b	1612 b	1.55 a	1.55 b
17+18	16.5 b	1.14 a	2.67 b	0.42 b	5.53 b	9.20 b	1.43 a	8915 a	3991 a	1978 a	1.61 a	1.79 a
<i>Glu-D1</i>												
2+12	26.0 a	1.33 a	3.62 a	0.53 a	8.52 a	10.9 a	0.79 b	7545 b	2802 b	1198 b	1.48 b	1.29 b
5+10	18.3 b	1.17 b	2.80 b	0.44 b	6.00 b	9.69 b	1.25 a	8687 a	3725 a	1788 a	1.59 a	1.69 a

^a Medias (n=7 por variedad) con diferente letra en la misma columna y mismo grupo son diferentes significativamente (P<0.05).

^b Masa bajo esfuerzo cortante de 100 Pa durante 100 s de creep y 100 s de fase de recuperación.

J_0 : complianza instantánea; G_0 : módulo de elasticidad transversal instantáneo; G_1 , G_2 : módulo de elasticidad retardados; J_1 , J_2 : complianzas retardadas; η_1 , η_2 : coeficientes de viscosidad asociados a λ_1 , λ_2 : tiempos de relajación de los elementos de Kelvin; η_0 : coeficiente de viscosidad en el equilibrio.

También se encontraron diferencias significativas en todas las propiedades viscoelásticas representadas por los coeficientes del modelo generalizado de Kelvin-Voigt entre las masa con subunidades de glutenina *Glu-D1* 2+12 y 5+10, lo cual se había reportado previamente en las pruebas de relajación y creep directamente en granos de trigo intactos (Hernández-Estrada *et al.*, 2012b; Hernández *et al.*, 2012a), y está en concordancia por lo reportado en estudios alveográficos, de sedimentación y

de calidad panadera (Payne *et al.*, 1984; Payne *et al.*, 1987; Peña *et al.*, 2002; Wrigley *et al.*, 2009).

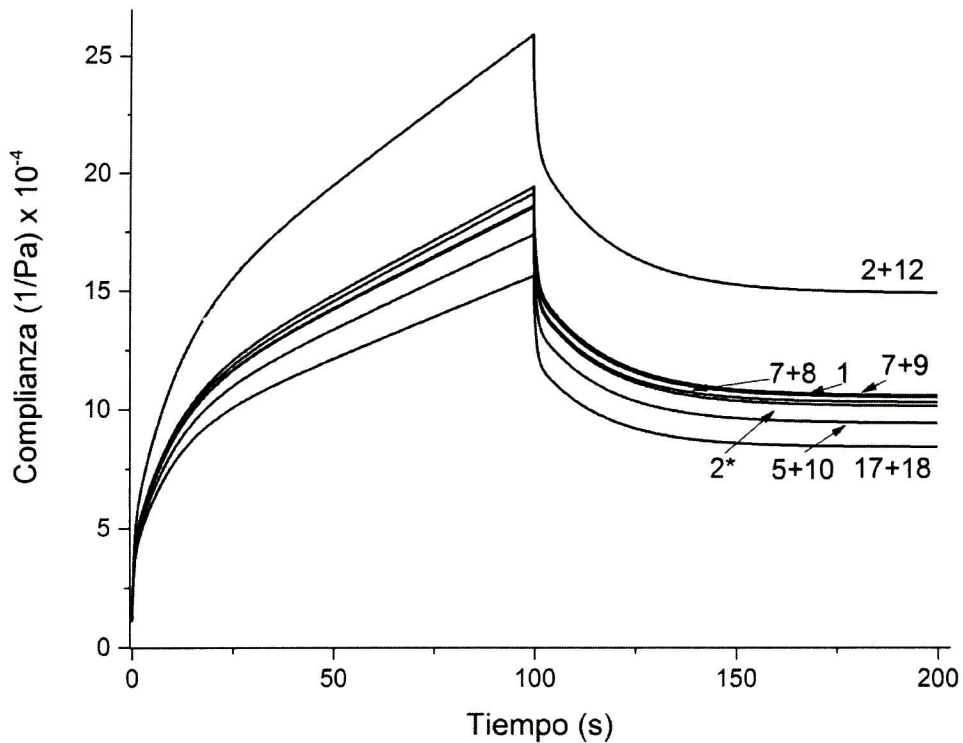


Figura 39. Curvas de *creep* y recuperación por subunidad de glutenina.

La subunidad *Glu-D1* 5+10 mostró mayores módulos de elasticidad para G_0 , G_1 y G_2 , comparados con los presentados por *Glu-D1* 2+12; de igual manera los coeficientes de viscosidad η_0 , η_1 y η_2 también fueron mayores para *Glu-D1* 5+10 (Tabla 13 y Figura 39). Previamente se reportó en líneas isogénicas cultivadas en diferentes localidades (Lefebvre y Mahmoudi, 2007) mayores coeficientes de viscosidad η_0 para *Glu-D1* 5+10 comparado con 2+12, así también menores complianzas; similares tendencias fueron reportadas para estas SG-APM en pruebas de *creep* directamente al trigo en granos individuales (Hernández-Estrada *et al.*, 2012b).

Tabla 14. Coeficientes de regresión del modelo generalizado de Kelvin-Voigt para la fase de recuperación de la prueba de *creep* por SG-APM ^{a,b}.

Subunidad de glutenina	Deformación final (%)	Recuperación (%)	Jr_0 (1/Pa) x 10 ⁻⁴	Jr_1 (1/Pa) x 10 ⁻⁴	λr_1 (s)	Jr_2 (1/Pa) x 10 ⁻⁴	λr_2 (s)	Gr_0 (Pa)	Gr_1 (Pa)	Gr_2 (Pa)	ηr_1 (Pa·s) x 10 ³	ηr_2 (Pa·s) x 10 ⁴
<u>Glu-A1</u>												
1	9.99 a	48.1 a	1.31 a	2.86 a	0.66 a	4.65 a	17.1 a	7723 a	3569 a	2204 a	2.36 a	3.77 a
2*	10.7 a	47.7 a	1.30 a	2.90 a	0.67 a	4.80 a	17.0 a	7776 a	3651 a	2281 a	2.37 a	3.81 a
<u>Glu-B1</u>												
7+8	10.0 a	47.7 a	1.31 a	2.80 a	0.65 b	4.54 b	16.7 b	7739 b	3710 b	2302 b	2.39 ab	3.85 b
7+9	11.3 a	47.6 a	1.32 a	3.04 a	0.70 a	5.11 a	17.3 a	7690 b	3467 b	2146 b	2.33 b	3.64 b
17+18	8.53 b	49.1 a	1.23 b	2.50 b	0.61 b	3.94 c	16.4 b	8271 a	4207 a	2737 a	2.52 a	4.45 a
<u>Glu-D1</u>												
2+12	14.4 a	45.0 b	1.44 a	3.55 a	0.76 a	6.19 a	17.9 a	6993 b	2858 b	1643 b	2.17 b	2.93 b
5+10	9.5 b	48.5 a	1.27 b	2.72 b	0.65 b	4.39 b	16.8 b	7969 a	3839 a	2429 a	2.42 a	4.03 a

^a Medias (n=7 por variedad) con diferente letra en la misma columna y mismo grupo son diferentes significativamente (P<0.05).

^b Masa de trigo bajo esfuerzo cortante de 100 Pa durante 100 s de *creep* y 100 s de fase de recuperación.

Jr_0 : complianza instantánea; Gr_0 : módulo de elasticidad transversal instantáneo; Gr_1 , Gr_2 : módulo de elasticidad retardados; Jr_1 , Jr_2 : complanzas retardadas; ηr_1 , ηr_2 : coeficientes de viscosidad asociados a λr_1 , λr_2 : tiempos de relajación de los elementos de Kelvin.

Los resultados obtenidos para *creep*, Tabla 13 y la fase de recuperación, Tabla 14 presentaron tendencias similares en los coeficientes de regresión del ajuste de las curvas al modelo generalizado de Maxwell, así como los reportados por otros autores (Bockstaele *et al.*, 2011; Campos *et al.*, 1997; Lefebvre y Mahmoudi, 2007).

El primer tiempo de retardación λ_1 fue de 0.53 s para las subunidades de glutenina 2+12 y de 0.44 s para 5+10 en *Glu-D1* (Tabla 13). En gluten se han reportado dos procesos de relajación, uno en un tiempo menor a 1 s y el otro de 10 a 1,000 s (Li *et al.*, 2003), lo cual indica que en el gluten este comportamiento corresponde a la red estructural formada por entrecruzamientos y enlaces entre cadenas de los polímeros de proteína. En la masa de trigo las proteínas se deforman en tensión durante el amasado formando una red de proteínas. Un gran número de interacciones entre cadenas como un resultado de la alineación de las moléculas conduce a un incremento de la fuerza de la masa. Se ha comparado la relajación de esfuerzos en masa y granos

intactos de trigo (Figuroa *et al.*, 2013), reportando que el tiempo de relajación de la masa fue de 0.45, 3.2 y 24 s para el primer, segundo y tercer decaimiento, respectivamente. Estos tiempos de relajación son cercanos a los reportados en masa de trigo duro (Rao *et al.*, 2000; Rao *et al.*, 2001) $\tau_1 \approx 0.9$ s para masas débiles y 3.2 s para masas fuertes y $\tau_2 \approx 3.2$. También se ha reportado que para masas con buena calidad de panificación el tiempo de retardación λ_1 es de 0.5 s y para las de menor calidad de 0.33 s; λ_2 de 8.8 y 10.7 s para buena y baja calidad panadera (Figuroa *et al.*, 2013). El tiempo de retardación λ_1 de la masa en el presente estudio está también en concordancia con el reporte de la relajación estructural de la masa (Mita y Bohlin, 1983), quienes sugirieron que el proceso primario con tiempos de relajación de 0.53 a 0.66 s es debido a la estructura fibrilar parcialmente orientada, mientras que el segundo proceso con tiempos de relajación de alrededor de 500 s se debió a la superestructura laminar. En cuanto al efecto de los aditivos en la masa Mita y Bohlin, (1983), reportaron que, utilizando 200 ppm de cisteína el tiempo de relajación disminuye de 0.53 a 0.34 s; la adición del agente oxidante KBrO_3 a 8,500 ppm incrementa el tiempo de relajación λ_1 a 1.25 s; mientras que 2,000 ppm de glutaraldehído lo incrementa a 8.10 s.

5.3.4. Efecto de las SG-APM en las propiedades viscoelásticas de la masa en la recuperación del *creep*.

En relación a la fase de recuperación de la prueba de *creep* y recuperación, la Tabla 14 nos muestra tendencias similares a la fase de fluencia o *creep*, y se presentan diferencias significativas entre las subunidades de glutenina *Glu-D1* 2+12 y 5+10, donde la primera presentó menores porcentajes de recuperación, es decir, tiene menor elasticidad y disipa más energía. Aunque los parámetros de la fase de fluencia y de recuperación son similares en sus valores, existen algunas diferencias. El módulo elástico Gr_0 (del elemento puramente elástico) es alrededor de 1,000 Pa menor que su equivalente (G_0) en fluencia o *creep* (Tabla 13), y la viscosidad se incrementa en la

fase de recuperación. Los tiempos de retardación de λr_1 y λr_2 se incrementan alrededor de 0.1 s y 7s con respecto a λ_1 y λ_2 , respectivamente, debido a la deformación o estiramiento de las moléculas de glutenina durante el experimento. La subunidade de glutenina 2+12 presentó un 1 s más de tiempo de retardación λr_2 comparada con 5+10 en *Glu-D1*.

5.3.5. Correlaciones de Pearson entre la calidad tradicional y los coeficientes de *creep* en masa de trigo

Los coeficientes de Pearson fueron determinados para la prueba de *creep* y recuperación, mediante el modelo generalizado de Kelvin-Voigt, relacionandolos con los parámetros de calidad tradicional como son las propiedades físicas, químicas, reológicas y de panificación. (Tabla 15). Y se tiene que los parámetros físicos no presentaron correlación con la viscoelasticidad de la masa, por ejemplo se tiene una baja o nula correlación con el peso hectolítrico. Algunos parámetros químicos tales como el almidón dañado y las cenizas en harina mostraron bajos coeficientes de correlación, mientras otros como el contenido de proteína y el gluten húmedo fueron correlacionados significativamente, indicando que la viscoelasticidad de la masa está relacionada con la composición de las proteínas, y que el almidón dañado juega un papel menor. Estudios previos (Bockstaele *et al.*, 2008) concuerdan con los resultados del presente trabajo, ya que dichos autores no encontraron correlación significativa entre el *creep* y recuperación y el almidón dañado, y sí una correlación negativa entre el porcentaje de recuperación y la proteína, mientras que la máxima deformación se correlacionó positivamente con la sedimentación de Zeleny, absorción de agua y extensibilidad de la masa. La absorción de agua para el mixógrafo se correlacionó negativamente con la viscosidad y el módulo elástico (G_0 , G_1 y G_2), ya que el aumentar la cantidad de agua aumentó la pérdida de energía de almacenamiento. De igual forma, como se esperaba, todos los parámetros reológicos se correlacionaron con la

viscoelasticidad medida por la prueba de *creep* a través de las complianzas calculadas por el modelo generalizado de Kelvin-Voigt (Tabla 15).

En relación a la viscosidad de la masa, se presentó una alta correlación de los datos reológicos y la calidad, con el elemento viscoso (η_0) producido por el agua, pentosanos y β -glucanos como plastificantes comparado con la viscosidad de las proteínas (η_1, η_2) acorde al modelo propuesto como evidencia indirecta que la viscosidad tanto de los componentes no proteicos del gluten y la capacidad de las proteínas contribuyen a la calidad de panificación. La viscosidad del primer elemento de Kelvin (η_1) tiene un menor papel como lo indican los bajos coeficiente de correlación con la mayoría de los parámetros. Sin embargo esta viscosidad mostró coeficientes de correlación un poco mayores para la extensibilidad, G y la relación tenacidad/extensibilidad de la masa.

El carácter elástico de la masa fue analizado por los módulos de elasticidad G_0, G_1 y G_2 donde se presentó una alta correlación con de G_1 y G_2 con los parámetros de calidad, sugiriendo que las elasticidad retardada tiene mayor influencia que el módulo de elasticidad instantáneo G_0 .

Tabla 15. Coeficientes de correlación de Pearson entre los indicadores empíricos de calidad y coeficientes de creep en masa de trigo^{a,b}.

Parámetros	Def máx	Def final	Recu pera	J_0	J_1	λ_1	J_2	λ_2	η_0	η_1	η_2	G_0	G_1	G_2
Peso Hectolitrico	0.21 *	0.20 *	ns	0.17 +	ns	ns	0.18 *	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Almidón dañado	ns	ns	ns	-0.19 *	ns	ns	ns	ns	ns	0.25 **	ns	0.18 *	ns	ns
Cenizas	-0.18 *	-0.18 *	ns	-0.20 *	ns	ns	-0.18 *	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Proteína	0.37 ***	0.34 ***	-0.21 *	0.27**	0.29 **	0.35 ***	0.34 ***	0.33 ***	-0.40 ***	ns	ns	-0.30 **	-0.33 ***	-0.35 ***
Gluten húmedo	0.69 ***	0.66 ***	-0.45 ***	0.52 ***	0.60 ***	0.65 ***	0.67 ***	0.59 ***	-0.68 ***	-0.18 *	-0.62***	-0.54 ***	-0.62 ***	-0.64 ***
Abs Mixógrafo	0.42 ***	0.39 ***	-0.24 **	0.37***	0.36 ***	0.29 **	0.37 ***	0.26 **	-0.41 ***	-0.22 **	-0.38***	-0.38 ***	-0.37 ***	-0.36 ***
Tiempo mez	-0.66 ***	-0.66 ***	0.54 ***	-0.45***	-0.59***	-0.73***	-0.68***	-0.69***	0.64 ***	ns	0.58 ***	0.47 ***	0.60 ***	0.65 ***
Abs Farinógrafo	0.54 ***	0.53 ***	-0.35 ***	0.37 ***	0.44 ***	0.46 ***	0.51 ***	0.45 ***	-0.47 ***	ns	-0.42***	-0.36 ***	-0.42 ***	-0.43 ***
T Desarrollo	0.44 ***	0.41 ***	-0.25 **	0.37 ***	0.39 ***	0.48 ***	0.43 ***	0.45 ***	-0.52 ***	ns	-0.44***	-0.40 ***	-0.45 ***	-0.50 ***
Estabilidad	-0.50 ***	-0.50 ***	0.42 ***	-0.31***	-0.45***	-0.47***	-0.49***	-0.44***	0.43 ***	ns	0.40 ***	0.30 **	0.42 ***	0.41 ***
Tolerancia	0.41 ***	0.42 ***	-0.34 ***	0.24**	0.36 ***	0.38 ***	0.40 ***	0.32 ***	-0.30 **	ns	-0.30 **	-0.22 **	-0.30 **	-0.29 **
Extensibilidad	0.46 ***	0.44 ***	-0.34 ***	0.45 ***	0.50 ***	0.41 ***	0.46 ***	0.28 **	-0.55 ***	-0.35***	-0.59***	-0.50 ***	-0.59 ***	-0.53 ***
G Alveó	0.47 ***	0.45 ***	-0.34 ***	0.46 ***	0.51 ***	0.42 ***	0.47 ***	0.28 **	-0.55 ***	-0.36***	-0.60***	-0.50 ***	-0.59 ***	-0.54 ***
P/L Alveó	-0.24 **	-0.23 **	0.19 *	-0.30**	-0.32***	-0.23 **	-0.26 **	ns	0.32 ***	0.26 **	0.38 ***	0.35 ***	0.38 ***	0.34 ***
Volumen SDS	ns	-0.18 *	0.19 *	ns	ns	-0.20 *	-0.18 *	-0.22 **	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Abs Panifica	0.36 ***	0.34 ***	-0.20 *	0.30 **	0.30 **	0.33 ***	0.34 ***	0.29 **	-0.40 ***	ns	-0.34***	-0.33 ***	-0.34 ***	-0.35 ***
Mez Panifica	-0.74 ***	-0.73 ***	0.61 ***	-0.56***	-0.69***	-0.79***	-0.75***	-0.75***	0.78 ***	ns	0.71 ***	0.60 ***	0.74 ***	0.78 ***
Peso de Pan	0.56 ***	0.56 ***	-0.54 ***	0.46 ***	0.51 ***	0.65 ***	0.56 ***	0.58 ***	-0.67 ***	ns	-0.58***	-0.52 ***	-0.61 ***	-0.65 ***
Vol de Pan	-0.52 ***	-0.52 ***	0.48 ***	-0.47***	-0.54***	-0.49***	-0.53***	-0.44***	0.55 ***	0.27 **	0.56 ***	0.49 ***	0.58 ***	0.56 ***

* **, y **** son significativos a P<0.05, 0.01 y 0.0001, respectivamente. No significativos = ns.

^a Masa de trigo bajo esfuerzo constante de 100 Pa durante 100 s de creep y 100 s de fase de recuperación.

^b J_0 :compliance instantánea; G_0 : módulo de elasticidad transversal instantáneo; G_1 , G_2 : módulo de elasticidad retardados; J_1 , J_2 : complianzas retardadas; η_1 , η_2 : coeficientes de viscosidad asociados a λ_1 , λ_2 ; tiempos de relajación de los elementos de Kelvin; η_0 : coeficiente de viscosidad en el equilibrio. Def= Deformación; Máx= máxima; Recupera= recuperación; Abs= Absorción; Alveó = Alveógrafo; Mez = mezclado; Panifica= Panificación; Vol= volumen.

