



ESTUDIO DEL EFECTO DEL TAMAÑO DE PARTICULA DE LA HARINA DE ARROZ SOBRE LA INACTIVACIÓN BETA-GLUCANÁSICA MEDIANTE TRATAMIENTOS TÉRMICOS CON MICROONDAS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2015/16

Alumno: Caleb Samir Calix Rivera

Tutora: Felicidad Ronda Balbás

Tutora externa: Sandra Pérez-Quirce

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de Alimentos
E.T.S. Ingenierías Agrarias, Campus de la Yutera (Palencia)
Universidad de Valladolid

RESUMEN

El principal problema en la elaboración de productos libres de gluten enriquecidos con β -glucanos (BG), es la hidrólisis que estos pueden sufrir debido al contenido de enzimas β -glucanasas endógenas que contienen las materias primas con que se elaboran. Esta despolimerización provoca la disminución del peso molecular y la viscosidad, lo cual es el parámetro más importante relacionado a las alegaciones saludables que tienen los BG. Debido a esto se ve la necesidad de inactivar la actividad enzimática. Por ello, el objetivo de este estudio es utilizar el método de tratamiento térmico de microondas (MW) para inactivar la β -glucanasa presente en la harina de arroz de variedad indica con tamaño de partícula fina y conocer el efecto de esta granulometría. La harina se acondicionó a humedades del 13, 16, 19 y 25%, donde muestras de 50g se sometieron a diferentes tratamientos de microondas de 1, 2, 4 y 8 min, a una potencia constante de 900W en intervalos de 20 segundos de tratamiento y 1 minuto de reposo. Se calculó el grado de inactivación de la actividad β -glucanásica mediante una ecuación exponencial la cual predice la inactivación en función a la humedad y tiempo de tratamiento de MW de la harina. El proceso de inactivación siguió una respuesta cinética de primer orden y la constante de velocidad aparente de la inactivación térmica aumentó exponencialmente con el contenido de humedad de la harina, M , de acuerdo con la ecuación de $0,0014 \cdot \exp(0,34 \cdot M)$ con un $R^2 = 0,99$. El tiempo requerido para la completa MW inactivación β -glucanasa fue sólo 4 min cuando la humedad inicial de la harina aumentó a 25%. También se estudiaron los efectos que presentan los diferentes tratamientos por MW y contenidos de humedad en cada uno de los parámetros de empastado de la harina. Se comprobó el efecto que tiene el tamaño de partícula en la inactivación enzimática y parámetros de empastado, comparando con estudios anteriormente realizados con un tamaño de partícula más grande.

Palabras clave: Tamaño de partícula, β -glucanos, harina de arroz, tratamiento de microondas, actividad β -glucanásica.

ABSTRACT

The main problem in the development of gluten-free products enriched with β -glucans (BG) is the hydrolysis they may suffer due to the endogenous β -glucanase content of raw materials. The depolymerization causes a decrease in the molecular weight and

viscosity, which is the most important parameter, related to the health claims about BG. Hence, it is necessary to inactivate the enzyme activity. Therefore, the aim of this study was use the microwave (MW) heat-treatment method to inactivate the β -glucanase activity present in rice flour, from Indica variety, with fine particle size. Rice flour was conditioned at four different water contents 13, 16, 19 and 25%. Samples of 50 g were subjected to different microwave treatments 1, 2, 4 and 8 min, at 900 W power at 20 seconds intervals treatment and 1 minute rest. The inactivation process followed a first-order kinetic response and the apparent rate constant of thermal inactivation increased exponentially with the moisture content of the flour, M, according to the equation $0.0014 \cdot \exp(0.34 \cdot M)$ ($R^2 = 0.99$). The MW time required for complete β -glucanase inactivation was only 4 min when the initial flour moisture increased to 25 %. The effects of different treatments MW and moisture contents in each of the parameters for incorporating flour were also studied. Checking the effect of particle size in enzyme inactivation and plastering parameters, comparing with previous studies with larger particle size.

Keywords: particle size, β -glucans, rice flour, microwave treatment, β -glucanase activity.

1. INTRODUCCIÓN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los cereales más importantes del mundo y el alimento básico para más de la mitad de la población mundial. Se cultivan dos especies, *O. sativa* L. y la *O. glaberrima* Steud. La especie de arroz *O. glaberrima* crece solo en una región limitada de África. (Childs, 2006). El arroz se cosecha con cáscara la cual representa aproximadamente el 20% del peso. La cáscara del arroz es rica en celulosa (25%), lignina (30%), arabinosilanos (15%) y ceniza (21%). La ceniza contiene aproximadamente el 95% de sílice. Los altos niveles de sílice y lignina hacen que la cascara de arroz sea de tan bajo valor nutricional y comercial. (Delcour y col., 2010).

El arroz integral se subdivide en: pericarpio, aleurona, germen, esculento y endospermo, siendo este último el de mayor proporción. El arroz y la avena son los dos únicos dos cereales con gránulos de almidón compuestos (interacción entre varios gránulos pequeños individuales que se logran sintetizar en un solo amiloplasto) los gránulos de almidón del arroz presentan un tamaño pequeño el cual tiene un promedio

de 2-4 micras. (Delcour y col., 2010). El arroz integral es procesado puliéndose o frotándose mecánicamente, obteniéndose así el producto final denominado como arroz blanco al igual que se produce salvado de arroz (Abdul-Hamid y col., 2007), este salvado es una fuente natural de proteínas (14-16%), grasa (12-23%), fibra cruda (8-10%), carbohidratos (CHO's), vitaminas, minerales ácidos grasos insaturados esenciales, compuestos fenólicos. Además de antioxidantes naturales tales como tocoferoles, tocotrienoles. Sin embargo, el único factor que evita que el salvado de arroz sea utilizado como ingrediente alimentario es su inestabilidad durante el almacenamiento, por su actividad enzimática presente en las capas externas del grano, en especial a la lipasa, principal responsable de la hidrólisis de los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos libre, además de la lipoxigenasa y peroxidasa, también responsables pero en menor medida (Patil y col., 2016). Además de estas enzimas endógenas en el arroz también se puede encontrar otras como: polifenol oxidasas, amilasas, catalasas, β -glucanasas, etc. La mayoría de las enzimas endógenas del arroz se encuentran tanto en el salvado y en el germen.

Los (1-3) (1-4) β -Glucanos (BG) son componentes importantes en las paredes celulares en el endospermo amiláceo y de la capa aleurona de cereales como avena y cebada y en bajas cantidades en trigo y en centeno (Lazaridou y Biliaderis, 2007), se denominan como polisacáridos no amiláceos y se clasifican como fibra dietética soluble con propiedades espesantes, otra subdivisión a la cual se introducen los BG es al reconocimiento que algunas fibras dietéticas atenúan la glucosa en sangre, los niveles de insulina y reducen los niveles de colesterol sérico, funciones potencialmente con beneficios a la salud, que forma parte de la definición de fibra dietética (Fig. 1).

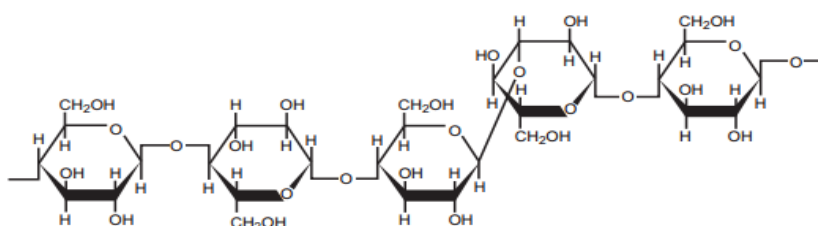


Figura 1. Estructura química de β -glucanos de cereales con enlaces β - (1-3) y β - (1-4) (Souki y col., 2011).

Los BG de cebada y avena son muy similares en su estructura pero pueden diferir en la relación de proporción de β -(1-3) y β -(1-4). Por ejemplo los β -glucanos de la avena se componen de una proporción de 30% β -(1-3) y 70% de β -(1-4), y por lo tanto son

menos solubles que los de la cebada, debido a la mayor proporción de β -(1-4), en cambio los β -glucanos de la cebada contienen una mayor proporción de BG solubles con respecto a los insolubles, en relación a un 70%-30% (Murphy y col., 2012). Además de la proporción de estos polisacáridos solubles-insolubles en avena y cebada, también estos difieren en el peso molecular. El peso molecular de los β -glucanos de avena es mayor que el de la cebada. Las alegaciones en las que se relacionan los BG con beneficios en la salud se encuentran: la contribución en el mantenimiento de los niveles normales de colesterol en la sangre (ingesta recomendada de 3g de BG de avena diaria), reducción del aumento de glucosa en sangre o glicemia postprandial (ingesta de 4g BG de avena o cebada /30g disponibles de CHO's por comida), prolongación a la sensación de saciedad y con ello una reducción en la ingesta de energía, mejora de la función digestiva (EFSA. 2011). Las actividades fisiológicas potencialmente beneficiosas de los β -glucanos se atribuyen a su capacidad de aumentar la viscosidad de contenido intestinal y de esta manera la modificación de las tasas de absorción de nutrientes y ácidos biliares (Wood, 2010).

La enfermedad celiaca es una enteropatía inmune del tracto digestivo que causa daños en el intestino delgado e interfiere con la absorción de los nutrientes de los alimentos, caracterizada por la intolerancia permanente al gluten. La ingesta de estas proteínas del gluten causa una pérdida de vellosidades intestinales lo que lleva a una reducción en la absorción de nutrientes. Hoy en día se ha convertido en uno de los trastornos más comunes de la población (De la Hera y col., 2013). Afecta aproximadamente del 0.3-1.0% de la población mundial. Se cree que está presente en 1 de cada 100 personas, aunque solo del 10%-15% de los afectados son diagnosticados clínicamente, dicha enfermedad afecta más a la población femenina que a la masculina en una proporción 2:1, el tratamiento para esta intolerancia es un estricto cumplimiento de vida de una dieta libre de gluten (Rodrigues Ferreira y col., 2016) lo que conduce a la recuperación de la mucosa intestinal. Muchos cereales sin gluten son utilizados para la elaboración de alimentos GF, entre ellos: arroz, maíz, sorgo etc.

