



**TRATAMIENTO DE GRANOS DE TRIGO
SARRACENO CON ALTAS
PRESIONES HIDROSTÁTICAS: ESTUDIO
DEL EFECTO DE LA PRESIÓN Y DEL
TIEMPO DE TRATAMIENTO SOBRE
LAS PROPIEDADES FUNCIONALES
Y NUTRICIONALES DE LAS HARINAS
RESULTANTES**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2019/2020

Alumno: Irene Carlota Padrones Gobernado

Tutor: Pedro Antonio Caballero Calvo

Director: Ángel L. Gutiérrez de la Fuente

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

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Estrategias para mejorar la calidad de los productos horneados sin gluten	2
1.2. Tratamiento físico de las harinas sin gluten.	3
1.3. La tecnología de las altas presiones hidrostáticas	4
1.4. Mejora de las propiedades nutricionales y funcionales de matrices sin gluten mediante la tecnología APH	4
2. OBJETIVO	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1. Materiales.....	8
3.2. Métodos	8
3.2.1. <i>Preparación de las muestras y tratamiento de APH</i>	8
3.2.2. <i>Obtención de las harinas a partir de las muestras de grano tratadas</i>	9
3.2.3. <i>Propiedades funcionales</i>	9
3.2.4. <i>Propiedades de empastado de las harinas</i>	11
3.2.5. <i>Comportamiento reológico de los geles</i>	11
3.2.6. <i>Determinación del contenido de fenoles solubles e insolubles de las harinas.</i>	12
3.2.7. <i>Capacidad Antioxidante</i>	13
3.2.8. <i>Análisis estadístico</i>	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1. Propiedades funcionales	14
4.1.1. <i>Propiedades de hidratación y capacidad de absorción de aceite</i>	14
4.2.2 <i>Propiedades emulsionantes y de formación de espuma</i>	16
4.2 Propiedades de empastado de las harinas.....	18
4.3 Comportamiento reológico de los geles.....	20
4.4 Determinación del contenido de fenoles totales de las harinas.....	23
4.5 Capacidad antioxidante	24
5. CONCLUSIONES	26
AGRADECIMIENTOS	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

RESUMEN

Las tecnologías de tratamiento físico como las altas presiones hidrostáticas (APH), han sido escasamente aplicadas sobre granos enteros de trigo sarraceno. Con el fin de estudiar el efecto de este tratamiento sobre las propiedades funcionales y nutricionales de las harinas obtenidas, los granos de este pseudocereal, previamente pretratados mediante una operación de remojo a 40°C durante 4 horas, se sometieron a tratamientos APH en condiciones controladas de 300 y 600 MPa durante 15 y 30 minutos. El tratamiento APH tuvo un efecto significativo sobre las propiedades de hidratación, aumentando su valor frente a la muestra control con los tratamientos realizados a presiones de 600 MPa. Sin embargo, un efecto contrario se observó en las propiedades emulsionantes y espumantes, las cuales se vieron reducidas al aumentar la intensidad de tratamiento. Para estudiar el comportamiento viscoelástico de los geles se llevaron a cabo ensayos oscilatorios (barrido de deformación y barrido de frecuencias) en los que se pudo observar que el empleo de APH condujo a geles con una mejora en la resistencia estructural de la red del gel. Respecto a las propiedades nutricionales, se evaluó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de las harinas, obteniéndose una mayor extracción de fenoles y capacidad antioxidante tras la aplicación de tratamientos de 600 MPa durante 15 minutos.

Palabras clave: altas presiones hidrostáticas, trigo sarraceno, grano entero, propiedades funcionales, propiedades nutricionales.

ABSTRACT

The use of emerging technologies, such as high hydrostatic pressures, on whole buckwheat grains has been meagrely investigated. In order to study how the functional and nutritional properties of the flours obtained were affected by the treatment, the grains of this pseudocereal, previously pre-treated by soaking at 40°C for 4 hours, were subjected to HHP treatments under controlled conditions of 300 and 600 MPa for 15 and 30 minutes. The HHP treatment had a significant effect on the hydration properties, increasing its value compared to the control sample with the treatments carried out at pressures of 600 MPa. However, in the emulsifying and foaming properties an opposite effect was observed due to an increase in the treatment intensity. In order to study the viscoelastic behaviour of the gels, oscillatory tests (deformation scan and frequency scan) were carried out. It was observed that the use of HHP led to gels with an enhancement structural resistance of the gel network. Regarding the nutritional properties, the content of total phenols and the antioxidant capacity were evaluated,

achieving the highest extraction of phenols and antioxidant capacity at pressures of 600 MPa and times of 15 minutes.

Keywords: high hydrostatic pressure, buckwheat, whole grain, functional properties, nutritional properties.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Estrategias para mejorar la calidad de los productos horneados sin gluten

La existencia de un colectivo especial que requiere de productos que no contengan gluten es una realidad a nivel mundial. Con el fin de mejorar la calidad tecnológica y nutricional y satisfacer las expectativas de los clientes se han venido empleando diversas estrategias que permiten mejorar las deficiencias en el pan sin gluten. (Mariotti et al., 2013). Entre ellas destaca la incorporación de ingredientes funcionales en las formulaciones de estos panes, que mimetizan la red de gluten en productos dirigidos a la población celiaca. Diversos estudios han reportado la mejora de las propiedades viscoelásticas de las masas sin gluten mediante la adición de hidrocoloides (Kittisuban et al., 2014; Ronda et al., 2015). Varios ingredientes de origen proteico como las proteínas de la leche se han empleado para dar lugar a una matriz similar al gluten en el pan, lo que resultó en la mejora de la textura de la miga y la ralentización del endurecimiento del producto (Moroni et al., 2009). El empleo de enzimas como las proteasas microbianas también se ha propuesto para mejorar la calidad del pan hecho a base de arroz (Hamada et al., 2013). Mediante el uso de la enzima transglutaminasa, mejoró el proceso de elaboración del pan promoviendo la formación de “redes” parecidas a las del gluten (Pongjaruvat et al., 2014; Renzetti et al., 2008). La utilización de otros aditivos ha permitido también mejorar la estructura y la textura, así como la aceptabilidad y la vida útil. Entre los aditivos utilizados se encuentra el ácido láctico, el ácido cítrico, el fosfato monosódico, que tuvieron un efecto positivo sobre la textura de pan de arroz, o el ácido acético cuya adicción a la harina de arroz incrementó el volumen del pan en un 10% (Blanco et al., 2011).

El incremento del valor nutricional de estos panes se ha promovido mediante la adición de granos integrales como el amaranto, el trigo sarraceno, el mijo, la quinoa, el arroz integral, el sorgo y el teff (L. Alvarez-Jubete et al., 2009; Moroni et al., 2009; Turkut et al., 2016). La suplementación de panes con fibras como la inulina demostró también un efecto positivo en el volumen del pan y la dureza de la miga en panes hechos a base de almidón de maíz y patata (Ziobro et al., 2013). Se ha planteado el empleo de fibra de *Psyllium* para mejorar la capacidad de trabajo de la masa, así como la absorción de agua de la misma (Cappa et al., 2013).

1.2. Tratamiento físico de las harinas sin gluten.

En los últimos años, se han investigado diversos métodos alternativos para mejorar las características y la calidad de las harinas sin gluten. Para ello, se ha planteado la modificación de las propiedades del almidón y su estructura molecular mediante tratamientos físicos, ya que éste es el principal ingrediente de los productos sin gluten, influyendo directamente en los procesos de gelatinización y retrogradación (Padalino et al., 2016).

El **tratamiento hidrotérmico (Heat Moisture Treatment, HMT)** se fundamenta en controlar la movilidad molecular a altas temperaturas mediante la limitación del contenido en agua. Se promueve así la interacción de las cadenas poliméricas al romper la estructura cristalina y disociar la estructura de doble hélice en la región amorfa (Zavareze & Dias, 2011). El tratamiento HMT de los sistemas de almidón en agua tiene como resultado el hinchamiento de los gránulos. De este modo, se fomenta un incremento en el volumen de los productos y cambios en las propiedades mecánicas de los mismos. Investigadores como Kim et al. (2017) han constatado una reducción en la dureza de los productos como consecuencia de las reorganizaciones en la red estructural de la harina tras el tratamiento.

El **tratamiento con microondas** constituye un tratamiento físico alternativo a los procesos de calentamiento convencionales. La irradiación por microondas puede inducir el reordenamiento de las regiones cristalinas dentro de los gránulos de almidón y conducir a cambios en sus propiedades fisicoquímicas (Braşoveanu & Nemţanu, 2014). Luo et al. (2006) observaron que la irradiación por microondas provocó un incremento en el rango de la temperatura de gelatinización en muestras de arroz, y una caída en la viscosidad y cristalinidad que pudo deberse a los reordenamientos moleculares restringidos a determinadas secciones de las moléculas de almidón. Un comportamiento similar fue observado por Lewandowicz et al. (1997) en muestras de tapioca y patata.

Por otra parte, el uso del **tratamiento de ultrasonidos (US)** se basa en el empleo de ondas sonoras de frecuencia superior a la percibida por el oído humano que viajan por una solución, provocando cambios de presión y temperatura proporcionales a la cantidad de energía aplicada al sistema (Vera et al., 2019). En base a los resultados de las investigaciones realizadas por Jambrak et al. (2010) y Luo et al. (2008), se comprobó que un tratamiento durante 30 min a 30°C fue capaz de reducir la viscosidad de una suspensión obtenida a partir de almidón de maíz. Jambrak et al. (2010) mostraron como estas fuerzas cavitacionales producidas por el efecto de la presión generaron una mayor

permeabilidad en los gránulos de almidón durante la etapa de calentamiento y favorecieron la entrada de agua y, consecuentemente, la hidratación de los mismos.

1.3. La tecnología de las altas presiones hidrostáticas

Las altas presiones hidrostáticas (APH), también denominadas pascalización o presurización, es una tecnología de gran interés en la industria de los alimentos debido a que es efectiva en la conservación de los mismos. Cuando se emplea para estabilizar los alimentos, la tecnología APH provoca la inactivación de las células microbianas sin alterar la calidad sensorial ni los nutrientes de los alimentos y brinda la posibilidad de producir alimentos con mejores cualidades nutricionales, sensoriales y una textura novedosa (Cheftel, 2016).

El procesado APH se define como el tratamiento que consiste en aplicar presión que comprime el medio transmisor alrededor del alimento provocando una disminución del volumen que varía según la presión y la temperatura aplicadas. Esta tecnología se basa en dos principios: el principio isostático o Teorema de Pascal y el teorema de Le Chateleir. Cuando un alimento es sometido a APH se observa principalmente la modificación del volumen del sistema, la modificación de la estructura del almidón y las proteínas, y la modificación de la actividad enzimática e inactivación de los microorganismos. Las condiciones generales en las que se producen cambios en las proteínas y en el almidón depende de la presión aplicada. A presiones superiores a 200 MPa ocurre una modificación en las propiedades físicas de las proteínas mientras que a presiones superiores a 400 MPa ocurre normalmente la gelatinización del almidón y una desnaturalización de las proteínas, aunque estos efectos pueden ser variables dependiendo de las características del alimento tratado (Raventós, 2005).

1.4. Mejora de las propiedades nutricionales y funcionales de matrices sin gluten mediante la tecnología APH

La tecnología APH también se ha empleado en el tratamiento de harinas y almidones con el objeto de mejorar sus propiedades funcionales en los procesos de transformación de cereales. Su empleo se ha asociado a modificaciones importantes en el poder de hinchamiento y la solubilidad del almidón, aspectos que están vinculados con el grado de interacción entre las cadenas de almidón y los dominios de las zonas amorfa y cristalina del gránulo (Ratnayake et al., 2002). Los almidones sometidos a presiones de 600 MPa en un medio con un exceso de agua demostraron retener mejor su forma granular en comparación con el tratamiento térmico, dando lugar a un poder de hinchamiento limitado y a una restringida liberación de amilosa (Douzals et al., 1998).

Además, se observó una menor viscosidad de las suspensiones de almidón tratadas con altas presiones en comparación con el tratamiento térmico.

El tratamiento con APH también se ha asociado a cambios en la estructura y las propiedades funcionales de las proteínas (Hüttner et al., 2009). La sensibilidad de la estructura de la proteína al tratamiento por APH se debe principalmente al debilitamiento de las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas y a las reacciones de intercambio de tiol-disulfuro. El tratamiento APH se ha empleado ampliamente para promover la formación de redes de proteínas (Kieffer et al., 2007).