5.3.6. Conclusiones

Los resultados sugieren que la prueba de *creep* y recuperación es una herramienta útil para la evaluación de la calidad de la masa. Las SG-APM tienen un efecto significativo en las propiedades reológicas especialmente en la elasticidad de la masa medida por *creep* con los módulos G_1 y G_2 . La viscosidad de la masa η_0 , η_1 y η_2 fue mayor para las muestras con *Glu-D1* 5+10 comparada con 2+12. Los coeficientes de correlación indican que la viscosidad en el equilibrio η_0 se asocia a los componentes no proteicos del gluten con un contenido de humedad de absorción óptima del farinógrafo que mostró una relativamente mayor influencia que las viscosidades de los elementos retardados de las gluteninas; η_1 presentó menor influencia en los parámetros de calidad.

Se necesita mayor investigación para mejorar estos resultados, entendiendo el efecto plastificante del agua y otros componentes no del gluten, así como la composición de las SG-APM y SG-BPM en los coeficientes del *creep* y recuperación de la masa, así como la aplicación de los modelos propuestos en este estudio para relacionar variables seleccionadas de los indicadores de calidad.

VI. Conclusiones generales

Las pruebas de relajación de esfuerzos y *creep* en granos de trigo, se llevaron a cabo con los parámetros especificados, y las curvas resultantes se ajustaron a los modelos generalizados de Maxwell con cuatro elementos exponenciales (R^2 de 0.999) y de Kelvin-Voigt con dos elementos exponenciales (R^2 de 0.94), respectivamente. De igual manera, la masa de trigo se ajustó con un modelo generalizado de Kelvin-Voigt con dos elementos exponenciales (R^2 de 0.998) para la fase de *creep* y un modelo de 5 elementos (R^2 de 0.992) para la fase de recuperación; corroborando que el trigo es un material viscoelástico ya sea en grano o masa.

En el locus *Glu-A1* el alelo nulo mostró menores esfuerzos para deformarlo con respecto a las subunidades 1 y 2*, del mismo grupo genotípico en la prueba de relajación de esfuerzos. Con la prueba de *creep* este alelo nulo presentó menores módulos de elasticidad, y por lo tanto mayores complianzas. Este alelo ha sido asociado a pobre calidad de panificación. Finalmente con la prueba de *creep* y recuperación en masa, las subunidades *Glu-A1* 1 y 2 no presentaron diferencias significativas en los coeficientes del modelo generalizado de Kelvin y tampoco en el volumen de pan.

Para *Glu-B1* en la relajación de esfuerzos la subunidad 17+18 presentó menores valores de esfuerzos (σ_1 , σ_3 y σ_4) con respecto a 7+8, 7+9, 13+16 y 7*. Mientras que en la prueba de relajación de esfuerzos las subunidades 17+18 y 7+8 fueron menores en los módulos de elasticidad. Por último en la prueba de *creep* y recuperación la subunidad 17+18 presentó mayores módulos elásticos (G_0 , G_1 y G_2) y viscosidades (η_0 , η_1 y η_2) con respecto a 7+9 y 7+8. Esta baja correspondencia asociada a las diferentes combinaciones alélicas.

En el locus *Glu-D1* la subunidad 2+12 presentó valores menores en los esfuerzos (σ_0 , σ_3 y σ_4) en la prueba de relajación de esfuerzo, con respecto a 5+10; de igual manera mostró menores módulos de elasticidad (E_0 , E_1 y E_2) en la prueba de *creep* directamente en granos de trigo. En el caso de la prueba de *creep* y recuperación en masa de trigo los módulos elásticos (G_0 , G_1 y G_2) y las viscosidades (η_0 , η_1 y η_2) fueron mayores para 5+10, subunidad asociada a buena calidad para panificación.

En el locus *Glu-A3* el alelo nulo presentó valores menores en los esfuerzos (σ_0 , σ_3 y σ_4) en la prueba de relajación de esfuerzos, comparado con los alelos *b*, *c* y *d*, aunque para σ_0 solo se separó significativamente del alelo *b*, presentó un menor valor con respecto a *c* y *d*. Mediante la prueba de *creep*, el alelo nulo es menor significativamente con respecto a los alelos *b*, *c* y *d*, en los valores de los módulos de elasticidad: E_0 , E_1 y E_2 ; el tiempo de retardación λ_2 y viscosidad μ_0 . Nuevamente el alelo con un menor valor en las propiedades elásticas y de viscosidad está asociado a una menor calidad panadera.

En el locus *Glu-B3* los alelos *f*, *i* y *j* presentaron la tendencia a tener menores valores de: σ_0 , σ_2 , σ_4 , τ_2 , τ_3 y τ_4 , con respecto a los alelos *d*, *g* y *h*, para la relajación de esfuerzos medida directamente en granos de trigo. En la prueba de *creep* en granos de trigo el comportamiento fue similar para estos alelos en los coeficientes de E_0 , E_1 , E_2 ; λ_1 y λ_2 ; el coeficiente de viscosidad μ_0 fue significativamente menor para el alelo *f*, comparado con el resto de los analizados en este locus. Los alelos *f*, *i* y *j* en *Glu-B3* están asociados a menor calidad que el resto de los analizados, siendo incluso el alelo *j* una translocación con centeno.

Finalmente los alelos del locus *Glu-D3* presentaron solo diferencias significativas en la prueba de relajación de esfuerzos; siendo el alelo *d* el que presentó los menores valores de esfuerzos (σ_0 , σ_1 , σ_2 , σ_3 y σ_4) comparado con los alelos *a*, *b* y *c*.

El análisis de las propiedades reológicas por subunidades de glutenina de alto peso molecular indicó que las tres pruebas proporcionan elementos para poder discriminar para selección o por uso final del trigo, estando relacionadas entre ellas. En lo que se refiere a las SG-BPM es recomendable ampliar su estudio para masas y verificar, aunque las pruebas en grano indican que el comportamiento es similar para la prueba de relajación de esfuerzos y *creep*.

En cuanto a la relación de los coeficientes obtenidos por los modelos para la relajación de esfuerzos, es el tiempo de relajación τ_3 y el esfuerzo σ_2 del segundo decaimiento los que mayormente se relacionan con la calidad tradicional, expresada como volumen de sedimentación, tiempo de mezclado en el mixógrafo y trabajo del alveógrafo. Para la prueba de *creep* en granos de trigo las mayores correlaciones se encontraron para las complianzas D_1 , D_2 y D_3 . Finalmente para la prueba de *creep* y recuperación en masa se obtuvieron coeficientes de correlación entre las pruebas reológicas tradicionales y los coeficientes del modelo de Kelvin-Voigt, de la fase de *creep* y recuperación los cuales fueron mayores a los obtenidos que en las pruebas directamente en grano, esto debido probablemente a que en esta parte intervienen otros factores como la cantidad de agua, así como el trabajo de amasado, que le suministra energía al sistema.

Aunque se tuvieron mayores coeficientes de correlación con parámetros de calidad para la prueba de *creep* y recuperación en masas, al evaluar por subunidad de glutenina las tendencias fueron similares en los tres casos, con la ventaja de que las pruebas directamente en grano son fáciles, rápidas y de bajo costo comparadas incluso con las pruebas tradicionales, adicionalmente se necesita muy poca muestra de 6 a 10 granos, lo cual la hace una herramienta poderosa cuando el tamaño de muestra es muy pequeña.

En este estudio se encontraron diferencias en las propiedades reológicas y de calidad por subunidades de glutenina, y de acuerdo a reportes previos, son estas proteínas del

gluten las que confieren la viscoelasticidad al trigo por su tamaño, composición y estructura, utilizando únicamente granos de trigo intactos, haciendo más fácil y rápida la evaluación de las propiedades reológicas.

VII. Bibliografía

- AACC International, 2010. Approved Methods of Analysis, 11th Ed. Methods 56-60.01, 38-12.02, 08-01.01, 76-30.02, 54-40.02, 54-21.02, 54-30.02, 54-10.01, 10-11.01. Available online only. AACC Int, St. Paul, MN, USA.
- Alvarez, M.D., Canet, W., Cuesta, F., Lamua, M., 1998. Viscoelastic characterization of solid foods from creep compliance data: application to potato tissues. *Z Lebensm Unters Forsch A*. 207, 356-362.
- Amemiya, J.I., Menjivar, J.A., 1992. Comparison of small and large deformation measurements to characterize the rheology of wheat flour doughs. *Journal of Food Engineering* 16, 91-108.
- ASABE, 2009. Compression test of food materials convex shape., S368.4. American Society of Agricultural Engineers, St Joseph, MI, USA.
- ASTM, I., 2009. Standard terminology relating methods of mechanical testing. ASTM International, West Conshohocken, PA, p. 12.
- Bargale, P.C., Irudayaraj, J., 1995. Mechanical strength and rheological behaviour of barley kernels. *International Journal of Food Science and Technology* 30, 609-623.
- Barnes, H.A., 2000. A handbook of elementary rheology. University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, Aberystwyth, Dyfed, Wales, U.K.
- Belton, P.S., 1999. On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science* 29, 103-107.
- Bockstaele, F.V., De Leyn, I., Eeckhout, M., Dewettinck, K., 2008. Rheological properties of wheat flour dough and the relationship with bread volume. I. Creep-recovery measurements. *Cereal Chemistry* 86, 753-761.
- Bockstaele, F.V., De Leyn, I., Eeckhout, M., Dewettinck, K., 2011. Non-linear creep-recovery measurements as a tool for evaluating the viscoelastic properties of wheat flour dough. *Journal of Food Engineering* 107, 50 - 59.
- Bohlin, L., Carlson, L.G., 1980. Dynamic viscoelastic properties of wheat flour dough: dependence on mixing time. *Cereal Chemistry* 57, 174-177.

- Branlard, G., Dardevet, M., 1985. Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science* 3, 345-354.
- Branlard, G., Dardevet, M., Saccomano, R., Lagoutte, F., Gourdon, J., 2001. Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica* 119, 59-67.
- Brinson, H.F., Brinson, L.C., 2008. Polymer engineering science and viscoelasticity an introduction. Springer Science+Business Media, LLC, New York, NY, USA.
- Calzada, J.F., Peleg, M., 1978. Mechanical interpretation of compressive stress-strain relationships of solid foods. *Journal of Food Science* 43, 1087-1092.
- Campos, D.T., Steffe, J.F., Ng, P.K.W., 1997. Rheological Behavior of Undeveloped and Developed Wheat Dough. *Cereal Chemistry* 74, 489-494.
- Cenkowski, S., Bielewicz, J., Britton, M.G., 1991. A single kernel creep and recovery test. *Transactions of the ASAE* 34, 2484-2490.
- Curtis, B.C., 2002. Wheat in the world, in: Curtis, B.C. (Ed.), Bread Wheat Improvement and Production. FAO, Roma, Italia.
- Chakespari, A.G., Rajabipour, A., M obli, H., 2010. Anisotropic relaxation and creep properties of apple (cv. Shafi Abadi and Golab Kohanz). *Advance Journal of Food Science and Technology* 2, 200-205.
- Chaves, M.S., Martinelli, J.A., Wesp-Guterres, C., Graichen, F.A.S., Brammer, S.P., Scagliusi, S.M., Silva, P.R., Wiethölter, P., Torres, G.A.M., Lau, E.Y., Consoli, L., Chaves, A.a.S., 2013. The importance for food security of maintaining rust resistance in wheat. *Food Security* 5, 157-176.
- Delcour, J.A., Joye, I.J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., Lagrain, B., 2012. Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review Food Science Technology* 3, 469-492.
- Dobraszczyk, B.J., Morgenstern, M.P., 2003. Rheology and breadmaking process. *Journal of Cereal Science* 38, 229-245.
- Dogan, H., Kokini, J.L., 2007. Rheological properties of foods, in: Heldman, D.R., Lund, D.B. (Eds.), Handbook of food engineering. CRC Press, Boca Ratón, FL, USA, pp. 1-124.

- Edwards, N.M., Dexter, J.E., Scanlon, M.G., Cenkowski, S., 1999. Relationship of creep-recovery and dynamic oscillatory measurements to durum wheat physical dough properties. *Cereal Chemistry* 76, 638-645.
- FAO, 2013. Base de datos estadísticos sustantivos de la FAO, in: FAOSTAT (Ed.). FAO, Roma, Italia.
- Figueroa, J.D.C., Hernández-Estrada, Z.J., Véles, M.J.J., Rayas-Duarte, P., Martínez-Flores, H.E., Ponce-García, N., 2011a. Evaluation of the degree of elasticity and other mechanical properties of wheat kernels. *Cereal Chemistry* 88, 12-18.
- Figueroa, J.D.C., Hernández, Z.J.E., Rayas-Duarte, P., Peña, R.J., 2013. Stress relaxation and creep recovery tests performed on wheat kernels versus doughs: Influence of glutenin on rheological and quality properties. *Cereal Food World* 58, 139-144.
- Figueroa, J.D.C., Maucher, T., Reule, W., Peña, R.J., 2009. Influence of high molecular weight glutenins on viscoelastic properties of intact wheat kernels and relation to functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 86, 139 - 144.
- Figueroa, J.D.C., Peña, R.J., Maucher, T., Rayas-Duarte, P., Khan, K., 2011b. Kernel elastic properties and sedimentation: Influence of high and low molecular weight glutenin allelic composition. *Cereal Chemistry* 88, 41-44.
- Figueroa, J.D.C., Peña, R.J., Rayas-Duarte, P., Khan, K., 2011c. Influence of low-molecular weight glutenin subunits on wheat kernel elasticity and sedimentation volume. *Cereal Research Communication* 39, 237-245.
- Gianibelli, M.C., Larroque, O.R., Macritchie, F., Wrigley, C.W., 2001. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat endosperm proteins. *Cereal Chemistry* 78, 635-646.
- Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W.S., Courtin, C.M., Gebruers, K., Delcour, J.A., 2005. Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology* 16, 12-30.
- Gubicza, J., Juhász, A., Tasnádi, P., Arató, P., Vörös, V., 1996. Determination of the hardness and elastic modulus from continuous Vickers indentation testing. *Journal of Material Science* 31, 3109 - 3114.
- Gupta, R.B., MacRitchie, F., 1994. Allelic Variation at Glutenin Subunit and Gliadin Loci, Glu-1, Glu-3 and Gli-1 of Common Wheats. II. Biochemical Basis of the Allelic Effects on Dough Properties. *Journal of Cereal Science* 19, 19-29.

- Haddad, Y., Benet, J.C., Delenne, J.Y., Mermet, A., Abecassis, J., 2001. Rheological behaviour of wheat endosperm—proposal for classification based on the Rheological Characteristics of endosperm test samples. *Journal of Cereal Science* 34, 105-113.
- Hernández-Estrada, Z.J., Figueroa, J.D.C., Rayas-Duarte, P., Peña, R.J., 2012b. Viscoelastic characterization of glutenins in wheat kernels measured by creep tests. *Journal of Food Engineering* 113, 19-26.
- Hernández, Z.J.E., Figueroa, J.D.C., Rayas-Duarte, P., Martínez-Flores, H.E., Arámbula, V.G., G., L.B.J., J., P.R., 2012a. Influence of high and low molecular weight glutenins on stress relaxation of wheat kernels and the relation to sedimentation and rheological properties. *Journal of Cereal Science* 55, 344-350.
- Hibberd, G.E., Parker, N.S., 1979. Nonlinear creep and creep recovery of wheat flour doughs. *Cereal Chemistry* 56, 232-236.
- Hult, J.A.H., 1966. Creep in engineering structures. Blaisdell Publishing Co., USA.
- Jood, S., Schofield, J.D., Tsiami, A.A., Bollecker, S., 2000. Effect of composition of glutenin subfractions on rheological properties of wheat. *Journal of Food Biochemistry* 24, 275-298.
- Kaye, A., Stepto, R.F.T., Work, W.J., Alemán, J.V., Malkin, A.Y., 1998. Definition of terms relating to the non-ultimate mechanical properties of polymers. *Pure and Applied Chemistry* 70, 701-754.
- Kovacs, M.I.P., Dahlke, G., Noll, J.S., 1994. Gluten viscoelasticity: Its usefulness in the Canadian durum wheat breeding program. *Journal of Cereal Science* 19, 251-257.
- Lefebvre, J., Mahmoudi, N., 2007. The pattern of the linear viscoelastic behaviour of wheat flour dough as delineated from the effects of water content and high molecular weight glutenin subunits composition. *Journal of Cereal Science* 45, 49-58.
- Lefebvre, J., Popineau, Y., Deshayes, G., Lavenant, L., 2000. Temperature-induced changes in the dynamic rheological behavior and size distribution of polymeric proteins for gluteins from wheat near-isogenic lines differing in HMW glutenin subunit composition. *Cereal Chemistry* 77, 193-201.
- Li, W., Dobraszczyk, B.J., Schofield, J.D., 2003. Stress relaxation behavior of wheat dough, gluten, and gluten protein fractions. *Cereal Chemistry* 80, 333 - 338.

- Lindsay, M.P., Skeritt, J.H., 1999. The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure-function perspectives. *Trends in Food Science and Technology* 10, 247-253.
- López-Perea, P., Schwarz, P.B., Figueroa, J.D.C., Hernández-Estrada, Z.J., 2012. Effect of β -glucans on viscoelastic properties of barley kernels and their relationship to structure and soluble dietary fibre. *Journal of Cereal Science* 56, 595-602.
- Luo, C., Griffin, W.B., Branlard, G., D.L., M., 2001. Comparison of low- and high molecular-weight wheat glutenin allele effects on flour quality. *Theoretical and Applied Genetics* 102, 1088-1098.
- MacLeish, T.C.B., Larson, R.G., 1998. Molecular constitutive equations for a class of branched polymers. *Journal of Rheology* 42, 81-110.
- Macritchie, F., Lafiandra, D., 1997. Structure-function relationships of wheat protein, in: Damodaran, S., Paraf, A. (Eds.), *Food Proteins and their applications*. Marcel Dekker, New York,, pp. 293-323.
- Martínez-Cruz, E., Espitia, R.E., Benítez, R.I., Peña, B.R.J., Santacruz, V.A., Villaseñor, M.H.E., 2007. El complejo Gli-1/Glu-3 y las propiedades reológicas y volumen de pan de trigos harineros. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30, 167-172.
- 52 Matsumoto, H., Nishiyama, J., Mita, T., Kuninori, T., 1975. Rheology of fermenting dough. *Cereal Chemistry Supplement* 52, 82r - 88r.
- Matsumoto, H., Ono, H., Mita, T., 1974. Relaxation of pressure in dough. *Cereal Chemistry* 51, 758-763.
- Maucher, T., Figueroa, J.D.C., Reule, W., Peña, R.J., 2009. Influence of low molecular weight glutenins on viscoelastic properties of intact wheat kernels and their relation to functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 86, 372-375.
- Menard, K.P., 2008. *Dynamic mechanical analysis: a practical introduction*. Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, FL, USA.
- Mita, T., Bohlin, L., 1983. Shear stress relaxation of chemically modified gluten. *Cereal Chemistry* 60, 93-97.
- Mohsenin, N.N., 1986. *Physical properties of plant and animal materials. Structure, physical characteristics and mechanical properties*, 2nd ed. Gordon and Breach Science, New York.