Algunos de los problemas principales de las personas con esta enfermedad son la mala calidad de los productos GF ya existentes y el alto precio de los mismos (De la Hera y col., 2013). Además los productos libres de gluten son principalmente amiláceos, lo que conlleva a una dieta desequilibrada nutricionalmente por su falta de

fibra, vitaminas, minerales (Vici, y col., 2016). Por lo tanto uno de los desafíos de la industria agroalimentaria es una mejora en la calidad de los productos GF (De la Hera y col., 2013; Ronda y col., 2013; Pérez-Quirce y col., 2014), el ingrediente más adecuado para la elaboración de formulaciones de panadería GF es el arroz, por sus atributos de poseer un sabor suave, color blanco, su digestibilidad, propiedades hipoalergénicas y la presencia de carbohidratos fácilmente digeribles como beneficios adicionales (Rosell y col., 2014). Los productos GF suelen tener cantidades bajas en fibras, tanto solubles como insolubles. Su enriquecimiento con fibra dietética parece ser necesario para la mejora nutricional de los mismos (Ronda y col., 2015). En recientes estudios se ha optado por enriquecer panes elaborados con harina de arroz (GF) con BG los cuales sus efectos beneficiosos para la salud han sido mencionados anteriormente. Los efectos del BG en la panificación dependen del peso molecular, concentración y pureza del mismo. Una mayor concentración y peso molecular en principio empeoran la calidad del pan, pero mejoran las propiedades nutricionales. Sin embargo, estudios previos han visto que el efecto del peso molecular depende de la presencia de β -glucanasas (Pérez-Quirce y col., 2016; Ronda y col., 2015).

Debido a esto es muy importante tener en cuenta todos los factores que podrían influir en el peso molecular de los BG, un aspecto a considerar y que se ha dejado muy aparte es la actividad enzimática que pueda hidrolizar de manera considerable este tipo de fibra soluble reduciendo su peso molecular de manera que se pierdan sus aspectos beneficiosos para la salud. Las enzimas responsables de esta hidrolisis son las β -glucanasas, las cuales son enzimas endógenas de las paredes celulares de varios cereales como son: trigo, cebada, maíz y arroz y en varios tipos de hongos. Las β -glucanasas están involucradas en una variedad de procesos fisiológicos tales como la germinación, el crecimiento celular, defensa contra los patógenos, floración, maduración de frutos y semillas etc. (Martin y col., 2003). Las (1-3) (1-4) β -glucanasas, representan un problema a tener en cuenta en la producción de productos de panadería a base de harina de arroz enriquecidos con BG. Es crucial minimizar el impacto de estas enzimas y las condiciones de procesado los cuales son muy significativos en la despolimerización (hidrolisis) de los BG (Pérez-Quirce y col., 2016). Para evitar la degradación de los betaglucanos se han investigado y propuesto varias soluciones las cuales son la inactivación de las enzimas (1-3) (1-4) β -glucanasas (Pérez-Quirce y col., 2016; Lazaridou y col., 2014), además de mezclas y tiempos de

procesado lo más cortos posibles para la elaboración de bizcochos o panes (Andersson y col., 2004).

Sin embargo, la reducción de tiempos de mezcla y fermentación en elaboración de productos de panadería repercute negativamente con la calidad final del producto elaborado con harina de arroz. Por ello el camino más factible para mantener las propiedades nutricionales de los BG evitando su degradación, es la inactivación de las β -glucanasas en las materias primas. Las enzimas, en general, presentan un carácter termosensible, por lo tanto, muchas investigaciones han propuesto su inactivación mediante diferentes procesos térmicos. Industrialmente los procesos a los que más se recurre son: Esterilización, pasteurización, escaldado etc. Sin embargo estos tipos de tratamientos de inactivación de enzimas repercuten negativamente con la funcionalidad de la proteína y las pérdidas de vitaminas y nutrientes (Stephany y col., 2016). Un método de inactivación enzimática que se ha estudiado, es mediante la aplicación de energía de microondas. (Pavelkic y col., 2009; Matsui y col., 2008; Kermasha y col., 1992; Galvin y col., 1981; Pérez-Quirce y col., 2016; Zhu y col., 2005). El calentamiento por microondas se basa en la transformación de la energía alterna del campo magnético en energía térmica porque afecta las moléculas polares e ionizables de la materia (Vadivamdal y col., 2007; Chandrasekaran y col., 2013; Ozkoc y col., 2014) se genera por la fricción y choque de las moléculas las cuales intentan orientarse dentro del campo oscilante.

En general se asume que los efectos de los microondas contribuyen a la destrucción microbiana o inactivación enzimática debido a los efectos térmicos (Pavelkic y col., 2009; Kermasha y col., 1992). Hay muchos ejemplos de aplicación de irradiación de microondas en el campo de la síntesis orgánica, catálisis química, polímeros y materiales compuestos, pero muy pocos han sido encontrados en aplicaciones enzimáticas (Zhu y col., 2005). Diferentes estudios han demostrado la efectividad del método de tratamiento por irradiación de microondas, por ejemplo *Kermasha y col.*, (1992) los cuales investigaron la inactivación de la lipoxigenasa de la soja mediante el calentamiento directo de microondas comparándolo con el modo de calentamiento convencional, dando como resultado que la inactivación enzimática por microondas fue sustancialmente más efectiva que el calentamiento convencional.

Pavelkic y col., (2009) Estudiaron la influencia de la irradiación de microondas en la cinética enzimática de la molécula de pepsina donde establecieron que la irradiación MW causa una disminución en la actividad enzimática como una función de la dosis de irradiación de microondas absorbida obteniendo unos parámetros de grado de inactivación entre 39.11% y 45.91% durante 5 y 20 minutos respectivamente de irradiación en MW de la pepsina. *Patil y col.*, (2016) Estudiaron la estabilización del salvado de arroz usando la energía de microondas. El cual es una fuente natural de proteínas (14-16%), grasa (12-23%), fibra cruda (8-10%), carbohidratos, vitaminas, minerales, compuestos fenólicos y ácidos grasos insaturados esenciales. La inestabilidad del salvado se le atribuye a la actividad enzimática de las lipasas presentes en las capas externas del grano, las cuales son las responsables de la hidrólisis de los triglicéridos, formando los ácidos grasos libres que son compuestos perjudiciales, no aptos para el consumo humano. Junto con la lipoxigenasa y peroxidasa, son las enzimas responsables de su deterioro, por ello propuso el uso de microondas para la estabilización del salvado de arroz, exponiendo el salvado a un nivel de potencia 4W/g durante 5 minutos como tratamiento más eficaz para la inactivación de la lipasa y así asegurar un tiempo de almacenamiento seguro de 90 días.

Tan solo dos recientes estudios que tratan la inactivación de β -glucanasas. En concreto, *Lazaridou y col.* (2014) Los cuales estudiaron el efecto del tamaño de partícula y la aplicación de tratamientos de autoclave en condiciones de 121°C por 20 min, en harinas de cebada a diferentes humedades, concluyendo que la inactivación enzimática se producía a medida aumentaba la humedad en las harinas con tamaño de partícula de 350 μm , mejorando las cualidades fisiológicas y nutricionales en productos de panadería enriquecidos con BG, y por otro lado *Pérez-Quirce y col.* (2016) evaluando la utilización de microondas para inactivar la enzima β -glucanasa y el impacto en las propiedades físico químicas de las harinas tratadas (*Pérez-Quirce y col.*, 2016), concluyendo que el tratamiento en MW para la inactivación de esta enzima endógena en harinas de arroz con una distribución de tamaño de partícula de 6 %>150 μm , 150 μm >63.2 %>100 μm y 30.8 %<100 μm) es una alternativa muy útil presentando una respuesta cinética de primer orden ($R^2= 0.97$), además de comprobar que la constante de velocidad de inactivación térmica del MW incrementa exponencialmente con respecto al contenido de humedad de la harina, de modo que,

el tiempo de tratamiento con microondas requerida para la inactivación completa β -glucanasa fue sólo 4 min cuando la humedad inicial harina se elevó a 25%.

Los tratamientos en microondas también provocan efectos sobre otros componentes presentes en las matrices alimentarias: Lai (2001) realizó un estudio comparando el efecto del tratamiento hidrotérmico en las propiedades físico químicas de la harina de arroz pre-gelatinizada utilizando tres variedades de harina de arroz con diferentes contenidos de amilosa: 1.20%, 17.9%, 28.8% respectivamente. Concluyendo que el empastado e integridad del granulo de almidón después del tratamiento es dependiente de la variedad de arroz (o contenido de amilosa) indicando que el granulo de almidón después del tratamiento hidrotérmico es menor su rigidez en la variedad con menor contenido de amilosa y mayor en la variedad con mayor contenido de amilosa (Lou y col., 2006).

