



**ESTUDIO DE LA MODIFICACIÓN FÍSICA DE HARINAS
DE TEFF MEDIANTE TRATAMIENTOS
HIDROTÉRMICOS Y DE ULTRASONIDOS**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2019/20

Alumno: Fernando Pérez Yáguez

Tutores: Felicidad Ronda Balbás y Antonio José Vela Corona

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

ÍNDICE

<u>RESUMEN Y ABSTRACT</u>	1
<u>1-INTRODUCCIÓN</u>	2
<u>2- OBJETIVOS</u>	5
<u>3- MATERIAL Y MÉTODOS</u>	5
3.1- Material	5
3.2 – Métodos	6
3.2.1 Tratamiento por ultrasonidos	6
3.2.2 Tamaño de partícula	6
3.2.3 Colorimetría	7
3.2.4 Propiedades funcionales	7
3.2.5 Propiedades de empastado	9
3.2.6 Reología de geles	9
3.2.7 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	10
3.2.8 Análisis estadístico	10
<u>4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	11
4.1-Tamaño de partícula	11
4.2-Color	12
4.3- Propiedades funcionales	13
4.3.1- WHC	13
4.3.2- WAC	14
4.3.3- WAI / WSI / SP	14
4.3.4- EA / ES	16
4.3.5- FC / FS	17
4.4- Propiedades de empastado	18
4.5-Propiedades reológicas	21
4.6- Propiedades térmicas	23
4.6.1-Gelatinización	23
4.6.2- Retrogradación	25
<u>5- CONCLUSIÓN</u>	27
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	28
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	28
<u>ANEXOS</u>	A1

RESUMEN

La aplicación de tratamientos con ondas de ultrasonidos (US) y “annealing” (ANN) (aplicación de temperaturas superiores a la ambiente e inferiores a la de gelatinización del almidón) es una alternativa, poco estudiada hasta la fecha, para modificar las propiedades físicas de harinas. En este estudio se han realizado tratamientos combinados US y ANN sobre harinas de teff blanco y rojo, cereal que debido a su resistencia frente a condiciones naturales adversas, plagas y a su perfil nutricional cobra interés en su uso para la alimentación humana principalmente como respuesta al aumento de la demanda de alimentos sin gluten. Se ha estudiado la temperatura de la dispersión de harina durante el tratamiento US (20, 40, 45, 50 y 55°C), manteniendo el resto de variables constantes, a una concentración del 25% (m/m) de harina en agua, tiempo de tratamiento y frecuencia de US de 10 min y 24 kHz. Se observó que los tratamientos de US y ANN provocaron cambios significativos en el tamaño de partículas, color, propiedades funcionales, propiedades de empastado y propiedades térmicas las harinas de teff blanco y rojo tratadas. Por lo tanto, a raíz de los resultados de este estudio se puede afirmar la viabilidad de los tratamientos combinados de US+ANN para modificar las propiedades tecno-funcionales de estas harinas, para adaptarlas a sus aplicaciones como ingrediente alimentario.

ABSTRACT

The application of treatments with ultrasound waves (US) and “annealing” (ANN) (application of temperatures higher than ambient and lower than that of gelatinization of starch) is an alternative, little studied to date, to modify the physical properties of flours. In this study, combined US and ANN treatments have been carried out on white and red teff flours, a cereal that due to its resistance to adverse natural conditions, pests and its nutritional profile is gaining interest in its use for human consumption mainly in response to the increase of the demand for gluten-free foods. The temperature of the flour dispersion during the US treatment (20, 40, 45, 50 and 55°C) has been studied, keeping the rest of the variables constant, at a concentration of 25% (m / m) of flour in water, time treatment rate and US frequency of 10 min and 24 kHz. It was observed that the US and ANN treatments caused significant changes in the particle size, color, functional properties, pasting properties and thermal properties of the treated white and red teff flours. Therefore, as a result of the results of this study, the viability of the combined treatments of US + ANN can be affirmed to modify the techno-functional properties of these flours, to adapt them to their applications as a food ingredient.

1- INTRODUCCIÓN

En la actualidad la demanda de productos sin gluten a nivel mundial ha aumentado en comparación con los años anteriores, debido al incremento de casos de celiaquía en la población mundial (Lebwohl y Rubio-Tapia, 2020) y al creciente número de personas sanas que optan por dietas sin gluten, considerándolas más saludable. La Enfermedad Celiaca (EC) es una enfermedad multisistémica con base autoinmune provocada por las prolaminas del gluten relacionadas, en individuos genéticamente susceptibles, y se caracteriza por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes del gluten, anticuerpos específicos de EC, haplotipos HLA DQ2 o DQ8 y enteropatía (definición de la ESPGHAN, Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica, Hepatología y Nutrición en 2012). Actualmente no existe una cura y el único tratamiento eficaz consiste en evitar el consumo de gluten o productos que lo contengan. Sin embargo la eliminación del gluten no es algo tan sencillo, ya que al ser la proteína formadora de estructura en los productos de panificación, muchos productos sin gluten disponibles en el mercado son de baja calidad, con deficiencias organolépticas y nutricionales, una corta vida útil y un precio elevado. Por lo tanto la eliminación del gluten y el desarrollo de productos libres de éste suponen un reto para la industria alimenticia.