- Müller, S., Wieser, H., 1997. The location of disulphide bonds in monomeric gamma-type gliadins. *Journal of Cereal Science* 26, 169-176.
- Naeem, H.A., Sapirstein, H.D., 2007. Ultra-fast separation of wheat glutenin subunits by reversed-phase HPLC using a superficially porous silica-based column. *Journal of Cereal Science* 46, 157-168.
- Olán, M.D.I.O., Espitia Rangel, E., Molina Galán, J.D., Villaseñor Mir, H.E., López Sánchez, H., Peña Bautista, R.J., Santacruz Varela, A., 2010. Estabilidad a través de ambientes de las propiedades reológicas de trigos harineros en función de sus gluteninas de alto peso molecular. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33, 125-131.
- Oza, A., Vanderby, R., Lakes, R.S., 2003. Interrelation of creep and relaxation for nonlinearly viscoelastic materials: application to ligament and metal. *Rheologica Acta* 42, 557-568.
- Payne, P.I., Corfield, K.G., Holt, L.M., Blackman, J.A., 1981. Correlation between the inheritance of certain high-molecular weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 32, 51-60.
- Payne, P.I., Holt, L.M., Jackson, E.A., Law, C.N., Damania, A.B., 1984. Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philosophical Transactions of Royal Society London B*. 304, 359-371.
- Payne, P.I., Nightingale, M.A., Krattiger, A.F., Holt, L.M., 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 40, 51-65.
- Peleg, M., 1985. Comparison between various correction factors in the calculation the creep compliance. *Journal of Texture Studies* 16, 119-127.
- Peña, B.R.J., Amaya, A., Rajaram, S., Mujeeb-Kazi, A., 1990. Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *Journal of Cereal Science* 12, 105-112.
- Peña, R.J., Gonzalez-Santoyo, H., Cervantes, F., 2004. Relationship between Glu-D1/Glu-B3 allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding, in: Masci, S., Lafiandra, D. (Eds.), *Proceedings of the 8th Gluten Workshop*, Viterbo, Italy, pp. 156-157.

- Peña, R.J., Trethowan, R., Pfeiffer, W.H., Van Ginkel, M., 2002. Quality (End-Use) improvement in wheat: compositional, genetic, and environmental factors. *Journal of Crop Production* 5, 1-2, 1-37.
- Ponce-García, N., Figueroa, J.D.C., López-Huape, G.A., Martínez, H.E., Martínez-Peniche, R., 2008. Study of viscoelastic properties of wheat kernels using the compression load method. *Cereal Chemistry* 85, 667-672.
- Popineau, Y., Cornec, M., Lefebvre, J., Marchylo, B., 1994. Influence of High Mr Glutenin Subunits on Glutenin Polymers and Rheological Properties of Glutens and Gluten Subfractions of Near-isogenic Lines of Wheat Sicco. *Journal of Cereal Science* 19, 231-241.
- Purkayastha, S., Peleg, M., Johnson, E.A., Normand, M.D., 1985. A computer aided characterization of compressive creep behavior of potato and cheddar cheese. *Journal of Food Science* 50, 45-50, 55.
- Rao, M.V.N., Quintero, X., 2005. Rheological properties of solid foods, in: Rao, M.A., Rizvi, S.S.H., Datta, A.K. (Eds.), *Engineering properties of foods*, 3ed ed. Taylor & Francis, Boca Ratón, FL, USA.
- Rao, V.K., Mulvaney, S.J., Dexter, J.E., 2000. Rheological characterisation of long- and short-mixing flours based on stress relaxation. *Journal of Cereal Science* 31, 159-171.
- Rao, V.K., Mulvaney, S.J., Dexter, J.E., Edwards, N.M., Peressini, D., 2001. Stress-relaxation properties of Mixograph semolina-water doughs from durum wheat cultivars of variable strength in relation to mixing characteristics, bread- and pasta-making performance. *Journal of Cereal Science* 45, 49-58.
- Rhazi, L., Bodard, A.L., Fathollahi, B., Aussenac, T., 2009. High throughput microchip-based separation and quantitation of high-molecular-weight glutenin subunits. *Journal of Cereal Science* 49, 272-277.
- 76 SAGARPA, 2013. Servicio de información agroalimentaria y pesquera. SIAP, México.
- Shewry, P.R., Halford, N.G., 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany* 53, 947-958.
- Shewry, P.R., Halford, N.G., Belton, P.S., Tatham, A.S., 2002. The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transactions of the Royal Society Lond. B* 357, 133-142.

- Shewry, P.R., Halford, N.G., Tatham, A.S., 1992. High-molecular-weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science* 15, 105-120.
- Singh, N.K., Shepherd, K.W., 1988. Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics* 75, 628-641.
- Singh, S.S., Finner, M.F., Rohatgi, P.K., Buelow, F.H., Schaller, M., 1991. Structure and mechanical properties of corn kernels. A hybrid composite material. *Journal of Materials Science* 26, 274-284.
- Steffe, J.F., 1996. Rheological methods in food process engineering, 2nd ed. Freeman Press, East Lansing, MI, USA.
- Tatham, A.S., Shewry, P.R., 1985. The conformation of wheat gluten proteins: the secondary structures and thermal stabilities of α -gliadins, β -gliadins, γ -gliadins and ω -gliadins. *Journal of Cereal Science* 3, 103-113.
- Tatham, A.S., Shewry, P.R., 2000. Elastomeric proteins: biological roles, structures and mechanisms. *Trends in Biochemical Sciences* 25, 567-571.
- Tohver, M., 2007. High molecular weight (HMW) glutenin subunit composition of some Nordic and Middle European wheats. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54, 67-81.
- Tsenov, N., Atanasova, D., Todorov, I., Ivanova, I., Stoeva, I., 2010. Quality of winter common wheat advanced lines depending on allelic variation of Glu-A3. *Cereal Research Communications* 38, 250-258.
- Veraverbeke, W.S., Delcour, J.A., 2002. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to breadmaking functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 42, 179-208.
- Weegels, P.L., van der Pijpekamp, A.M., Graveland, A., Hamer, R.J., Schofield, J.D., 1996. Depolymerisation and re-polymerisation of wheat glutenin during dough processing. I. Relationships between glutenin macropolymer content and quality parameters. *Journal of Cereal Science* 23, 103-111.
- Wieser, H., 2007. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology* 24, 115-119.
- Wrigley, C., Asentorfer, R., Batey, I., Cornish, G., Day, L., Mares, D., Mrva, K., 2009. The biochemical and molecular basis of wheat quality, in: Carver, B.F. (Ed.), *Wheat Science and Trade*. Wiley-Blackwell, Ames, IA, pp. 309-328.

Zaidel, D.N.A., Chin, N.L., Yusof, Y.A., 2010. A review on rheological properties and measurements of dough and gluten. *Journal of Applied Sciences* 10, 2478-2490.

Apendices

Apendice A.

Localización de los locus.

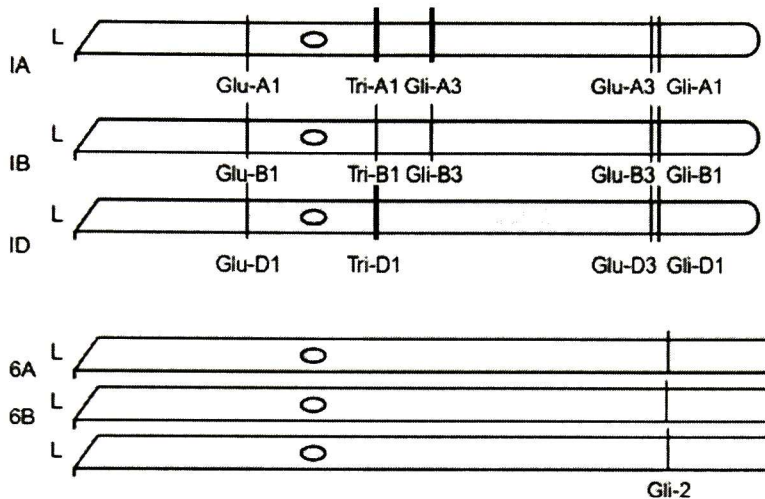


Figura 40. Localización de genes para la síntesis de proteínas del trigo. El brazo largo de cada cromosoma ("L") se extiende hacia la izquierda, conteniendo solo el Glu-1 a la izquierda del (círculo) centrómero (Békés *et al.*, 2004).

Tabla 16. Proteínas del gluten, la localización de sus genes en los cromosomas y la formación de enlaces disulfuro (Békés *et al.*, 2004).

Clase	Locus	Localización en el cromosoma	Enlaces disulfuro
ω -gliadinas	Gli-1	Brazo corto del grupo 1 de cromosomas	Sin enlaces SS
α -, β -gliadinas	Gli-2	Brazo corto del grupo 6 de cromosomas	Enlace SS en la cadena
γ -gliadinas	Gli-1	Brazo corto del grupo 1 de cromosomas	Enlace SS en la cadena
SG-BPM	Glu-3	Brazo corto del grupo 1 de cromosomas	Enlaces SS en la cadena y entre cadenas
SG-APM	Glu-1	Brazo largo del grupo 1 de cromosomas	Enlaces SS en la cadena y entre cadenas

Apendice B. Definición de términos relacionados con las propiedades mecánicas

Definición de términos relacionados con las propiedades mecánicas de acuerdo a la norma **ASTM International E6-09bε1**

A continuación se detalla una serie de definiciones con el objetivo de poder familiarizarnos con el lenguaje utilizado.

Deformación (strain)

Es la unidad de cambio en el tamaño o forma de un cuerpo, referida al tamaño o forma original, por la acción de una fuerza, es adimensional, puede ser expresada en %.

Deformación lineal (en tensión o compresión), es el cambio por unidad de longitud debido a la fuerza en una dimensión lineal inicial.

Deformación axial, es la deformación lineal en un plano paralelo al eje longitudinal del espécimen.

Deformación aparente (ingenieril) valor adimensional que es el cambio de longitud (ΔL) por unidad de la dimensión de la longitud inicial (L_0) a través del eje de carga del espécimen, que es $e = (\Delta L) / L_0$.

Deformación residual, deformación asociada con el esfuerzo residual interno.

Deformación tangencial, es la tangente del cambio angular, debido a una fuerza, entre dos líneas originalmente perpendiculares una de la otra a través de un punto en el cuerpo.

Deformación real, es el logaritmo natural del cociente de la medición de longitud instantánea, L , a la longitud original, L_0 , que es $\varepsilon = \ln(L/L_0)$ o $\varepsilon = \ln(1+e)$.

Esfuerzo [FL-2]

Es la intensidad en un punto en un cuerpo de las fuerzas o componentes de fuerza que actúan sobre un plano dado a través del punto. El esfuerzo es expresado en fuerza por unidad de área

Esfuerzo de compresión, es el esfuerzo normal debido a fuerzas dirigidas hacia el plano sobre el cual actúan.

Esfuerzo nominal, es el esfuerzo en un punto, calculado en la sección transversal por la teoría elástica simple sin tomar en cuenta el efecto en el esfuerzo producido por discontinuidad geométrica, tales como agujeros, ranuras, grietas, etc.

Esfuerzo normal, es el componente perpendicular al plano donde se aplica el esfuerzo.

Esfuerzo principal (normal), es el máximo o mínimo valor de esfuerzo en un punto en un plano considerado con respecto a todas las posible orientaciones del plano considerado. En estos planos principales, el esfuerzo tangencial es cero. Existen tres esfuerzos principales en tres planos mutuamente perpendiculares: uniaxial (2 de los 3 esfuerzos principales son cero, Figura 41), biaxial (1 de los 3 esfuerzos principales es cero), triaxial (ninguno de los 3 es cero).

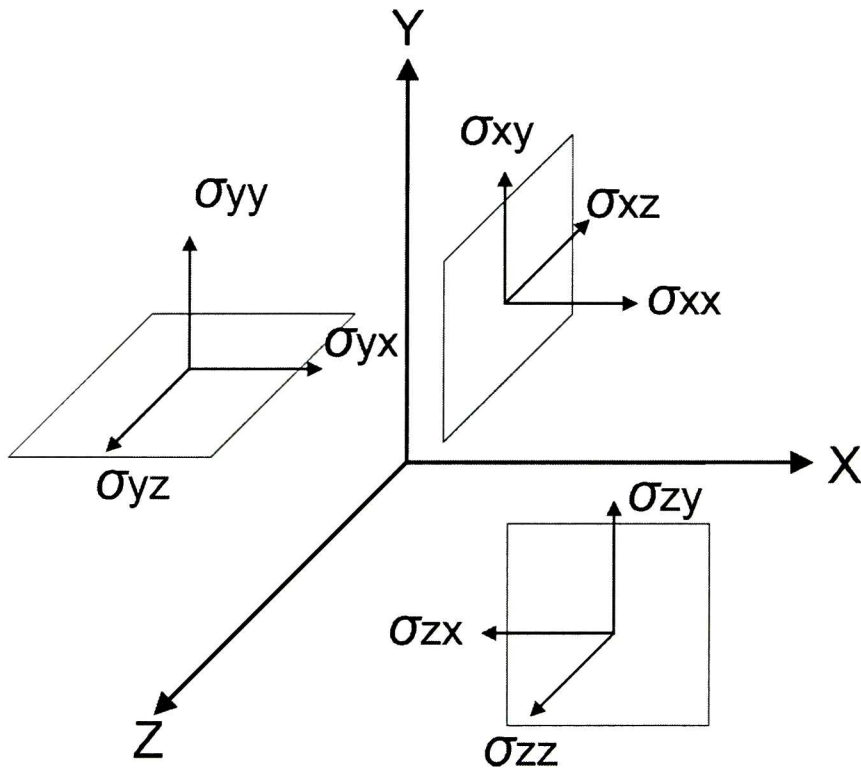


Figura 41. Componentes de fuerza por unidad de área dA , con orientación normal en las direcciones x, y, z .

Esfuerzo tangencial, la componente del esfuerzo es tangencial al plano en el cual actúan las fuerzas.

Esfuerzo real, es el esfuerzo axial en una prueba de tensión o compresión, calculado en la base de la sección transversal instantánea en lugar del área original (ASTM, 2009).

Límite elástico

Es el mayor esfuerzo que el material es capaz de soportar, sin que exista ninguna deformación permanente, una vez que el esfuerzo se ha retirado.

Módulo de elasticidad [FL-2]

Es la relación de esfuerzo correspondiente a la deformación debajo del límite proporcional o límite elástico. También conocido como módulo de Young.

(Nota) Para aquellos materiales en el que la relación esfuerzo-deformación es curvilínea, más que lineal, uno de los 4 términos siguientes puede utilizarse (Figura 42).

Módulo tangencial al origen, la pendiente de la curva esfuerzo deformación al origen.

Módulo tangencial, la pendiente de la curva esfuerzo deformación es en cualquier punto específico de esfuerzo o deformación.

Módulo secante, la pendiente de la secante dibujada del origen a cualquier punto especificado sobre la curva de esfuerzo-deformación

Módulo cuerda, la pendiente de la cuerda dibujada entre cualquiera de los 2 puntos específicos de la curva esfuerzo deformación.

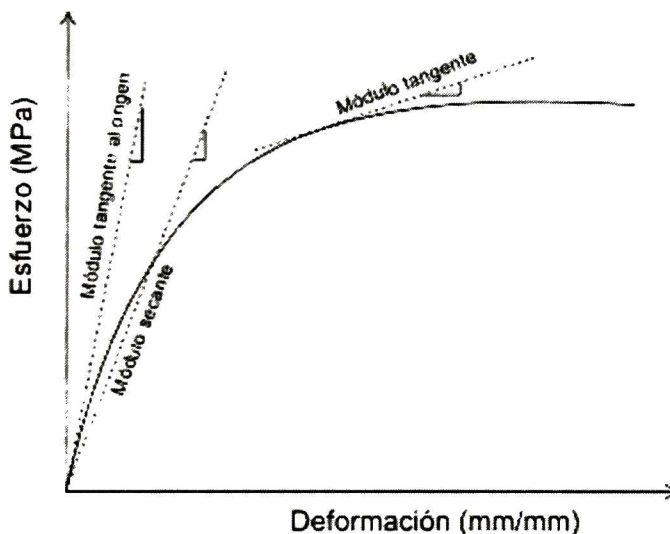


Figura 42. Ejemplo del cálculo de diferentes módulos (pendientes).

Módulo de Poisson, μ

El valor negativo de la relación de la deformación transversal correspondiente a una deformación axial, resultado de un esfuerzo axial, abajo del límite proporcional.

Este puede tener más de un valor, sí es material no es isotrópico.

Límite proporcional

Es el mayor esfuerzo que el material es capaz de soportar, sin que exista ninguna desviación de la proporcionalidad de esfuerzo-deformación (ley de Hooke) (ASTM, 2009).

Viscoelasticidad

Es una combinación de un sólido como líquido y un líquido como sólido, en la que el esfuerzo deformación es una relación dependiente del tiempo.

Viscoelasticidad lineal

Un comportamiento viscoelástico en el cual la relación de esfuerzo deformación es una función del tiempo, y no de la magnitud del esfuerzo.

Relajación de esfuerzos

Es la disminución del esfuerzo con el tiempo cuando el material es repentinamente deformado a una deformación dada.

Tiempo de relajación

La velocidad de la disminución del esfuerzo en un material sujeto a una súbita deformación. Es el tiempo requerido para que el esfuerzo, en el modelo de Maxwell en la relajación de esfuerzos, disminuya $1/e$ (36.79%) de su valor original.

Creep

Deformación con el paso del tiempo cuando un material es súbitamente sujeto a una carga o esfuerzo constante.

Una curva típica de creep es mostrada en la Figura 43, donde se tienen tres periodos de tiempo: el primero durante el cual la relación de creep es creciente, la segunda remanente (casi constante) y por último un comportamiento creciente; estos periodos son llamados creep primario, secundario y terciario, respectivamente (Hult, 1966).

La primer relación del creep, comienza con el periodo primario, el cual se observa, inmediatamente que la carga es aplicada, esta es comúnmente muy alta.

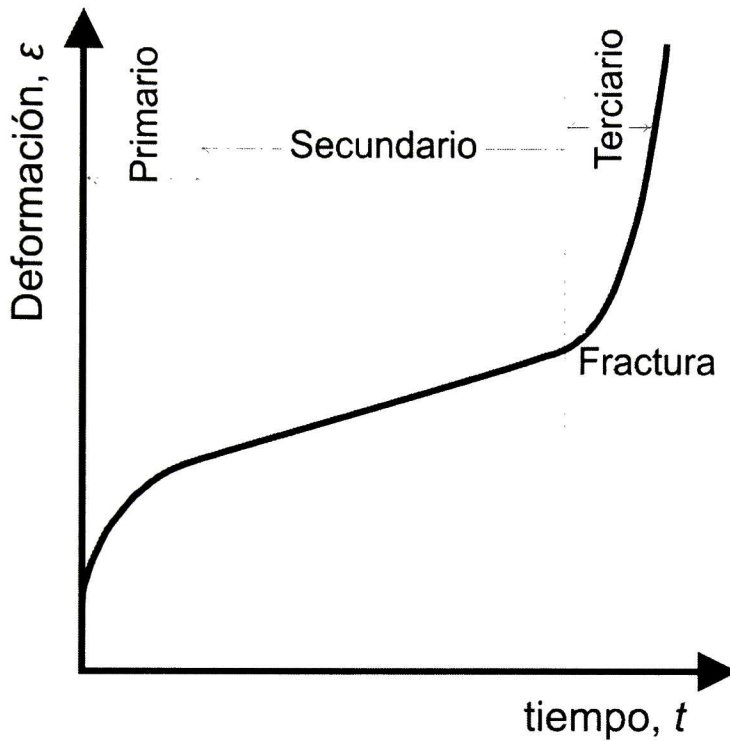


Figura 43. Curva típica de creep ejemplificando las tres fases.