Ashraf y col. (2012) Investigaron el impacto de los tratamientos en microondas en la funcionalidad de las harinas de cereales y legumbres, concluyendo que el tratamiento hidrotérmico es responsable de numerosos cambios en las estructuras de las micro y macro moléculas los cuales incluyen incremento en la temperatura de gelatinización y reducción de la viscosidad y solubilidad en almidones de maíz (Lewandowicz y col., 2000; Lou y col., 2006), resultando en harinas con mejor capacidad de emulsificación y formación de espuma con respecto a las harinas normales. Zavarece y col., (2010) estudiaron los efectos del tratamiento hidrotérmico (HMT) en almidones de arroz con diferentes contenidos de amilosa, analizando el poder de gelatinización, solubilidad y muy importante para el presente trabajo los cambios generados por la morfología del granulo de almidón. Aplicando HMT a una humedad de 25% se observó que se afecta el grado de aglomeración de almidón, provocando una agregación entre los gránulos y una superficie más irregular que los almidones nativos, en almidones de alta y media concentración de amilosa. El HMT en almidón con bajo contenido de amilosa mostró una gelatinización parcial en comparación con el almidón nativo.

Por otro lado, uno de los parámetros a considerar para la elaboración de productos de panadería libres de gluten aparte del aspecto nutricional es su calidad física u organoléptica, siendo el tamaño de partícula, un aspecto muy importante para el efecto tecnológico, diversos estudios han analizado los efectos que tienen diferentes tamaños de partícula de harinas en las propiedades físicas y calidad sensorial. De la Hera, y

col., (2014) estudiaron el efecto del tamaño de partícula de la harina de arroz (fina $X < 132 \mu\text{m}$ y grueso $132 \mu\text{m} < X < 200 \mu\text{m}$) y la hidratación de la masa (70, 90 y 110%), como parámetros críticos en la fabricación de panes libres de gluten. Los resultados mostraron que las harinas de arroz con perfil más grueso de partículas complementadas con alta gran hidratación (90-110%), es la combinación más adecuada para el desarrollo de pan de arroz con buen volumen de pan y textura de la miga. Las partículas pequeñas forman una masa de débil estructura incapaz de retener el gas liberado durante la fermentación produciendo volúmenes más bajos. De la Hera y col. (2013), también estudió como afecta el tamaño de partícula y la variedad de arroz a la calidad de los bizcochos. En vista de los resultados concluyeron que las harinas con un tamaño de partícula menor dieron lugar a volúmenes específicos más bajos pero con una distribución homogénea de los alveolos. Por tanto, se considera que la harina con la que se procede a elaborar este estudio estaría más indicada a su posterior empleo en repostería, mejor que en panificación.

2. OBJETIVO

Este estudio tiene como objetivo comprobar experimentalmente la inactivación de la β -glucanasa mediante el empleo de energía microondas (MW) comprobando el efecto del tamaño de partícula de la harina, para tratar de conservar tanto el contenido como peso molecular de los β -glucanos evitando su hidrólisis, a partir de los que se enriquecerían los productos a base de harina de arroz libres de gluten. Las variables de este estudio serían la humedad de la harina de arroz y diferentes tiempos de tratamiento por MW.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Se elaboró un diseño de experimentos basado en el estudio de dieciséis diferentes muestras de harina de arroz, las cuales variaron en contenido de humedad y tratamiento hidrotérmico utilizando microondas. La harina de arroz variedad indica, blanca ultra fina, sin ningún proceso de conservación (Microcer) contenía los siguientes parámetros: (Humedad $< 15.0\%$, acidez (ml de NaOH 0.1N/100g) $< 3.0\text{ml}$, densidad 0.50-0.70 g/cc, gluten $< 10\text{ppm}$, proteína $> 6.5\%$, cenizas < 0.9 , grasa $< 1.0\%$, granulometría: $> 150 \mu\text{m}$; $< 1\%$, 150-90 μm ; 5-15%, $< 90 \mu\text{m}$; $> 84\%$), suministrada por

Herba Ricemills S.L.U (Valencia, España). El β -glucano procedente de avena de alta pureza (95%), utilizado en investigaciones anteriores (Lazaridou y col., 2014; Pérez-Quirce y col., 2016).

3.2. Métodos

Los contenidos de humedad de la harina respectivos para el estudio fueron de 13, 16, 19 y 25% con un error admisible de $\pm 0.3\%$, con el fin de comparar los datos experimentales de este ensayo con los anteriores realizados por este mismo grupo de investigación (Pérez-Quirce y col., 2016), la humedad inicial que contenía la harina de arroz microcer se midió mediante el método aprobado 44-19, (AACC. 1995) el cual consiste en una desecación en una estufa de ventilación forzada (serie FED 115, marca WTB Binder, Tuttlingen Alemania). Para realizar los respectivos ajustes de humedad se hicieron los cálculos del agua necesaria, para llevar a cada harina a la humedad objetivo. Se roció la cantidad de agua calculada, mientras esta se mezclaba en una batidora industrial (Modelo 5KPM50, Kitchen Aid, St. Joseph, MI, EE.UU.) por un estimado de 10 minutos. Posteriormente, las harinas hidratadas se dejaron reposar por 24 horas en refrigeración para lograr un equilibrio de humedad en la harina, almacenada en bolsas termoselladas (AACC, 1995). Cada harina con su respectiva humedad fue sometida a 4 diferentes tratamientos en microondas (MW) (13, 16, 19 y 25%) tratamientos de 1, 2, 4 y 8 minutos en MW a 900 W.

3.2.1. Tratamiento de Microondas en las muestras de harina

Se pesaron 50 gramos de harina hidratada sus diferentes humedades (13, 16, 19 y 25%) e introdujeron en bolsas (poliamida+polipropileno) con dimensiones de 20 x 30 cm (NOP101, Cryovac, Sealed air, NY, USA) cerradas herméticamente por una selladora térmica (Magneta 300 MG model, marca Audio Elektro, Holland) cada muestra con un espesor aproximado de 1mm en el interior de la bolsa se introdujo al microondas, con el objetivo que la distribución de la energía dentro del MW sea uniforme sobre la muestra. Se establecieron como condiciones de ensayo una potencia de 900W con ciclos de 20 segundos de tratamiento alternados con 1 minuto como tiempo de parada, sucesivamente hasta cumplir el tiempo de tratamiento deseado (1, 2, 4 y 8 min). Entre cada minuto de parada se procedió a medir la temperatura de la bolsa introduciendo una sonda de infrarrojo (modelo Testo 826-T2, Lenzkirch, Alemania) haciendo un barrido sobre toda la bolsa para obtener la

temperatura máxima alcanzada de la harina en el correspondiente tiempo de tratamiento. Además de la medición de temperatura las muestras se agitan y mezclan manualmente y se giran para así homogenizar el tratamiento. Posteriormente las muestras tratadas se dejaron enfriar dentro del microondas, hasta llegar a temperatura ambiente. Posteriormente se almacenaron dentro de un congelador a una temperatura de -20°C, hasta sus respectivos análisis. Cada muestra de harina se le cuantificaba el contenido de humedad (AACC, 1995), tanto antes como después del tratamiento por MW, con objeto de confirmar la hermeticidad de las bolsas y las reducidas pérdidas de humedad.

3.2.2. Determinación de la actividad β -Glucanásica

La actividad β -glucanásica de cada una de las muestras tratadas se evaluó por medio de un índice de disminución de su viscosidad, debido a que las β -Glucanasas endógenas en la harina de arroz actúan sobre una disolución de BG, hidrolizando y rompiendo enlaces (despolimerización), con lo cual se traduciría en una disminución del peso molecular de la mezcla extracto-solución generando una reducción de la viscosidad la cual se rige por la siguiente fórmula $\eta_{sp} = (\eta - \eta_0) / \eta_0$, donde η_{sp} es la viscosidad específica y η_0 es la viscosidad del agua, de acuerdo al método utilizado en trabajos anteriores (Lazaridou y col., 2014; Pérez-Quirce y col., 2016). El método se basa en la mezcla de un extracto de harina adicionado a una solución diluida de β -Glucano (pureza 95%) de concentración 0.1% w/v. Se procede a una extracción de la harina mediante la agitación de la mezcla harina-agua a 25°C, durante 30 minutos y posteriormente su centrifugación a 2500 rpm durante 20 minutos. Después se filtra el sobrenadante de la mezcla evitando así cualquier partícula que pueda afectar en la medición de la viscosidad. A continuación, se procede a hacer la mezcla de una alícuota de 6ml del extracto de harina con 36 mL de la solución de β -glucano (0.1% w/v) de alto peso molecular (2×10^6) que se encuentra a una temperatura de 20°C, esta mezcla es agitada muy levemente por una varilla de vidrio y posteriori se traslada a un viscosímetro capilar de vidrio de modelo Ubbelohde (UBBEL04NC, K 0.01, rango 2-10 cSt, marca Paragon Scientific Ltd, Wirral, UK), Se registran medidas del tiempo de bajada de la disolución en el viscosímetro entre las dos marcas que este presenta durante 1 hora en intervalos de cada 5 minutos, manteniéndolo a una temperatura de 20 °C con un error de $\pm 0,1$ °C. Previamente a la medida de disolución se realiza la medición en el viscosímetro de agua destilada con los cuales se realiza un ajuste en

los valores de la actividad β -glucanásica. Los valores de viscosidad específica/tiempo se representan en un modelo de regresión lineal, siendo la pendiente ajustada de la ecuación, el cual representa la actividad β -glucanásica. Esta actividad se expresa como la disminución de la viscosidad específica por hora de la solución de β -glucano puro después de la adición de los extractos de harina, Tras cada ensayo se añadió mezcla crómica, con alta concentración de ácido sulfúrico, asegurando así la completa eliminación de cualquier rastro de residuos de β -Glucanos. Las actividades β -glucanásicas de cada muestra se realizaron, al menos, por duplicado.