Muchos de los productos desarrollados sin gluten se han basado en la sustitución de la harina de trigo por harinas sin gluten y otros ingredientes capaces de imitar las propiedades funcionales del gluten.

El teff es un cereal sin gluten de origen etíope que se ha empezado a producir en diferentes países debido al aumento de la demanda de alimentos sin gluten (Taylor, 2017), a la resistencia que posee frente a condiciones ambientales adversas durante su cultivo, su resistencia a plagas durante su almacenamiento (Assefa et al., 2015) y a su perfil nutricional, que despertaron el interés en su uso para la alimentación humana. Respecto a su perfil nutricional, a parte de la ausencia de gluten, cabe destacar su composición aminoacídica, similar al trigo pero con una concentración mayor de lisina y minerales (Gebremariam, Zarnkow y Becker, 2014; Zhu, 2018) y la presencia de compuestos bioactivos con efectos positivos para la salud como fitoesteroles, vitaminas y compuestos fenólicos (Ravisankar et al. 2018; Shumoy y Raes, 2016).

Actualmente, la harina de teff se emplea para la elaboración de gamas de productos sin gluten, como pan, masa madre, galletas, pasta y otros productos extruidos (Zhu, 2018), con el objetivo de mejorar su calidad nutricional manteniendo un índice glucémico reducido. Sin embargo, una de las principales dificultades técnicas presentes en la elaboración de productos sin gluten es que sus características naturales limitan su rango de utilización industrial, para lo que se aplican

modificaciones que alteran sus propiedades fisicoquímicas. Los métodos de modificación utilizados actualmente pueden ser genéticos, mecánicos, químicos, enzimáticos o físicos (Zheng et al., 2013).

La tendencia de los últimos años para obtener las propiedades funcionales deseadas, o mejorar las propiedades funcionales ya existentes, ha sido optar por las modificaciones físicas de almidones y harinas (Feng et al., 2011; Din, Xiong, y Fei, 2017; Radeloff y Beck, 2016; Chen et al., 2019), reduciéndose el uso de modificaciones químicas, que pueden plantear problemas medioambientales y requieren de su identificación en el etiquetado, lo que va en contra de la creciente demanda de alimentos con etiqueta limpia (Radeloff y Beck, 2016). Un etiquetado limpio implica que en la elaboración del producto se utilice la menor cantidad de ingredientes posible y que estos sean reconocidos y considerados saludables por los consumidores.

De esta manera las modificaciones físicas se consideran como el método más adecuado para el desarrollo de nuevos productos alimentarios, debido a que es sostenible, respetuoso con el medio ambiente y da una mejor imagen del producto final al consumidor (Radeloff y Beck, 2016).

Entre los últimos y más novedosos métodos de modificación física de almidones y harinas para su uso en la industria alimenticia encontramos los tratamientos de ultrasonidos (US).

Los ultrasonidos son ondas mecánicas, longitudinales, de una frecuencia por encima de la capacidad auditiva humana de 20 kHz. Los equipos generadores de ultrasonido operan con frecuencias que alcanzan niveles de megahercios (MHz). Para la emisión de ultrasonidos se emplean transductores, capaces de convertir energía eléctrica en ondas de ultrasonidos, disponibles en una amplia gama de tamaños y frecuencias según su aplicación, de baja o alta frecuencia. La modificación física de harinas y almidones mediante US depende en gran medida de las condiciones del tratamiento como la frecuencia de aplicación, la potencia, amplitud, tiempo y temperatura del tratamiento, así como el origen botánico de la muestra estudiada.

La transmisión acústica es una fuerza física del sonido debido a un gradiente de presión que es capaz de desplazar iones y moléculas pequeñas. Cuando los ultrasonidos se propagan por cualquier medio induce una serie de fenómenos de "cavitación acústica", consistente en la formación, expansión y colapso implosivo de microburbujas (Laborde et al. 1998, Tervo et al 2006); agitación, vibración, presión, ondas de choque, fuerzas de cizallamiento, compresión y rarefacción, flujo acústico, cavitación y formación de radicales libres. Dicho fenómeno de cavitación, en el caso de las modificaciones físicas de harinas y almidones a través de US, sucede a través

del medio líquido que es utilizado para suspender las muestras a ser tratadas, que la mayoría de ocasiones suele ser agua. Las microburbujas generadas durante la cavitación producen microcorrientes de agua que impactan en la superficie de la harina o almidón tratado, que causa su alteración superficial y conduce a la modificación de sus propiedades físicas.