Tiempo de retardación

La velocidad a la cual la deformación elástica retardada se lleva a cabo en un material en la prueba de creep bajo una carga muerta. Es el tiempo requerido en el modelo de Kelvin, representando el comportamiento de creep, para deformarse $(1-1/e)$ 63.21% del total de la deformación.

Viscosidad

Resistencia al flujo, indicado como coeficiente de viscosidad

Coeficiente de viscosidad (Pa·s)

El cociente del esfuerzo cortante y la velocidad de deformación en los fluidos Newtonianos.

Viscosidad cinemática

Es el coeficiente de viscosidad dividido por la densidad

Ecuaciones constitutivas

Una relación entre cantidades definidas de estados de esfuerzo y deformación y sus derivadas con respecto al tiempo, son conocidas como ecuaciones constitutivas, siendo una característica de la constitución del material.

Anexos

Anexo A. Listado de artículos publicados

Hernández, Z. J. E., Figueroa, J. D. C., Rayas-Duarte, P., Martínez-Flores, H. E., Arámbula, V. G., Luna. G. B. and Peña. R. J. 2012. Influence of high and low molecular weight glutenins on stress relaxation of wheat kernels and the relation to sedimentation and rheological properties. *Journal of Cereal Science* 55: 344 - 350

Hernández-Estrada, Z.J., Figueroa, J.D.C., Rayas-Duarte, P., Peña, R.J. 2012. Viscoelastic characterization of glutenins in wheat kernels measured by creep tests. *Journal of Food Engineering* 113: (2012) 19–26.

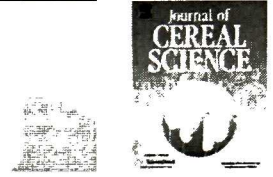
Figueroa, J.D.C., **Hernández, Z. J. E.**, Véles, M.J.J., Rayas-Duarte P., Martínez-Flores, H. E., and Ponce-García, N. 2011. Evaluation of degree of elasticity and other mechanical properties of wheat kernels. *Cereal Chemistry* 88(1):12–18

López-Perea, P., Figueroa, J. D. C., Rodríguez-Chong, A. and **Hernández-Estrada, Z. J.** 2011. Effect of microwave irradiation on the elastic properties of cereal kernels and its relation to quality. in: *Wheat Science Dynamics: Challenges and Opportunities*. N. R. Chibbar and J. Dexter, eds. Agrobios (Intl.), Jodhpur, India. Pages 363 – 369.

Figueroa, J.D.C., Manuel, C.I. **Hernández-Estrada, Z.J.** and Ramírez-Wong, B. 2012. Stress relaxation of wheat kernels and their relationship with milling, rheological, and breadmaking quality of wheat. *Cereal Chemistry* 89 :211–216

López-Perea, P., Schwarz, P.B., Figueroa, J.D.C., **Hernández-Estrada, Z.J.**, 2012. Effect of β -glucans on viscoelastic properties of barley kernels and their relationship to structure and soluble dietary fibre. *Journal of Cereal Science* 56, 595-602.

Figueroa, J.D.C., **Hernández, Z.J.E.**, Rayas-Duarte, P., Peña, R.J., 2013. Stress relaxation and creep recovery tests performed on wheat kernels versus doughs: Influence of glutenin on rheological and quality properties. *Cereal Food World* 58, 139-144.



Influence of high and low molecular weight glutenins on stress relaxation of wheat kernels and the relation to sedimentation and rheological properties

Z.J.E. Hernández^a, J.D.C. Figueroa^{a,*}, P. Rayas-Duarte^b, H.E. Martínez-Flores^c, G.V. Arámbula^a, G.B. Luna^a, R.J. Peña^d

^a Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN), Libramiento Norponiente 2000, Fracc. Real de Juriquilla, Querétaro, C.P. 76230 Qro., Mexico

^b Robert M. Kerr Food & Agricultural Products Center, Oklahoma State University, 123 FAPC, Stillwater, OK 74078-6055, USA

^c Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Tzintzuntzan 173, Col. Matamoros, Morelia Mich., Mexico

^d CIMMYT, km 45, Carretera México Veracruz, El Batán, Texcoco, C.P. 56130, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 March 2011

Received in revised form

12 January 2012

Accepted 17 January 2012

Keywords:

Wheat

HMW-GS

LMW-GS

Stress relaxation

Maxwell model

Relaxation time

ABSTRACT

The stress relaxation behaviour of 36 bread wheat kernel lines was studied using the generalized Maxwell model with 4-exponential terms. The data suggested four relaxation phases, two fast phases at shorter times of 1–10 s (τ_1 and τ_2) and two slow phases with longer times of ≈ 50 –450 s (τ_3 and τ_4). The stresses were mainly correlated with kernel mechanical properties. There were differences in spring and stress elements of *Glu-A1* null compared to *Glu-A1* 1 and 2*. The *Glu-B1* and *Glu-D1* showed differences in the stresses. *Glu-A3* only affected kernel mechanical properties while *Glu-B3* showed differences in both quality parameters and mechanical properties. The relaxation times τ_3 were high for genotypes with high SDS-sedimentation volume and long mixing time. Genotypes with 45–60 s of τ_3 usually had good HMW-GS background and LMW allelic combination generally associated with good quality. As expected, genotypes with short relaxation and mixing times and poor sedimentation volume were samples with *Glu-A1* null, *Glu-B3* j 1B/1R, and with *Glu-A3* e (null). Differences in stress relaxation were found among HMW-GS and LMW-GS alleles specially *Glu-3* loci and the differences were related to SDS-sedimentation, mixing and alveograph data.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Wheat gluten proteins are aggregates of high molecular weight- and low molecular weight-glutenin subunits (HMW- and LMW-GS, respectively) and gliadins (prolamins). Several studies have indicated that glutenins exhibit the unusual property of being viscoelastic when hydrated and are responsible for the rheological properties of wheat flour doughs and the quality of bread. Recent reports on the viscoelasticity of wheat kernels with limited amount of water can be found in the literature (Figueroa et al., 2009, 2011a, b; Maucher et al., 2009; Ponce-García et al., 2008). However, despite considerable research done in the past to study the rheological properties of HMW- and LMW-GS of wheat, basic

information and data on mechanical and viscoelastic aspects of these glutenin subunits in wheat kernels is very limited (Figueroa et al., 2011c).

Wheat grains, like all other grains, are subjected to a series of static and dynamic loads during harvesting, handling, transport, processing, storage, conditioning and milling. Such loadings cause significant damage to the grains which lead to a decrease in the intrinsic quality associated with specific HMW- and LMW-GS composition and an increase in susceptibility to deterioration during storage. The nature and extent of the damage depends on several mechanical and rheological characteristics of the grains due to the influence of HMW- and LMW-GS composition together with the forces or loading conditions to which grain kernels are subjected. It is, therefore, important to study the mechanical and viscoelastic properties of grains such as the modulus of elasticity, compressive strength and stress relaxation.

The mechanical behaviour of cereals has been found to be time dependent. Viscoelastic materials exhibit stress relaxation phenomena, which are some of the most important factors in characterizing agricultural materials. The measured relaxation time shows how fast the material dissipates stress after receiving

Abbreviations: CIMMYT, International Maize and Wheat Improvement Center; E, elastic modulus; GS, glutenin subunits; HMW, high molecular weight; LMW, low molecular weight; SDS, sodium dodecyl sulfate; W, work; W_e , elastic work; W_p , plastic work; σ , stress; τ , relaxation time.

* Corresponding author. Tel.: +52 (442) 211 9915; fax: +52 (442) 2119938.

E-mail addresses: jfigueroa@qro.cinvestav.mx, juanded@okstate.edu (J.D.C. Figueroa).

a sudden deformation. Mechanical damage to agricultural products usually results from compressive loads, thus more data can be found for compression than for tensile tests (Mohsenin, 1986).

In stress relaxation tests, a constant strain is applied and the stress required to maintain the deformation is measured as a function of time. When a stress relaxation test is performed, different behaviours can be observed: ideal elastic materials do not relax whereas ideal viscous materials instantaneously show a relaxation. Viscoelastic solids gradually relax and reach an equilibrium stress greater than 0, whereas for viscoelastic fluids, the residual stress would be zero (Del Nobile et al., 2007; Steffe, 1992).

The Maxwell model, consisting of a Hookean spring and a Newtonian dashpot in series (Mohsenin and Mittal, 1977), is suitable for understanding stress relaxation data, but does not consider the equilibrium stress. For this reason, the viscoelastic behaviour of food can be better described by using a generalized Maxwell model consisting of several elements in parallel with a spring (Steffe, 1992). In a similar model, if the system is subjected to a constant strain, the total stress is the sum of the stress of each element.

Studies by Figueroa et al. (2011a) have shown that the viscoelastic behaviour of wheat kernels can be represented by a generalized Maxwell model. This methodology has proven successful in detecting changes in wheat dough (Matsumoto et al., 1974, 1975) and corn tortilla and masa as a function of time and temperature (Guo et al., 1999). Bargale and Irudayaraj (1995) indicated that a three-term Maxwell model was suitable for describing the stress relaxation behaviour of barley kernels. Several authors (Hassan et al., 2005; Nussinovitch, et al., 1989) studied three stress relaxation terms, namely the generalized Maxwell to fit the experimental data. They indicated that the generalized Maxwell was the best in predicting experimental data.

The present study was therefore conducted with the following specific objectives: (1) to determine the effect of HMW-GS and LMW-GS on the modulus of elasticity, stress relaxation and quality related to SDS-sedimentation volume and mixing data; and (2) to describe the stress relaxation behaviour of wheat kernels when subjected to strain.

2. Experimental

2.1. Plant materials

Thirty-six wheat lines grown by CIMMYT in Sonora, Mexico during the crop cycle 2006–2007 were studied. The sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) protocol described by Singh and Shepherd (1988) with some modifications indicated by Peña et al. (2004) was used to determine HMW-GS and LMW-GS composition.

2.2. Physical and chemical properties of the various wheat groups

Moisture content was determined by Approved Method 44-15A (AACC Intl 2000). Kernel thickness which represented the highest point of the dorsal part of the grain was measured using a Mitutoyo model CD-6" CS digital caliper (Mitutoyo Corp. Japan). Analyses were done at least in duplicate.

2.3. Flour quality tests

Grain samples were milled into flour in a Brabender Sr. flour mill (C. W. Brabender Instruments, Inc., South Hackensack, NJ). Refined flour was evaluated for SDS-sedimentation according to Peña et al. (1990), dough mixing time in the Mixograph and dough strength (W), tenacity, and tenacity/extensibility (P/L ratio) in the

Alveograph according to AACC methodology (54-40A and 54-30A, respectively, AACC Intl 2000).

2.4. Uniaxial compression test

A Texture Analyzer TA-XT2 (Texture Technologies Corp., Stable Micro Systems, Surrey, England) was used to measure the kernel response to compressive loadings using a stainless steel probe TA-510 (10 mm dia.). Kernel samples were placed in a controlled temperature chamber (20 °C) 24 h before the analysis to reduce variance in the measurements. The contact (load-bearing) area of individual kernels during the loading process was determined as follows: individual kernels were slightly pressed on an ink pad and placed crease down in the instrument base. Pieces of bond paper (30 × 30 mm) were placed onto the top of the kernel to record the ink impression of the contact surface of the grain during loading (Ponce-García et al., 2008). The image of the ink impression was digitalized and the area was calculated using ImageJ software (National Institutes of Health). The image analysis reported by Ponce-García et al. (2008) used a scanned picture of the kernel contact area which had challenges including all faint gray regions on the boundary of the bearing area. If this area is not properly accounted for, it will overestimate the modulus of elasticity. In this study, black and white scanned images and black and white threshold were used which improved the accuracy of area measurements.

Settings in the Texture Analyzer were as follows: the load-deformation was recorded from the surface of the wheat kernel and ended after the probe had traveled 0.5 mm (compression), and the clearance was 4 mm. The data was collected using 25 points per second with a loading rate of 0.1 mm/s which is the minimum rate of the Texture Analyzer TA-XT2 equipped with a 25,000 g load cell. Averages were reported from 6 independent kernels per genotype.

2.5. Stress relaxation test

In order to describe the viscoelastic behaviour of a wheat kernel, a massless mechanical generalized Maxwell model was used with the attempt to describe the experimental behaviours to the molecular level events. This model is composed of springs (considered ideal solids, they account for the elastic behaviour of viscoelastic materials) and dashpots (representing ideal fluids, they account for the viscous behaviour) combined in many different ways (Fig. 1).

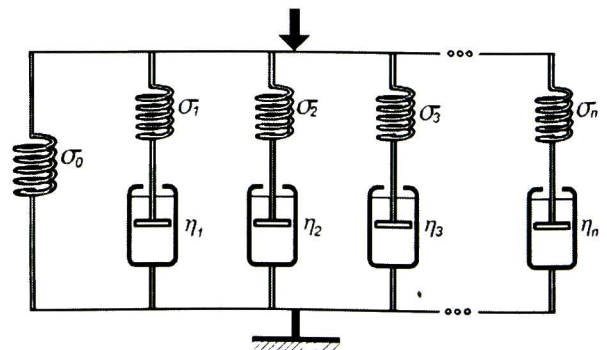


Fig. 1. Representation of the generalized Maxwell model consisting on a single spring constant (σ_0) in parallel to i th Maxwell element models of dashpots (η_1 to η_n) accounting for the viscous behaviour and springs (relaxation constant σ_i) for the elastic behaviour.

In the stress–relaxation test, a strain of 0.5 mm was applied over a specified ramp time of 25 points per second and loading rate of 0.1 mm/s, after which the displacement was held constant during the stress–relaxation phase of 600 s. The reaction force and stress–time history were recorded. The generalized Maxwell model reported by Figueroa et al. (2011a) was used to calculate the viscoelastic behaviour of the wheat kernels. In the present study, the model consisted of four elements with a spring in parallel (Fig. 1). Under the application of constant strain or deformation, the viscoelastic function exhibited by the model is described in the following exponential equation:

$$\sigma(t) = \sigma_0 + \sigma_1 e^{(-t/\tau_1)} + \sigma_2 e^{(-t/\tau_2)} + \sigma_3 e^{(-t/\tau_3)} + \sigma_4 e^{(-t/\tau_4)} \quad (1)$$

and

$$\tau_i = \eta_i \varepsilon / \sigma_i \quad (2)$$

where $\sigma(t)$ is the decaying parameter of stress after time t of relaxation, σ_i is the decay stress of the i th Maxwell element, τ_i is the time of relaxation of the i th Maxwell element or the period of time required for this stress to decay to $1/e$ or approximately 36.8% of its original value (Mohsenin, 1986), η_i is the viscosity of the i th element, and ε is the strain of grain. σ_0 is the equilibrium stress or stress after infinite time the asymptotic parameter (which corresponds to the single spring constant in parallel to the group of Maxwell elements) or the residual spring due to pure elastic component (Figueroa et al., 2011a).

2.6. Elastic and plastic components from compression loading testing

The viscoelastic behaviour of the wheat kernels was calculated using compression experiments, specifically the work of compression from the loading/unloading curve (Ponce-García et al., 2008). The area under the loading curve gives the total work (W_t) done by the loading device during compression. During unloading, a portion of this work can be regained, representing the recoverable work or elastic contribution (W_e) of the total work. The work dissipated by the plastic deformation alone is the difference between the total and elastic work, $W_p = W_t - W_e$ (Gubicza et al., 1996).

2.7. Statistical analysis

Analysis of variance of the results was performed using the General Linear Model procedure of SAS Statistical Software, version 9.2 (SAS Institute, 2009). Multiple comparison of the means was performed using the Duncan Multiple Range test at $\alpha = 0.05$ level. Regression analyses were performed with GraphPad Prism 5.0 (Hearne Scientific Software Pty Ltd., Melbourne, Australia) and OriginPro 8 (OriginLab Corporation Northampton, MA, USA).

3. Results and discussion

3.1. Selection of the generalized Maxwell model

Previous work with wheat kernels reported by Figueroa et al. (2011a) indicated that 3 Maxwell elements at specific conditions of 0.5 mm of displacements, and a loading rate of 1 mm/s were appropriate for obtaining important quality data of wheat types with different moisture contents and displacement conditions. However, stress relaxation was incomplete after 180 s of the tests, and equilibrium was not reached, indicating that more than 180 s in the stress–relaxation phase was needed (Figueroa et al., 2011a). Early work by Matsumoto et al. (1974), working with structural relaxation of dough using an extensigraph, reached similar conclusions indicating that the behaviour of dough could not be represented by a single Maxwell model, but a large number of models distributed among a range of relaxation times between 1 and 1000 s. In the present research 600 s of the stress–relaxation phase was used and several (3, 4, 5 and 6) Maxwell elements in the relaxation model were evaluated (data not shown). In the model with 5 Maxwell elements some kernel replications showed a residual mean square lower than 1.1×10^{-4} and high R^2 (about 0.9999) to fit the regression analysis of an exponential equation for that specific element. However, the correlations of the Maxwell elements with SDS-sedimentation volume and rheological properties of dough (mixing data) were lower compared to the 3 and 4 Maxwell element models. The 6 element models, on the other hand, showed some negative relaxation times and stress which are physically improbable. In the present research, a 4 Maxwell element model data is presented. The generalized Maxwell model with 4-exponential terms fitted the regression curve of stress relaxation for intact wheat kernels of R^2 with a range of 0.9992–0.9999 and a residual mean square with a range of 1.3×10^{-4} to 6.6×10^{-6} in all genotypes and replicates.

3.2. Effect of HMW-GS and LMW-GS on the quality and mechanical behaviour of wheat

Data from Table 1 suggest that *Glu-3* loci have more influence on sedimentation and kernel elasticity than *Glu-1* loci. *Glu-A1* showed significant differences in stress and plastic work, *Glu-B1* showed differences only in stress. The influence of *Glu-D1* with the majority of the samples containing 5+10 cannot be evaluated with certainty in this study. With the limitation of this study, it appears that *Glu-D1* might affect mixing and plastic work. On the other hand, *Glu-A3* affected only the mechanical properties of the kernel (E , stress, force, W_e and W_p) while *Glu-B3* showed significant differences in both quality parameters and mechanical properties. Similar results were reported by Tsenov et al. (2010) and Figueroa et al. (2011c) who indicated that *Glu-A3* and *Glu-B3* alleles influenced the end-use quality irrespective of the HMW-GS background.