Autores como Ahmed et al. (2007) examinaron el efecto de la alta presión sobre arroz basmati, revelando una gelatinización completa del almidón y la desnaturalización de las proteínas junto con una mayor resistencia mecánica del grano. Estas presiones provocaron también la reticulación de proteínas y la modificación en las propiedades viscoelásticas a presiones más altas (Vallons et al., 2011). Los resultados obtenidos por Hüttner et al. (2010) permitieron confirmar que esta tecnología podría resultar de gran interés para la producción de panes sin gluten de avena. Las modificaciones producidas en la estructura del almidón y de las proteínas de las harinas tratadas con APH han sido también evaluadas en los sistemas de panificación. Diversos autores han desarrollado estudios en esta matriz, obtenida a partir de almidón de maíz y harina de arroz (Cappa et al., 2016) y a partir de harina de patata dulce (Carballo et al., 2018). En ambos casos, la mejor capacidad de retención de agua y, en consecuencia, la buena consistencia de las masas dio como resultado panes caracterizados por una óptima fermentación, un elevado volumen y una adecuada ternura de la miga.

También se han experimentado modificaciones en las propiedades nutricionales de las harinas cuando se aplica un tratamiento APH. Se ha evaluado la influencia del tratamiento APH sobre la actividad antioxidante de distintas matrices alimentarias. Błaszczak et al., (2013), realizaron un tratamiento a 200 MPa de presión, durante diferentes tiempos y sobre granos crudos y cocinados de trigo sarraceno, concluyendo que los antioxidantes hidrófilos fueron los que principalmente contribuyeron a la capacidad antioxidante detectada en las muestras. En el estudio realizado por Xia et al. (2017) se investigó los efectos del tratamiento de APH a presiones crecientes sobre la bioaccesibilidad de los nutrientes presentes en arroz integral germinado utilizando un modelo de digestión in vitro, así como los cambios en los nutrientes bioaccesibles después de la germinación en comparación con los granos en remojo. El tratamiento APH tuvo un efecto notable sobre la bioaccesibilidad de nutrientes seleccionados en las

muestras de arroz integral germinado, obteniendo mayores actividades antioxidantes al aumentar la presión.

1.5. Tratamientos APH de matrices de trigo sarraceno

El trigo sarraceno (T.S) o alforfón (*Fagopyrum esculentum Moench*) es una planta de la familia *Polygonaceae*. El grano, que se utiliza principalmente para la alimentación humana, tiene forma triangular y estructura leñosa y su color varía desde un tono marrón a gris. Está recubierto por una cutícula que no es comestible y que obliga a que el grano sea descascarillado para su consumo (Giménez-Bastida & Zieliński, 2015). Posee un alto valor proteico (entre 12-16% proteína). La composición de aminoácidos está bien equilibrada, destacando el contenido de lisina. Además, su fracción lipídica representa el 2,5% del peso total del grano. El contenido total de carbohidratos en el trigo sarraceno varía entre el 67% y el 70%, de los cuales el 54,5% es almidón. Posee flavonoides y flavonas, ácidos fenólicos, taninos condensados y fitoesteroles, componentes de interés por su actividad antioxidante. Destaca por tener las vitaminas del complejo B y la vitamina E. El trigo sarraceno es, por lo tanto, un alimento sumamente nutritivo y energético (Verma, 2018).

En los últimos años se ha evaluado la posibilidad de remplazar las harinas de arroz, de frutos secos o de legumbres, por un porcentaje alto o total de harina de trigo sarraceno en la elaboración de productos horneados sin gluten. Investigadores como Laura Alvarez-Jubete et al. (2009) elaboraron panes sin gluten a partir de harinas de arroz y pseudocereales como harina de trigo sarraceno, amaranto y quínoa. Observaron que los panes elaborados con pseudocereales presentaron un mayor volumen que los de harina de arroz, lo que atribuyeron principalmente a la mayor capacidad de absorción de agua, la elevada viscosidad de la masa, la proporción de amilosa/amilopeptina y al mayor contenido de proteínas las harinas procedentes de pseudocereales. Torbica et al. (2012) pudieron comprobar que los panes elaborados con trigo sarraceno con cascarilla poseían un grado de retrogradación menor, ralentizando así el proceso de envejecimiento de producto. Este comportamiento fue confirmado también por los estudios realizados por Mariotti et al., (2013). Marco & Rosell (2008) obtuvieron pan sin gluten con buenos atributos sensoriales utilizando mezclas de harinas de trigo sarraceno y arroz en presencia de grasa vegetal hidrogenada.

La mejora de las propiedades funcionales de las harinas de T.S. y su comportamiento durante la panificación mediante el empleo de tratamientos físicos se ha propuesto con anterioridad. En el trabajo realizado por Vallons & Arendt (2009) se comparó la gelatinización de almidón de trigo sarraceno inducida por presión con la gelatinización

inducida por calor. Se pudo concluir que tanto los tratamientos con APH como con temperatura provocaron la gelatinización del almidón de trigo sarraceno. Sin embargo, en el caso de las muestras tratadas con APH se observó una mejor conservación de los gránulos y geles más fuertes. Por otro lado, Liu et al. (2016) estudiaron la aplicación del tratamiento APH a presiones entre 120 y 600 MPa con el objeto de evaluar su efecto sobre la digestibilidad in vitro, las propiedades fisicoquímicas, y las propiedades estructurales de almidón de trigo sarraceno común.

En la bibliografía científica los trabajos basados en el tratamiento APH de granos enteros de TS son muy limitados. Los trabajos previos se centraron en estudiar cómo las APH afectaron a la composición nutricional, los factores antinutricionales, la digestibilidad de las proteínas in vitro y la microestructura en los granos de trigo sarraceno (Deng et al., 2015). En la literatura científica consultada no se ha podido constatar la existencia de estudios orientados a evaluar el efecto que los tratamientos APH aplicados sobre granos enteros de TS pueden tener sobre las propiedades funcionales y nutricionales de las harinas resultantes. De manera complementaria, tampoco existen trabajos que hayan analizado el comportamiento de estas harinas cuando se emplean para la confección de matrices panarias sin gluten.

2. OBJETIVO

El objetivo general de este estudio fue analizar el impacto de los tratamientos APH aplicados sobre granos enteros de TS sobre las propiedades funcionales y nutricionales de las harinas de trigo sarraceno resultantes.

Para lograr el cumplimiento de este objetivo, los granos de este pseudocereal, previamente pretratados mediante una operación de remojo a 40°C durante 4 horas, se sometieron a tratamientos APH en condiciones controladas de 300 y 600 MPa durante 15 y 30 minutos. Posteriormente se analizó el efecto de la presión y del tiempo de tratamiento sobre las propiedades físico-químicas y las propiedades de empastado de las harinas resultantes, así como las propiedades reológicas de los geles obtenidos a partir de dichas harinas, con el objeto de predecir la influencia de dichas variables sobre la funcionalidad de matrices sin gluten empleadas en los procesos de elaboración de productos horneados. De manera complementaria, también se analizó la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de las harinas de trigo sarraceno para constatar la posible mejora de las propiedades nutricionales tras el tratamiento APH.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Para la realización de este estudio se empleó una partida de grano de TS perteneciente a la variedad Panda, suministrado por Siro Agro (Palencia, España). Para los ensayos de propiedades funcionales se utilizó agua destilada con el equipo Milli RO de Millipore (Madrid, España) y aceite de maíz Koipe Assua (Deoleo, Córdoba, España). Para los análisis del contenido de fenoles totales se utilizaron los siguientes reactivos: ácido clorhídrico (HCl) concentrado al 37%, metanol (CH₃OH), carbonato de sodio anhidro (Na₂CO₃) y ácido sulfúrico 2N (H₂SO₄), todos ellos de la marca Panreac (Barcelona, España); también se emplearon el reactivo de Folin-Ciocalteu 2N de Merck (Madrid, España), ácido gálico de Sigma-Aldrich (Madrid, España) y 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (C18H12N5O6) de la marca Sigma-Aldrich para investigación y desarrollo (R&D) (Schnelldorf, Alemania).

3.2. Métodos

3.2.1. Preparación de las muestras y tratamiento de APH

Se prepararon seis muestras para la realización de los tratamientos con altas presiones hidrostáticas. Antes del tratamiento de APH se acondicionaron los granos mediante un tratamiento de remojo con agua destilada durante 4 h a 40°C en la misma bolsa donde se hizo el tratamiento APH en proporción 1:4 (p:v). Las bolsas usadas fueron bolsas flexibles de poliamida/polietileno co-extruido (30/130 µm de espesor) suministradas por Pargón (Salamanca, España). Los tratamientos de altas presiones hidrostáticas se realizaron en el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (Zamadueñas, España). Las muestras fueron tratadas en un equipo de altas presiones hidrostáticas Wave 6000/135 (NC Hyperbaric, Burgos, España) con un recipiente de 135 litros y 200 mm de diámetro. El agua de la red pública se utilizó como líquido de transmisión de presión. La velocidad para alcanzar la presión correspondiente fue de 120 MPa/min y la tasa de descompresión fue de 33 MPa/s.

Se estableció un diseño experimental para seis de las muestras donde se evaluó el factor del tiempo (0, 5 y 15 min) y el nivel de presión (300 y 600 MPa). A mayores se estudió un control sin tratamiento con APH. El tratamiento a 0 minutos implica un aumento de presión hasta el valor indicado y la inmediata disminución de presión.

Tabla 1. Diseño de experiencias e identificación de las variables de estudio

Codificación de la muestra	Presión de trabajo en el tratamiento APH	Tiempo de trabajo en el tratamiento APH
Control Nativo	Sin tratamiento APH	Sin tratamiento APH
0-300	300 MPa	0 min

5-300	300 MPa	5 min
15-300	300 MPa	15 min
0-600	600 MPa	0 min
5-600	600 MPa	5 min
15-600	600 MPa	15 min

3.2.2. Obtención de las harinas a partir de las muestras de grano tratadas

Tras el tratamiento APH, los granos de trigo sarraceno fueron escurridos y se estabilizaron mediante un secado, realizado a baja temperatura (30°C) hasta una humedad de 7 al 9%. A continuación, tanto las muestras tratadas como la de control, se acondicionaron al 16% de humedad previamente a su molienda, con el objeto de que la cascarilla adquiriera mayor flexibilidad durante el contacto de las muelas del molino y evitar su fracturación. Posteriormente, se molieron con un molino CD1 (Chopin Technologies, Paris, France) separándose la cascarilla de la harina, obteniéndose una primera fracción de harina refinada y recuperándose una fracción adicional de sémola con una granulometría gruesa que fue sometida a una molienda adicional, realizada con un molino Fidibus Medium (Komo Grain Mills, Penninberg, Austria). Por último, la harina y la sémola obtenidos se sometieron a un tamizado con un tamiz de 250 µm, con el objeto de comprobar su adecuada granulometría y se estabilizaron mediante secado a baja temperatura hasta conseguir una humedad inferior al 14%.

3.2.3. Propiedades funcionales

Dentro de las propiedades funcionales se evaluaron las propiedades de hidratación (WAC, WAI, WSI y SP), de captación de aceite OAC, emulsión y espumantes. Se observó el efecto que tenían estas propiedades sobre las siete muestras, realizando por triplicado cada una de ellas.

La capacidad de absorción de agua (WAC), mide el poder de retención de agua de la harina después de ser centrifugada. Siguiendo el método descrito por Beuchat (1977), en primer lugar se pesaron los tubos falcón sin faldón de 50 ml (PR) y se añadieron 2 g ± 0,01 g de muestra de harina (PM) por triplicado. Después se añadieron 20 ml de agua destilada y se agitaron con ayuda del vórtex a baja velocidad por triplicado. Estos tubos se dejaron reposar durante 10 minutos entre cada agitación. Posteriormente, los tubos se centrifugaron a 3000 g durante 30 minutos y se desecharon los sobrenadantes obtenidos. Los tubos se pesaron nuevamente (PT). La capacidad de absorción de agua se calculó de la siguiente manera:

$$WAC (g \text{ de agua/g de muestra seca}) = (PT - PR - PM) / PM$$

Para determinar la capacidad de absorción de aceite (OAC) se procedió de la misma forma que para la capacidad de absorción de agua, pero sustituyendo el agua destilada por aceite de germen de maíz. Los resultados se expresaron como gramos de aceite por gramo de materia seca de harina (Kaushal et al., 2012).