Existen muchas otras aplicaciones para los ultrasonidos en la industria alimentaria, se emplea con fines de conservación y procesamiento, en un rango de frecuencias que oscila entre los 20 y 1000 kHz, con efectos físicos dominantes en el rango de 20 a 100 kHz con un nivel y efectos químicos dominantes en 200 a 500 kHz; a frecuencias superiores a 1000 kHz se emplean principalmente para el diagnóstico y evaluaciones de la calidad de los alimentos, debido a que no causan efectos físicos o químicos (Feng et al., 2011). De esta manera, dentro de la industria alimentaria, los usos principales que se le da a esta tecnología consisten en diagnóstico y evaluaciones de controles de calidad (Kumari et al., 2018; Zuo et al., 2009), procesos de cocinado y freído, corte, dispersión, mezcla, homogeneización (Jambrak et al., 2008; Iida et al., 2008), decapado y marinado, secado, filtración (Wen et al., 2008; Grossner et al., 2005), ablandamiento de la carne (Drimalova et al., 2005), extracción, congelación, cristalización (Jambrak et al., 2010), desgasificación y despumación (De-Sarabia et al., 2006; Rodríguez et al., 2010; Grönroos et al., 2004.)

Otro fenómeno que suele ir asociado a los tratamientos de ultrasonidos de harinas y almidones es el “annealing” (ANN), debido a que un efecto producido por el fenómeno de cavitación es el aumento de temperatura a causa del constante choque de partículas. ANN consiste en un proceso de tratamiento térmico que genera modificaciones físicas cuando se tiene un exceso de agua (superior al 60%) durante un periodo prolongado de tiempo, a una temperatura por encima de la temperatura de transición vítrea y por debajo de la temperatura de inicio de la gelatinización de la sustancia tratada, lo que permite una moderada reorganización molecular (Zavareze, Renato & Dias, 2011). Dicha reorganización molecular cambia las propiedades físicas del material provoca la reasociación de las cadenas de almidón sin destruir los gránulos de almidón, debido a que no se alcanza la temperatura de gelatinización.

El procesamiento de harinas y almidones por medio de tratamientos combinados de US+ANN puede desempeñar un papel importante en la modificación de las propiedades fisicoquímicas nativas, generando un aumento de su entalpia de gelatinización (Pinto et al., 2015), además del incremento de la fracción de almidón de digestión lenta y almidón resistente debido a la organización a una estructura más ordenada de las cadenas de doble hélice en las zona cristalinas en de los gránulos de almidón (Ayenampudi et al., 2019).

El uso de tratamientos de ultrasonidos y tratamientos térmicos para la modificación de harinas está condicionado por los parámetros de frecuencia, potencia, amplitud, tiempo y temperatura utilizados durante el tratamiento, y la composición, estado físico y concentración de la suspensión de la harina que se quiere tratar.

En la bibliografía disponible actualmente se encuentran muchos estudios realizados en almidones tanto por US como por ANN. Sin embargo los estudios realizados sobre harinas son muy escasos, más aun los que abordan la combinación de ambos tratamientos. Por este motivo, el presente trabajo pretende estudiar el efecto que los tratamientos por US tienen en combinación con ANN a diferentes temperaturas, en la modificación de las propiedades fisicoquímicas de harinas de teff blanco y rojo.

2- OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo fue el estudio del efecto de los tratamientos por ultrasonidos en combinación con tratamientos térmicos a diferentes temperaturas (20, 40, 45, 50 y 55°C) sobre dos harinas de teff (blanco y rojo) en una concentración del 25% durante 10 min de aplicación de US a 24kHz. Las modificaciones en las harinas fueron cuantificadas respecto a cambios en el tamaño de partícula, la colorimetría, las propiedades funcionales, las propiedades de empastado, la reología de geles y las propiedades térmicas.

3- MATERIAL Y MÉTODOS

3.1- Material

Las harinas de teff utilizadas en este estudio fueron facilitadas por la empresa CYLTEF (Villanazar, Zamora, España), y tuvieron la siguiente composición (datos comerciales):

- Teff Blanco (10,9% humedad, 10,2% proteína, 6,7% fibra, y 2,2% grasa), procedente de Toro (Zamora, España).
- Teff Rojo (8,9% humedad, 9,0% proteína, 7,0% fibra, y 2,6% grasa), procedente de Villanazar (Zamora, España).

Para la determinación de las propiedades funcionales se utilizó: agua destilada obtenida de un equipo Milli RO de Millipore (Madrid, España), y aceite refinado de germen de maíz de la marca Koipe Asua (Deoleo, Córdoba, España).

3.2 - Métodos

3.2.1. Tratamiento por ultrasonidos

Para la modificación física de las dos harinas de teff se llevaron a cabo tratamientos con el equipo de ultrasonidos Hielscher UP400St (Hielscher Ultrasonics, Alemania), estando equipado con una sonda de titanio S24d22D de 22 mm de diámetro.