Table 1

F values of one way ANOVA of physico-chemical and rheological characteristics by HMW and LMW loci.^a

Genotypic group	Prot	SDS volume	Mixing	W	P	Ext	P/L	E	Stress	Force	W_e	W_p
<i>Glu-A1</i>	0.17	1.48	1.69	2.73	0.63	0.94	0.54	2.64	5.14*	2.42	1.94	3.78*
<i>Glu-B1</i>	0.99	0.28	0.12	2.13	0.90	0.31	0.42	2.60	4.14**	1.44	0.98	1.33
<i>Glu-D1</i>	0.00	0.34	2.64†	2.02	1.90	1.98	1.75	0.79	0.55	0.01	0.61	5.63*
<i>Glu-A3</i>	1.58	2.15	1.13	1.07	0.45	0.04	0.33	3.62*	4.20*	6.19**	6.33**	4.63**
<i>Glu-B3</i>	0.66	4.45**	7.02**	6.35**	1.63	3.11*	3.43*	3.30*	3.12*	3.19*	1.67	3.02*
<i>Glu-D3</i>	2.45	0.10	1.66	3.01*	0.72	1.47	2.23	1.22	2.25	2.17	5.03**	1.87

* Significant at level < 0.05; ** significant at level < 0.01; † significant at level < 0.1.

^a Prot = kernel protein 12.5% (m.b.); SDS = sedimentation volume in flour; mixing = dough mixing time in the mixograph; alveograph data (W = work; P = tenacity; P/L ratio); E = modulus of elasticity; W_e = area under the curve of elastic component; W_p = area under the curve of plastic component.

3.3. Effect of HMW-GS and LMW-GS on the time-dependent behaviour of materials: viscoelasticity

The stress relaxation σ_i and the relaxation time τ_i in Eqs. (1) and (2) calculated from the compression relaxation curves of the intact wheat kernel are shown in Table 2. The stress relaxation constants show that *Glu-A1* and *Glu-B1* significantly affected the stress of the 4 Maxwell elements and the pure elastic component (σ_0). The *Glu-D1* for the present data with two samples containing the 2+12 subunits did appear to affect stress relaxation properties. *Glu-3* loci showed important effects in stress relaxation properties especially the *Glu-B3* and *Glu-A3*. These observations agree with observations from the previous Section 3.2, in which *Glu-A3* and *Glu-B3* showed significant differences in quality parameters and mechanical properties.

Table 3 shows the mean of the analysis of variance from the estimated parameters of the generalized Maxwell model with four elements. There were significant differences in the means of spring, and stress elements σ_1 , σ_2 , σ_3 and σ_4 of the null subunit of *Glu-A1* compared to *Glu-A1* subunits 1 and 2*. The *Glu-B1* showed differences in the stresses of τ_1 , σ_3 and σ_4 Maxwell elements, while with the limited variation of *Glu-D1* composition in this study, the subunits 5+10 and 2+12 showed differences in some of the stresses. Regarding the *Glu-3* loci, all the allelic genotypic groups showed significant differences (Table 3) especially *Glu-B3* which also showed differences in relaxation times.

Analysis of stress relaxation experiments on wheat kernels (Table 3) suggests two relaxation mechanisms: one at shorter time 1–10 s (τ_1 and τ_2) and one at longer time ≈ 50 –450 s (τ_3 and τ_4). Several researchers reported similar relaxation times in wheat kernels (Figuroa et al., 2011a), barley kernels (Bargale and Irudayaraj, 1995), gluten (Bohlin and Carlson, 1980; Li et al., 2003) and dough (Matsumoto et al., 1974, 1975; Mita and Bohlin, 1983) using different equipments. Figuroa et al. (2011a) reported compression data of *Triticum aestivum* and *Triticum durum* kernels with 13% moisture content and 17% strain, of about 1.5, 12 and 111 s for relaxation times τ_1 , τ_2 , and τ_3 , respectively. Bargale and Irudayaraj (1995) reported relaxation times of 2.19, 7.58 and 20.8 s for τ_1 , τ_2 and τ_3 , respectively, for barley kernels with about 10.1% moisture content and 4% strain. Bohlin and Carlson (1980) using a rheometer showed relaxation times of dough of 1 and 100 s, and in modified gluten of 1 and 500 s (Mita and Bohlin, 1983) attributable to the structural orientation of gluten in the dough. Rao et al. (2001) indicated that stronger dough of semolina-water from durum wheat which had higher proportions of glutenins, took longer to reach the iso-relaxation states about 42.3–50.1 s, compared to intermediate 22.3–20 s and very weak dough with 8.4–11.3 s. Li et al. (2003) reported two relaxation processes at <1 s and another at 10–1000 s which indicated that in gluten this behaviour corresponds to a network structure attributable to entanglements and physical crosslinks of polymers. There is enough evidence to suggest that protein aggregation in vivo and

specifically in cells is highly specific producing an optimum packing interaction (low entropy) with noncovalent polymerization (Lindorff-Larsen et al., 2011). The proteins in wheat kernel may exist as random orientation chains. Some hydrogen bond interactions between water and the molecules can exist. In dough, the proteins are stretched by tension during mixing into a network of proteins with a large number of interactions among molecules. Then the difference in the relaxation values reported by Li et al. (2003) for dough and those reported here seems due to the thermodynamic states of the glutenin and gliadin proteins in the kernel's protein bodies versus those in a hydrated and oriented state as they are found in dough. We are following up this by analyzing the dough of these samples using the same technique of compression used in kernels. Since this is the first time that stress relaxation is evaluated in HMW- and LMW-GS directly from intact wheat kernels, the discussion in the present study will be limited to the experimental data. The observations from the generalized Maxwell model suggest that differences in the stress relaxation could be explained by the combination stresses of HMW- and LMW-GS although other contributors not included in this study could be non-protein polymers such as pentosans and β -glucans that act as plasticizers (viscous behaviour) and dissipate energy in the kernel. Shorter relaxation times were observed in null alleles with small SDS-sedimentation volume and shorter mixing times, while longer relaxation times were associated with high SDS-sedimentation volume and longer mixing times. Differences in stress relaxation data were found among HMW-GS and LMW-GS alleles, especially *Glu-3* loci, and these differences were related to the SDS-sedimentation, mixing and alveograph data.

The exponential curves were characterized by a fast stress decay region (σ_1) with relaxation time (τ_1) at about 0.59–1.78 s. A second decay with relaxation time (τ_2) about 5.63–11.05 s, and a third decay with relaxation time (τ_3) about 38.24–57.75 s, and a plateau region that tends to asymptotic after a relaxation time (τ_4) of about 315.69–439.69 s.

The differences of stress values between 380 and 600 s were small and not statistically significant in all the wheat genotype groups evaluated for 0.5 mm displacement. Table 3 showed that the initial stresses at relaxation time zero and 12% moisture content were relatively low for *Glu-A1* null and *Glu-B3 f* with 22.33 and 19.53 MPa, respectively, and high for some loci and alleles associated with good quality such as *Glu-A1 2**, and *Glu-D1 5+10*, *Glu-B3 h* with 34.69, 33.77, 34.35 MPa, respectively. Figuroa et al. (2011a) reported initial stress values of 13.6, 24.1 and 24.6 MPa for soft, bread and durum wheat, respectively, at about 13–20% moisture content and 0.5 mm of displacement within the elastic regime. Higher stress values are expected for relaxation tests performed above the elastic limit such as those reported by Haddad et al. (2001) in endosperm of durum wheat, who found internal stresses of 34 MPa that stabilize at 1000 s. Singh et al. (1991) reported final stress values between 15 and 20 MPa for dent and flint corn for 20–16% moisture content, which overall are similar to

Table 2
F values of one way ANOVA of stress relaxation constants and relaxation times of HMW and LMW loci.^a

Genotypic group	σ_0	σ_1	τ_1	σ_2	τ_2	σ_3	τ_3	σ_4	τ_4	$\Sigma\tau_i$	$\Sigma\sigma_i$
<i>Glu-A1</i>	7.03**	7.43**	0.15	7.55**	0.19	6.35**	0.57	8.31**	0.46	0.46	11.22***
<i>Glu-B1</i>	2.30	5.73**	1.50	3.39**	1.38	6.12**	0.55	3.91**	0.84	0.81	8.09***
<i>Glu-D1</i>	5.21*	3.10	2.30	3.58	0.69	6.46*	1.29	7.30**	3.33	3.14	8.31**
<i>Glu-A3</i>	8.55***	2.77*	0.50	2.68*	2.61*	6.53**	3.37*	9.26***	3.33*	3.48*	6.83**
<i>Glu-B3</i>	5.46**	3.62**	1.84	5.80**	3.42**	6.38***	4.89**	5.76***	2.32*	2.72*	6.29***
<i>Glu-D3</i>	4.68**	2.95*	1.08	3.18*	1.41	2.16	2.16	3.59*	0.90	1.10	4.45**

* Significant at level <0.05; ** significant at level <0.01; *** significant at level <0.0001.

^a Spring = σ_0 ; σ_1 , σ_2 , σ_3 and σ_4 = stress of the *i*th Maxwell element; τ_i = time of relaxation of the *i*th Maxwell element.

Table 3
Estimated parameters of the generalized Maxwell model for the stress relaxation constant and relaxation times of Glu-1 and Glu-3 loci^{a,b}.

Genotypic group	HMW or LMW-GS	σ_0 (spring) (MPa)	σ_1 (MPa)	τ_1 (s)	σ_2 (MPa)	τ_2 (s)	σ_3 (MPa)	τ_3 (s)	σ_4 (MPa)	τ_4 (s)
Glu-A1	Null	18.01 b	1.13 b	1.02 a	1.01 b	8.10 a	0.94 b	47.33 a	1.24 b	366.58 a
Glu-A1	1	25.75 a	1.73 a	1.02 a	1.86 a	8.38 a	1.41 a	48.83 a	1.91 a	382.81 a
Glu-A1	2*	27.65 a	1.99 a	1.05 a	1.65 a	8.16 a	1.40 a	47.75 a	2.00 a	375.71 a
Glu-B1	7+8	30.36 a	1.51 bc	0.87 a	1.74 a	7.16 a	1.47 a	44.75 a	1.98 ab	350.58 a
Glu-B1	17+18	24.70 a	1.38 c	0.98 a	1.31 a	7.92 a	1.10 b	47.82 a	1.61 b	385.46 a
Glu-B1	7+9	26.04 a	1.98 abc	1.05 a	1.75 a	8.28 a	1.42 ab	47.92 a	1.96 ab	376.78 a
Glu-B1	13+16	31.28 a	2.14 ab	1.22 a	1.84 a	9.23 a	1.54 a	48.18 a	2.25 a	376.76 a
Glu-B1	7	26.14 a	2.32 a	1.15 a	1.89 a	8.39 a	1.72 a	51.60 a	2.13 ab	398.00 a
Glu-D1	2+12	20.80 b	1.45 a	0.86 a	1.30 a	7.64 a	1.06 b	44.92 a	1.45 b	345.50 a
Glu-D1	5+10	26.84 a	1.88 a	1.05 a	1.70 a	8.26 a	1.40 a	48.01 a	1.95 a	379.44 a
Glu-A3	b	30.74 a	2.18 a	1.03 a	1.79 a	8.46 a	1.54 a	47.70 a	2.16 a	370.53 a
Glu-A3	c	26.90 ab	1.78 a	1.69 a	1.73 a	8.50 a	1.40 ab	49.24 a	1.99 a	388.33 a
Glu-A3	d	24.12 b	2.02 a	0.94 a	1.76 a	7.33 a	1.48 a	45.83 a	1.93 a	354.00 a
Glu-A3	e	21.22 b	1.74 a	0.98 a	1.39 a	7.31 a	1.13 b	44.03 a	1.49 b	355.36 a
Glu-B3	d	30.13 a	1.52 ab	1.06 ab	1.99 a	9.39 a	1.49 a	52.69 a	2.03 a	392.38 ab
Glu-B3	f	14.52 c	1.49 ab	0.81 b	1.10 c	6.58 b	0.87 bc	42.14 b	1.15 c	340.43 b
Glu-B3	g	20.81 bc	0.86 b	1.23 a	0.85 c	9.04 a	0.82 c	53.40 a	1.40 bc	426.40 a
Glu-B3	h	27.16 ab	1.98 a	1.05 ab	1.73 ab	8.23 ab	1.45 a	47.92 ab	2.03 a	379.41 ab
Glu-B3	i	21.83 bc	2.02 a	1.13 ab	1.44 abc	7.96 ab	1.17 abc	44.95 b	1.55 abc	359.70 b
Glu-B3	j	27.24 ab	1.70 a	0.75 b	1.32 bc	6.31 b	1.22 ab	40.18 b	1.78 ab	348.00 b
Glu-D3	a	29.63 a	1.99 a	0.96 a	1.60 a	7.76 a	1.38 a	46.08 b	2.01 a	371.37 a
Glu-D3	b	25.08 ab	1.87 a	1.07 a	1.74 a	8.29 a	1.39 a	48.36 b	1.89 a	378.73 a
Glu-D3	c	28.74 a	1.70 a	1.04 a	1.74 a	8.64 a	1.40 a	46.85 b	2.10 a	373.85 a
Glu-D3	d	20.50 b	0.98 b	1.20 a	0.87 b	9.60 a	0.93 b	55.17 a	1.21 b	414.67 a

σ_0 = spring; $\sigma_1, \sigma_2, \sigma_3$ and σ_4 = stress of the *i*th Maxwell element; τ_1 = time of relaxation of the *i*th Maxwell element; Total relaxation time = $\tau_1 + \tau_2 + \tau_3 + \tau_4$.
Estimated initial stress at time zero = $\sigma_0 + \sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3 + \sigma_4$.

^a Means ($n = 6$) followed by different letters within a column are significantly different at $P < 0.05$.

^b Kernels subjected to constant deformation of 0.5 mm and 600 s of relaxation time.

the values of wheat for the same moisture content and strain reported in the present study.

3.5. Relationship between relaxation parameters and quality as indicated by SDS-sedimentation and rheological properties

The results of this analysis suggested a linear relationship between some quality properties and stress relaxation data of the grain. There were some significant linear correlation coefficients between the quality and viscoelastic properties. The first decay (σ_1) was correlated to the mechanical properties of the kernel, and the negative correlation of kernel mechanical properties with σ_0 and stress σ_4 with W_p indicates that the decay region is mostly affected by plasticizer compounds which can be pentosans, β -glucans. Stress values σ_2 and relaxation times τ_2, τ_3 and τ_4 showed some relationship to the sedimentation volume and alveograph data. The third term with a range of relaxation times of about 40–60 s had a major contribution to the quality (Table 4).

Rao et al. (2001) also reported similar results in semolina-water dough from durum wheat where the parameters t_{50} and t_{75} were correlated with dough mixing properties, extensigraph R_{max}/E , alveograph P/L , mixing energy, mixing time and loaf volume.

Overall, the characteristic relaxation times (τ_2, τ_3 , and τ_4), rather than the stress values themselves, were better discriminators of quality (SDS-sedimentation volume, SDS-sedimentation index, mixing time, alveograph W , and tenacity). The stress values were correlated to the mechanical properties (E , initial stress, force, W_e and W_p) of the wheat kernels. The characteristic relaxation times τ_3 (45–60 s) were significantly greater for the high SDS-sedimentation volume and longer mixing times compared to the low SDS-sedimentation and shorter mixing time of alleles with τ_3 lower than 45 s (Fig. 2). Figueroa et al. (2011a) reported shorter relaxation times for soft wheat compared to bread and durum wheat kernels. As expected, the genotypes with short relaxation and mixing time and low sedimentation volume were samples with *Glu-A1* null, and with *Glu-B3 j* 1B/1R rye-wheat translocation, and

Table 4
Correlation coefficients of kernel relaxation parameters vs sedimentation, dough rheological parameters and kernel viscoelastic properties of bread wheat ($N = 36$).^a

Parameters	σ_0 (MPa)	σ_1 (MPa)	τ_1 (s)	σ_2 (MPa)	τ_2 (s)	σ_3 (MPa)	τ_3 (s)	σ_4 (MPa)	τ_4 (s)
Protein ^b	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
SDS, ml	ns	ns	ns	0.39*	ns	ns	0.44**	ns	ns
SDS Index	ns	ns	ns	0.36*	ns	ns	0.41*	ns	ns
Mixing time	ns	ns	ns	0.44**	0.35*	ns	0.51**	ns	ns
<i>W</i>	ns	ns	ns	ns	0.38*	ns	0.60***	ns	0.44*
Tenacity	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0.52**	ns	ns
Extensibility	-0.48**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>P/L</i>	0.52**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>E</i>	0.44**	0.42*	ns	0.40*	ns	0.56***	ns	0.60***	ns
Stress	0.42*	0.42*	ns	0.38*	0.35*	0.53**	0.32*	0.51**	ns
Force	0.57***	0.35*	ns	ns	ns	0.54**	ns	0.64***	ns
W_e	0.52**	0.35*	ns	ns	ns	0.38*	ns	0.45**	ns
W_p	-0.43**	ns	ns	ns	ns	0.35*	ns	-0.47**	-0.37*

*, **, and *** are significant and highly significant at $P < 0.05, 0.01$ and 0.0001 , respectively. Non-significant = ns.

σ_0 = spring; σ_1 = stress of the *i*th Maxwell element and τ_1 = time of relaxation of the *i*th Maxwell element.

^a Kernels subjected to constant deformation of 0.5 mm and 600 s of relaxation time.

^b Protein = kernel protein 12.5% (m.b.); SDS = sedimentation volume in flour; Mixing time = dough mixing time in the mixograph; alveograph data (W = work, tenacity, and P/L ratio); E = Modulus of elasticity; W_e = area under the curve of elastic component; W_p = area under the curve of plastic component.

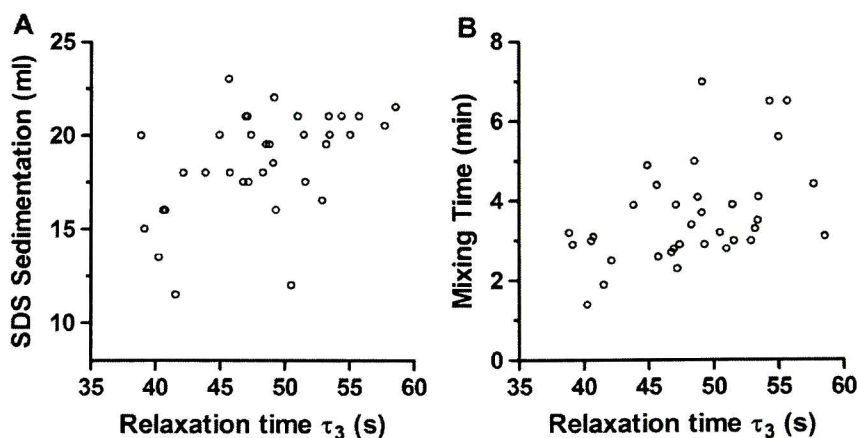


Fig. 2. (A) SDS-sedimentation volume vs relaxation time τ_3 ($r = 0.44$; $P \leq 0.01$) and (B) Mixing time vs. relaxation time τ_3 ($r = 0.51$; $P \leq 0.01$) of 36 bread wheat lines.

with *Glu-A3* allele *e* (null). The genotypes with high sedimentation volume (>17 ml) and mixing time >3.3 min usually had relaxation time $\tau_3 > 46$ s and good HMW-GS background i.e., *Glu-1* 1, 2*, 7+9 or 17+18 and 5+10 associated with allelic variants of *Glu-3* loci (LMW-GS), i.e., *Glu-A3* *c*, and *b*; *Glu-B3* *g*, *h*, *d*.