3.2.3. Inactivación enzimática

La inactivación enzimática depende en gran medida del tiempo de exposición a la energía del microondas así como también al contenido de humedad de la muestra a tratar. Las harinas con mayor grado de inactivación enzimática contienen mayor porcentaje de humedad y se sometieron a mayor tiempo de tratamiento. El efecto del tratamiento en MW en cada de humedad fue descrito en un modelo cinético de acuerdo a la siguiente ecuación: $A=A_0 \exp (-k.t)$, donde A es la actividad β -glucanásica, t es el tiempo del tratamiento de microondas, A_0 es una constante que representa la actividad inicial de la harina no tratada ($t = 0$); y k (min^{-1}) es la tasa aparente de inactivación de la enzima, que representa la reducción de la actividad de la enzima por unidad de tiempo. A partir de los tratamientos MW y las medidas de actividad enzimática llevados a cabo en apartados anteriores, se realizará una estimación de las ecuaciones para cada humedad inicial de la muestra (13, 16, 19 y 25%)

3.2.4. Estudio del perfil de viscosidad (RVA)

En cada una de las 16 muestras y la muestra de harina inicial sin tratamiento, se analizaron los efectos que tiene la energía del microondas en sus propiedades de empastado, todo ello mediante el Rapid Visco Analyzer (RVA-4, Newport Scientific Pvt. Ltd. Warriewood, Australia) el cual es controlado por el programa informático Thermocline v 2.2, usando el método estándar ICC 162. Los valores obtenidos de cada ensayo fueron los siguientes: Pico de viscosidad (peak viscosity, PV, Indica la capacidad de retención de agua en una mezcla o pasta), tiempo de pico (peak time, PT, indica el tiempo (min) en que se llega al PV), viscosidad de caída (trough viscosity, TR, menor valor de la viscosidad antes del comienzo de la retrogradación), estabilidad

(breakdown, BR, diferencia entre la viscosidad máxima y la viscosidad de caída que se produce en el tramo de temperatura constante), viscosidad final (final viscosity, FV, viscosidad final en frío, ocurre cuando la pasta se enfría) y retrogradación (Setback, ST Es la diferencia entre la viscosidad de final y la de caída) (ver figura 2). Las cantidades empleadas fueron de 3 gramos de harina y 25 gramos de agua destilada, ajustadas dependiendo del contenido de humedad de la muestra a analizar. Los ensayos se realizaron, al menos, por duplicado para cada una de las alícuotas de harina tratadas térmicamente.

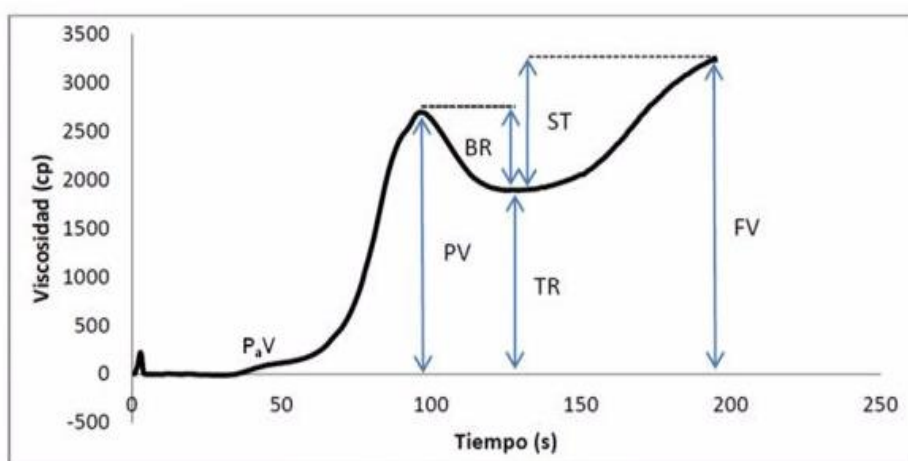


Figura 2. Parámetros y curvas de RVA (viscosidad en unidades de centipoise; tiempo en segundos) (AACC, 2004)

3.2.5. Análisis estadístico

El software utilizado para realizar los análisis estadísticos fue el: Statgraphics Centurion XVII (Bitstream, Cambridge, MN, USA) se aplicó el análisis de ANOVA multifactorial, y evaluar las diferencias significativas entre cada uno de los factores de las muestras ($p < 0.05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Actividad β -glucanásica de las harinas sometidas a los diferentes tratamientos por microondas

La β -glucanasa es la enzima responsable de producir la hidrólisis de las moléculas de β -glucanos, reduciendo su peso molecular y por ello su viscosidad. Para estimar su actividad se mide la tasa de descenso de viscosidad (pendiente de la ecuación de la

recta) de la solución de β -glucanos al 0.1% w/v (pureza >95%) mezclada a un extracto de harina de arroz. los resultados obtenidos se presentan en la tabla 1. Se observa que la harina inicial de humedad 13% sin ningún tratamiento hidrotérmico presenta una actividad β -glucanásica más alta que todas las demás muestras, con un valor de pendiente de 0.109, muy similar al valor obtenido en el estudio de la inactivación de esta misma enzima por MW, realizado con harina de arroz con tamaño de partícula más grueso Pérez-Quirce y col. (2016). Sin embargo, ese resultado difiere del estudio de Lazaridou y col. (2014) los cuales concluyeron que la actividad β -glucanásica en harinas de cebada disminuye a medida es más fina la granulometría sin tratamiento de MW.

Tabla 1. Actividades β -glucanásicas de las harinas de arroz tratadas a diferentes tratamientos de microondas y humedades.

Contenido de humedad (%)	Tiempo de tratamiento (min)	Activ. β -glucanásica ^a
13	0	0,109 k
13	1	0,102 j
13	2	0,088 i
13	4	0,074 h
13	8	0,041 e
16	1	0,075 h
16	2	0,052 g
16	4	0,029 d
16	8	0,009 b
19	1	0,046 f
19	2	0,019 c
19	4	0,009 b
19	8	0,001 a
25	1	0,009 b
25	2	0,001 a
25	4	0,000 a
25	8	0,000 a

^a la actividad β -glucanásica se calculó a partir de la pendiente de la recta de acuerdo al descenso de viscosidad por hora de la solución de β -glucano (0.1% w/v) con adición de extracto de harinas de arroz.

En la tabla 1 se observan los efectos de inactivación enzimática que provocan los tratamientos hidrotérmicos, comprobando los parámetros de efectividad del método, que a mayor humedad de la muestra y mayor tratamiento de MW, disminuye significativamente la actividad de degradación de BG, manteniendo su peso molecular y propiedades nutricionales. Los niveles de humedad y tiempos de tratamiento en los

que se produce la inactivación total de la actividad β -glucanásica se presentan en las muestras con humedades de 19% en tratamientos de 4 y 8 min. Y humedades de 25% en tratamientos de 2, 4 y 8 min. A los tratamientos en MW más largos (8min) a humedades del 13 y 16% aún se observó actividad β -glucanásica con respecto a la inicial, con una reducción de 65 y 91% respectivamente.

En la Figura 3 se observa la relación Humedad-Tiempo de tratamiento con respecto al descenso de la viscosidad de cada una de las muestras. Si se comparan la misma intensidad de tratamiento con diferente humedad se puede observar la importancia del contenido de humedad en la inactivación enzimática, por ejemplo a un tratamiento de 2 minutos por MW a harinas de 13, 16, 19 y 25% de contenido de agua se obtienen porcentajes de reducción de actividad β -glucanásica de 19, 52, 83 y 99% respectivamente en comparación a la harina inicial sin tratamiento.

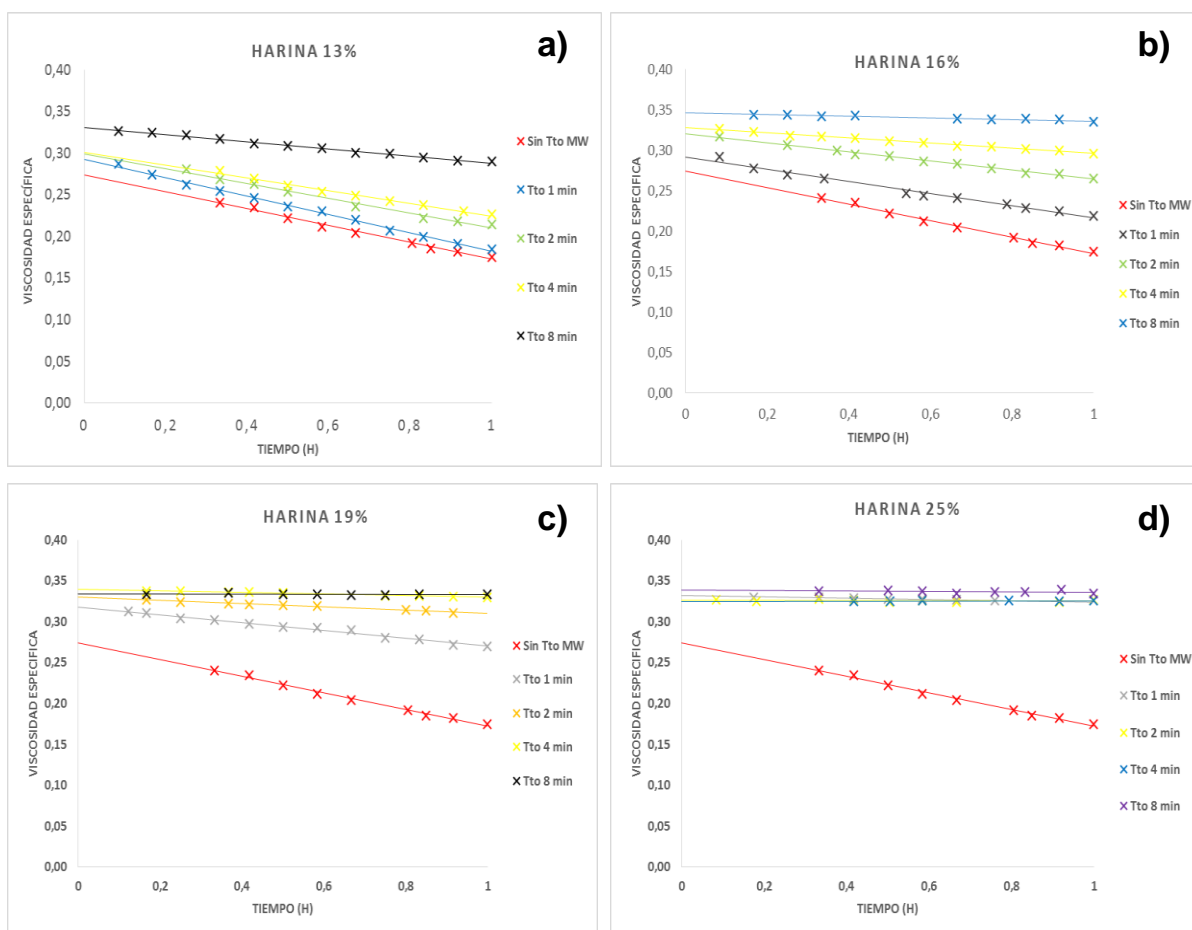


Figura 3. Gráficos del descenso de la viscosidad específica contra el tiempo a diferentes humedades (13% (a), 16% (b), 19% (c) y 25% (d)).