Para estudiar la influencia de la temperatura del tratamiento sobre las distintas propiedades de las harinas tratadas, se realizaron un total de cinco tratamientos diferentes sobre cada una de las harinas de teff en su estado nativo, variando únicamente la temperatura y manteniendo el resto de variables constantes. Dichas variables fueron: suspensiones de 400 gramos de harina en agua, a una concentración del 25% (m/m) en base seca, sometidas a una agitación de 500 rpm durante todo el tratamiento, un tiempo de tratamiento de 10 minutos, una frecuencia de 24 kHz y un pulso del 80%, lo que implica que por cada segundo de tratamiento pasa 0,8 segundos ON y 0,2 segundos OFF. Las temperaturas estudiadas fueron de 20, 40, 45, 50 y 55 °C (ver Tabla1). La temperatura a la que fueron llevados los tratamientos fue conseguida con un baño termostático marca LAUDA, modelo RA12 (Lauda-Königshofen, Alemania). La Tabla 1 resume las condiciones aplicadas en todos los tratamientos realizados, así como la nomenclatura utilizada para identificar a cada una de las muestras estudiadas. Al finalizar el tratamiento las muestras se liofilizaron, en un liofilizador Telstar, modelo LyoQuest -85 (Barcelona, España) con el objetivo de eliminar el exceso de agua de la muestra. Por último, se tamizaron (usando tamices de 500 y 250 μm) las muestras liofilizadas para reconstruir las harinas a un tamaño de partícula <250 μm , que se recogen para analizar sus propiedades. La Tabla 1 recoge las muestras incluidas en el estudio y las condiciones de tratamiento de cada una de ellas.

Tabla 1. Diseño experimental utilizado en el estudio.

Temperatura del Tratamiento	Teff Rojo	Teff Blanco
Harina Nativa	TR-N	TB-N
20°C	TR-20	TB-20
40°C	TR-40	TB-40
45°C	TR-45	TB-45
50°C	TR-50	TB-50
55°C	TR-55	TB-55

3.2.2. Tamaño de partícula

Para estudiar el tamaño de partícula de las muestras de harinas de teff se utilizó el equipo Mastersizer 2000 (Malvern Panalytical Ltd, Malvern, Reino Unido) que utiliza la técnica de difracción láser para medir los tamaños de partículas y su distribución en

las muestras. Los resultados obtenidos se expresaron como D_{50} (μm), para cuantificar el tamaño medio de partícula, y $(D_{50}-D_{90})/D_{50}$, para expresar la dispersión de tamaños en la muestra de harina.

3.2.3. Colorimetría

Para estudiar el efecto de los tratamientos sobre el color de las muestras de harina de teff, se utilizó el Colorímetro PCE-CSM 2 de PCE Instruments (Tobarra, Albacete, España). Se utilizaron las coordenadas del espacio de color CIELAB un espacio uniforme de color, donde L^* informa de la luminosidad del color y las coordenadas a^* y b^* informan de la cromaticidad, h informa del tono y C^* de la saturación.

3.2.4. Propiedades funcionales

Capacidad de retención del agua (WHC).

La prueba consiste en la cuantificación de la capacidad de una harina para mantener o retener el agua añadida sin ser sometida a ninguna fuerza externa. La prueba se realizó por triplicado para cada muestra utilizando tubos falcon de 50 ml con faldón de peso controlado (PR) con 20 mL agua destilada y 2 g de muestra seca (PS) en el fondo del tubo. Se dejaron reposar durante 24 horas a una temperatura entre 15 y 18 °C, tras lo cual se eliminó el sobrenadante utilizando una pipeta Pasteur. Se pesaron los tubos con muestra y agua retenida (PT). El valor de WHC respecto a la muestra de calcula mediante la ecuación:

$$\text{WHC (g de agua / g de muestra)} = (\text{PT} - \text{PR} - \text{PS}) / \text{PS}.$$

Capacidad de absorción de agua (WAC)

Con esta prueba se cuantifica la capacidad de una harina para absorber agua cuando se aplica una fuerza externa. El proceso incluye una mezcla entre sólido y líquido seguida de una separación forzada por centrifugación. La prueba se realizó por triplicado para cada muestra utilizando tubos falcon de 50 ml sin faldón (PR) con 20 mL de agua destilada y 2 g muestra seca (PS) que se agitaron con un vortex, durante 30 segundos, en 3 ocasiones sucesivas dejando un reposo de 10 minutos entre agitación, seguido de una centrifugación a 3000 x g durante 30 minutos. Tras desechar el sobrenadante y secar las paredes de los tubos se pesaron (PT) en balanza. El valor de WAC se calculó con la fórmula:

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

Índices de absorción de agua, de solubilidad de agua y poder de hinchamiento

Con esta prueba se mide la capacidad de absorción de agua (WAI), la solubilidad en agua (WSI) y el poder de hinchamiento (SP) de una harina como resultado de su calentamiento en exceso de agua. La prueba se realizó como mínimo por triplicado, para lo cual se pesaron capsulas atemperadas para la medida de WSI (PC) y los tubos falcón de 50 ml sin faldón vacíos (PR) s los que se añadieron 2 g de muestra seca (PM). Se añadieron 20 mL de agua destilada a los tubos y se mezclaron con vortex. Se calentaron en agua a ebullición durante 15 minutos. Tras dejar los tubos enfriando a temperatura ambiente durante 1 hora se centrifugan a 3000 x g durante 10 minutos. Se separó el sobrenadante de cada tubo en una de las capsulas previamente pesadas. Se introdujeron en estufa a 110 °C durante 24 horas para obtener la materia seca. Se anotó el peso de los tubos falcon con el sedimento (PS) y, tras 24 horas, el peso de las capsulas con la fracción soluble seca (PSL). Los valores de WAI, WSI y SP se calcularon con las siguientes fórmulas:

$$\text{WAI (g gel/g harina)} = (\text{PS} - \text{PR}) / \text{PM}$$

$$\text{WSI (g solido soluble/100 g harina)} = (\text{PSL} - \text{PC}) / \text{PM} * 100$$

$$\text{SP (g gel/g harina insoluble)} = (\text{PS} - \text{PR}) / (\text{PM} - (\text{PSL} - \text{PC}))$$