4. Conclusions

The use of the generalized Maxwell model to describe the stress relaxation behaviour of HMW- and LMW-GS in intact wheat kernels was addressed in this work. Thirty-six bread wheat samples representative of a wide range of wheat qualities were studied.

The proposed 4-element generalized Maxwell model fitted the experimental data with $R^2 > 0.9998$ and residuals mean square $< 3.36 \times 10^{-5}$ suggesting that it can be used to determine the viscoelastic behaviour of wheat genotypic groups of HMW- and LMW-GS. The relaxation times were given by two distinct contributions: the first describes the short time response of the wheat kernel endosperm; the second describes the long time response of the wheat kernel endosperm. Moreover, a significant difference was found between the relaxation times of the investigated alleles of good and poor quality. The relaxation times of 40–60 s were associated with quality parameters and rheological properties of wheat; while shorter relaxation times (1–10 s) were correlated with mechanical properties. Besides moisture content that was kept constant in this research, wheat genotypic group and specific alleles of intact kernels, HMW- and LMW-GS appeared to be predominant factors that affect the relaxation stress constants and relaxation times of the wheat kernel.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the Ph. D scholarship from CONACYT to Zorba Josué Hernández Estrada. We also wish to acknowledge Juan Véles and Marcela Gaytán from CINVESTAV Querétaro Bio-organic Materials area for their technical assistance.

References

AACC Int, 2000. Approved Methods of the AACC International. Method 44-15A. The Association, St Paul, MN.
 Bargale, P.C., Irudayaraj, J., 1995. Mechanical strength and rheological behavior of barley. *International Journal of Food Science and Technology* 30, 609–623.
 Bohlin, L., Carlson, T.L.-G., 1980. Dynamic viscoelastic properties of wheat flour dough: dependence on mixing time. *Cereal Chemistry* 57, 174–177.

Del Nobile, M.A., Chillo, S., Mentana, A., Baiano, A., 2007. Use of the generalized Maxwell model for describing the stress relaxation behavior of solid-like foods. *Journal of Food Engineering* 78, 978–983.
 Figueroa, J.D.C., Maucher, T., Reule, W., Peña, R.J., 2009. Influence of high molecular weight glutenins on viscoelastic properties of intact wheat kernels and relation to functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 86, 139–144.
 Figueroa, J.D.C., Hernández, Z.J.E., Véles, M.J.J., Rayas-Duarte, P., Martínez-Flores, H.E., Ponce-García, N., 2011a. Evaluation of the degree of elasticity and other mechanical properties of wheat kernels. *Cereal Chemistry* 88, 12–18.
 Figueroa, J.D.C., Peña, R.J., Rayas-Duarte, P., Khan, K., 2011b. Influence of low-molecular weight glutenin subunits on wheat kernel elasticity and sedimentation volume. *Cereal Research Communication* 39, 238–246.
 Figueroa, J.D.C., Peña, R.J., Rayas-Duarte, P., Khan, K., 2011c. Kernel elastic properties and sedimentation: influence of high and low molecular weight glutenin allelic composition. *Cereal Chemistry* 88, 41–44.
 Gubicza, J., Juhász, A., Tasnádi, P., Arató, P., Vörös, G., 1996. Determination of the hardness and elastic modulus from continuous Vickers indentation testing. *Journal of Materials Science* 31, 3109–3114.
 Guo, Z., Castell-Perez, M.E., Moreira, R.G., 1999. Characterization of masa and low-moisture corn tortilla using stress relaxation methods. *Journal of Texture Studies* 30, 197–215.
 Haddad, Y., Benet, J.C., Delenne, J.Y., Mermet, A., Abecassis, J., 2001. Rheological behaviour of wheat endosperm — Proposal for classification based on the rheological characteristics of endosperm test samples. *Journal of Cereal Science* 34, 105–113.
 Hassan, B.H., Alhamdan, A.M., Elansari, A.M., 2005. Stress relaxation of dates at khalal and rutab stages of maturity. *Journal of Food Engineering* 66, 439–445.
 Li, W., Dobrzyszczuk, B.J., Schofield, J.D., 2003. Stress relaxation behavior of wheat dough, gluten, and gluten protein fractions. *Cereal Chemistry* 80, 333–338.
 Lindorff-Larsen, K., Piana, S., Dror, R.O., Shaw, D.E., 2011. How fast-folding proteins fold. *Science* 334, 517–520.
 Matsumoto, H., Ono, H., Mita, T., 1974. Relaxation of pressure in dough. *Cereal Chemistry* 51, 758–763.
 Matsumoto, H., Nishiyama, J., Mita, T., Kuninori, T., 1975. Rheology of fermenting dough. *Cereal Chemistry* 52, 82r–88r.
 Maucher, T., Figueroa, J.D.C., Reule, W., Peña, R.J., 2009. Influence of low molecular weight on viscoelastic properties of intact wheat kernels and their relation to functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 86, 372–375.
 Mita, T., Bohlin, L., 1983. Shear stress relaxation of chemically modified gluten. *Cereal Chemistry* 60, 93–97.
 Mohsenin, N.N., Mittal, J.P., 1977. Use of rheological terms and correlation of compatible measurements in food texture research. *Journal of Texture Studies* 8, 395–408.
 Mohsenin, N.N., 1986. Physical properties of plant and animal materials. Structure, physical characteristics and mechanical properties, second ed. Gordon and Breach Science Publisher, Inc., New York, NY.
 Nussinovitch, A., Peleg, M., Normand, M.D., 1989. A modified Maxwell and a non-exponential model for characterization of the stress relaxation of agar and alginate gels. *Journal of Food Science* 54, 1013–1016.
 Peña, R.J., Amaya, A., Rajaram, S., Mujeeb-Kazi, A., 1990. Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *Journal of Cereal Science* 12, 105–112.
 Peña, R.J., Gonzalez-Santoyo, H., Cervantes, F., 2004. Relationship between Glu-D1/Glu-B3 allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding. In: Masci, S., Lafandra, D. (Eds.), Proceedings of the 8th Int. Gluten Workshop, pp. 156–157b. Biterbo.
 Ponce-García, N., Figueroa, J.D.C., López-Huape, G.A., Martínez, H.E., Martínez-Peniche, R., 2008. Study of viscoelastic properties of wheat kernels using compression load method. *Cereal Chemistry* 85, 667–672.

- Rao, V.K., Mulvaney, S.J., Dexter, J.E., Edwards, N.M., Peressini, D., 2001. Stress-relaxation properties of mixograph semolina-water doughs from durum wheat cultivars of variable strength in relation to mixing characteristics, bread- and pasta-making performance. *Journal of Cereal Science* 34, 215–232.
- Singh, S.S., Finner, M.F., Rohatgi, P.K., Buelow, F.H., Schaller, M., 1991. Structure and mechanical properties of corn kernels. A hybrid composite material. *Journal of Materials Science* 26, 274–284.
- Singh, N.K., Shepherd, K.W., 1988. Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics* 75, 628–641.
- Steffe, J.F., 1992. *Rheological Methods in Food Process Engineering*, second ed. Freeman Press East Lansing, MI, USA.
- Tsenov, N., Atanasova, D., Todorov, I., Ivanova, I., Stoeva, I., 2010. Quality of winter common wheat advanced lines depending on allelic variation of Glu-A3. *Cereal Research Communications* 38, 250–258.



ELSEVIER



Viscoelastic characterization of glutenins in wheat kernels measured by creep tests

Z.J. Hernández-Estrada^a, J.D.C. Figueroa^{a,*}, P. Rayas-Duarte^b, R.J. Peña^c

^aCentro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV) Unidad Querétaro, Libramiento Norponiente 2000, Fracc. Real de Juriquilla, Querétaro, C.P. 76230 Qro., Mexico

^bRobert M. Kerr Food & Agricultural Products Center, Oklahoma State University, 123 FAPC, Stillwater, OK 74078-6055, USA

^cCentro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, Km 45 Carretera México-Veracruz, El Batán, Texcoco C.P. 56130, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 March 2012

Received in revised form 10 May 2012

Accepted 23 May 2012

Available online 30 May 2012

Keywords:

Creep
Compliance
Wheat
Glutenin subunit
Kelvin–Voigt model
Retardation time

ABSTRACT

The effect of high and low molecular weight glutenin subunits on viscoelastic properties of wheat kernels was investigated using creep tests with generalized Kelvin–Voigt model ($r^2 \approx 0.94$; $P < 0.0001$). *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* affected the creep coefficients in *Glu-1* loci. Regarding LMW-GS, the locus *Glu-A3* had highest influence on creep followed by *Glu-B3*; *Glu-D3* did not showed differences. In general, the modulus of elasticity $E_0 \approx 242$ MPa and viscosity was $\mu_0 \approx 1.6 \times 10^7$ MPa-s. Higher elastic moduli and viscosity were found in HMW-GS and LMW-GS of good quality compared to the poor quality performance genotypic groups. Samples with subunit *Glu-A1* null presented lower elastic modulus and viscosity compared to *Glu-A1* 1 and 2*. *Glu-B1* 13 + 16 presented higher elastic modulus and viscosity, which is associated with good quality performance. The elastic moduli, especially E_0 were positively correlated with SDS-volume and rheological properties. This methodology can be applied to few kernels is easy, rapid, and nondestructive.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Glutenins are of great importance in explaining the variation that occurs in rheological and “bread-making” properties of wheat. The high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) encoding genes occur at the *Glu-1* loci (Payne et al., 1987), while the genes encoding low molecular weight glutenin subunits (LMW-GS) are mostly located at the *Glu-3* loci (Singh and Shepherd, 1988; Luo et al., 2001). The LMW-GS represent about 30% of the total protein and about 60% of the total glutenins, and they seem to have a great effect on dough viscoelastic properties in both bread wheat and durum wheat (Luo et al., 2001; Jood et al., 2000). It appears that not only the total amount of protein is important but also the amount and type of the individual glutenin subunits. At the molecular level gluten proteins are now relatively well known, but the way gluten is organized, and how the different individual proteins contribute to its properties, remains far from being completely understood (Lindsay and Skeritt, 1999). The presence of certain HMW-GS was significantly associated with several quality tests (Payne et al., 1987; Luo et al., 2001; Tohver, 2007). The effects of good LMW-GS are enhanced by a good HMW-GS background, yielding higher kernel elasticity and sedimentation volume (Figueroa et al., 2011b). Most of the work related to viscoelastic

characterization has been done in dough and bread. Little attention has been given to the influence of glutenin proteins on mechanical and viscoelastic properties of kernels, in spite of its high importance not only in the quality of the bread-making process but also on the physical properties during harvesting, storage, drying, tempering, milling, and final use (Figueroa et al., 2009).

Moreover, there are several advantages of evaluating viscoelastic properties on intact wheat kernels, including the following three: (1) the kernels do not require preparation to obtain their viscoelastic properties; (2) they lend themselves more readily to fundamental rheological characterization, especially because the linear domain of their viscoelastic behavior is, as one would expect, much larger (>17%) than that of gluten and dough. Gluten extends up to at least about 5–10% strain amplitude in dynamic mode (Wang and Kokini, 1995), whereas the linearity limit of dough is extremely low (0.2%) (Berland and Launay, 1995), and (3) the viscoelastic tests on kernels can be non destructive and are easy to perform.

Different techniques and equipment have been used in the study of viscoelasticity of wheat and other cereals, including gluten (Bohlin and Carlson, 1980; Li et al., 2003), dough such as dynamic oscillatory measurements (Lefebvre and Mahmoudi, 2007; Amemiya and Menjivar, 1991) and large deformation (Mita and Bohlin, 1983; Amemiya and Menjivar, 1991), creep test in endosperm (Haddad et al., 2001), wheat gluten (Lefebvre et al., 2000) and stress relaxation test in wheat kernels (Figueroa et al., 2011a; Hernández et al., 2012), and barley kernels (Bargale and Irudayaraj, 1995).

* Corresponding author. Current address: CINVESTAV Unidad Querétaro, Libramiento Norponiente 2000, Fracc. Real de Juriquilla, Querétaro, Qro. 76230, Mexico. Tel.: +52 442 211 9915; fax: +52 442 211 9938.

E-mail address: jfigueroa@qro.cinvestav.mx (J.D.C. Figueroa).

Nomenclature

ε	strain	λ_1 and λ_2	first and second retardation time
t	time	μ_1 and μ_2	viscosity coefficient corresponding to first and second retarded elastic deformation
σ_0	constant stress	$D(t)$	creep compliance under compression as a function of time
E_0	instantaneous modulus of elasticity or modulus at zero time	D_0	instantaneous compliance or compliance at zero time
μ_0	viscosity coefficient of viscous element	D_1 and D_2	compliance of 1st and 2nd retarded elastic element
E_1 and E_2	modulus of elasticity of first and second Kelvin–Voigt element		

Figuroa et al. (2011a) and Hernández et al. (2012) used stress relaxation to study wheat kernels viscoelastic properties, however, several researchers had been indicated that creep compliance tests can provide more information than tests involving stress relaxation (Alvarez et al., 1998; Chakespari et al., 2010). Although both tests are interrelated the rate of creep is a function of stress and the rate of relaxation is a function of strain (Oza et al., 2003). The main advantage of creep compliance tests over stress relaxation test is that a larger number of rheological parameters especially the viscous element can be estimated by using the Burger or the generalized Kelvin–Voigt models (Alvarez et al., 1998; Chakespari et al., 2010).

Large deformation creep and relaxation tests have been conducted for different foods. For example, the relative recovery of cooked gluten (Kovacs et al., 1994) and the maximum strain of durum wheat (Edwards et al., 1999) have been correlated with pasta quality. At high stress levels, however, biological samples usually exhibit nonlinear behavior, which complicates the testing and analysis of the data. For stresses >10 Pa, it was found that wheat flour dough no longer exhibited linear behavior. Modeling the nonlinear behavior requires more complicated mathematical analysis (Hibberd and Parker, 1979).

The objective of this study was to investigate the viscoelastic properties of wheat kernels using a creep test. The fitting of creep data to different rheological models was also attempted and discussed. The work presented here is an analysis of the rheological behavior of some lines of bread wheat kernels by compression for creep test. The effects of HMW-GS and LMW-GS, on grain mechanical and rheological properties are examined.

2. Materials and methods

2.1. Plant materials

Thirty-four wheat lines grown by CIMMYT in Sonora, Mexico during the crop cycle 2006–2007 were studied. The sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS–PAGE) protocol described by Singh and Shepherd (1988) with some modifications indicated by Peña et al. (2004) was used to determine HMW-GS and LMW-GS composition.

2.2. Flour analysis

Grain samples were milled in a Brabender Senior flour mill. Refined flour was evaluated in relation to SDS-sedimentation according to Peña et al. (1990), while dough mixing time was optimized in the mixograph and dough strength (W), tenacity (P) and extensibility (L) in the alveograph according to AACC method 54-40A and 54-30A, respectively (AACC Intl, 2000).

2.3. Creep test

Creep testing was performed using the usual technique of monitoring the deformation of a specimen under constant stress (Mohsenin, 1986; Sperling, 2006).

Kernel height (ASABE, 2009) was measured using a digital caliper (model CD-6 CS, Mitutoyo, Japan) in order to calculate the strain (Ponce-García et al., 2008). A Texture Analyzer (Texture Technologies Corp. TA-XT2) equipped with a 10 mm diameter stainless steel probe (TA-510) was used to measure the kernel deformation. The kernels were loaded in compression until reach 70 N (≈ 38 MPa) with a constant loading rate of 0.1 mm/s. Load–displacement data was acquired at 10 points/s, the stress was held constant for 1200 s, and the displacement data was used to calculate strain by dividing the deformation by the initial height of the grains. Previously, 10 kernels with about 12% moisture content were placed in a controlled temperature chamber at 25 °C for 24 h to reduce variance in the measurements.

The contact (load-bearing) area of individual kernels during the loading process was determined as follows: Individual kernels were slightly pressed on an ink pad and placed cease down on the instrument base. Pieces of bond paper (30 × 30 mm) were placed onto the top of the grain to record the ink impression of the contact surface of the grain during loading. This image was digitalized and the contact area calculated using ImageJ software (National Institutes of Health). This area was important for computing the stress applied to wheat grains (Ponce-García et al., 2008; Hernández et al., 2012).

Two sets of experiments were performed the first one with an upper load limit of 90 N, which in many cases terminated with the failure of the specimen. Tertiary creep was intentionally avoided by regulating the magnitude of the imposed stress. For the second set of experiments, the force was reduced to 70 N (constant stress of ≈ 38 MPa) to obtain curves that reached steady-state during the 1200 s of the creep test.

The creep test is usually performed by monitoring the deformation of a specimen under compression or hanging dead weight. This kind of loading is the simplest from a technical point of view and therefore is by far the most popular form of load application (Peleg, 1985). Since the application of a dead weight is equivalent to the application of a constant force, the stress in the specimen is not constant, particularly if the deformation is large enough to cause significant changes in the specimen's cross-sectional area. To study these implications in the present situation, correction formulae suggested by several researchers (Calzada and Peleg, 1978; Peleg, 1985; Purkayastha et al., 1985) were evaluated with the experimental data.

The Cauchy approach related to engineering strain (ε_c) where $\varepsilon_c = \alpha - 1$ evaluated in order to check the adjusted data to produce a constant stress history.

For an incompressible specimen under an ideal or perfect test, i.e., where only the specimen's dimensions change but not its

general shape, the relationship between deformation and cross-sectional area is given by

$$A(\alpha) = A_0/\alpha \quad (1)$$

where $A(\alpha)$ is the actual (momentary) area, A_0 the initial area (i.e., of the undeformed specimen at time zero of creep) and α the ratio between the length of the deformed specimen and the initial length, for compression using the present data.

$$\alpha = (H_f + \Delta H)/H_f \quad (2)$$

where H_f is the final height and ΔH the absolute values of the deformation. In creep, both ΔH and α are functions of time and therefore the terms ΔH and α actually refer to $\Delta H(t)$ and $\alpha(t)$.

The compression creep compliance $D(t)$ is defined as the momentary strain $\varepsilon(t)$ per unit stress (σ) or

$$D(t) = \varepsilon(t)/\sigma \quad (3)$$

an uncorrected form or for very small strains, Eq. (3) can be written as

$$D(t) = A_0\varepsilon(t)/W \quad (4)$$

where the stress is the applied constant force (W) per unit area (A_0). If the change in cross sectional area is negligible, then the stress becomes similar to the corrected compliance.

$$D(t) = A_0\varepsilon(t)/W\alpha(t) \quad (5)$$

In the present research the wheat kernels with 12% moisture content had an average creep of 0.02 %, that gave a very small difference of stress, 0.78 MPa, that did not significantly affect ($P < 0.05$) the compliances between the $D(t)$ and $Dc(t)$. Thus, no correction was necessary. However, for larger strains and higher moisture content in wheat kernels corrections may be needed.