$$OAC \text{ (g de aceite/g de muestra seca)} = (PT - PR - PM) / PM$$

Los índices de absorción y solubilidad en agua (WAI y WSI, respectivamente) y el poder de hinchamiento (SP), se determinaron según el método descrito por Kaushal et al. (2012). Se pesaron $2 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ de materia seca de cada muestra (PM) en tubos de falcón sin faldón previamente pesados (PR), se añadieron 20 mL de agua destilada y se agitaron con vórtex durante al menos 30 segundos. A continuación, los tubos se calentaron 15 minutos en un baño a temperatura de ebullición. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente aproximadamente durante una hora. Transcurrido este tiempo se comprobó que la temperatura de los tubos estaba por debajo de los 30°C y se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos. Posteriormente, se trasvasó el sobrenadante de cada tubo a cápsulas previamente pesadas (PC) y se introdujeron en la estufa durante 24 horas a 110°C . Los tubos falcón con el sedimento y sin sobrenadante fueron pesados (PS) y las cápsulas tras el tiempo establecido se atemperaron durante 40 minutos y se pesaron (PSL). Las variables WAI, WSI y SP se calcularon como:

$$WAI \text{ (g de agua/g de muestra seca)} = (PS - PR) / PM$$

$$WSI \text{ (g agua/100 g muestra seca)} = (PSL - PC) / PM \cdot 100$$

$$SP \text{ (g de agua/g de muestra seca)} = (PS - PR) / PM - (PSL - PC)$$

Las propiedades emulsionantes se determinaron de acuerdo con el método descrito por Naczki et al. (1985) midiéndose la actividad emulsionante (EA) y la estabilidad de la emulsión formada (ES), expresadas en porcentaje. Para la determinación de la EA y ES se pesaron $7 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ de materia seca de cada muestra (PM) en vasos de precipitados de 250 mL y se añadieron 100 mL de agua destilada mezclándolo manualmente hasta su dispersión total. A continuación, se añadieron 100 mL de aceite de maíz y se batió la mezcla durante 1 minuto a 1000 rpm con un homogeneizador Ultra-Turrax (T25 IKA, Staufen, Alemania). Inmediatamente se transfirió la mezcla a 4 tubos falcon, añadiendo 45 mL (VT) en cada uno y se centrifugó durante 5 minutos a 1300g. Se hizo lectura del volumen de la capa de emulsión formada (VE1). En caso de haber emulsión, se llevaron los tubos a 80°C durante 30 minutos en un baño de agua, se dejaron atemperar otra media hora y se volvieron a centrifugar a 1300 g durante 5 minutos. Por último, se tomó nota del volumen de la capa de emulsión que se mantuvo (VE80). La EA y la ES se calcularon como:

$$EA (\%) = (VE1 / VT) \cdot 100$$

$$ES (\%) = (VE80 / VT) \cdot 100$$

Dentro de las propiedades de formación de espuma, siguiendo el método descrito Collar & Angioloni (2014) se determinaron la capacidad que tiene la muestra de harina de formar espuma (FC) y la estabilidad de esa espuma formada (FS).

Para determinar estas propiedades funcionales se calentó agua destilada hasta 30°C y se vertieron 50 ml en una probeta de 100 ml. Se añadieron 2g de muestra seca de la muestra correspondiente y se apuntó el volumen inicial (V0). Se agitó la probeta manualmente durante 5 minutos. Al terminar la agitación se midió el volumen que alcanzaba la espuma (VF0), se dejó reposar durante 1 hora y se volvió a medir dicho volumen (VE60). FC y FS se calcularon como:

$$FC (\text{ml espuma/g muestra seca}) = VE0$$

$$FS (\%) = (VE60/VE0) \cdot 100$$

3.2.4. Propiedades de empastado de las harinas

Para llevar a cabo la medición de las propiedades de empastado se empleó el reómetro Kinexus Pro+ (Malvern, Reino Unido) con el accesorio para medida de almidón (35 mm diameter 2 blade paddle (M4)) siguiendo el método Standard 2 (AACC, 2010). Los perfiles de viscosidad para cada muestra fueron determinados a partir de suspensiones de 3,5 g de una harina con un 14% de humedad en 25 g de agua ajustado en función de la humedad de cada muestra. Todas las medidas se realizaron por duplicado. Las muestras se calentaron de 50 a 95 °C a un ritmo de 12,16 °C/min después de permanecer la muestra durante 1 minuto en equilibrio a 50 °C, y se mantuvieron durante 5 min a 95 °C. El enfriamiento se llevó a cabo desde 95 a 50 °C a un ritmo de 8,3 °C/min y se mantuvo durante 2 min a 50°C. Los parámetros registrados fueron la temperatura de empastado (PT) (temperatura a la que los gránulos de harina comienzan a hincharse y gelatinizar debido a la absorción de agua), la viscosidad del pico (PV) (viscosidad máxima alcanzada por la pasta), la viscosidad de caída o trough viscosity (TR) (viscosidad mínima registrada durante la etapa de calentamiento a 95 °C), la viscosidad final (VF) (viscosidad tras el enfriamiento a 50 °C), la estabilidad o breakdown (BD) (diferencia entre el pico de viscosidad y la viscosidad de caída) y la retrogradación o setback (SB) (diferencia entre la viscosidad final y la viscosidad de caída)

3.2.5. Comportamiento reológico de los geles

Se estudiaron las propiedades reológicas de los geles obtenidos tras la medida de las propiedades de empastado. Los ensayos reológicos en los geles se llevaron a cabo con un reómetro Kinexus Pro+ (Malvern Instruments Ltd, Malven, Reino Unido), con una

geometría de placas paralelas de 40 mm y superficie serrada, con una separación de 1 mm entre ellas. En todos los ensayos se fijó la temperatura a 25°C, controlada por un controlador ambiental térmico Peltier KNX2002 C25P, apoyado por un baño de recirculación KNX2002 de la misma marca.

Se llevó a cabo un ensayo de barrido de deformación en el rango de 0,1 a 1000%, a una frecuencia de 1 Hz. Estos ensayos permitieron establecer el esfuerzo máximo (τ_{max}) que era capaz de soportar la estructura del gel antes de romperse (al producirse un descenso del módulo elástico G' y el aumento de $\tan \delta$), estableciéndose la región viscoelástica lineal (LVR). Este ensayo también permitió determinar el "crosspoint", parámetro que hace referencia al punto de corte de los módulos viscoelásticos ($G'=G''$), punto en el que las masas pasan de tener un comportamiento predominantemente elástico, a tenerlo viscoso. Posteriormente se desarrolló un ensayo de barrido de frecuencias en el intervalo de 10 a 1 Hz a una deformación constante de 1%. El módulo elástico (G'), viscoso (G'') y la tangente de pérdida ($\tan \delta$), obtenidos en los ensayos de barrido de frecuencia se ajustaron a ecuaciones potenciales del tipo:

$$G'(\omega) = G'_{\omega 1} \cdot \omega^a$$

$$G''(\omega) = G''_{\omega 1} \cdot \omega^b$$

$$\tan \delta(\omega) = G''(\omega) / G'(\omega) = (G'' / G') \omega 1 \cdot \omega^{(b-a)} = (\tan \delta)_{\omega 1} \cdot \omega^c$$

Los coeficientes $G'_{\omega 1}$ y $G''_{\omega 1}$ y $(\tan \delta)_{\omega 1}$, representan los módulos elástico y viscoso y la tangente de pérdida a un rango de frecuencia constante de 1 Hz. Los parámetros "a", "b" y "c" representan constantes experimentales que cuantifican el grado de dependencia de estos módulos y de la tangente de pérdida con la variación de frecuencia. ω es la frecuencia angular (rad^{-1}) (Ronda et al., 2011; Ronda et al., 2013). El módulo complejo (G^*), definido como la medida de la resistencia que opone el gel a la deformación, también se determinó como:

$$G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2}$$

3.2.6. Determinación del contenido de fenoles solubles e insolubles de las harinas.

Se obtuvieron dos tipos de extractos por duplicado de cada muestra siguiendo el procedimiento de Pérez-Jiménez & Saura-Calixto (2005). Cada gramo de muestra se puso en contacto con tres soluciones extractantes (10ml/g). En primer lugar, se realizó una extracción con metanol/agua acidificada (50:50, pH=2) y tras centrifugación (2500 g, 10 minutos) y reserva del sobrenadante, se puso en contacto el sedimento con una segunda solución extractante de acetona/agua destilada (70:30). Tras una segunda centrifugación, el sobrenadante se combinó con el anterior para dar lugar al extracto

sobre el que se determinó el contenido de fenoles y capacidad antioxidante de los polifenoles solubles. Sobre el sedimento obtenido, se vertió la tercera solución de metanol/ácido sulfúrico (90:10), manteniéndose en un baño a 85°C durante 4h con agitación ligera. Tras finalizar ese período se recuperó el sobrenadante siguiendo el procedimiento anterior. De esta forma se obtuvo el extracto sobre el que medir polifenoles insolubles. En base al protocolo de Hartzfeld et al. (2002) las variables de tiempo y temperatura óptimas para ésta última extracción fueron seleccionadas a partir de un ensayo preliminar de fenoles de una muestra de trigo sarraceno nativo a partir de extractos obtenidos a distintos tiempos (2-10h) y dos temperaturas (65-85°C) (Resultados presentes en Anexo 1, Tabla 2).

Siguiendo el procedimiento descrito por Singleton et al. (1999) se determinó el contenido de fenoles tanto de los extractos solubles como de insolubles de cada muestra. Sobre 1,58 ml de agua destilada y 100 µL de reactivo de Folin Ciocalteu se vertieron 20 µL de extracto. Tras ello, se añadieron 300 µL de una disolución de Na₂CO₃ (7,5%) y se llevaron a un baño a 40°C durante 30 minutos. Para expresar los resultados se realizó una recta de calibración con 8 puntos a partir de ácido gálico (0,1 g/l – 0,8 g/l, R²= 0,998). Por último, se midieron las absorbancias de las muestras por triplicado en espectrofotómetro Lambda 25 UV/VIS (Perkin Elmer, Massachusetts, United States) a 765 nm.

3.2.7. Capacidad Antioxidante

El radical DPPH se utilizó para determinar la capacidad antioxidante de las muestras mediante el método propuesto por Collar et al. (2014) con los dos extractos obtenidos. A partir de una disolución madre de DPPH de concentración 0,5 mM se preparó una solución de trabajo de concentración 0,1 mM (absorbancia de 0,9±0,1 medida a 517 nm). A continuación, utilizando 4 cubetas por cada extracto de muestra y en condiciones de luz atenuada, se vertieron 3 ml de solución de trabajo y 150 µl de extracto. El experimento duró 120 minutos en total midiéndose en los minutos 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 por duplicado, tanto de un blanco con metanol como de una solución DPPH como control negativo para establecer una cinética de desaparición de DPPH. La capacidad antioxidante se expresó como la actividad antiradical (AR) que poseen los extractos y se calculó en base al porcentaje remanente de la concentración a los 120 minutos de DPPH ([DPPH]_{ESTABLE}) respecto de la inicial ([DPPH]_{INICIAL}).

$$AR = \frac{([DPPH]_{INICIAL} - [DPPH]_{ESTABLE}) \times 100}{[DPPH]_{INICIAL}}$$

3.2.8. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las muestras a estudio fueron analizados con el programa Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, USA). Todos los datos fueron presentados como valores medios y analizados mediante un análisis de la varianza simple (ANOVA) utilizando el test LSD de Fisher ($p < 0,05$) para detectar diferencias significativas entre las medidas con un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$). Así mismo, se realizó un análisis de varianza multifactorial para evaluar el efecto de los tratamientos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Propiedades funcionales

En el presente epígrafe se estudia el efecto del tratamiento APH de granos de trigo sarraceno sobre las propiedades funcionales de las harinas resultantes. Para ello, se analizan dos factores diferentes: la presión aplicada y el tiempo de mantenimiento de la presión durante el tratamiento de los granos

4.1.1. Propiedades de hidratación y capacidad de absorción de aceite

Las propiedades de hidratación y capacidad de absorción de aceite de las harinas de TS se encuentran plasmadas en la Tabla 3.

Tabla 3. Propiedades de hidratación y capacidad de absorción de aceite de las muestras de harina obtenidas a partir de granos de trigo sarraceno tratados con altas presiones hidrostáticas (APH)

	WAC (g/g)	OAC (g/g)	WAI (g/g)	WSI (g/100g)	SP (g/g)
C.N	1,04 c	1,12 ab	7,13 a	6,7 c	7,57 a
0-300	0,94 a	1,10 ab	7,37 b	5,5 a	7,70 a
5-300	0,97 ab	1,07 ab	7,70 cd	6,2 b	8,10 b
15-300	0,97 b	1,02 a	7,90 e	6,5 c	8,40 c
0-600	1,14 d	1,16 b	7,63 c	5,8 a	8,03 b
5-600	1,12 d	1,15 b	7,87 de	6,5 c	8,33 c
15-600	1,12 d	1,14 b	8,00 e	6,4 bc	8,47 c
SE	0,01	0,03	0,06	0,1	0,07
Tiempo	ns	ns	**	**	**
Presión	**	*	**	ns	**
Tiempo·Presión	ns	ns	ns	ns	ns

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y ns= no significativo ($p > 0,05$). WAC: capacidad de absorción de agua; OAC: capacidad de absorción de aceite; WAI: índice de absorción de agua; WSI: índice de solubilidad de agua; SP: poder de hinchamiento. ms: muestra seca. C.N: control nativo T.S; 0-300: 0 minutos/300 MPa; 0-600: 0 minutos/600 MPa; 5-300: 5 minutos/300 MPa; 5-600: 5 minutos/600 MPa; 15-300: 15 minutos/300 MPa; 15-600: 15 minutos/600 MPa

En la Tabla 3 se han recogido los valores de las propiedades funcionales características del T.S nativo. Los resultados fueron similares a los obtenidos por Yu et al. (2018) donde

investigaron cómo los diferentes efectos de molienda influyeron sobre las propiedades físico-químicas de la harina de trigo sarraceno común.