La gran importancia del agua en los tratamientos MW y, consecuentemente, en esta inactivación, se debe a que su naturaleza dipolar es la principal fuente de las interacciones del microondas con los alimentos, donde las moléculas de agua absorben la energía del microondas y se orientan con respecto al campo eléctrico aplicado, el rápido cambio en la orientación del campo, genera una fricción molecular que se traduce en generación de calor (Sumnu, 2001). Es decir, lo más probable es que el aumento de la humedad de la harina permite una absorción más rápida de la energía del microondas durante el tratamiento.

El estudio previo acerca de la inactivación de la actividad β -glucanásica de harinas de arroz mediante tratamientos de microondas (Pérez-Quirce y col., 2016) utilizó una harina con distribución de partícula más gruesa (6% > 150 μ m, 150 μ m > 63.2% > 100 μ m, 30.8% < 100 μ m) de denominación comercial "NPU", con respecto a la utilizada en la actual investigación con distribución de partícula fina (1% < 150 μ m, 150 μ m > 5-15% > 90 μ m, 90 μ m > 84% > 0 μ m) de denominación comercial "Microcer" de la misma variedad y lote. Ambas se analizaron con las mismas humedades y condiciones de tratamiento, diferenciando solo la granulometría del grano entre los estudios. El comportamiento de ambas a nivel de inactivación enzimática con respecto al tiempo es representado en la Figura 4, donde se observa que los perfiles de las gráficas son muy similares en las muestras con humedades del 16, 19 y 25% pero surge una gran fluctuación en la harina con humedad de 13%. La harina de menor tamaño de partícula no genera una disminución de la actividad tan pronunciada, mostrando una reducción aparentemente lineal en el gráfico, y un perfil de carácter logarítmico para la harina de mayor tamaño de partícula en el descenso de la viscosidad.

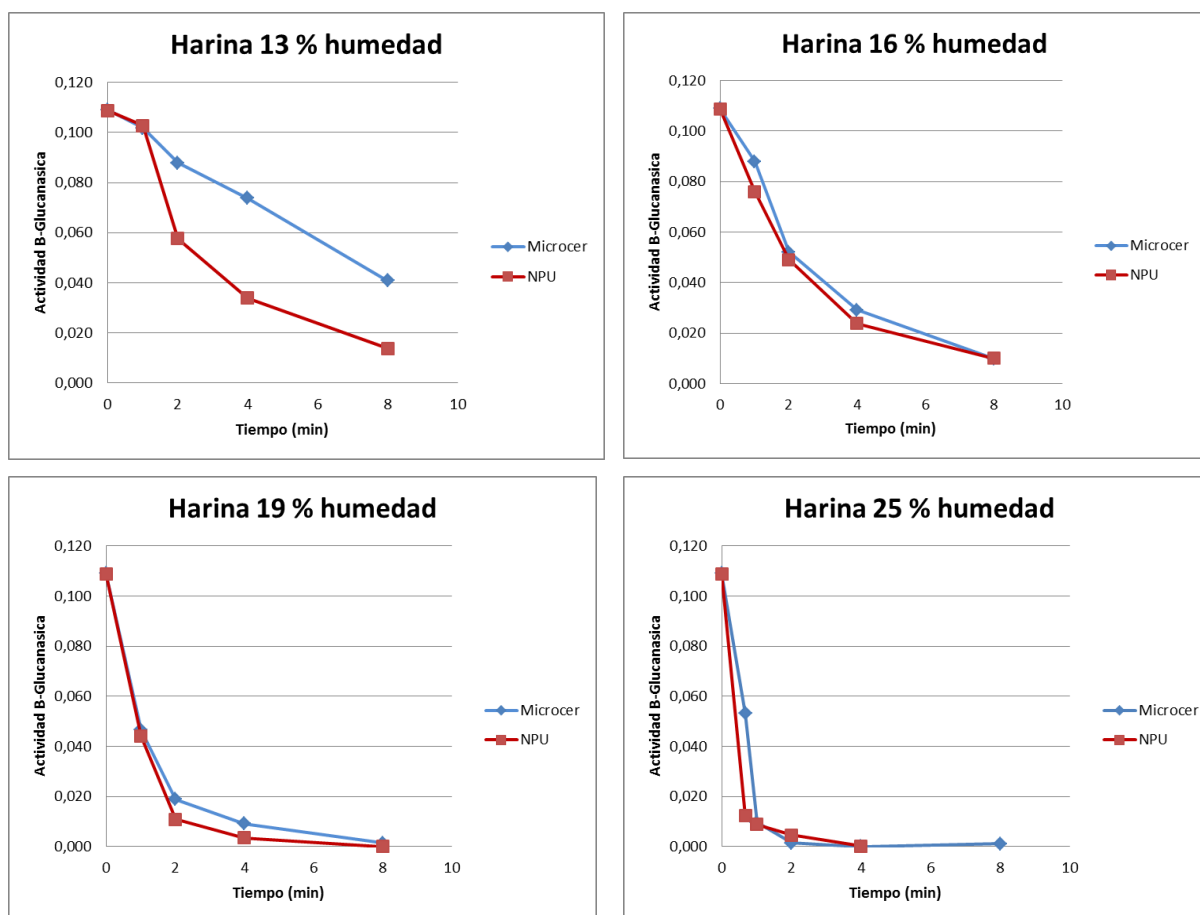


Figura 4. Comparación de perfiles de inactivación de actividad β -glucanásica de harinas con diferente tamaño de partícula: NPU (guesa) y Microcer (fina).

4.2. Cinética de inactivación β -glucanásica en harinas de arroz tratadas por microondas.

Para predecir el comportamiento de la actividad β -glucanásica se pueden ajustar los resultados estadísticos a la siguiente ecuación de regresión:

$A = A_0 e^{-k \cdot t}$; con k siendo dependiente del contenido de humedad (M) como lo demuestra la siguiente formula: $k = k_0 e^{-bM}$.

Generando la ecuación general de ajuste: $A = A_0 \exp [-k_0 t \exp (b.M)]$.

Donde A representa la actividad β -glucanásica, que depende del tiempo de tratamiento de MW, t (min), y la humedad de la harina, M (%). A_0 , k_0 y b son constantes estimadas para esta ecuación después de tratar 40 conjuntos de datos obtenidos del estudio, en la ecuación general.

El valor estimado de la constante A_0 fue de $(0,109 \pm 0,0013)/h$, lo que representa la actividad β -glucanásica inicial de la harina no tratada ($t = 0$). K_0 resultó ser $(0,0014 \pm 0,00026)/min$, cuyo valor representa la tasa de inactivación de la enzima cuando el contenido de humedad de la harina es de 0%; y b fue $(0,34 \pm 0,011)$, que representa una constante que cuantifica la influencia del contenido de agua de la harina en la velocidad de inactivación. El R^2 de esta regresión fue de 0.9912, con lo cual la ecuación predice con gran exactitud la variación de la actividad β -glucanásica durante el tratamiento de microondas entre 1-8 min y dentro del rango de humedades entre 13-25% manteniendo la potencia de 900W.

Con esta ecuación se puede optimizar la inactivación enzimática, variando las condiciones de tiempo de tratamiento y humedad, de tal de modo que sustituyendo los datos obtenidos de la regresión lineal en la ecuación de inactivación β -glucanásica se obtendría: $A = 0.109 \cdot \exp [-0.0014 \cdot t \cdot \exp (0.34 \cdot M)]$, comparándola con la ecuación $A = 0.109 \cdot \exp [-0.0146 \cdot t \cdot \exp (0.212 \cdot M)]$ de Pérez-Quirce y col. (2016), donde se observa que la principal diferencia está en los valores de K_0 y b , siendo más destacable el K_0 , la que indica el valor de la constante cinética de inactivación a humedad cero, y su relación lógica con el aumento de la constante b .

4.3 Perfiles de viscosidad de las harinas tratadas por MW.

El tratamiento en microondas, además de afectar la actividad enzimática, también puede influir de forma notable en las propiedades reológicas de las harinas. Hay estudios que demuestran que el almidón (componente principal de la harina de cereales) presenta cambios estructurales al ser sometidos a la energía de microondas. Por ejemplo, Román y col. (2015) mostraron que harinas de maíz tratadas por microondas durante tiempos cortos aumentaron su viscosidad durante el ciclo de calentamiento-enfriamiento, pero en tiempos largos de tratamiento en MW se produjo el efecto contrario disminuyéndose la viscosidad.