3. Calculation

3.1. The Burger and generalized Kelvin–Voigt models

The viscoelastic behavior of the kernels was studied using mechanical analogs composed of springs and dashpots. The system is illustrated in Fig. 1 and comprises a combination of Hookean bodies (springs) and fluid bodies (dashpots) to describe the experimental data. The 3-element model (a spring in a series with a Kelvin–Voigt model) under a creep test can be described as (Steffe, 1996):

$$\varepsilon(t) = \frac{\sigma_0}{E_0} + \frac{\sigma_0}{E_1} (1 - e^{-t/\lambda_1}) \quad (6)$$

where $\varepsilon(t)$ is the strain as a function of time t , σ_0 is the applied stress, E_0 is the elastic modulus of the Hookean body; the retardation time ($\lambda_1 = \mu_1/E_1$) is the time required to deform the sample to $1 - 1/e$ (or 63.21%) of the total expected creep in the Kelvin–Voigt model (Sperling, 2006); E_1 is the elastic modulus and μ_1 is the viscous coefficient of the dashpot in the Kelvin–Voigt element (Eq. (6)). A combination of the Maxwell and Kelvin–Voigt models results in the 4-element Burger's model (Eq. (7))

$$\varepsilon(t) = \frac{\sigma_0}{E_0} + \frac{\sigma_0}{E_1} (1 - e^{-t/\lambda_1}) + \frac{\sigma_0}{\mu_0} t \quad (7)$$

which is believed to be more suitable than the 3-element model to describe the viscoelastic properties of foods (Steffe, 1996; Mohsenin, 1986). Where the first term on the right side of Eq. (7) represents an elastic term providing the instantaneous elastic deformation of the sample, the second term expresses a combined viscoelastic effect and the third term expresses the viscous effect and μ_0 is viscous coefficient.

Adding another Kelvin–Voigt unit to the Burger's model results in a 6-element model (Fig. 1 and Eq. (8)).

$$\varepsilon(t) = \frac{\sigma_0}{E_0} + \frac{\sigma_0}{E_1} (1 - e^{-t/\lambda_1}) + \frac{\sigma_0}{E_2} (1 - e^{-t/\lambda_2}) + \frac{\sigma_0}{\mu_0} t \quad (8)$$

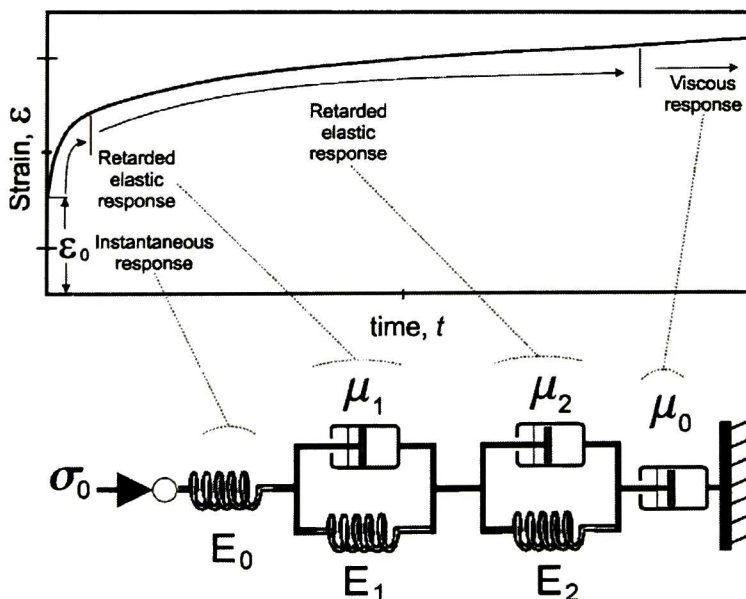


Fig. 1. Typical creep curve and the analogous mechanical representation of the generalized Kelvin–Voigt model with 6 elements. E_0 = instantaneous modulus of elasticity due to spring; E_1 and E_2 are elastic moduli of retarded deformation owing to (μ_1 and μ_2) the viscous coefficient of the dashpots connected in parallel in Kelvin elements; μ_0 = the viscous deformation due to dashpot in series.

and

$$\lambda_1 = \frac{\mu_1}{E_1}; \quad \lambda_2 = \frac{\mu_2}{E_2} \quad (9)$$

where ε = strain, t = time, σ = stress, λ = retardation time, E = elastic modulus and μ = viscosity coefficient.

In terms of uniaxial creep compliance (Steffe, 1996; Mohsenin, 1986):

$$D(t) = \frac{\varepsilon(t)}{\sigma_0} = D_0 + D_1(1 - e^{-t/\lambda_1}) + D_2(1 - e^{-t/\lambda_2}) + \frac{t}{\mu_0} \quad (10)$$

where ε = strain, t = time, σ = stress, λ = retardation time and D = compliance.

The generalized Kelvin–Voigt model with 4, 6 and 8 elements was also evaluated. The experimental data shows that the Kelvin–Voigt with 4 elements, fitted creep compliance curves presented an average coefficient of determination lower than 0.92. The generalized Kelvin–Voigt model with 6 elements (2 Kelvin–Voigt units) showed an average coefficient of determination greater than 0.94. Finally a generalized Kelvin–Voigt model with 8 elements (3 Kelvin–Voigt units) had a coefficient of determination greater than 0.95, but with some negative values for calculated parameters, which made the model lose all physical meaning. Based on this, the generalized Kelvin–Voigt model with 6 elements (2 Kelvin–Voigt units) was selected and used to describe the viscoelastic behavior.

3.2. Statistical analysis

Each recorded creep curve was traced and fitting to a mathematical model using a nonlinear regression analysis with the aid of OriginPro 8 (OriginLab Corporation Northampton, MA, USA). Analysis of variance of the creep coefficients was performed using the general linear model procedure of SAS Statistical Software, version 9.2. Multiple comparison of the means was made using the Duncan Multiple Range test at $\alpha = 0.05$ level.

4. Results and discussion

4.1. Effect of HMW-GS and LMW-GS on the time-dependent behavior of the compliance curves of the wheat kernel genotypes

Figs. 2 and 3 show that the steady state in most of the samples were reached at about 200–300 s after the application of constant stresses of 38 MPa. This seems to be an advantage because the creep evaluations can be achieved in a few minutes (4–5 min). In fact except for the significant determination coefficient (R^2) of the regression curves that decreased from 0.94 to 0.92 with 1200 to 200–300 s time windows respectively, little additional information was gained. Figueroa et al. (2011a) using stress relaxation experiments for intact wheat kernels reported relaxation times of about 180 s to reach the *quasi* equilibrium. However, in the present study we extended the test to about 1200 s of creep time in order to detect some possible changes at longer time periods. Similar magnitude and trends were found between retardation times (λ_1 and λ_2) of creep of this study (Table 1) and relaxation times (τ_1 and τ_2) of stress relaxation test reported by Figueroa et al. (2011a). Wheat kernels with poor quality showed short retardation or relaxation times depending on the methodology indicated that both tests are interrelated (Oza et al., 2003). Elastic, viscoelastic, viscous flow characteristics, retardation times as well as the compliances shown in Table 1. Model parameters may thus be associated with discrete components of the product being tested, reflecting microstructural changes that occur at a cellular and molecular level.

Figs. 2 and 3 show that except for the poor quality genotypes (data not shown) with short retardation times (λ_1 and λ_2 , Table 1) such as *Glu-A1* null, and *Glu-D1* 2 + 12 subunits and *Glu-A3* e, *Glu-B3* i, and j alleles where the kernel continues to deform under the applied stress and most of the alleles showed *quasi* steady state times about 300 s. The samples *Glu-B3* f and *Glu-D3* d are not well represented since they are combined with *Glu-A3* e (null) and *Glu-A1* null background respectively, which drastically influenced their

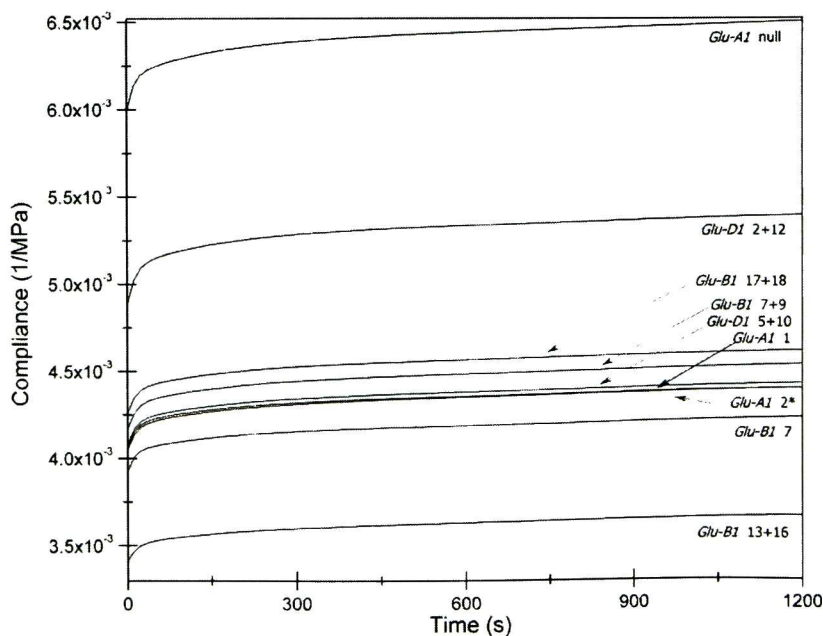


Fig. 2. Typical creep compliance curves calculated from averaged regressed values of the HMW-GS of wheat kernel samples.

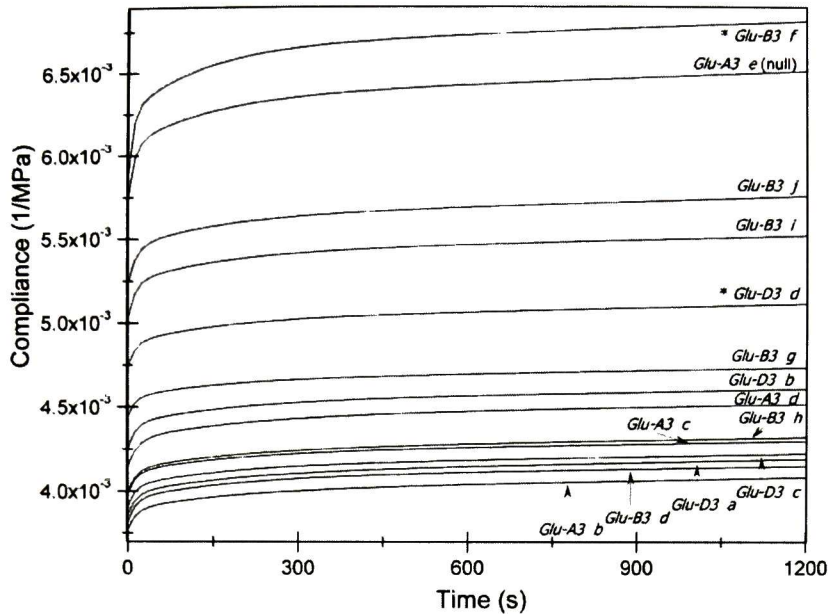


Fig. 3. Typical creep compliance curves calculated from averaged regressed values of the LMW-GS alleles of wheat kernel samples. **Glu-B3 f* and *Glu-D3 d* have poor viscoelastic performance due to the combination of *Glu-A3 e* (silent) and *Glu-A1* null respectively in those specific samples.

Table 1

Estimated parameters of the generalized Kelvin–Voigt model for the creep test coefficient and retardation times of *Glu-1* and *Glu-3* loci.^{A,B}

Geno- typic group	Glutenin subunit	Modulus of elasticity and retardation time					Coefficient of viscosity (MPa·s)			Compliance (1/MPa)		
		E_0 (MPa)	E_1 (MPa) $\times 10^3$	λ_1 (s)	E_2 (MPa) $\times 10^3$	λ_2 (s)	μ_0 ($\times 10^7$)	μ_1 ($\times 10^5$)	μ_2 ($\times 10^6$)	D_0 ($\times 10^{-3}$)	D_1 ($\times 10^{-4}$)	D_2 ($\times 10^{-4}$)
<i>Glu-A1</i>	Null	167 b	5.11 a	10.5 a	5.06 a	142 a	0.97 a	0.61 a	0.77 b	7.58 a	8.20 a	3.83 a
<i>Glu-A1</i>	1	246 a	7.59 a	13.2 a	7.69 a	176 a	1.68 a	1.02 a	1.37 a	4.29 b	1.68 b	1.66 b
<i>Glu-A1</i>	2*	247 a	7.41 a	13.7 a	7.50 a	179 a	1.49 a	1.02 a	1.36 a	4.35 b	2.06 b	1.76 b
<i>Glu-B1</i>	7 + 8	197 c	5.48 c	12.0 ab	5.76 c	173 a	2.58 a	0.80 b	1.15 b	6.72 a	7.54 a	3.49 a
<i>Glu-B1</i>	17 + 18	235 bc	7.40 bc	12.1 ab	7.28 bc	164 a	1.40 b	0.92 b	1.22 b	4.57 b	1.87 b	1.86 b
<i>Glu-B1</i>	7 + 9	240 bc	6.97 bc	13.8 a	7.22 bc	178 a	1.42 b	0.97 b	1.29 b	4.44 b	2.07 b	1.80 b
<i>Glu-B1</i>	13 + 16	293 a	10.8 a	14.6 a	10.1 a	195 a	1.98 ab	1.55 a	1.99 a	3.48 b	1.04 b	1.07 b
<i>Glu-B1</i>	7	255 ab	8.74 ab	10.0 b	8.54 ab	149 a	1.58 b	0.86 b	1.21 b	4.04 b	1.56 b	1.53 b
<i>Glu-D1</i>	2 + 12	205 b	4.58 b	13.0 a	5.16 b	161 a	1.19 a	0.69 a	0.90 b	6.64 a	7.94 a	3.68 a
<i>Glu-D1</i>	5 + 10	245 a	7.52 a	13.4 a	7.58 a	177 a	1.56 a	1.02 a	1.36 a	4.36 b	1.90 b	1.72 b
<i>Glu-A3</i>	b	265 a	8.61 a	14.5 ab	8.45 a	183 a	1.56 ab	1.24 a	1.57 a	3.97 b	1.40 b	1.40 b
<i>Glu-A3</i>	c	251 a	8.03 ab	13.4 bc	8.14 a	178 ab	1.71 a	1.07 a	1.44 a	4.17 b	1.46 b	1.42 b
<i>Glu-A3</i>	d	241 a	6.44 b	16.4 a	6.84 a	207 a	1.66 a	1.04 a	1.45 a	4.31 b	1.67 b	1.55 b
<i>Glu-A3</i>	e	174 b	3.17 c	10.7 c	3.43 b	148 b	0.76 b	0.36 b	0.53 b	6.50 a	6.52 a	4.11 a
<i>Glu-B3</i>	d	262 a	7.51 a	13.1 a	7.36 ab	178 a	1.80 a	1.00 ab	1.32 ab	3.99 b	1.55 b	1.56 b
<i>Glu-B3</i>	f	170 c	2.64 b	8.34 b	2.56 c	132 a	0.75 a	0.22 c	0.34 c	5.93 a	4.55 a	4.19 a
<i>Glu-B3</i>	g	225 ab	9.18 a	11.7 ab	9.04 a	156 a	1.56 a	1.05 ab	1.36 ab	4.51 b	1.12 b	1.13 b
<i>Glu-B3</i>	h	250 a	7.96 a	13.9 a	8.06 a	182 a	1.58 a	1.09 a	1.46 a	4.24 b	1.62 b	1.53 b
<i>Glu-B3</i>	i	199 bc	4.70 b	11.8 ab	5.33 b	163 a	1.18 a	0.73 ab	1.04 ab	6.52 a	7.17 a	3.65 a
<i>Glu-B3</i>	j	191 bc	4.78 b	13.4 a	5.19 b	156 a	0.96 a	0.66 b	0.87 bc	5.82 a	4.95 a	3.14 a
<i>Glu-D3</i>	a	259 a	8.04 a	14.4 a	7.89 a	183 a	1.45 a	1.15 a	1.46 a	4.08 a	1.44 a	1.47 a
<i>Glu-D3</i>	b	235 a	7.00 a	13.3 a	7.25 a	175 a	1.56 a	0.94 a	1.28 a	4.64 a	2.55 a	1.94 a
<i>Glu-D3</i>	c	256 a	8.20 a	12.0 a	7.97 a	171 a	1.62 a	1.07 a	1.46 a	4.28 a	2.12 a	1.99 a
<i>Glu-D3</i>	d	211 a	7.21 a	12.2 a	6.82 a	159 a	1.25 a	0.87 a	1.06 a	4.96 a	1.47 a	1.57 a

^A Means followed by different letter within a column and same group are significantly different ($P < 0.05$).

^B Kernels under constant load of 70 N in compression for 1200 s. *Glu-A3 e* = null, *Glu-B3 j* = 1B/1R rye translocation.

viscoelastic behavior (Fig. 3). Authors evaluating doughs with a rheometer, reported the steady-state flow was attained at 300 s (Edwards et al., 1999). Haddad et al. (2001) reported creep curves with about 300 s of steady state for parallelepiped-shaped samples from a grain of hard wheat at 12% and 17% moisture and 40 MPa of stress similar to those found for the curves of Figs. 2 and 3.

4.2. Comparison of creep and compliance parameters of *Glu-1* and *Glu-3* loci estimated using the generalized Kelvin–Voigt model

Table 1 shows the values of the coefficients calculated from the canonical curve of creep from the fitted values of the generalized Kelvin model with 6 elements. In general, the modulus of elasticity

was about 242 MPa. This value is in the same range reported by other authors for stress relaxation tests on intact wheat kernels (Ponce-García et al., 2008; Figueroa et al., 2009). The retarded modulus of elasticity (E_1 and E_2) increased their values by about 5×10^3 MPa. Although there are a few publications of creep tests on kernels, some of them did not use models to get the complete viscoelastic data to compare. Cenkowski et al. (1991) using the 4 element Kelvin (Burger model) studied single kernel creep tests in canola. They found values of elasticity moduli of canola for instantaneous (E_0) and second elastic element (E_1) with the same tendency, but two or three times higher respectively than those of Table 1. Comparing the viscosity coefficients determined for the creep (μ_0) and retarded compliance (μ_1 and μ_2), these viscosity values were reduced from 1.6×10^7 MPa s in μ_0 to 1.2×10^5 MPa s for μ_1 which means by a factor of 100. Similar behavior was reported for canola grains by Cenkowski et al. (1991).

Table 1 shows that at the locus *Glu-A1* the null subunits presented the lower moduli of elasticity compared to *Glu-A1* subunits 1 and 2*. As expected the viscosity coefficients associated to the retardation time (λ_1 and λ_2) were also lower. For locus *Glu-B1*, the glutenin subunits 13 + 16 presented higher moduli of elasticity and coefficients of viscosity of Kelvin elements, associated with good rheological and bread quality. The glutenin subunit 7 + 8, although reported (Wrigley et al., 2009) having good quality, showed poor viscoelastic performance influenced by a poor subunits and allelic combination with *Glu-A1* null, *Glu-D1* 2 + 12 and *Glu-A3 e* (null). So the samples having the mentioned composition were not included in the plots to avoid confusion. The locus *Glu-D1* as expected showed higher elasticity moduli and higher viscosity values for the 5 + 10 GS and lower values for the compliances compared to samples containing the 2 + 12 subunit. The *Glu-D1* 5 + 10 glutenin subunits have been generally assigned with higher quality scores and viscoelasticity performance than 17 + 18 glutenin subunits, suggesting that glutenin polymers from the 5 + 10 line were more extensively aggregated than those from the 17 + 18 line (Lefebvre et al., 2000). Edwards et al. (2003) studied the viscoelastic properties of durum semolina dough using a 6-element Kelvin model, and found that dough enriched with gluten from a strong cultivar, showed the lowest overall compliance and highest steady-state viscosity.