El WAC representa la cantidad máxima de agua por gramo de harina que es capaz de absorber la harina a temperatura ambiente. Los resultados obtenidos aparecen en la Tabla 3, donde destacó un efecto significativo ($p < 0,01$) de la presión sobre esta propiedad de hidratación de las muestras tratadas con APH. Las muestras tratadas a una presión de 300 MPa mostraron una disminución significativa ($p < 0,05$) de WAC frente a la muestra control (C.N). En base al estudio realizado por Błaszczak et al. (2007) a este nivel de presión, se ha constatado un cambio conformacional de la estructura terciaria de la proteína que llevó a la exposición de aminoácidos no polares a la solución acuosa. Otros autores como Kuntz (1971) indicaron que una menor disponibilidad de aminoácidos polares en algunas harinas provocó valores de WAC más bajos. Las muestras tratadas con APH a 600 MPa, en cambio, presentaron un incremento significativo ($p < 0,05$) de la variable WAC respecto a la muestra C.N. Este efecto pudo deberse a la gelatinización parcial del almidón debido a la elevada presión aplicada. El estudio realizado sobre arroz por Ravichandran et al. (2018) muestra que los granos de arroz enteros requieren una mayor presión y duración del tratamiento para provocar la gelatinización en comparación con el almidón aislado.

En cuanto a la capacidad de absorción de aceite (OAC), esta variable se vio afectada significativamente ($p < 0,05$) por la presión. Como se puede ver en la Tabla 3, no hubo diferencias significativas entre las muestras tratadas y la muestra C.N. En cambio, entre las muestras tratadas se observaron diferencias significativas en el valor de OAC entre todas las muestras tratadas a presiones de 600 MPa y la muestra 15-300. La absorción de aceite se ha atribuido con anterioridad a la retención física del mismo dentro de los aislados de proteína gracias a los enlaces no covalentes, como pueden ser los enlaces hidrófobos, electrostáticos y de hidrógeno involucrados en la interacción lípido-proteína (Kaushal et al., 2012).

El índice de absorción de agua (WAI) depende de la disponibilidad de grupos hidrófilos que se unen a las moléculas de agua y de la capacidad de formar geles de macromoléculas. Como se puede ver en la Tabla 3, tanto la presión como el tiempo de tratamiento sometido a APH, afectaron significativamente ($p < 0,01$) a la variable WAI. En todas las muestras de harina esta variable aumentó con respecto a la muestra C.N teniendo incrementos de 3,3 % y de 12,20 % para la muestra sometida a tratamientos de menor presión y tiempo (0-300) y para la muestra tratada con mayor presión y tiempo de tratamiento (15-600) respectivamente. Como se observó en los resultados Tabla 3,

bajo las condiciones de este ensayo, hubo una correlación directa entre los factores presión y tiempo con el índice de absorción de agua, ya que un aumento creciente de estos factores dio lugar a un aumento progresivo de este parámetro. No hubo diferencias significativas entre muestras a diferentes presiones para igual tiempo en las muestras de 5 y 15 min. El almidón es una fracción mayoritaria en la harina integral de T.S. (Steadman, 2001). Varios autores han encontrado una relación directa entre el grado de gelatinización y tiempo de tratamiento APH (BeMiller & Huber, 2015) siendo este tiempo de tratamiento fundamental para posibilitar la mayor entrada de agua al gránulo (Yu et al., 2015). Después de la gelatinización, los puentes de hidrógeno existentes entre las moléculas de almidón pudieron romperse y reemplazarse por puentes de hidrógeno con el agua aumentando la absorción de agua en almidones de patata dulce parcialmente gelatinizados (Marta & Tensiska, 2017).

En relación con el índice de solubilidad (WSI), como se observa en la Tabla 3, se vio afectado de forma significativa ($p < 0,01$) por el tiempo de tratamiento mientras que la presión no influyó significativamente. El tratamiento produjo un descenso del valor de WSI en los tratamientos realizados durante menos tiempo de tratamiento, manteniéndose respecto a la muestra C.N en los tratamientos realizados a 15-300, 5-600 y 15-600.

Por último, el poder de hinchamiento (SP) se vio afectado significativamente ($p < 0,01$) por el tiempo y la presión de tratamiento APH. El valor de SP de las muestras tratadas experimentó un aumento significativo con respecto a la harina nativa sin tratar, exceptuando la muestra 0-300. Se observó que en, en función de los dos factores, los tratamientos más largos y con intensidades más altas realizados sobre las muestras 15-300, 5-600 y 15-600 dieron lugar a los valores de SP más altos. Autores como (Yang et al., 2017) notificaron un incremento en el poder de hinchamiento en arroz y almidón de arroz cuando las presiones fueron superiores a 300 MPa, siendo éste más elevado a medida que la presión de tratamiento aumentó hasta 500 MPa. El bajo poder de hinchamiento de las harinas a presiones y tiempos menores sugirió la presencia de fuerzas de unión más fuertes dentro del interior de los gránulos de almidón y una mayor importancia del complejo amilosa-lípidos (Tester & Morrison, 1990).

4.2.2 Propiedades emulsionantes y de formación de espuma

Los valores obtenidos para las propiedades de emulsión y espumantes analizadas están recogidos en la Tabla 4.

Tabla 4. Propiedades emulsionantes y espumantes de las muestras de harina obtenidas a partir de granos de trigo sarraceno tratados con altas presiones hidrostáticas (APH)

	EA (%)	ES (%)	FC (ml/g de muestra)	FS (%)
C.N	54,5 cd	10,3 c	0,7 c	29,0 c
0-300	53,3 cd	9,3 c	0,7 c	15,0 b
5-300	51,4 bc	5,6 a	0,5 b	n.d
15-300	50,0 b	2,8 a	0,5 b	n.d
0-600	55,6 d	5,6 b	0,5 b	n.d
5-600	38,9 a	2,8 a	0,4 a	n.d
15-600	38,6 a	2,8 a	0,4 a	n.d
SE	1,1	0,5	0,02	0,5
Tiempo	**	**	**	**
Presión	**	**	**	**
Tiempo·Presión	**	**	ns	**

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$). * $p < 0,05$, * $p < 0,01$ y ns= no significativo ($p > 0,05$). EA: actividad emulsionante; ES: estabilidad de la emulsión; FC: capacidad de formación de espuma; FS: estabilidad de formación de espuma. n.d.; C.N: control nativo T.S; 0-300: 0 minutos/300 MPa; 0-600: 0 minutos/600 MPa; 5-300: 5 minutos/300MPa; 5-600: 5 minutos/600 MPa; 15-300: 15 minutos/300 MPa; 15-600: 15 minutos/600 MPa

Como se puede ver en la Tabla 4, la presión y el tiempo, así como la interacción entre ambos factores de tratamiento afectaron significativamente ($p < 0,01$) a la actividad emulsionante (EA) y la estabilidad de la emulsión (ES). La EA indica la capacidad de las proteínas y de otras moléculas surfactantes para ayudar en la formación de una emulsión presentes en una cantidad dada de harina (Pearce & Kinsella, 1978). Como se observa en la Tabla 4, las harinas de T.S. disminuyeron el valor de EA significativamente a medida que se aumentó la intensidad de tratamiento. Los resultados obtenidos revelaron que las muestras de T.S tratadas a tiempos superiores a 5 minutos, mostraron valores de EA significativamente menores ($p < 0,05$) de aquellos tratados a tiempo cero o con respecto al control nativo (C.N). A partir de los 15 minutos de tratamiento, se observó un descenso significativo ($p < 0,05$) en EA en las muestras tratadas a 300 MPa, mientras que en las muestras tratadas a 600 MPa este efecto se observó a partir de los 5 minutos de tratamiento.

Con respecto a la estabilidad de la emulsión (ES), las muestras de harina tratadas con APH, en cualquiera de las condiciones excepto la muestra 0-300, mostraron una estabilidad de emulsión significativamente ($p < 0,05$) más bajas que las mostradas por la muestra C.N, siendo las muestras con mayor presión y tiempo de tratamiento las que peor conservaron esta capacidad. Diferentes estudios científicos han revelado que el tratamiento APH induce la desnaturalización de las proteínas, las cuales están implicadas en la actividad y la estabilidad de emulsiones. Estudios recientes reportaron que el tratamiento de proteína de nuez con APH promueve la desnaturalización parcial de la proteína y la disminución de la estabilidad de la emulsión (Qin et al., 2013).

Como se observa en la Tabla 4, tanto el tiempo de tratamiento APH, como la presión de dicho tratamiento afectaron significativamente ($p < 0,01$) a la capacidad espumante (FC). Las muestras tratadas con APH presentaron un descenso significativo ($p < 0,05$) en la magnitud de esta variable, excepto la muestra 0-300 la cual manifestó el mismo valor de FC que la muestra C.N. La disminución de los valores de FC a medida que se incrementó la presión se podría atribuir a la desnaturalización parcial de las proteínas favorecida por el despliegue de su estructura molecular tras el tratamiento APH lo que afectaría, consecuentemente, a sus propiedades funcionales (Qiu et al., 2014). Los efectos fueron similares al patrón descrito por Ahmed et al., (2018) para proteína de frijol, quienes obtuvieron el valor más alto de FC en las condiciones más suaves de tratamiento APH (muestra C.N) produciéndose un descenso con el aumento de intensidad del mismo.

En relación con la estabilidad de la espuma (FS), esta variable se vio afectada significativamente ($p < 0,01$) por el tiempo, presión e interacción de ambos factores. No se mantuvo espuma en ninguna de las muestras tratadas con APH excepto en la muestra 0-300, la cual obtuvo valores de FS significativamente menores ($p < 0,05$) con respecto a la muestra control. Estos resultados se correlacionan con los obtenidos por Chao et al. (2018) quienes observaron que la estabilidad de la espuma se vio afectada negativamente por el tratamiento con AHP de proteína de guisantes. Estos autores explicaron que el tratamiento APH impacta negativamente en FS debido al aumento de la agregación de proteínas, lo que reduce la flexibilidad proteica y la capacidad de formar membranas encapsuladoras de burbujas de aire suficientemente resistentes en la interfaz aire-agua.

4.2 Propiedades de empastado de las harinas

Los valores de los parámetros de empastado y los perfiles viscosimétricos de las muestras se encuentran reflejados en la Tabla 5 y en las Figuras 2 y 3 (Anexo 2), respectivamente.

Tabla 5. Propiedades de empastado de las muestras de harina obtenidas a partir de granos de trigo sarraceno tratados con altas presiones hidrostáticas (APH)

	PT (°C)	Pt (s)	PV (Pa·s)	TR (Pa·s)	BD (Pa·s)	FV (Pa·s)	SB (Pa·s)
C.N	67,7 ab	238,1 bc	2,4 a	1,9 a	0,42 cd	4,38 ab	2,45 c
0-300	68,4 c	240,4 c	3,5 d	3,3 d	0,24 b	5,77 e	2,47 c
5-300	67,2 ab	233,1 abc	2,8 b	2,6 c	0,14 ab	4,65 cd	2,04 a
15-300	67,7 ab	238,2 c	2,7 b	2,2 b	0,51 d	4,56 bcd	2,33 bc
0-600	67,7 ab	238,1 bc	2,9 c	2,6 c	0,30 bc	4,72 d	2,16 ab
5-600	66,7 a	228,1 a	2,4 a	2,4 b	0,04 a	4,48abc	2,12 ab
15-600	66,7 a	228,2 ab	2,3 a	2,3 b	0,06 a	4,32 a	2,05 a

SE	0,4	2,9	0,1	0,1	0,05	0,05	0,05
Tiempo	ns	ns	**	**	**	**	*
Presión	ns	ns	**	**	**	**	*
Tiempo·Presión	ns	ns	**	**	**	**	*

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y ns= no significativo ($p > 0,05$). PT: temperatura de empastado; Pt: tiempo en el que se alcanza la temperatura de empastado; PV: viscosidad pico; TR: viscosidad de caída; BD: estabilidad; FV: viscosidad final; SB: setback. C.N: control nativo T.S; 0-300: 0 minutos/300 MPa; 0-600: 0 minutos/600 MPa; 5-300: 5 minutos/300MPa; 5-600: 5 minutos/600 MPa; 15-300: 15 minutos/300 MPa; 15-600: 15 minutos/600 MPa

Como se indica en la Tabla 5, las temperaturas (PT) de empastado de las muestras de harina de trigo sarraceno no se vieron afectadas significativamente ni por el tiempo de tratamiento APH ni por la presión a dicho tratamiento. Únicamente la muestra 0-300 mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la harina C.N, aumentando el valor de temperatura de empastado. Las diferencias obtenidas fueron en todos los casos ligeras o leves, como también se vieron en el trabajo de Pei-Ling et al. (2012) donde se estudió este parámetro en muestras de tapioca tratadas con altas presiones (300-600 MPa/30 min). El tiempo de empastado (Pt) no se vio afectado significativamente por ninguno de los dos factores estudiados (presión y temperatura). Como se observa en la Tabla 5, solo se produjeron diferencias significativas respecto al control para las muestras sometidas a los tratamientos APH de mayo intensidad (5-600 y 15-600).