Actividad de emulsión y estabilidad de la emulsión (EA/ES)

Con esta prueba se cuantifica la capacidad de una harina para formar emulsiones y la estabilidad de las mismas. La prueba se realiza utilizando 7 g de harina en base seca, 100 mL de agua destilada y 100 mL de aceite de maíz que se mezclan y baten con el homogeneizador a 1000 rpm durante 1 minuto. La emulsión resultante se distribuye de manera uniforme en cuatro tubos falcon sin faldón de 50 ml (VT = 45 ml a cada tubo), se centrifugan a 1300 x g durante 5 minutos y se mide el volumen ocupado por la emulsión resultante (VE₁). Seguidamente los tubos se calientan en un baño a 80°C durante 30 minutos, y una vez han sido enfriados se centrifugan a 1300 x g durante 5 minutos y se anota el nuevo volumen ocupado por la capa de emulsión (VE₈₀). Los valores de EA y ES ce calculan utilizando las formulas:

$$\text{EA (\%)} = 100 * (\text{VE}_1 / \text{VT})$$

$$\text{ES (\%)} = 100 * (\text{VE}_{80} / \text{VT})$$

Capacidad de espumación y estabilidad de espumación (FC / FS)

Con esta prueba se mide la capacidad de una muestra de harina para formar espuma y la estabilidad de la espuma formada. La prueba se realiza, por duplicado, preparando 2 g de muestra seca y añadirlos a una probeta con 40 ml de agua destilada, en concentraciones de 5 % (w/v). Se cubre la probeta con varias capas de

parafilm, se agita fuertemente la probeta durante 5 minutos y se apunta el volumen de la espuma (VE_0). Al cabo de 1 hora de reposo se vuelve a anotar el volumen que ocupa la espuma (VE_{60}) y se calculan FC y FS con las siguientes fórmulas:

$$FC = VE_0$$

$$FS = (VE_{60}/VE_0) * 100$$

3.2.5. Propiedades de empastado

Para el estudio de las propiedades de empastado se utilizó el reómetro Kinexus Pro+, modelo KNX2210 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido) y el accesorio para medir almidón (35 mm diameter 2 blade paddle (M4)) de acuerdo con el método Standard 2 de la AACC (AACC, 2000). Las mediciones se llevaron a cabo por duplicado para cada una de las harinas estudiadas, utilizando suspensiones de ~3,5 gramos de harina en 25 gramos de agua, ajustando en base a la humedad de cada muestra de harina. En ensayo incluye un calentamiento de la muestra una vez estabilizada a 50°C hasta 95°C a una velocidad de 960 rpm. Los parámetros obtenidos del ensayo fueron:

Pico de viscosidad (PV, Peak Viscosity) correspondiente a la máxima viscosidad que alcanza la muestra antes de sufrir el fenómeno de retrogradación, viscosidad final (FV, Final Viscosity) es el valor de viscosidad de la muestra al finalizar el ciclo, viscosidad de caída (TV, Trough Viscosity) correspondiente al menor valor de la viscosidad antes del inicio de la retrogradación, viscosidad de ruptura (BV, Breakdown Viscosity) que expresa numéricamente la estabilidad del gel frente al efecto del calentamiento y la cizalla, calculado como la diferencia entre la viscosidad de pico (PV) y viscosidad de caída (TV), viscosidad de retrogradación (SV, Setback Viscosity) es la diferencia entre la viscosidad final (FV) y la viscosidad de caída (TV) y temperatura de empastado (PT, Pasting Temperature), temperatura a la que comienza el aumento de la viscosidad de la harina en suspensión durante el calentamiento.

3.2.6. Reología de geles

Se estudiaron las propiedades reológicas de los geles obtenidos con las harinas tratadas y nativas obtenidas mediante el proceso descrito para la medida de las propiedades de empastado en el apartado anterior. Los ensayos se realizaron por duplicado. Se utilizó el reómetro Kinexus Pro+, con una geometría de placas paralelas de 40 mm de acero inoxidable y superficie serrada, con una separación de 1mm entre las placas.

Se realizaron barridos de esfuerzos para determinar la zona viscoelástica lineal (LVR), y establecer el esfuerzo a aplicar en el barrido de frecuencias. El barrido de esfuerzos

se realizó en el rango de 0,1 a 100 Pa, a una frecuencia constante de 1 Hz, y una temperatura constante de 25°C. Dichos ensayos permitieron determinar el esfuerzo máximo (τ_{\max}) que los geles eran capaces de soportar antes de la ruptura de su estructura y el punto en que coinciden los valores del módulo elástico y el módulo viscoso.