Los gránulos de almidón no son solubles en agua fría, esta insolubilidad es debido a los fuertes enlaces de hidrógeno que sostienen las cadenas de almidón, pero pueden retener pequeñas cantidades de agua lo que provoca una pequeña hinchazón del gránulo, la cual es reversible por medio de desecación. Sin embargo cuando el almidón se calienta en exceso de agua por encima de la temperatura de empastado la

estructura cristalina que conforma los gránulos se altera, provocando un aumento en el tamaño de los gránulos y solubilización parcial del almidón (Hoover, 2001).

El almidón calentado en exceso de agua por encima de cierta temperatura sufre un cambio irreversible conocido como gelatinización, que es el resultado del colapso del orden molecular que incluye la pérdida de la cristalinidad del gránulo de almidón, absorción de agua y lixiviación de amilosa en el medio (Zhong y col., 2009), después de la gelatinización el almidón hay un punto en el que los gránulos no soportan tal absorción de agua y se pierde su estructura conocido como pico de viscosidad (PV).

Tabla 2. Efectos del tratamiento de microondas en los parámetros de viscosidad de harinas de arroz.

Humedad harina (%)	Tiempo tratamiento MW (min)	PV (mPa's)	TR (mPa's)	BR (mPa's)	FV (mPa's)	SB (mPa's)	PT (min)	Pasting temp (°C)
13	0	2680 h	2035 efgh	644 efg	5047 h	3012 i	5,9 d	80 ab
13	1	2679 h	2011 bcdefg	668 g	4987 h	2976 i	5,7 abcd	80 a
13	2	2597 defg	1940 ab	656 fg	4776 fg	2835 hi	5,7 abcd	80 ab
13	4	2581 cdef	1980 abcdef	601 ef	4617 de	2637 fg	5,8 bcd	81 abc
13	8	2575 cde	1968 abcde	607 efg	4521 d	2553 ef	5,6 ab	81 ab
16	1	2647 gh	2059 gh	588 e	4759 efg	2700 fgh	5,8 cd	80 ab
16	2	2636 fgh	2004 abcdefg	632 efg	4754 efg	2750 gh	5,7 abc	80 ab
16	4	2614 efg	2024 defgh	590 e	4644 def	2620 fg	5,7 abc	80 ab
16	8	2533 c	2012 cdefg	520 d	4363 c	2351 cd	5,6 a	81 bc
19	1	2682 h	2026 defgh	656 fg	4804 g	2777 gh	5,7 abc	80 ab
19	2	2686 h	2081 h	604 ef	4753 efg	2671 fgh	5,6 ab	81 ab
19	4	2532 c	2041 fgh	491 cd	4336 c	2295 cd	5,7 abc	81 ab
19	8	2549 cd	2066 gh	483 cd	4318 c	2252 cd	5,6 a	81 bc
25	1	2460 b	1956 abcd	504 d	4335 c	2379 de	5,7 abcd	80 a
25	2	2375 a	1939 a	435 bc	4124 b	2185 bc	5,7 abc	81 abc
25	4	2357 a	1946 abc	411 b	3980 b	2034 b	5,6 ab	82 c
25	8	2383 a	2075 gh	308 a	3825 a	1750 a	5,8 bcd	84 d
Error estándar		19	24	21	52	64	0.06	0.42
Valor P		0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00

Dentro del conjunto de datos de cada parámetro, diferentes letras en los valores medios de las respectivas columnas implican diferencias significativas entre los medios a $p < 0,05$.

En la Tabla 2. Se ven los efectos que provocan cada tratamiento en la gráfica del Rapid Visco Analyzer (RVA), donde se concluye que se encuentra una relación estrecha entre el descenso del pico de viscosidad (Peak Visc.) a medida aumenta la humedad de la muestra, observándose PV más bajos en harinas al 25% en relación a los picos de harinas con 13%, también se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tiempos de tratamientos de microondas (mas propiamente dicho entre los tratamientos de menos tiempo (1 y 2 min) y los más largos (4 y 8min) y los PV, encontrándose una relación que entre más largo es el tratamiento por MW más bajo tiende a ser el pico de viscosidad, también se observa que no se encuentran diferencias significativas manteniendo el tiempo de tratamiento y variando la humedad, en las muestras con 13, 16 y 19% a excepción de la muestra con 25% de humedad.

Watcharatewinkul y col., (2009) explican en su estudio que los tratamientos hidrotérmicos provocan cambios intensos en los gránulos de almidón, lo cual se traduce en aumentos de temperaturas de empaste, además de disminución de viscosidades de pico y finales, sosteniendo que estos cambios se deben a las asociaciones de las cadenas de las regiones amorfas y cambios en las cristalinidad que ocurren durante el tratamiento hidrotérmico, además que si se toma en cuenta el contenido de humedad de las muestras a tratar, estos cambios se intensifican (Olayinka y col., 2008).

Al romperse los gránulos de almidón se genera una curva de reducción de viscosidad (TR) y, posteriormente, ocurre un fenómeno en el cual las moléculas solubilizadas de amilosa y las fracciones lineales de amilopectina forman reasociaciones por enlaces de hidrogeno, expresado como un aumento de la viscosidad progresivo (ST). Este proceso es utilizado para describir los cambios producidos al almidón después de la gelatinización y viene acompañado de una perdida de agua en el gel, llamado sinéresis, la temperatura requerida para la gelatinización de almidones es importante porque define la proporción de energía necesaria para cocinar, y a escala industrial requiere mucha importancia en el aspecto del gasto energético (Zavarece y col., 2011).

Tomando la viscosidad de caída (Trough, TR) como variable se observa que no existen diferencias significativas entre los diferentes tiempos de tratamiento

manteniendo la humedad constante, se observa una diferencia significativa en la harina con 25% de humedad y tratamiento de 8 min en MW con los demás tratamientos en MW a 25%, lo que concuerda con el estudio de Pérez-Quirce y col., (2016) donde su estudio demostró que había un aumento importante de la TR en la harina con más alto contenido de humedad, 25%, y en el tratamiento más largo, en el caso de ellos 4min, concluyendo que las harinas tratadas en microondas son más estables durante calentamiento y agitación continua.

En otro parámetro como es la estabilidad (Breakdown) se puede concluir que a medida va aumentando la humedad al igual que los tratamientos se van generando diferencias entre las muestras, además que entre más humedad se sigue una tendencia a disminuir el BD, por ejemplo las humedades de 16%, 19% y 25% en tratamientos de 8 min, se diferencian significativamente de los demás tratamientos. La viscosidad final (Final Visc.) como parámetro a analizar posee la tendencia de que a medida aumenta la humedad de las muestras la viscosidad final disminuye, solo manteniéndose sin diferencias las harinas con humedades de 16 y 19% y tratamientos de 1 y 2 min, además de presentar un comportamiento de una disminución muy pronunciada de viscosidad a medida se aumenta el tiempo de tratamiento de MW.

Otro parámetro analizado estadísticamente fue el la retrogradación (Setback), la cual así como los comportamientos anteriores de los demás parámetros presenta una tendencia a bajar, a medida aumenta la humedad al igual que cuando aumenta el tiempo de tratamiento por MW, presentándose mayores diferencias significativas en los tratamientos de 4 y 8 minutos de cada humedad, con respecto a los tratamientos de 1 y 2 min esto mismo se observa en el estudio de Román y col. (2015), en el cual se explica que en tratamientos cortos de MW se observa un aumento de la viscosidad en y en tratamientos más largos el efecto es contrario debido a que la viscosidad disminuye, en este caso de nuestro estudio es un descenso muy bajo e incluso despreciable en tratamientos cortos pero en tratamientos largos se observa la disminución pronunciada de la viscosidad, lo que refleja un aumento de la estabilidad de las harinas tratadas térmicamente por microondas (Sun y col., 2014).

El tiempo de pico de viscosidad (Peak time) es una de las variables que menos diferencias presentan, manteniéndose tiempos que no dependen ni del grado de humedad, ni del tiempo de tratamiento. Y por último se analizó estadísticamente la

temperatura de empastado (Pasting temp.) observándose que no varía para ningún tratamiento, solo tuvo un aumento significativo en las humedades más altas (25%), a tiempos de 4 y 8 minutos de tratamiento, con variación de 2-4°C con respecto al control, lo cual estudios de Stevenson y col., (2005) y Lewandowicz y col. (2000), informan por igual que almidones calentados denotan un aumento en la temperatura de gelatinización. Sun y col., (2014) explicaron que la harina al ser tratada por MW podría tener mayor dificultad para absorber agua e iniciar la hinchazón, mayor cristalinidad y la rigidez del almidón gránulos impiden la absorción de agua; de hecho, el aumento de la cristalinidad promueve un retraso en el inicio de gelatinización, ya el agua es absorbida principalmente por las regiones amorfas, y así aumenta la temperatura de empaste.

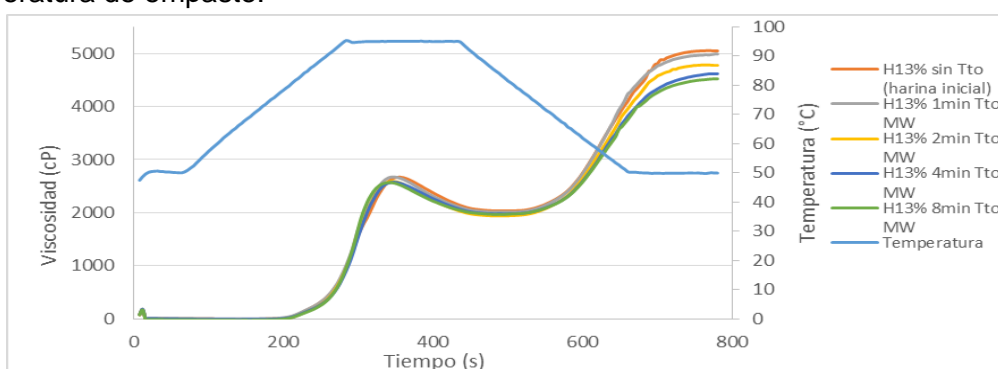


Figura 5. Perfiles de viscosidad de harina control (13%) no tratada y con diferentes tratamientos de MW (1, 2, 4 y 8 min.)