En cuanto a la viscosidad de pico (PV), tanto el tiempo como la presión de tratamiento y la interacción entre ambos factores afectaron significativamente ($p < 0,01$) a los resultados de este parámetro. La viscosidad de pico es una medida del poder espesante del almidón (Kaur et al., 2011) y está relacionado con los fenómenos de hinchamiento que experimentan los gránulos de este componente presente también en las harinas. Las muestras tratadas a 300 MPa y la muestra 0-600 mostraron un aumento significativo de PV respecto a la muestra C.N. Un efecto similar se observó en el estudio realizado por Ahmed et al. (2016) sobre una muestra de almidón de lentejas. En su estudio se registró un aumento en PV después de un tratamiento APH a 400 MPa de presión sugiriendo que una mayor resistencia de los gránulos de almidón hinchados debido al tratamiento pudo resultar en una mayor viscosidad pico. En las muestras de harina de trigo sarraceno tratadas durante 5 y 15 minutos a 600 MPa se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) de esta variable con respecto al resto de muestras tratadas, sin ver diferencias con la muestra C.N. McCann et al. (2013) informó que, con un aumento de los niveles de presión, el grado de gelatinización del almidón de los gránulos aumentó disminuyendo, en consecuencia, el PV.

Por otra parte, la viscosidad de caída (TR) no sólo se vio afectada significativamente ($p < 0,01$) por el tiempo y la presión del tratamiento con APH, sino que también tuvo un efecto significativo ($p < 0,01$) la interacción de ambos factores. Las muestras procedentes

de granos tratados con APH reflejaron un aumento significativo de este parámetro con respecto a la muestra C.N. Como se puede observar en las Figura 2 y 3 (Anexo 2) y en la Tabla 5, las muestras de harina 5-600 y 15-600 mostraron una viscosidad de caída coincidente con la viscosidad de pico (PV), exhibiendo una estabilidad total en la viscosidad después de alcanzar la viscosidad máxima.

Un efecto similar ocurrió con el breakdown (BD), ya que ambos factores, tanto la presión como el tiempo del tratamiento APH, produjeron un efecto significativo ($p < 0,01$) sobre este parámetro. El BD es un parámetro indicativo de la estabilidad del gel formado como consecuencia de la gelatinización del almidón. Como se puede observar en la Tabla 5, las muestras de harina procedentes de T.S tratado mostraron, en general, valores inferiores a los obtenidos para el control nativo. Se pudo concluir que el tratamiento de APH dio lugar un incremento significativo de la estabilidad de gel con respecto a la muestra C.N exceptuando en las muestras 15-300 y 0-600. Como se ha comentado con anterioridad, las harinas procedentes de los tratamientos de 5-600 y 15-600 mostraron un valor prácticamente nulo de esta variable. Diversos autores han encontrado aumentos de estabilidad en muestras de almidones de T.S tras tratamientos APH a 600 MPa (Vallons & Arendt, 2009; Liu, Guo, et al., 2016)

La Viscosidad final (FV) es una medida de la consistencia obtenida cuando el sistema se enfría después del proceso de gelatinización. Una vez más, la muestra procesada de 15-600 mostró el valor más bajo, mientras que las muestras tratadas a 300 MPa durante 0 y 5 min y la muestra 0-600 presentaron valores significativamente más altos de FV respecto a la muestra control nativa. Li et al. (2015) estudiaron muestras de almidón de frijol rojo y detectaron un aumento significativo de FV respecto a la muestra nativa según aumentaba la presión del tratamiento, reportando un descenso a 600 MPa.

La retrogradación (SB) de las harinas de trigo sarraceno se vio afectada significativamente ($p < 0,05$) por la presión, por el tiempo de tratamiento, así como por la interacción de ambos factores. Todas las muestras del estudio menos las muestras 0-300 y 15-300 se caracterizaron por valores de SB significativamente ($p < 0,05$) inferiores al control (C.N). Los valores de SB disminuyeron con el aumento del nivel de presión (600 MPa), posiblemente debido a una disminución de la amilosa lixiviada, reflejando una menor tendencia de retrogradación que la muestra C.N (Hu et al., 2011).

4.3 Comportamiento reológico de los geles

Con el objeto de estudiar el efecto de las APH sobre las características de los geles obtenidos de las harinas de trigo sarraceno, se realizaron ensayos reológicos

fundamentales. Los resultados obtenidos tras el barrido de deformación y el barrido de frecuencias pueden observarse en la Tabla 6.

Se define el esfuerzo máximo, T_{max} , como el esfuerzo a partir del cual se considera que los geles empiezan a perder su estructura. Ninguno de los factores de estudio (presión y tiempo), ni la interacción entre ellos afectaron significativamente a este parámetro. A pesar de ello, los valores de T_{max} obtenidos en las muestras tratadas fueron significativamente ($p < 0,05$) mayores en todos los casos que en la muestra C.N. Este incremento confirmó el aumento de la resistencia del gel como consecuencia del tratamiento por altas presiones. Los valores de "crosspoint" ($G' = G''$) obtenidos para los geles estudiados se muestran también en la Tabla 5. Como se pudo observar, al igual que ocurrió con T_{max} , ni la presión ni el tiempo o la interacción entre ambos factores afectaron significativamente a los valores de crosspoint. El valor de crosspoint de los geles tratados varió entre 156 Pa y 312 Pa para las muestras C.N y 0-300. El valor de esta variable para todas las muestras de gel tratadas fue significativamente mayor ($p < 0,05$) con respecto a la muestra C.N, exceptuando en las muestras 15-300 y 0-600.

Tabla 6. Comportamiento reológico de los geles obtenidos de las muestras de harina producidas a partir de granos de trigo sarraceno tratados con A.P.H.

	G'_{w1} (Pa)	a	G''_{w1} (Pa)	b	Tan $(\delta)_{w1}$	c	G^* (Pa)	Crosspoint ($G' = G''$) (Pa)	t_{max} (Pa)
C.N	1436 c	0,089 c	282 d	0,194 a	0,196 d	0,105 a	1463 d	156 a	12 a
0-300	1306 c	0,075 ab	205 c	0,222 b	0,157 a	0,147 b	1322 c	312 d	27 b
5-300	933 b	0,077 ab	160 b	0,249 c	0,172 bc	0,172 cd	947 b	291 cd	32b
15-300	744 a	0,082 bc	123 a	0,251 c	0,166 b	0,169 cd	754 a	188 ab	27 b
0-600	900 b	0,083 bc	148 b	0,248 c	0,165 ab	0,165 c	912 b	227 abc	27 b
5-600	965 b	0,069 a	162 b	0,244 c	0,167 b	0,176 d	979 b	255 bcd	27 b
15-600	919 b	0,071 a	164 b	0,245 c	0,179 c	0,174 cd	934 b	241 bcd	27 b
SE	40	0,003	5	0,003	0,002	0,003	40	22	2
Tiempo	**	ns	**	*	**	**	**	ns	ns
Presión	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns	ns
Tiempo·Presión	**	*	**	**	*	ns	**	ns	ns

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y ns= no significativo ($p > 0,05$). C.N: control nativo T.S; 0-300: 0 minutos/300 MPa; 0-600: 0 minutos/600 MPa; 5-300: 5 minutos/300MPa; 5-600:5 minutos/600 MPa; 15-300: 15minutos/300 MPa; 15-600: 15minutos/600 MPa

A partir de las gráficas obtenidas de los ensayos de barrido de frecuencias entre 1 y 10 Hz, mediante el ajuste potencial de los resultados, se estimaron los valores del módulo elástico G'_{w1} , el módulo viscoso G''_{w1} , la tangente de pérdida tan $(\delta)_{w1}$, y de los exponentes a, b y c. El módulo elástico G' es una medida de la resistencia de la estructura que contribuye a una red tridimensional y representa la componente elástica de la red, mientras que el módulo viscoso G'' es una medida de la componente viscosa.

En todos los geles evaluados, se observó que los valores de G'_{w1} fueron mayores que G''_{w1} , revelando el comportamiento típico de los sólidos viscoelásticos, con valores de $\tan \delta = (G''/G')$ notablemente inferiores a 1, tal y como se ha reportado en numerosos trabajos previos (Abebe et al., 2015; Ronda et al., 2013). Según Mezger, (2009) un valor más alto del módulo elástico (G') refleja una mejora en la resistencia estructural de la red del gel.

Ambos módulos, G' y G'' , se vieron afectados significativamente ($p < 0,01$) por el tiempo de tratamiento de APH y por la interacción de éste con la presión. Como se puede ver en la Tabla 6, los geles obtenidos a partir de las muestras tratadas a 300 MPa mostraron una disminución de los valores de G'_{w1} a medida que aumentó el tiempo de tratamiento, presentando diferencias significativas ($p < 0,05$), con respecto a la muestra C.N, salvo la muestra T.S. 0-300. Los valores de G''_{w1} de los geles obtenidos a partir de granos de TS oscilaron entre 282 Pa (C.N) y 123 Pa (15-300), disminuyendo significativamente ($p < 0,05$) en las muestras tratadas, respecto a C.N, en todas las condiciones estudiadas.

Respecto a la tangente de pérdida, $\tan(\delta)_{w1}$, el tiempo afectó significativamente ($p < 0,01$) a este parámetro, al igual que la presión y la interacción entre ambos factores ($p < 0,01$). Los valores de $\tan(\delta)_{w1}$ oscilaron entre 0,196 (C.N) y 0,157 (0-300). Asimismo, se detectó una disminución significativa ($p < 0,05$) de esta variable en las muestras tratadas en comparación con la muestra sin tratar. Trabajos previos han evidenciado que los geles que presentan un valor de tangente de pérdida más bajo, manifiestan un comportamiento más rígido y denso tal y como se ha reportado en maíz (Mohammad Amini et al., 2015). Todas las muestras tratadas exhibieron una menor tangente de pérdida respecto a la muestra C.N al igual que en el trabajo de Vallons et al. (2011).

Por otro lado, los parámetros “a” y “b” determinaron la variación de los módulos G' y G'' con respecto la frecuencia. La interacción entre el tiempo y la presión afectó significativamente ($p < 0,05$) al exponente “a”; sin embargo, ni el tiempo ni la presión afectaron significativamente a este exponente. Los valores oscilaron ente valores de 0,069 y 0,083. No se observaron diferencias significativas para las muestras 15-300 y 0-600 frente a la muestra C.N, mientras que el resto de las muestras experimentaron una disminución significativa ($p < 0,05$) con respecto al control. Por otro lado, el exponente “b” aumentó significativamente ($p < 0,05$) en las muestras tratadas con APH respecto a la muestra C.N. El gel elaborado a partir de la muestra de harina 15-300 mostró el valor más elevado del exponente y, por lo tanto, el módulo G'' fue el más dependiente de la frecuencia, aumentando esta dependencia según aumentaba el tiempo de tratamiento. El exponente “c” osciló entre valores de 0,105 y 0,176 viéndose

afectado significativamente por el tiempo ($p < 0,01$) y la presión ($p < 0,05$). Todos los geles estudiados mostraron un aumento significativo ($p < 0,05$) del exponente “c” con respecto a la muestra C.N.

Por último, también se obtuvieron los valores del módulo complejo G^* . Este es una medida de la resistencia que opone el gel a la deformación. Los geles obtenidos de las muestras tratadas con APH, mostraron diferencias significativas ($p < 0,01$) de la variable G^* con respecto al tiempo, observándose una disminución significativa de los valores de G^* con respecto a la muestra C.N.

4.4 Determinación del contenido de fenoles totales de las harinas

Los resultados obtenidos tras extraer los polifenoles solubles e insolubles de las harinas de T.S y realizar las medidas de absorbancia están recogidos en la Tabla 7.

En el caso de los polifenoles solubles, se observó que tanto la presión ($p < 0,05$) como la interacción de ambos factores tuvieron un efecto significativo ($p < 0,01$) sobre esta fracción. El contenido de polifenoles solubles en la muestra de harina nativa de T.S obtenidos fueron superiores a los conseguidos por Hęś et al. (2012), pudiéndose deber al diferente método de extracción. Como se puede observar en los resultados, las muestras de harina tratadas con presiones de 600 MPa mostraron valores significativamente ($p < 0,05$) superiores que aquellas harinas tratadas a presiones de 300 MPa en los minutos 0 y 15. Otros autores en cambio, han detectado incrementos en la concentración de fenoles solubles en grosella tratada a 500 MPa durante 5 min donde la concentración aumentó significativamente en un 26,25% en comparación con muestras sin procesar (Vega-Galvez et al., 2014). Trabajos como los de Błaszczak et al. (2013) mostraron, sin embargo, una disminución del contenido de polifenoles solubles en un 12% a medida que se aumentaba el tiempo de tratamiento.