El barrido de frecuencias fue realizado en el intervalo de 10 a 1 Hz, a un esfuerzo constante de 10 Pa (dentro de la LVR)

Los resultados obtenidos en los barridos de frecuencia fueron ajustados a una ecuación potencial, como se muestra en las siguientes fórmulas:

$$G'(\omega) = G'_1 \cdot \omega^a$$

$$G''(\omega) = G''_1 \cdot \omega^b$$

$$\tan(\delta) = \frac{G'(\omega)}{G''(\omega)} = \left(\frac{G'}{G''} \right)_1 \cdot \omega^{b-a} = \tan(\delta)_1 \cdot \omega^c$$

Donde G'_1 , G''_1 y $\tan(\delta)_1$ representan el módulo elástico, el módulo viscoso y la tangente del ángulo de desfase (o tangente de pérdida) respectivamente.

Los exponentes a, b y c son constantes experimentales que cuantifican el grado de dependencia de los módulos elástico, viscoso y de la tangente de pérdida con la frecuencia respectivamente.

3.2.7. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Para estudiar las propiedades térmicas de las harinas de teff se utilizó la calorimetría diferencial de barrido con el equipo DSC3 (Mettler Toledo SA Española, España). Esta técnica termoanalítica mide la diferencia de calor entre una muestra y una referencia como una función de la temperatura.

El método utilizado consistió en un barrido de 0 a 110°C a un calentamiento constante de 5°C/min. Las muestras analizadas consistieron en aproximadamente 6 mg de muestra dentro de cápsulas de aluminio de 40 μ L con una concentración de agua del 70%. La entalpía y temperaturas de gelatinización se evaluaron en el día en que se prepararon las muestras, cuando se realiza el primer barrido. Para estudiar la retrogradación se realizó el mismo barrido de temperatura de la muestra gelatinizada pero después de haber sido almacenada a 4°C durante 7 días en la misma cápsula.

3.2.8. Análisis estadístico

Para comprobar el efecto de los distintos tratamientos de ultrasonidos sobre las propiedades de empastado, reológicas y funcionales de las harinas y geles de teff blanco y rojo se realizó un análisis estadístico de los datos obtenidos mediante el programa Statgraphics Centurion versión 18.1.13 (StatPoint Technologies Inc,

Warrenton, USA), calculando los valores medios y realizando el análisis de varianza paramétrico unidireccional (ANOVA) y el test LSD de Fisher (p -valor $< 0,05$).

4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez concluidos los ensayos experimentales, se realizó el análisis estadístico de los parámetros más relevantes para estudiar el efecto de la temperatura y del tratamiento de ultrasonidos (US) sobre las propiedades de las dos harinas de teff (blanco y rojo).

4.1-Tamaño de partícula

Después de haber sometido a las harinas al tratamiento de US se registraron cambios en la distribución de tamaños de partículas. En la Tabla 2 se recoge el tamaño medio y la dispersión de los tamaños para cada una de las muestras de harina analizadas. Todas las muestras tratadas fueron significativamente diferentes a las harinas nativas (p -valor $<0,05$).

Tabla 2. Distribución de tamaños de partícula de las harinas estudiadas:

MUESTRA	D_{50} (μm)	$(D_{90} - D_{10}) / D_{50}$	MUESTRA	D_{50} (μm)	$(D_{90} - D_{10}) / D_{50}$
Teff Blanco			Teff Rojo		
TB-N	139 b	2,20 a	TR-N	121 f	2,44 a
TB-20	108 a	2,77 b	TR-20	87 c	3,05 c
TB-40	103 a	2,84 bc	TR-40	110 e	2,80 b
TB-45	107 a	2,76 b	TR-45	99 d	2,87 b
TB-50	99 a	2,91 c	TR-50	82 b	3,29 d
TB-55	108 a	2,75 b	TR-55	66 a	3,74 e
ES	3	0,05	ES	1	0,05
p-valor	0,000	0,000	p-valor	0,000	0,000

Las diferentes letras indican diferencias significativas (p -valor $<0,05$) para la variable estudiada en cada tipo de harina. Tamaño medio de partícula D_{50} (μm) y dispersión $(D_{90} - D_{10}) / D_{50}$. ES: Error estándar promediado obtenido del estudio ANOVA.