Higher elastic moduli and viscosity coefficients were found in HMW-GS and LMW-GS reported by several authors to be of good quality compared to the poor quality performance genotypic groups in Table 1 (Payne et al., 1987; Luo et al., 2001; Tohver, 2007). The general tendency of the relationship between *Glu-D1*

HMW-GS composition, and dough rheological and breadmaking quality, as reported by several authors (Branlard and Dardevet, 1985; Figueroa et al., 2009, 2011b; Luo et al., 2001; Payne et al., 1987; Tohver, 2007) was consistent with our data.

Usually the rheological behavior of gluten is explained by models of synthetic polymer where the fundamental rheological properties of polymers reflect the degree and type of cross-linking of the polymers (Zaidel et al., 2010). In these models gluten development mainly involves glutenin proteins interacting with each other in the loop by disulfide bonds (Belton, 1999; Zaidel et al., 2010). Increasing the interactions between protein polymers increases gluten viscous resistance and resistance to extension. It has been proposed that gliadins act as plasticizer, promoting viscous behavior and extensibility of gluten (Belton, 1999). However, for the case of intact wheat kernels a similar viscoelastic behavior was found for the same glutenin subunits. Studies of viscoelastic properties of doughs of near-isogenic lines to evaluate the compositional differences in HMW-GS (Lefebvre and Mahmoudi, 2007), reported that 5 + 10 lines displayed higher viscosity and higher viscoelasticity (lower compliance) than 2 + 12. Similar trends were observed for wheat kernels for the same HMW-GS on the present study.

4.3. Relationship between creep parameters and quality

Significant relationships were found among compliances (D_0 , D_1 and D_2) and quality parameters SDS, SDS index, mixing time, alveograph deformation energy of dough W , tenacity–extensibility ratio P/L and tenacity P (Table 2). Wheat kernels with high viscosity (μ_2) and small compliance (D_2) values were located in the plot with those samples of HMW and LMW-GS of good quality related to SDS sedimentation volume and rheological properties while poor genotypes such as HMW-GS loci of *Glu-A1* null, *Glu-D1* 2 + 12 and LMW-GS, alleles at *Glu-A3 e* (null), *Glu-B3 f*, *i* and *j* (1B/1R rye translocation) presented lower viscosity and higher compliance values (Fig. 4). The moduli of elasticity, especially the instantaneous modulus of elasticity (E_0) related to the Maxwell spring, were also positively correlated with the quality indicators (Table 2).

The retardation time λ_1 and λ_2 of the total expected creep in the Kelvin–Voigt model and the viscosity coefficients were not correlated to quality but to the mechanical properties of the kernel. Studies of the ratio of elastic work/plastic work in LMW (Maucher et al., 2009) reported correlation only with kernel mechanical parameters and lack of correlation with quality parameters. However, Figueroa et al. (2009) indicated that elastic work/plastic work in HMW-GS was correlated with both quality and some rheological

Table 2
Relationship between creep coefficients and quality parameters using SDS-sedimentation and rheological properties^{a,b}.

Parameters	E_0	E_1	λ_1	μ_1	E_2	λ_2	μ_2	μ_0	D_0	D_1	D_2
SDS	0.25**	0.15*	ns	ns	0.15*	ns	ns	ns	-0.33***	-0.31***	-0.30***
SDS index	0.25**	0.15*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.34***	-0.33***	-0.31***
Mixing	0.18*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.23**	-0.23**	-0.22**
W	0.18*	0.16*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.23**	-0.25**	-0.25**
P/G	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0.16*	-0.17*
Tenacity	0.16*	0.20**	ns	ns	0.18*	ns	ns	ns	-0.19*	-0.22**	-0.24**
E_i	1	0.76***	0.20**	0.69***	0.72***	0.31***	0.70***	0.37***	-0.89***	-0.49***	-0.64***
E_f	0.99**	0.83***	0.21**	0.74***	0.79***	0.31***	0.75***	0.40***	-0.88***	-0.52***	-0.69***
Stress	0.94**	0.68***	0.17*	0.61***	0.63***	0.29**	0.63***	0.33***	-0.83***	-0.46***	0.58**
ϵ_i	-0.63***	-0.55***	-0.18*	-0.51***	-0.54***	-0.21**	-0.49***	-0.27**	0.72***	0.45***	0.55***
ϵ_f	-0.66***	-0.71***	-0.24**	-0.64***	-0.70***	-0.26**	-0.61***	-0.34***	0.77***	0.69***	0.79***

* Significant and highly significant at $P < 0.05$.

** Significant and highly significant at $P < 0.01$.

*** Significant and highly significant at $P < 0.0001$. Non significant = ns.

^a Kernels under a constant load of 70 N in compression for 1200 s. E_0 = instantaneous modulus of elasticity (MPa); E_1 and E_2 = retarded elastic modulus (MPa), D_1 and D_2 = retarded compliances (1/MPa), at λ_1 and λ_2 = first and second retardation time (s), respectively; D_0 = instantaneous compliance (1/MPa).

^b SDS = sedimentation volume in flour (ml); SDS index = mixing = dough mixing time in the mixograph (min); alveograph data - W = work ($J \times 10^{-4}$), tenacity (mm), and P/L ratio.

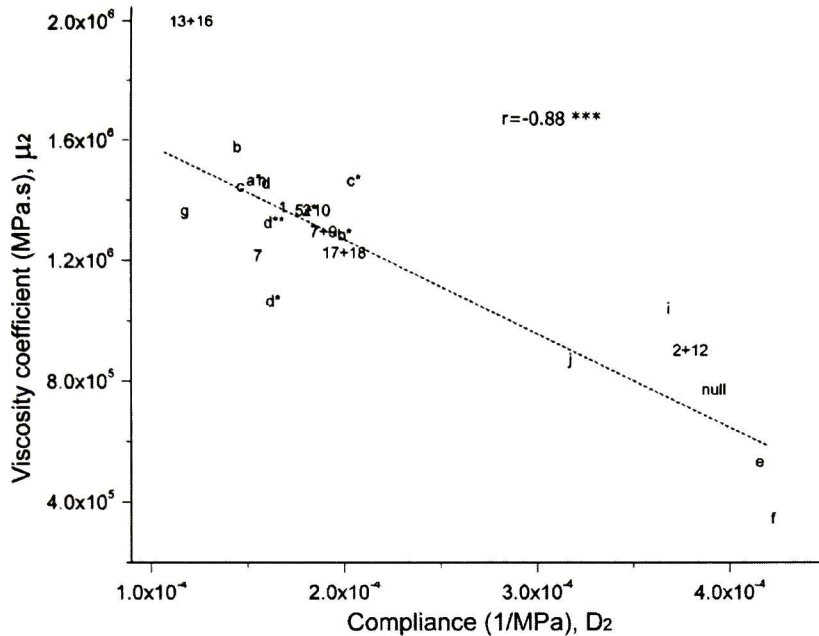


Fig. 4. Correlation between compliance D_2 and viscosity coefficient μ_2 of wheat kernels. Alleles of *Glu-D3* a, b, c and d are identified with one asterisk and *Glu-B3* d with a double asterisk in order to separate them from the alleles of *Glu-A3*.

properties. Similar to the studies of Maucher et al. (2009), the lack of correlation among viscosity μ_0 , μ_1 and μ_2 parameters and quality parameters seems to indicate that the viscosity may be related to water, some LMW-GS, gliadins, lipids, pentosans, and other carbohydrates that are important plasticizers for dough extensibility. The correlation between sedimentation test, a gluten quality-related-parameter, and E_0 and compliances D_0 , D_1 and D_2 suggests that kernel elasticity is more related to genetic factors (i.e., glutenin composition).

This data also agrees with studies of dough that suggest that fractions rich in HMW-GS provide elastic properties, whereas fractions rich in LMW-GS impart viscous properties (Jood et al., 2000). However, more research and larger sample sets representing different genotypes are necessary to provide sufficient evidence of the participation of LMW, with regards to the viscous behavior and its function as a plasticizer.

5. Conclusions

The creep test curves of wheat kernels reached a steady state at ≈ 300 s for most of the genotypes and the use of the generalized Kelvin–Voigt model allows separation of rheological parameters such as elastic, viscoelastic and viscous flow characteristics, as well as the compliances.

Analysis of variance showed more influence of LMW-GS on the viscoelastic properties of creep and compliance than the HMW-GS. Higher elastic moduli and viscosity coefficients were found in HMW-GS and LMW-GS good quality compared to the poor quality performance genotypic groups.

There were negative significant relationships among compliances (D_0 , D_1 and D_2) and quality parameters SDS, SDS index, mixing time, W of alveograph, P/L and tenacity. The methodology discussed in the present study seems to be a promising tool for the indirect measurement of wheat properties associated with HMW-GS and LMW-GS composition as well as nongluten factors.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the Ph.D. scholarship from CONACYT to Zorba Josué Hernández Estrada. We also wish to acknowledge Juan Vélez and Marcela Gaytán from CINVESTAV Querétaro Bio-organic Materials area for their technical assistance.

References

- AACC Intl. (2000). Approved Methods of the AACC International. The Association, St. Paul, MN.
- Alvarez, M.D., Canet, W., Cuesta, F., Lamua, M., 1998. Viscoelastic characterization of solid foods from creep compliance data: application to potato tissues. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A* 207, 356–362.
- Amemiya, J.I., Menjivar, J.A., 1991. Comparison of small and large deformation measurements to characterize the rheology of wheat flour doughs. *Journal of Food Engineering* 16, 91–108.
- ASABE, 2009. Compression test of food materials convex shape S368.4. American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI, USA.
- Bargale, P.C., Irudayaraj, J., 1995. Mechanical strength and rheological behaviour of barley kernels. *International Journal of Food Science and Technology* 30 (5), 609–623.
- Belton, P.S., 1999. On the elasticity of wheat gluten. *Journal of Cereal Science* 29, 103–107.
- Berland, L., Launay, B., 1995. Rheological properties of wheat flour doughs in steady and dynamic shear: effect of water content and some additives. *Cereal Chemistry* 72, 48–52.
- Bohlin, L., Carlson, L.G., 1980. Dynamic viscoelastic properties of wheat flour dough: dependence on mixing time. *Cereal Chemistry* 57 (3), 174–177.
- Branlard, G., Dardevet, M., 1985. Diversity of grain protein and bread wheat quality. II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science* 3, 345–354.
- Calzada, J.F., Peleg, M., 1978. Mechanical interpretation of compressive stress–strain relationships of solid foods. *Journal of Food Science* 43, 1087–1092.
- Centkowski, S., Bielewicz, J., Britton, M.G., 1991. A single kernel creep and recovery test. *Transactions of the ASAE* 34 (6), 2484–2490.
- Chakrapani, A.G., Rajabipour, A., Mobli, H., 2010. Anisotropic relaxation and creep properties of apple (cv. *Shafi Abadi* and *Golab Kohanz*). *Advance Journal of Food Science and Technology* 2 (4), 200–205.
- Edwards, N.M., Dexter, J.E., Scanlon, M.G., Centkowski, S., 1999. Relationship of creep–recovery and dynamic oscillatory measurements to durum wheat physical dough properties. *Cereal Chemistry* 76 (5), 638–645.

- Edwards, N.M., Mulvaney, S., Scanlon, M.G., Dexter, J.E., 2003. Role of gluten and its components in determining durum semolina dough viscoelastic properties. *Cereal Chemistry* 80 (6), 755–763.
- Figueroa, J.D.C., Maucher, T., Reule, W., Peña, R.J., 2009. Influence of high molecular weight glutenins on viscoelastic properties of intact wheat kernel and relation to functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 86 (2), 139–144.
- Figueroa, J.D.C., Hernández, Z.J.E., Véles, M.J.J., Rayas-Duarte, P., Martínez-Flores, H.E., Ponce-García, N., 2011a. Evaluation of degree of elasticity and other mechanical properties of wheat kernels. *Cereal Chemistry* 88 (1), 12–18.
- Figueroa, J.D.C., Peña, R.J., Maucher, T., Rayas-Duarte, P., Khan, K., 2011b. Kernel elastic properties and sedimentation: influence of high and low molecular weight glutenin allelic composition. *Cereal Chemistry* 88 (1), 41–44.
- Haddad, Y., Benet, J.C., Delenne, J.Y., Mermet, A., Abecassis, J., 2001. Rheological behaviour of wheat endosperm – proposal for classification based on the rheological characteristics of endosperm test samples. *Journal of Cereal Science* 34, 105–113.
- Hernández, Z.J.E., Figueroa, J.D.C., Rayas-Duarte, P., Martínez-Flores, H.E., Arámbula, G.V., Luna, G.B., Peña, R.J., 2012. Influence of high and low molecular weight glutenins on stress relaxation of wheat kernels and the relation to sedimentation and rheological properties. *Journal of Cereal Science* 55 (3), 344–350.
- Hibberd, G.E., Parker, N.S., 1979. Nonlinear creep and creep recovery of wheat flour doughs. *Cereal Chemistry* 56 (4), 232–236.
- Jood, S., Schofield, J.D., Tsiami, A.A., Bollecker, S., 2000. Effect of composition of glutenin subfractions on rheological properties of wheat. *Journal of Food Biochemistry* 24 (4), 275–298.
- Kovacs, M.I.P., Dahlke, G., Noll, J.S., 1994. Gluten viscoelasticity: its usefulness in the Canadian durum wheat breeding program. *Journal of Cereal Science* 19, 251–257.
- Lefebvre, J., Mahmoudi, N., 2007. The pattern of the linear viscoelastic behaviour of wheat flour dough as delineated from the effects of water content and high molecular weight glutenin subunits composition. *Journal of Cereal Science* 45, 49–58.
- Lefebvre, J., Popineau, Y., Deshayes, G., Lavenant, L., 2000. Temperature-induced changes in the dynamic rheological behavior and size distribution of polymeric proteins for gluteins from wheat near-isogenic lines differing in HMW glutenin subunit composition. *Cereal Chemistry* 77, 193–201.
- Li, W., Dobraszczyk, B.J., Schofield, J.D., 2003. Stress relaxation behavior of wheat dough, gluten, and gluten protein fractions. *Cereal Chemistry* 80 (3), 333–338.
- Lindsay, M.P., Skerrit, J.H., 1999. The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure–function perspectives. *Trends in Food Science and Technology* 10 (8), 247–253.
- Luo, C., Griffin, W.B., Branlard, G., McNeil, D.L., 2001. Comparison of low- and high-molecular-weight wheat glutenin allele effects on flour quality. *Theoretical and Applied Genetics* 102, 1088–1098.
- Maucher, T., Figueroa, J.D.C., Reule, W., Peña, R.J., 2009. Influence of low molecular weight glutenins on viscoelastic properties of intact wheat kernels and their relation to functional properties of wheat dough. *Cereal Chemistry* 86 (4), 372–375.
- Mita, T., Bohlin, L., 1983. Shear stress relaxation of chemically modified gluten. *Cereal Chemistry* 60 (2), 93–97.
- Mohsenin, N.N., 1986. Physical properties of plant and animal materials. In: Structure, physical characteristics and mechanical properties, 2nd. Gordon and Breach Science, New York.
- Oza, A., Vanderby, R., Lakes, R.S., 2003. Interrelation of creep and relaxation for nonlinearly viscoelastic materials: application to ligament and metal. *Rheologica Acta* 42 (6), 557–568.
- Payne, P.I., Nightingale, M.A., Krattiger, A.F., Holt, L.M., 1987. The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 40, 51–65.
- Peleg, M., 1985. Comparison between various correction factors in the calculation the creep compliance. *Journal of Texture Studies* 16, 119–127.
- Peña, R.J., Amaya, A., Rajaram, S., Mujeeb-Kazi, A., 1990. Variation in quality characteristics associated with some spring 1B/1R translocation wheats. *Journal of Cereal Science* 12, 105–112.
- Peña, R.J., Gonzalez-Santoyo, H., Cervantes, F., 2004. Relationship between Glu-D1/Glu-B3 allelic combinations and bread-making quality-related parameters commonly used in wheat breeding. In: Lafandra, D. et al. (Eds.), *The Proceedings of the 8th Gluten Workshop*. Viterbo, Italy, pp. 156–157.
- Ponce-García, N., Figueroa, J.D.C., López-Huape, G.A., Martínez, H.E., Martínez-Peniche, R., 2008. Study of viscoelastic properties of wheat kernels using the compression load method. *Cereal Chemistry* 85 (5), 667–672.
- Purkayastha, S., Peleg, M., Johnson, E.A., Normand, M.D., 1985. A computer aided characterization of compressive creep behavior of potato and cheddar cheese. *Journal of Food Science* 50 (45–50), 55.
- Singh, N.K., Shepherd, K.W., 1988. Linkage mapping of genes controlling endosperm storage proteins in wheat. 1. Genes on the short arms of group 1 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics* 75, 628–641.
- Sperling, L.H., 2006. *Polymer viscoelasticity and rheology. Introduction to Physical Polymer Science*. John Wiley and Sons, New York, pp. 507–556, 4th ed.
- Steffe, J.F., 1996. *Rheological methods in food process engineering* 2nd ed. Freeman Press, East Lansing, MI, USA.
- Tohver, M., 2007. High molecular weight (HMW) glutenin subunit composition of some Nordic and Middle European wheats. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54, 67–81.
- Wang, C.F., Kokini, J.L., 1995. Prediction of the nonlinear viscoelastic properties of gluten doughs. *Journal of Food Engineering* 25, 297–309.
- Wrigley, C., Asestorfer, R., Batey, I., Cornish, G., Day, L., Mares, D., Mrva, K., 2009. The biochemical and molecular basis of wheat quality. In: Carver, B.F. (Ed.), *Wheat science and trade*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 495–520.
- Zaidel, D.N.A., Chin, N.L., Yusof, Y.A., 2010. A review on rheological properties and measurements of dough and gluten. *Journal of Applied Sciences* 10 (20), 2478–2490.

EL JURADO DESIGNADO POR LA UNIDAD QUERÉTARO DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, APROBÓ LA TESIS DOCTORAL DEL C. ZORBA JOSUÉ HERNÁNDEZ ESTRADA TITULADA: "MODELOS DE RELAJACIÓN DE ESFUERZOS Y CREEP EN GRANO Y MASA DE TRIGO, Y SU RELACIÓN CON SUS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y FUNCIONALES", FIRMAN AL CALCE DE COMÚN ACUERDO LOS INTEGRANTES DE DICHO JURADO, EN LA CIUDAD DE QUERÉTARO, QRO., A LOS SEIS DÍAS DEL MES DE DICIEMBRE DE DOS MIL TRECE.


DR. JUAN DE DIOS FIGUEROA CÁRDENAS


DRA. PATRICIA RAYAS-DUARTE


DR. GERÓNIMO ARÁMBULA VILLA


DR. J. GABRIEL LUNA BÁRCENAS


DR. HÉCTOR EDUARDO MARTÍNEZ FLORES



CINVESTAV - IPN
Biblioteca Central



SSIT0012208