El trigo sarraceno constituye una valiosa fuente de compuestos biológicamente activos, como, por ejemplo, polifenoles con alta actividad antioxidante (Holasova et al., 2002). Autores como Hung & Morita (2008) confirmaron una mayor presencia de antioxidantes en capas externas de la semilla de TS. Como se observa en la Tabla 7, el contenido de polifenoles solubles entre harinas tratadas aumento significativamente ($p < 0,05$) al aumentar el nivel de presión para los mismos tiempos de tratamiento. El elevado valor de este parámetro obtenido a presiones y tiempos altos (15 min y 600 MPa) pudo estar asociado al incremento en la tasa de transferencia de masa. El uso de APH mejora las tasas de transferencia de masa aumentando la permeabilidad celular y la difusión de metabolitos secundarios de acuerdo con cambios en las transiciones de fase (Oroian &

Escriche, 2015). Como consecuencia de estos fenómenos, se pudo potenciar la migración de los polifenoles existentes en la cascarilla hacia el endospermo del grano.

Por otro lado, el contenido en polifenoles insolubles se vio afectado significativamente por el tiempo ($p < 0,05$) y por la presión del tratamiento ($p < 0,01$). La cantidad de polifenoles insolubles aumentó significativamente ($p < 0,05$) al tratar la harina de T.S con presiones de 600 MPa frente a las muestras tratadas a 300 MPa en los tiempos 0 y 15 minutos, tal y como muestran los resultados recogidos en la Tabla 7. La muestra de harina nativa de T.S fue la que mayor contenido de polifenoles insolubles tuvo, mientras que en el resto se observó una cantidad significativamente inferior, siendo las muestras 0-300 y 15-300 las que menos contenido de polifenoles insolubles obtuvieron.

Tabla 7. Contenido de fenoles totales y porcentaje de actividad antiradical asociada a los extractos solubles e insolubles de las muestras de harina obtenidas a partir de granos de trigo sarraceno tratados con altas presiones hidrostáticas

	Polifenoles solubles (mg Eq ácido galico/100 g m.s)	Polifenoles insolubles (mg Eq ácido galico/100 g m.s)	% Actividad antiradical extr.solubles	% Actividad antiradical en extr.insolubles
C.N	498,7 bcd	470,9 c	42,1 d	48,6 b
0-300	468,01 a	371,9 a	27,2 ab	49,7 b
5-300	496,8 bc	432,5 b	34,7 c	28,4 a
15-300	485,6 ab	396,5 a	26,7 a	27,2 a
0-600	517,7 cd	432,8 b	31,1 abc	27,9 a
5-600	471,2 ab	439,9 b	33,2 bc	22,6 a
15-600	526,5 d	440,8 b	41,7 d	46,3 b
SE	9,5	8,5	1,9	4,9
Tiempo	ns	*	*	*
Presión	*	**	**	ns
Tiempo· Presión	**	ns	**	**

Los valores con letra diferente en la misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y ns= no significativo ($p > 0,05$). T.S: Trigo sarraceno; C.N: control nativo T.S; 0-300: 0 minutos/300 MPa; 0-600: 0 minutos/600 MPa; 5-300: 5 minutos/300 MPa; 5-600: 5 minutos/600 MPa; 15-300: 15 minutos/300 MPa; 15-600: 15 minutos/600 MPa

4.5 Capacidad antioxidante

Con el fin de realizar un análisis de la actividad antioxidante de las muestras de harina de T.S se evaluó la reducción del radical DPPH. En este método utilizado, la intensidad del color violáceo de la solución de DPPH disminuye en presencia de antioxidantes, midiendo el cambio de absorbancia espectrofotométricamente. Los resultados obtenidos se expresaron como el porcentaje de DPPH remanente frente a la concentración inicial de DPPH disponible para reaccionar frente a los extractos solubles e insolubles de las muestras de harina de T.S. Para la obtención de estos resultados fue necesario realizar una cinética de desaparición del DPPH frente al tiempo y el empleo de una disolución inicial de DPPH de concentración 0,1 mM. En todos los casos

se pudo observar como a los 120 minutos de ensayo se notificó una fase de meseta en la cual la concentración de DPPH se estabilizó (Figura 4).

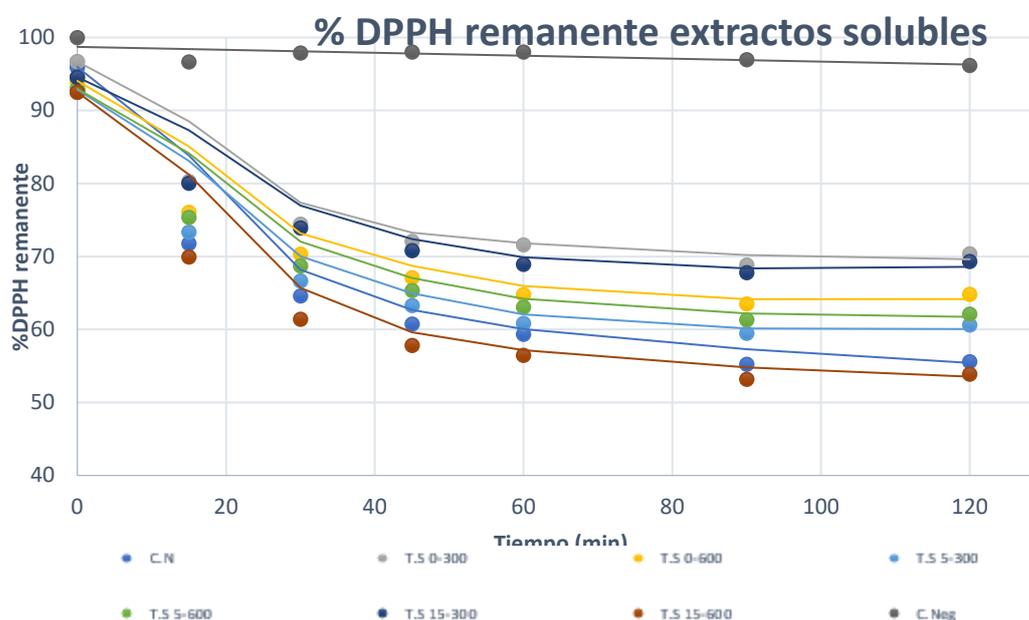


Figura 4. Cinética de desaparición de DPPH con respecto a los extractos solubles de harina de trigo sarraceno tratado con APH. T.S: Trigo sarraceno; C.N: control nativo T.S; 0-300: 0 minutos/300 MPa; 0-600: 0 minutos/600 MPa; 5-300: 5 minutos/300MPa; 5-600: 5 minutos/600 MPa; 15-300: 15 minutos/300 MPa; 15-600: 15 minutos/600 MPa

En la Tabla 7, aparecen recogidos los resultados de la actividad antiradical (antiradical activity; AR) asociada a los extractos de carácter solubles e insolubles obtenidos a partir de la harina de trigo sarraceno tratada con APH. Tanto el porcentaje de actividad antiradical en extractos solubles como insolubles se vieron afectados significativamente por el tiempo de tratamiento ($p < 0,05$) y por la interacción entre el tiempo y la presión de tratamiento de APH ($p < 0,01$). La actividad antiradical relacionada con los compuestos solubles se vio también afectada significativamente ($p < 0,01$) por la presión del tratamiento de APH. Como se puede observar en la Tabla 7, en todas las muestras tratadas la actividad antiradical relacionada con compuestos solubles se redujo significativamente en todos los casos con respecto a la muestra nativa de T.S, excepto para el tratamiento realizado a 600 MPa durante 15 minutos. En el caso de tratamientos a 300 MPa la disminución de la actividad antiradical fue más acusada ya que hubo una disminución en el valor de actividad antiradical general con respecto a la muestra C.N. No se detectó una tendencia clara con respecto a la actividad antiradical de los compuestos insolubles. En términos generales la actividad antiradical disminuyó significativamente como consecuencia de los tratamientos APH excepto en las muestras tratadas a mayor tiempo y 600 MPa y las muestras de T.S sometidas a condiciones leves de tratamiento APH (0 minutos y 300 MPa). Una tendencia similar se pudo

observar en el trabajo de Błaszczak et al. (2013) donde se trataron granos sin cascarilla de trigo sarraceno a una presión de 200 MPa durante 2, 4 y 9 minutos. Las muestras tratadas con altas presiones mostraron una tendencia a aumentar su valor a medida que aumentaba el tiempo de tratamiento. Sin embargo, no se observó una correlación significativa entre el tiempo de tratamiento y el aumento en la actividad antiradical de las fracciones solubles e insolubles de trigo sarraceno. Este efecto se atribuyó principalmente a los cambios irregulares en los valores de la capacidad antioxidante en relación con el tiempo de tratamiento y del nivel de presión aplicado.

Por lo general, la actividad antioxidante se examina en un momento final determinado, que puede no considerar las características cinéticas del antioxidante. Sin embargo, una investigación del comportamiento cinético podría proporcionar una información más completa sobre las propiedades antioxidantes y sobre la velocidad de actuación del antioxidante (Savatovic et al., 2012). Acorde con los datos de la literatura, (Sánchez-Moreno et al., 1998), los compuestos fenólicos, vitaminas, carotenoides, etc., muestran una acción cinética antiradical diferente. Por ejemplo; la quercetina y la rutina se ha clasificado como antioxidantes lentos. La harina de trigo sarraceno se caracteriza por tener rutina como compuesto fenólico dominante (Oomah & Mazza, 1996) aunque en el salvado también se aprecia gran cantidad de quercetina y aminoácidos (Bai et al., 2015). Como se puede observar en la Figura 4, la mayor tasa de desaparición de DPPH para los extractos solubles ocurrió dentro de los primeros 60 minutos de reacción. Aunque, las soluciones de los extractos mantuvieron su efecto antioxidante hasta el final del experimento. Como se vio, el tratamiento de mayor intensidad (15min, 600 MPa) es el que obtuvo la cinética de desaparición de DPPH con una pendiente mayor. Esto puede implicar que el tratamiento en la muestra 15-600 tuvo mayor capacidad de extracción de compuestos fenólicos. Igualmente se estudió la cinética de los extractos insolubles, contemplando en ese caso escasas diferencias con el control nativo.

5. CONCLUSIONES

Los tratamientos APH aplicados sobre granos enteros y vestidos de trigo sarraceno han demostrado provocar modificaciones en las propiedades funcionales y nutricionales de las harinas resultantes. En términos generales, dichas modificaciones se mostraron dependientes de la intensidad del tratamiento aplicado, siendo más acusadas cuando los tratamientos se realizaron a mayor presión (600 MPa) durante un tiempo más elevado (15 min).

Así, se observó que el tratamiento APH tenía, en general, un efecto significativo sobre las propiedades de hidratación y formación de espuma cuando se empleaba el

tratamiento de mayor intensidad (15 min, 600 MPa). Los diferentes tratamientos dieron lugar a perfiles viscosimétricos muy diversos caracterizados por un incremento de las viscosidades de pico para tratamientos a 300 MPa, y un descenso de este parámetro acompañado por un aumento de la estabilidad de los geles creados tras el proceso de gelatinización del almidón para tratamientos a 600MPa.

Por lo tanto, los tratamientos realizados sobre granos de TS podrían modular las modificaciones que experimentan las propiedades tecnológicas de las harinas, siendo éstas aplicables a distintos procesos de elaboración de alimentos sin gluten como salsas, cremas o incluso matrices más complejas como masas panarias, en sustitución de los aditivos empleados habitualmente en los procesos de elaboración industriales. No debemos olvidar que estas modificaciones están exentas de aparecer en el etiquetado, dando lugar a productos con las deseadas etiquetas limpias o “clean labels”, tendencia actual en la producción de alimentos y no muy común hasta ahora en los productos sin gluten.

Por último, con respecto a las propiedades nutricionales, los tratamientos más intensos permitieron mantener las propiedades antioxidantes de las harinas resultantes con respecto a las harinas procedentes de granos no tratados. Esto permite conservar las propiedades nutricionales características de las harinas de TS tras el tratamiento. Para completar este estudio, sería interesante profundizar en el estudio de las cinéticas de evolución de estos componentes nutricionales durante el tratamiento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto PID2019-110809RB-I00 financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación y los Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (MIC/FEDER), el proyecto AGL2015-63849-C2-2-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO/FEDER), de los proyectos de la Junta de Castilla y León/FEDER (Ref: VA072P17, VA165G18 y VA195P20, y del convenio Uva/FUNGUVA-ITACyL 2018 (sector harinero).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abebe, W., Ronda, F., Villanueva, M., & Collar, C. (2015). Effect of tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] grain flour addition on viscoelastic properties and stickiness of wheat dough matrices and bread loaf volume. *European Food Research and Technology*, 241(4), 469-478.
- Ahmed, J., Al-Ruwaih, N., Mulla, M., & Rahman, M. H. (2018). Effect of high pressure treatment on functional, rheological and structural properties of kidney bean protein isolate. *LWT*, 91, 191-197.