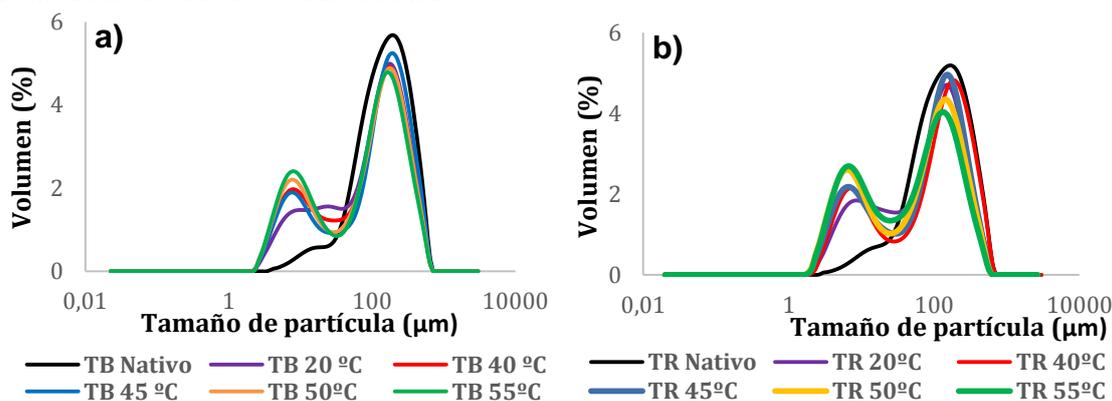


Figura 1: Histogramas de dispersión de tamaño de partícula, teff blanco (a) y rojo (b).

A partir de los valores registrados se puede afirmar que el tamaño medio de partícula disminuyó en las muestras tratadas con US, respecto a las muestras nativas. Por el contrario la dispersión de tamaños de partícula aumentó, como se puede observar en los histogramas de dispersión de tamaño de partícula de la Figura 1. Este aumento está relacionado con la formación de una fracción de partículas de tamaño menor a 30 μm , no existente en las muestras nativas.

El análisis del tamaño medio de partícula, D_{50} , de las muestras de teff blanco ha permitido establecer dos grupos homogéneos. Uno de ellos corresponde a la muestra nativa (139,49 μm) y el otro donde se engloban todas las muestras tratadas (98,96 – 108,31 μm), entre las cuales no se determinaron diferencias significativas. En el caso del teff rojo, las diferencias entre las muestras tratadas fueron más marcadas, disminuyendo significativamente el tamaño medio, D_{50} , de las partículas con el aumento de la temperatura de tratamiento. Dichas reducciones en D_{50} llegaron a ser de hasta un 29% y 45% para la harina de teff blanco y rojo, respectivamente.

Los cambios observados pueden deberse al fenómeno de "cavitación acústica" generado por las ondas de ultrasonidos, el cual consistente en la formación, expansión y colapso implosivo de microburbujas (Laborde et al., 1998; Tervo et al., 2006), que genera gradientes de alta presión y altas velocidades locales de capas líquidas en las proximidades de las harinas durante el tratamiento (Cui y Zhu, 2020; Constantino et al., 2020).

4.2-Color

En el ensayo colorimétrico se midieron los valores del espacio de color CIEL*a*b para cada una de las muestras tratadas (Tabla 3).

Al comparar los resultados del ensayo colorimétrico se concluyó que los tratamientos de US+ANN a diferentes temperaturas produjeron cambios significativos en las muestras tratadas respecto a las muestras nativas, tanto del teff blanco como el teff rojo, para cada uno de los parámetros analizados. Estos cambios consistieron en un aumento significativo de la luminosidad (L^*) y el tono (h), así como un descenso de los valores de las coordenadas que componen la cromaticidad (a^* y b^*) y la saturación (C^*). El aumento de L^* se asocia a tonos más claros. La disminución registrada para a^* denota un cambio hacia tonalidades menos rojizas, y la disminución de b^* indica una reducción de tonos amarillos con respecto a las harinas nativas. Las muestras que mostraron un mayor incremento de luminosidad respecto a la harina nativa TB-45 y TR-40, en cada variedad estudiada. Aumentos adicionales de temperatura a los correspondientes a esas muestras no provocaron aumentos adicionales de luminosidad en las muestras de harina. El tono, h , aumentó con el tratamiento un 4 y

un 11% en las variedades blanca y roja respectivamente, con independencia de la temperatura aplicada. Esto denota que las harinas tratadas fueron menos rojizas, con una tonalidad más amarillenta. Los colores resultaron siempre menos vivos en las harinas tratadas, con valores de saturación, C*, más bajos. Los resultados obtenidos en el estudio del color indican una pérdida de tonalidades amarillas y rojas, que concuerda con información bibliográfica acerca el efecto de tratamientos de US sobre el color de las harinas (Hidalgo et al., 2014; Chen et al., 2019; Zhu y Li 2019).

Tabla 3. Parámetros de color determinados en las harinas estudiadas:

MUESTRA	L*	a*	b*	c*	H
Teff Blanco					
TB-N	73,3 a	4,55 d	13,28 f	14,0 f	71,1 a
TB-20	76,4 b	3,35 c	11,80 e	12,3 e	74,2 b
TB-40	77,5 c	3,10 b	11,01 d	11,4 d	74,3 b
TB-45	78,3 d	2,95 a	10,46 c	10,9 c	74,3 b
TB-50	78,2 d	2,84 a	10,2 b	10,6 b	74,5 b
TB-55	78,3 d	2,84 a	9,98 a	10,4 a	74,1 b
ES	0,3	0,05	0,07	0,1	0,2
p-valor	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Teff Rojo					
TR-N	59,1 a	8,09 d	11,80 e	14,3 e	55,6 a
TR-20	65,6 b	5,66 c	10,08 d	11,6 d	60,7 b
TR-40	69,2 d	4,62 a	8,71 a	9,9 a	62,1 c
TR-45	68,6 cd	5,19 b	9,03 bc	10,4 c	60,1 b
TR-50	68,0 c	4,81 a	9,20 c	10,4 bc	62,4 c
TR-55	69,0 d	4,70 a	8,93 ab	10,1 ab	62,3 c
ES	0,31	0,08	0,08	0,1	0,3
p-valor	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Las diferentes letras indican diferencias significativas (p-valor<0,05) para la variable estudiada en cada tipo de harina. Luminosidad (L*), cromaticidad (coordenadas a* y b*), saturación (C*) y tono (h). ES: Error estándar promediado obtenido del estudio ANOVA.