En la figura 5 se observan las distintas gráficas de las muestras de harinas a una humedad constante de $13 \pm 0.3\%$, donde se observan los cambios que se generan dependiendo del tiempo de tratamiento en microondas en los diferentes parámetros del gráfico del RVA. Siendo el más pronunciado el descenso de la viscosidad final a medida se extiende el tratamiento de MW.

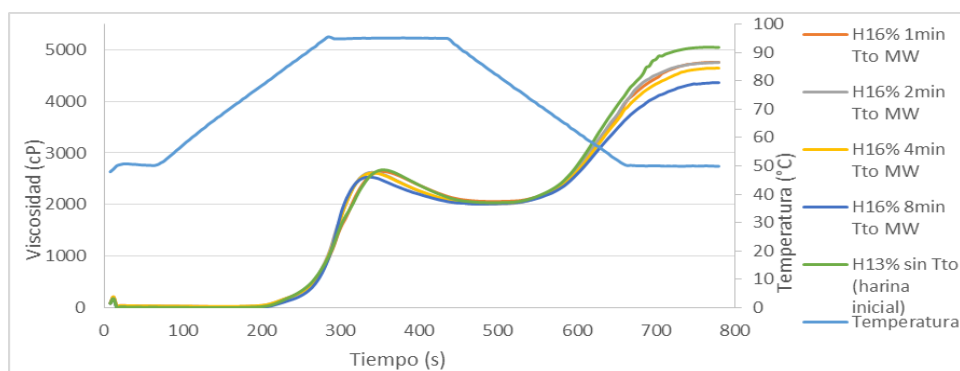


Figura 6. Perfiles de viscosidad de harina control (13%) no tratada y harina con humedad del 16% con diferentes tratamientos de MW (1, 2, 4 y 8 min.).

En la Figura 6, siguiendo la misma tendencia, que a medida se aumenta el tratamiento con energía de microondas cambian los perfiles de viscosidad de las harinas tratadas, en este caso los perfiles de las harinas con un contenido de humedad a 16%, tratadas con 1 y 2 min. Presentan perfiles similares, en cambio la tratada con 8min. Denota un descenso muy pronunciado con respecto a las demás y además muy importante si se compara con el perfil de la harina inicial (Humedad 13%, sin tratamiento).

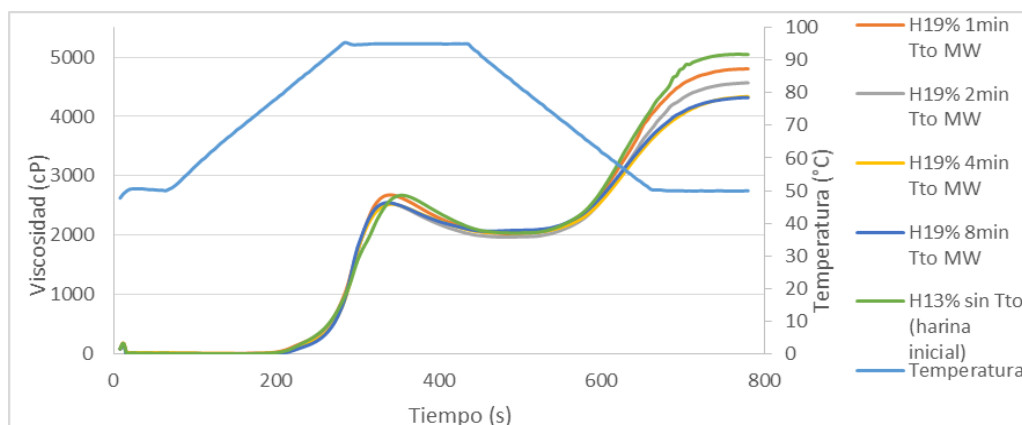


Figura 7. Perfiles de viscosidad de harina control (13%) no tratada y harina con humedad del 19% con diferentes tratamientos de MW (1, 2, 4 y 8 min.).

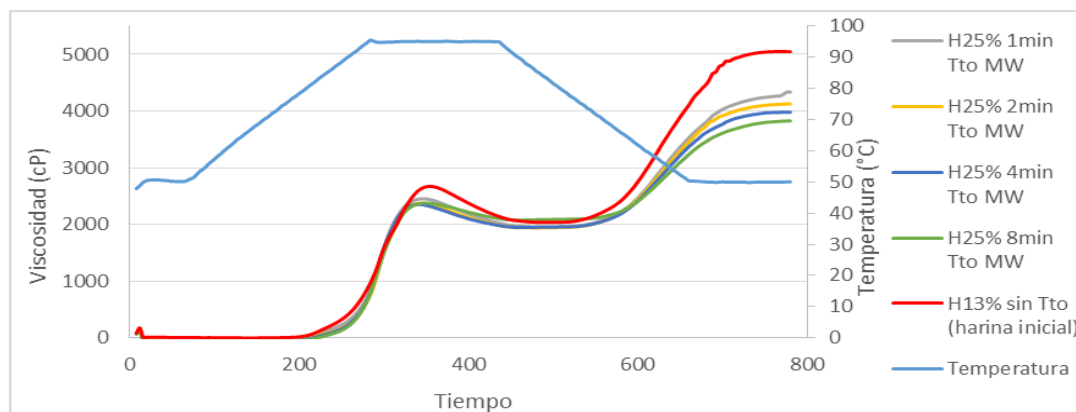


Figura 8. Perfiles de viscosidad de harina control (13%) no tratada y harina con humedad del 25% con diferentes tratamientos de MW (1, 2, 4 y 8 min.).

En las Figuras 7 y 8 se representan los perfiles de viscosidad de las harinas con humedades de 19 y 25% respectivamente, cada una comparando los diferentes tratamientos de MW con respecto a la harina inicial sin tratamiento, y como se explica estadísticamente en la tabla. 2. Denotan las mismas tendencias de reducir muchos parámetros con respecto se aumenta su tiempo de tratamiento. Así que estos gráficos van acorde con estudios realizados acerca del comportamiento de los perfiles de la

viscosidad de harinas al ser sometidos en tratamientos de MW. Olayinka y col. (2008) estudiaron el efecto del tratamiento hidrotérmico en almidón de sorgo blanco e informaron acerca de la intensidad de sus efectos sobre las propiedades de pasting del almidón. A medida que el porcentaje de humedad aumenta, su temperatura de la pasting aumenta y pico de viscosidad disminuye. También informaron una reducción significativa de la retrogradación después del tratamiento hidrotérmico. Explicando que a medida que se fortalecen las fuerzas intragranulares, el almidón requiere más calor para la desintegración estructural y la formación de pasta. Por lo tanto, una temperatura alta de pasting indica que hay más fuerzas y enlaces cruzados presentes dentro de los gránulos de almidón.

5. CONCLUSIONES

El enriquecimiento de productos de panadería sin gluten con β -glucanos en vista de mejorar la calidad nutricional se proyecta como una necesidad para suplir muchas carencias nutricionales de la población celiaca. Esta investigación comprobó la eficacia del tratamiento térmico de microondas para la inactivación de la β -glucanasa, enzima responsable de la degradación de los BG que conlleva a la reducción de peso molecular y, consecuentemente, de su aporte beneficioso a la salud. Se concluye que el método de tratamiento por energía de MW es muy eficaz para la inactivación de la enzima β -glucanasa endógena en la harina de arroz. El grado de inactivación es un valor que depende de dos factores como lo son la humedad de la harina y el tiempo de tratamiento, obteniendo la relación que a medida aumentan estos factores, la actividad enzimática se reduce significativamente. Al ser la inactivación β -glucanásica un valor dependiente a la humedad y tiempo de tratamiento MW se pudo ajustar a una ecuación potencial. Así que variando estos valores independientes se puede conseguir la inactivación total de la enzima y evitar la hidrólisis de los BG que reduzca sus beneficios saludables.

Con respecto al tamaño de partícula se comparó el grado de inactivación de la harina de arroz de tamaño pequeño (Microcer) con el del estudio de Pérez-Quirce y col. (2016), que trabajaron con harina de arroz de tamaño grueso (NPU) a humedades de 13, 16, 19 y 25%, en donde se observaron perfiles muy similares en los gráficos del descenso de la actividad β -glucanásica con respecto al tratamiento en MW correspondiente a cada humedad, encontrando únicamente diferencias notables en la

harina con humedad del 13% con un descenso menos pronunciado, por lo que se incluiría como factor de estudio, además de la humedad y el tiempo de tratamiento también el tamaño de partícula, que aunque no sea un factor muy crítico, su variación presenta diferentes efectos que pueden repercutir de manera significativa en la inactivación β -glucanasa, por ejemplo, la constante cinética muy inferior que presentan las harinas con tamaño de partícula más fina, comparadas a las harinas de partícula mas gruesa.

Las propiedades de empastado de la harina de arroz analizadas mediante los gráficos del RVA se vieron afectadas por los cambios de humedad y tratamiento en MW, mostrando efectos significativos en los parámetros de caída de viscosidad, retrogradación y viscosidad final, lo que representa el daño en la cristalinidad del almidón en harinas de tamaño de partícula fino. Este daño tiende a aumentar a medida los valores de humedad de la harina y tiempo de tratamiento también aumenta, dando resultados significativamente diferentes a los correspondientes de la harina inicial con contenido de humedad de 13% y sin tratamiento.

6. AGRADECIMIENTOS

Dedico en primer lugar este trabajo a Dios, que me ha guiado y dado la fortaleza de seguir adelante ante cualquier tropiezo, dándome la oportunidad de obtener otro triunfo personal.