- Ahmed, J., Ramaswamy, H. S., Ayad, A., Alli, I., & Alvarez, P. (2007). Effect of high-pressure treatment on rheological, thermal and structural changes in Basmati rice flour slurry. *Journal of Cereal Science*, 46(2), 148-156.
- Ahmed, J., Thomas, L., Taher, A., & Joseph, A. (2016). Impact of high pressure treatment on functional, rheological, pasting, and structural properties of lentil starch dispersions. *Carbohydrate Polymers*, 152, 639-647.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2009). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 Suppl 4, 240-257.
- Alvarez-Jubete, Laura, Auty, M., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2009). Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology*, 230(3), 437.
- Bai, C. Z., Feng, M. L., Hao, X. L., Zhong, Q. M., Tong, L. G., & Wang, Z. H. (2015). Rutin, quercetin, and free amino acid analysis in buckwheat (*Fagopyrum*) seeds from different locations. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 14(4), 19040-19048.
- BeMiller, J. N., & Huber, K. C. (2015). Physical modification of food starch functionalities. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6, 19-69.
- Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(2), 258-261.
- Blanco, C. A., Ronda, F., Pérez, B., & Pando, V. (2011). Improving gluten-free bread quality by enrichment with acidic food additives. *Food Chemistry*, 127(3), 1204-1209.
- Błaszczak, W., Doblado, R., Frias, J., Vidal-Valverde, C., Sadowska, J., & Fornal, J. (2007). Microstructural and biochemical changes in raw and germinated cowpea seeds upon high-pressure treatment. *Food Research International*, 40(3), 415-423.
- Błaszczak, W., Zielińska, D., Zieliński, H., Szawara-Nowak, D., & Fornal, J. (2013). Antioxidant Properties and Rutin Content of High Pressure-Treated Raw and Roasted Buckwheat Groats. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 92-100.
- Braşoveanu, M., & Nemţanu, M. R. (2014). Behaviour of starch exposed to microwave radiation treatment. *Starch - Stärke*, 66(1-2), 3-14.
- Brumovsky, J. O., & Thompson, D. B. (2001). Production of Boiling-Stable Granular Resistant Starch by Partial Acid Hydrolysis and Hydrothermal Treatments of High-Amylose Maize Starch. *Cereal Chemistry*, 78(6), 680-689.
- Cappa, C., Lucisano, M., & Mariotti, M. (2013). Influence of Psyllium, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydrate Polymers*, 98(2), 1657-1666.
- Cappa, C., Lucisano, M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Mariotti, M. (2016b). Physical and structural changes induced by high pressure on corn starch, rice flour and waxy rice flour. *Food Research International*, 85, 95-103.
- Carballo Pérez, I., Mu, T. H., Zhang, M., & Ji, L. L. (2018). Effect of high hydrostatic pressure to sweet potato flour on dough properties and characteristics of sweet potato-wheat bread. *Journal of Food Science & Technology*, 53(4), 1087-1094.
- Chao, D., Jung, S., & Aluko, R. E. (2018). Physicochemical and functional properties of high pressure-treated isolated pea protein. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45, 179-185.
- Cheftel, J. C. (2016). Review: High-pressure, microbial inactivation and food preservation: *Food Science and Technology International*, 1(3).
- Collar, C., & Angioloni, A. (2014). Pseudocereals and teff in complex breadmaking matrices: Impact on lipid dynamics. *Journal of Cereal Science*, 59.
- Collar, C., Jiménez, T., Conte, P., & Fadda, C. (2014). Impact of ancient cereals, pseudocereals and legumes on starch hydrolysis and antiradical activity of technologically viable blended breads. *Carbohydrate Polymers*, 113, 149-158.
- Deng, Y., Padilla-Zakour, O., Zhao, Y., & Tao, S. (2015). Influences of High Hydrostatic Pressure, Microwave Heating, and Boiling on Chemical Compositions, Antinutritional Factors, Fatty Acids, In Vitro Protein Digestibility, and Microstructure of Buckwheat. *Food and Bioprocess Technology*, 8(11), 2235-2245.
- Douzals, J. P., Perrier Cornet, J. M., Gervais, P., & Coquille, J. C. (1998). High-Pressure Gelatinization of Wheat Starch and Properties of Pressure-Induced Gels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 4824-4829.
- Giménez-Bastida, J. A., & Zieliński, H. (2015). Buckwheat as a Functional Food and Its Effects on Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(36), 7896-7913.

- Hamada, S., Suzuki, K., Aoki, N., & Suzuki, Y. (2013). Improvements in the qualities of gluten-free bread after using a protease obtained from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Cereal Science*, *57*, 91–97.
- Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D., & Hagerman, A. E. (2002). Determination of Hydrolyzable Tannins (Gallotannins and Ellagitannins) after Reaction with Potassium Iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(7), 1785-1790.
- Hęś, M., Górecka, D., & Dziedzic, K. (2012). Antioxidant properties of extracts from buckwheat by-products. *Acta scientiarum polonorum. Technologia alimentaria*, *11*, 167-174.
- Holasova, M., Fiedlerova, V., Smrcinova, H., Orsak, M., Lachman, J., & Vavreinova, S. (2002). Buckwheat—The source of antioxidant activity in functional foods. *Food Research International*, *35*(2), 207-211.
- Horndok, R., & Noomhorm, A. (2007). Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. *LWT - Food Science and Technology*, *40*(10), 1723-1731.
- Hu, X., Xu, X., Jin, Z., Tian, Y., Bai, Y., & Xie, Z. (2011). Retrogradation properties of rice starch gelatinized by heat and high hydrostatic pressure (HHP). *Journal of Food Engineering*, *106*(3), 262-266.
- Hung, P. V., & Morita, N. (2008). Distribution of phenolic compounds in the graded flours milled from whole buckwheat grains and their antioxidant capacities. *Food Chemistry*, *109*(2), 325-331.
- Hüttner, E. K., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2010). Fundamental study on the effect of hydrostatic pressure treatment on the bread-making performance of oat flour. *European Food Research and Technology*, *230*(6), 827-835.
- Hüttner, E. K., Dal Bello, F., Poutanen, K., & Arendt, E. K. (2009). Fundamental evaluation of the impact of high Hydrostatic Pressure on oat batters. *Journal of Cereal Science*, *49*(3), 363-370.
- Jambrak, A. R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Bosiljkov, T., Čvek, D., Tripalo, B., & Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, *79*(1), 91-100.
- Kaur, B., Fazilah, A., & Karim, A. A. (2011). Alcoholic-alkaline treatment of sago starch and its effect on physicochemical properties. *Food and Bioprocess Processing*, *89*(4), 463-471.
- Kaushal, P., Kumar, V., & Sharma, H. (2012). Comparative study of physicochemical, functional, antinutritional and pasting properties of taro (*Colocasia esculenta*), rice (*Oryza sativa*) flour, pigeonpea (*Cajanus cajan*) flour and their blends. *LWT - Food Science and Technology*, *48*, 59–68.
- Kieffer, R., Schurer, F., Köhler, P., & Wieser, H. (2007). Effect of hydrostatic pressure and temperature on the chemical and functional properties of wheat gluten: Studies on gluten, gliadin and glutenin. *Journal of Cereal Science*, *45*(3), 285-292.
- Kim, M.-J., Oh, S.-G., & Chung, H.-J. (2017). Impact of heat-moisture treatment applied to brown rice flour on the quality and digestibility characteristics of Korean rice cake. *Food Science and Biotechnology*, *26*(6), 1579-1586.
- Kittisuban, P., Ritthiruangdej, P., & Supphantharika, M. (2014). Optimization of hydroxypropylmethylcellulose, yeast β -glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, *57*, 738–748.
- Kuntz, I. D. (1971). Hydration of macromolecules. III. Hydration of polypeptides. *Journal of the American Chemical Society*, *93*(2), 514-516.
- Lewandowicz, G., Fornal, J., & Walkowski, A. (1997). Effect of microwave radiation on physicochemical properties and structure of potato and tapioca starches. *Carbohydrate Polymers*, *34*(4), 213-220.
- Lin, T., & Fernández-Fraguas, C. (2020). Effect of thermal and high-pressure processing on the thermo-rheological and functional properties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *BioRxiv*, 2020.03.10.986117.
- Liu, H., Guo, X., Li, Y., Li, H., Fan, H., & Wang, M. (2016). In vitro digestibility and changes in physicochemical and textural properties of tartary buckwheat starch under high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, *189*, 64-71.
- Liu, H., Wang, L., Cao, R., Fan, H., & Wang, M. (2016). In vitro digestibility and changes in physicochemical and structural properties of common buckwheat starch affected by high hydrostatic pressure. *Carbohydrate Polymers*, *144*, 1-8.

- Luo, Z., Fu, X., He, X., Luo, F., Gao, Q., & Yu, S. (2008). Effect of Ultrasonic Treatment on the Physicochemical Properties of Maize Starches Differing in Amylose Content. *Starch - Stärke*, 60(11), 646-653.
- Luo, Z., He, X., Fu, X., Luo, F., & Gao, Q. (2006). Effect of Microwave Radiation on the Physicochemical Properties of Normal Maize, Waxy Maize and Amylomaize V Starches. *Starch - Stärke*, 58(9), 468-474.
- Marco, C., & Rosell, C. M. (2008). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1205-1213.
- Mariotti, M., Pagani, M. A., & Lucisano, M. (2013). The role of buckwheat and HPMC on the breadmaking properties of some commercial gluten-free bread mixtures. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 393-400.
- Marta, H., & Tensiska, T. (2017). Functional and Amylographic Properties of Physically-Modified Sweet Potato Starch. *KnE Life Sciences*, 689-700.
- McCann, T. H., Leder, A., Buckow, R., & Day, L. (2013). Modification of structure and mixing properties of wheat flour through high-pressure processing. *Food Research International*, 53(1), 352-361.
- Mezger, T. G. (2009). The Rheology Handbook. *Pigment & Resin Technology*, 38(5), 790-797.
- Mohammad Amini, A., Razavi, S. M. A., & Mortazavi, S. A. (2015). Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 122, 282-292.
- Moroni, A. V., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2009). Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 26(7), 676-684.
- Naczki, M., Diosady, L. L., & Rubin, L. J. (1985). Functional Properties of Canola Meals Produced by a Two-phase Solvent Extraction System. *Journal of Food Science*, 50(6), 1685-1688.
- Oomah, B. D., & Mazza, G. (1996). Flavonoids and Antioxidative Activities in Buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1746-1750.
- Oroian, M., & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 74, 10-36.
- Padalino, L., Conte, A., & Del Nobile, M. A. (2016). Overview on the General Approaches to Improve Gluten-Free Pasta and Bread. *Foods (Basel, Switzerland)*, 5(4).
- Pearce, K. N., & Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716-723.
- Pei-Ling, L., Qing, Z., Qun, S., Xiao-Song, H., & Ji-Hong, W. (2012). Effect of high hydrostatic pressure on modified noncrystalline granular starch of starches with different granular type and amylase content. *LWT*, 47(2), 450-458.
- Pérez-Jiménez, J., & Saura-Calixto, F. (2005). Literature Data May Underestimate the Actual Antioxidant Capacity of Cereals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 5036-5040.
- Pongjaruvat, W., Methacanon, P., Seetapan, N., Fuongfuchat, A., & Gamonpilas, C. (2014). Influence of pregelatinised tapioca starch and transglutaminase on dough rheology and quality of gluten-free jasmine rice breads. *Food Hydrocolloids*, 36, 143-150.
- Qin, Z., Guo, X., Lin, Y., Chen, J., Liao, X., Hu, X., & Wu, J. (2013). Effects of high hydrostatic pressure on physicochemical and functional properties of walnut (*Juglans regia* L.) protein isolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5), 1105-1111.
- Qiu, S., Li, Y., Chen, H., Liu, Y., & Yin, L. (2014). Effects of high-pressure homogenization on thermal and electrical properties of wheat starch. *Journal of Food Engineering*, 128, 53-59.
- Ratnayake, W. S., Hoover, R., & Warkentin, T. (2002). Pea Starch: Composition, Structure and Properties — A Review. *Starch - Stärke*, 54(6), 217-234.
- Raventós, M. (2005). *Industria alimentaria, tecnologías emergentes* (Universitat Politècnica de Catalunya). Universitat Politècnica de Catalunya. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=248947>
- Ravichandran, C., Purohit, S. R., & Rao, P. S. (2018). High pressure induced water absorption and gelatinization kinetics of paddy. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 146-152.
- Renzetti, S., Bello, F., & Arendt, E. (2008). Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 48, 33-45.

- Ronda, F., Oliete, B., Gómez, M., Caballero, P. A., & Pando, V. (2011). Rheological study of layer cake batters made with soybean protein isolate and different starch sources. *Journal of Food Engineering*, 102, 272-277.
- Ronda, F., Pérez-Quirce, S., Angioloni, A., & Collar, C. (2013). Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behaviour of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 252-262.
- Ronda, F., Perez-Quirce, S., Lazaridou, A., & Biliaderis, C. (2015). Effect of barley and oat β -glucan concentrates on gluten-free rice-based dough and bread characteristics. *Food Hydrocolloids*, 48.
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270-276.
- Savatovic, S., Cetkovic, G., Canadanovic-Brunet, J., & Djilas, S. (2012). Kinetic behaviour of the DPPH radical-scavenging activity of tomato waste extracts. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 77, 1381-1389.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic Press.
- Tester, R. F. (University of S., & Morrison, W. R. (1990). Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. *Cereal Chemistry (USA)*, 67(6), 551-557. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9112349>
- Torbica, A., Hadnađev, M., & Dapčević Hadnađev, T. (2012). Rice and buckwheat flour characterisation and its relation to cookie quality. *Food Research International*, 48(1), 277-283.
- Turkut, G. M., Cakmak, H., Kumcuoglu, S., & Tavman, S. (2016). Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. *Journal of Cereal Science*, 69, 174-181.
- Vallons, K. J. R., & Arendt, E. K. (2009). Effects of high pressure and temperature on buckwheat starch characteristics. *European Food Research and Technology*, 230(2), 343-351.
- Vallons, K. J. R., Ryan, L. A. M., & Arendt, E. K. (2011). Promoting structure formation by high pressure in gluten-free flours. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1672-1680.
- Vega-Galvez, A., López, J., Torres-Ossandón, M., Galotto, M., Díaz, L., Quispe, I., & Di Scala, K. (2014). High hydrostatic pressure effect on chemical composition, color, phenolic acids and antioxidant capacity of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 58, 519-526.
- Vera, A., Valenzuela, M. A., Yazdani-Pedram Zobeiri, M., Tapia, C., & Abugoch James, L. (2019). *Conformational and physicochemical properties of quinoa proteins affected by different conditions of high-intensity ultrasound treatments* [Elsevier].
- Verma, K. (2018). Biochemical constituents of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) collected from different geographical regions of Himachal Pradesh. *Molecular Biology Reports*, 45.
- Xia, Q., Wang, L., Xu, C., Mei, J., & Li, Y. (2017). Effects of germination and high hydrostatic pressure processing on mineral elements, amino acids and antioxidants in vitro bioaccessibility, as well as starch digestibility in brown rice (*Oryza sativa* L.). *Food Chemistry*, 214, 533-542.
- Yang, Z., Chaib, S., Gu, Q., & Hemar, Y. (2017). Impact of pressure on physicochemical properties of starch dispersions. *Food Hydrocolloids*, 68, 164-177.
- Yu, D., Chen, J., Ma, J., Sun, H., Yuan, Y., Ju, Q., Teng, Y., Yang, M., Li, W., Fujita, K., Tatsumi, E., & Luan, G. (2018). Effects of different milling methods on physicochemical properties of common buckwheat flour. *LWT*, 92, 220-226.
- Yu, Y., Ge, L., Zhu, S., Zhan, Y., & Zhang, Q. (2015). Effect of presoaking high hydrostatic pressure on the cooking properties of brown rice. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7904-7913.
- Zavareze, E. da R., & Dias, A. R. G. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 317-328.
- Ziobro, R., Korus, J., Juszczak, L., & Witczak, T. (2013). Influence of inulin on physical characteristics and staling rate of gluten-free bread. *Journal of Food Engineering*, 116(1), 21-27.

ANEXO 1: Determinación del contenido de fenoles totales de las harinas

Tabla 2. Ensayo preliminar de fenoles de una muestra de trigo sarraceno nativo a partir de extractos obtenidos a distintos tiempos (2-10h) y dos temperaturas (65-85°C).

Horas de tratamiento	Baño a 65 °C	Baño a 85 °C
	mg eq ac galico/100 g muestra seca	mg eq ac galico/100 g muestra seca
2 horas	272,1	390,1
4 horas	311,2	457,4
6 horas	359,7	435,7
8 horas	345,9	376,3
10 horas	374,9	426,3
SE	6,6	6,1

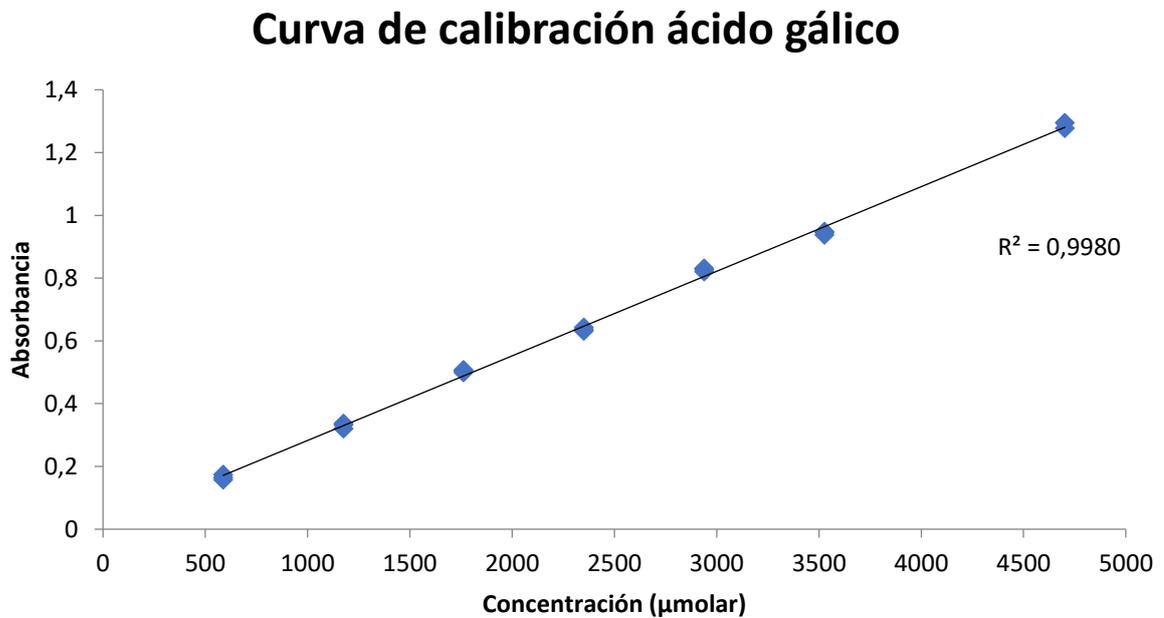


Figura 1. Curva de calibración ácido gálico

ANEXO 2: Propiedades de empastado de las harinas

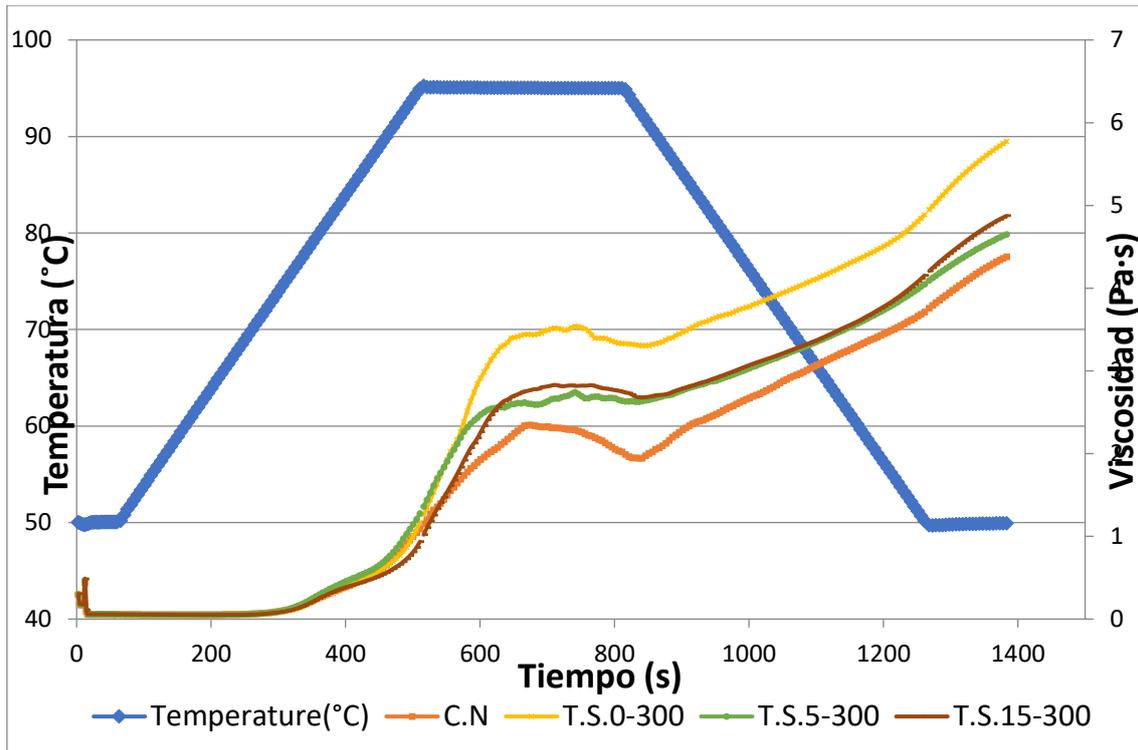


Figura 2. Evolución de las curvas de empastado de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados a 300 MPa con APH. C.N: control nativo; 0-300: 0 minutos/300 MPa; 5-300: 5 minutos/300 MPa; 15-300: 15 minutos/300 MPa

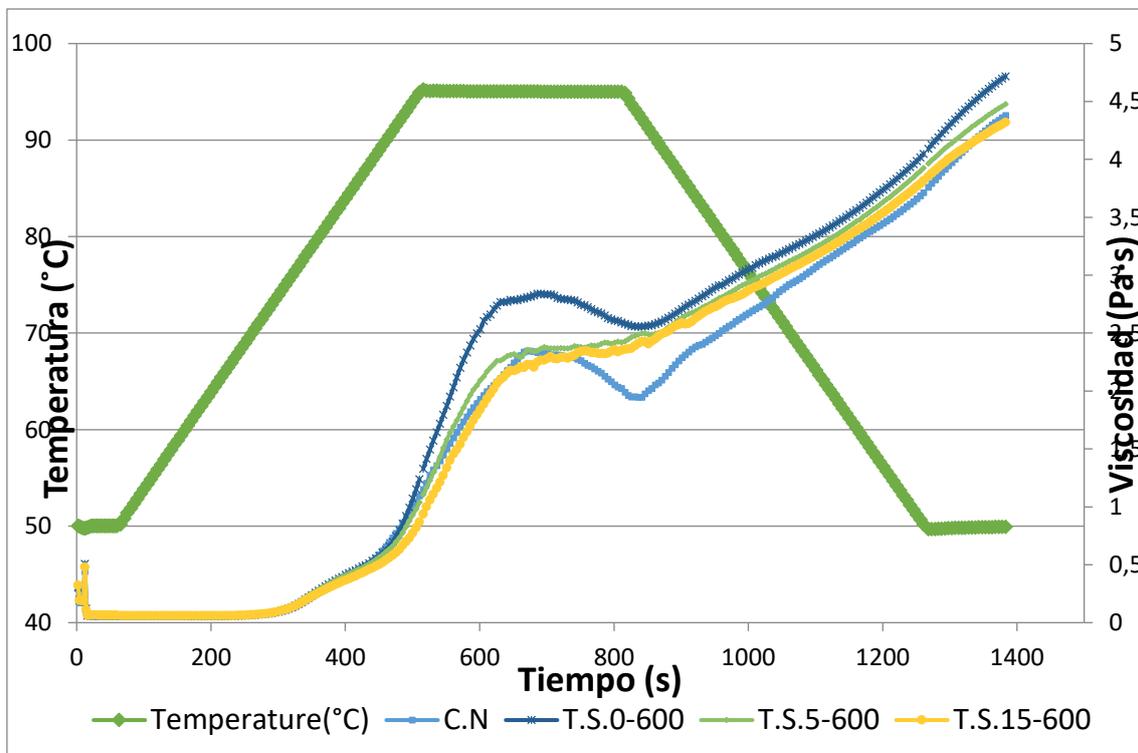


Figura 3. Evolución de las curvas de empastado de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados a 600 MPa con APH. C.N: control nativo; 0-600: 0 minutos/600 MPa; 5-600: 5 minutos/600 MPa; 15-600: 15 minutos/600 MPa