De igual manera, a mis tutoras: la Dra. Felicidad Ronda y la doctorando Sandra Pérez-Quirce por su gran ayuda para la elaboración del presente Trabajo Fin de Máster y la elaboración de este informe, sin su apoyo nada de esto podría haber sido posible.

A mis padres, hermanos, demás familiares y amigos, por su apoyo moral brindado incondicionalmente a la distancia.

Al programa de becas ERASMUS EURICA, por haberme dado la oportunidad de cursar mis estudios de posgrado y haber estado tan pendientes de mí progreso académico.

A mis compañeros y amigos del Máster con los que compartí grandes momentos.

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto (AGL2015-63849-C2-2-R) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y los Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (MINECO /FEDER).

7. BIBLIOGRAFÍA

American Association of Cereal Chemists. (1995). Approved methods (9th ed.). Minneapolis, USA: American Association of Cereal Chemists.

Abdul-Hamid, A., Sulaiman, R.R., Osman A., Saari N. (2007). Preliminary study of the chemical composition of rice milling fractions stabilized by microwave heating. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 627–637.

Andersson, A., Armo, E., Grangeon, E., Fredriksson, H., Andersson, R., Aman, O. (2004). Molecular weight and structure units of (1-3, 1-4)-b-glucans in dough and bread made from hull-less barley milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 40, 195–204.

Ashraf, S., Ghufuran Saeed, S. M., Sayeed, S. A., Ali, R. (2012). Impact of Microwave Treatment on the Functionality of Cereals and Legumes. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14(3), 365–370.

Biliaderis, C.G. (2009). Structural transitions and related physical properties of starch. In R. L. Whistler, & J. N. BeMiller (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology*, 3, 293–372.

Butt, M. S., Tahir-Nadeem, M., Khan, M. K. I., Shabir, R., & Butt, M. S. (2008). Oat unique among cereals. *European Journal of Nutrition*, 47, 68-79.

Chandrasekaran, S., Ramanathan, S., Basak, Tanmay. (2013). Microwave Food processing-A review. *Food Research International*, 52, 243–261.

Childs W. N. (2006). Production and utilization of rice. En Champagne, E. T. *Rice: Chemistry and Technology*. (págs. 1-24). St. Paul (Minnesota): American Association of Cereal Chemists.

De la Hera, E., Gómez M., Rossel, C. M. (2013). Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties. *Carbohydrate Polymers*, 98, 421–427.

De la Hera, E., Martínez, M., Gómez M. (2013). Influence of flour particle size on quality of gluten-free rice bread. *LWT - Food Science and Technology*, 54, 199-206.

Delcour, J. A., Hosney, R. C. (2010). *Principles of cereal science and Technology*. Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, 3rd ed., (pp. 1–22).

EFSA. (2009). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta-glucans and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 754, 755, 757, 801, 1465, 2934) and maintenance or achievement of a normal body weight (ID 820, 823) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 7(9):1254, 18.

EFSA. (2011). Scientific opinion on the substantiation of health claims related to beta-glucans from oats and barley and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1236, 1299), increase in satiety leading to a reduction in energy intake (ID 851, 852), reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 821, 824), and Bdigestive function^ (ID 850) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No. 1924/2006. *EFSA Journal*, 9(6):2207, 21.

Galvin, M. J., Parks, D. L., McRee, D. I. (1981). Influence of 2.45 GHz Microwave Radiation on Enzyme Activity. *Radiation Environmental Biophysics*, 19, 149-156.

Hoover, R. (2001). Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 45, 253–267.

Kermasha, S., Bisakowski, B., Ramaswamy, H., Van de Voort, F. R. (1993). Thermal and microwave inactivation of soybean lipoxygenase. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 26, 215-219.

Lai, H-M. (2001). Effects of hydrothermal treatment on the physicochemical properties of pregelatinized rice flour. *Food Chemistry*, 72, 455-463.

Lazaridou, A., Biliaderis, C. G. (2007). Molecular aspects of cereal b-glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects. *Journal of Cereal Science*, 46, 101–118.

Lazaridou, A., Marinopoulou, A., Matsoukas, N. P., Biliaderis, C. G. (2014). Impact of flour particle size and autoclaving on β -glucan physicochemical properties and starch

digestibility of barley rusks as assessed by in vitro assays. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 4, 58–73.

Lewandowicz, G., Jankowski, T., Fornal, J. (2000). Effect of microwave radiation on physico-chemical properties and structure of cereal starches. *Carbohydrate Polymers*, 42, 193–199.

Lou, Z., He, X., Fu, X., Lou, F., Gao, Q. (2006). Effect of Microwave Radiation on the Physicochemical Properties of Normal Maize, Waxy Maize and Amylomaize V Starches. *Starch/Stärke*, 58, 468–474.

Matsui, K. N., Wilhelms Gut, J. A., Oliveira, P. V., Tadini, C. C. (2008). Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. *Journal of Food Engineering*, 88, 169–176.

Murphy, E.A., Davis, J.M., Brown, A.S., Carmichael, M.D., Mayer, E.P., Ghaffer, A., 2004. Effects of moderate exercise and oat b-glucan on lung tumor metastases and macrophage antitumour cytotoxicity. *Journal of Applied Physiology* 97, 955–959.

Murphy, P., Bello, F. D., O'Doherty, J., Arendt, E. K., Sweeney, T., Coffey, A. (2012). Effects of cereal b-glucans and enzyme inclusion on the porcine gastrointestinal tract microbiota. *Anaerobe*, 18, 557-565.

Olayinka, O. O., Adebawale, K. O., & Olu-Owolabi, B. I. (2008). Effect of heat-moisture treatment on physicochemical properties of White sorghum starch. *Food Hydrocolloids*, 22, 225–230.

Ozkoc, S. O., Sumnu, G., Sahin, S. (2014). Recent Developments in Microwave Heating. *Emerging Technologies for Food Processing*, 361- 383.

Patil, S. S., Kar, A., Mohapatra, D. (2016). Stabilization of rice bran using microwave: Process optimization and storage studies. *Food and bioproducts processing*, 99, 204–211.

Pavelkic, V. M., Stanisavljev, D. R., Gopcevic, K. R., Beljanski, M. V. (2009). Influence of Microwave Irradiation on Enzyme Kinetics. *Russian Journal of Physical Chemistry*, 83(9), 1473–1477.

Pérez-Quirce, S., Ronda, F., Melendre, C., Lazaridou, A., Biliaderis, C. G. (2016). Inactivation of Endogenous Rice Flour β -Glucanase by Microwave Radiation and Impact on Physico-chemical Properties of the Treated Flour. *Food Bioprocess Technology*. DOI 10.1007/s11947-016-1741-y.

Rodrigues Ferreira, S. M., Mello, A. P., Rosas dos Anjos, M. C., Hecke Kruguer, C. C., Azoubel, P. M., Oliveira Alves, M. A. (2016). Utilization of sorghum, rice, corn flours with potato starch for the preparation of gluten-free pasta. *Food Chemistry*, 191, 147–151.

Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Lazaridou, A., Biliaderis, C.G. (2015). Effect of barley and oat b-glucan concentrates on gluten-free ricebased doughs and bread characteristics. *Food Hydrocolloids*, 48, 197-207.

Rosell, C. M., Barro, F., Sousa, C., & Mena, M. C. (2014). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *Journal of Cereal Science*, 59, 354–364.

Souki, A., Almarza, J., Cano, C., Vargas, A. E., Inglett, G. E. (2011). Metabolic Effects of b-Glucans Addition to Corn Maize Flour. *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention*, (Págs. 451-461). DOI: 10.1016/B978-0-12-380886-8.10041-8.

Stephany, M., Eckert, P., Bader-Mittermaier, S., Schweiggert-Weisz, U., Carle, R. (2016). Lipoxigenase inactivation kinetics and quality-related enzyme activities of narrow-leafed lupin seeds and flakes. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 36-43.

Stevenson, D. G., Biswas, A., & Inglett, G. E. (2005). Thermal and pasting properties of microwaved corn starch. *Starch*, 57(8), 347–353.

Sumnu, G. (2001). A review on microwave baking of foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 117– 127.

Sun, Q., Han, Z., Wang, L., & Xiong, L. (2014). Physicochemical differences between sorghum starch and sorghum flour modified by heatmoisture treatment. *Food Chemistry*, 145, 756–764.

Vadivambal, R., Jayas, D.S. (2007). Changes in quality of microwave-treated agricultural products-a review. *Biosystems engineering*, 98, 1–16.

Vici, G., Belli, L., Biondi, M., Polzonetti, V. (2016). Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clinical Nutrition*, xxx. 1-6.

Watcharatewinkul, Y., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., & Uttapap, D. (2009). Pasting properties of a heat-moisture treated canna starch in relation to its structural characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 75, 505–511.

Wood, P. (2007). Cereal b-glucans in diet and health. *Journal of Cereal Science* 46, 230–238.

Wood, P. J. (2010). Oat and rye beta-glucan: properties and function. *Cereal Chemistry*, 87(4), 315-330.

Zavareze, E. R., Storck, C. R., Suita de castro, L. A., Schirmer, M. A., Guerra Días, A. R. (2010). Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content. *Food Chemistry*, 121, 358–365.

Zavareze, E. R., Guerra días, A. R. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83, 317–328.

Zhong, F., Li, Y., Ibanz, A. M., Oh, M. H., Mckenzie, K. S., & Shoemaker, C. (2009). The effect of rice variety and starch isolation method on the pasting and rheological properties of rice starch pastes. *Food Hydrocolloids*, 23, 406–414.

Zhu, S., Wu, Y., Yu, Z., Liao, J., Zhang, Y. (2005). Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis. *Process Biochemistry*, 40, 3082–3086.