4.3- Propiedades funcionales.

Los resultados del análisis de las propiedades funcionales analizadas para las muestras de teff blanco y rojo se recogen en la Tabla 4.

4.3.1- Capacidad de retención del agua (WHC)

La capacidad de retención del agua (WHC) de una harina depende tanto de su composición proteica como del tamaño de partícula. Con los resultados obtenidos se puede afirmar que el tratamiento de US+ANN afectó a la capacidad de retención de agua, dado que todas las muestras tratadas tuvieron una capacidad de retención mayor que la nativa correspondiente y el análisis estadístico corrobora que las diferencias obtenidas son significativas (p-valor<0,05).

En el caso de las muestras de teff blanco se observó un aumento del valor promedio de las muestras tratadas, siendo significativamente diferente a la nativa a partir de 40°C, con un valor de 3,08 g/g frente a 2,38 g/g de la nativa.

En las muestras de teff rojo se observó una tendencia similar obteniéndose diferencias significativas en el WHC a partir de una temperatura de 45°C, sin aumentos significativos adicionales al aumentar la temperatura a partir de este valor.

Este aumento de la capacidad de retención de agua puede deberse al efecto mecánico-químico de los US sobre las cadenas poliméricas de las harinas, de manera que la “cavitación acústica” provoca un aumento de la presión que rompe parcialmente las cadenas de amilosa permitiendo una mayor interacción con las moléculas de agua y aumentando su capacidad de retención (Zheng et al., 2013; Zhu y Li, 2019), efecto que parece incrementarse con temperaturas más elevadas. Dicha ruptura de las cadenas de amilosa llevaría a incrementar los puntos de interacción con las moléculas de agua, resultando en un aumento de la capacidad de retención de agua (Jambrak et al., 2010).

4.3.2- Capacidad de absorción de agua (WAC)

Esta propiedad hace referencia a la capacidad que tienen las harinas de unirse con el agua, siendo mayormente influida por las partes hidrofílicas de los hidratos de carbono y las proteínas (Jitnharmkusol, Hongsuwankul y Tananuwong, 2008). Con los resultados obtenidos de WAC se puede afirmar que los tratamientos de US+ANN afectaron significativamente a la capacidad de absorción de agua, dado que todas las muestras tratadas (tanto teff blanco como teff rojo) tuvieron una capacidad de retención de agua menor que su muestra nativa correspondiente, excepto en el caso de la muestra de teff rojo tratada a 55 °C, la cual no fue significativamente diferente que la muestra nativa. Esto puede deberse a que las temperaturas altas permiten cierta movilidad de las cadenas de amilosa, propiciando interacciones amilosa-amilosa y amilosa-amilopectina, lo que lleva a un reordenamiento de la estructura cristalina que limita la interacción que la muestra tiene con el agua (Zavareze et al., 2011). De esta manera, la estructura más compacta obtenida tras los tratamientos ANN dificultaría la hidratación de la fase amorfa.

4.3.3- Índices de absorción de agua, solubilidad de agua y poder de hinchamiento (WAI/WSI/SP)

El índice de absorción de agua (WAI) indica el volumen que ocupa el almidón gelatinizado, las proteínas desnaturalizadas y otros componentes después de hincharse en condiciones de exceso de agua. Los resultados recogidos en la Tabla 4

indican que los tratamientos de US provocaron un aumento del WAI en las dos harinas de teff estudiadas, y que el ANN tuvo un efecto sinérgico con los US, ya que todas las muestras tratadas mostraron diferencias significativas (p -valor $<0,05$) respecto a las harinas nativas y las harinas tratadas a temperatura ambiente (20°C). Los valores obtenidos para las muestras de teff blanco mostraron una tendencia del WAI a aumentar a medida que aumenta la temperatura de tratamiento, hasta los 40°C, a partir de dicho valor no se determinaron diferencias significativas. El máximo incremento determinado para esta harina (TB-40) fue del 59% respecto a la harina nativa. En el caso de las muestras de teff rojo se determinó un comportamiento similar solo que esta vez el valor de WAI se estabilizó a partir del tratamiento de US a 45°C. Para la harina de teff rojo, el máximo incremento registrado fue del 52%, correspondiente a TR-55. Este marcado incremento puede ser atribuido al efecto disruptivo que el fenómeno de cavitación tiene sobre las harinas, ya que el daño mecánico que generan los US lleva a la formación de partículas de menor tamaño (como se explicó previamente) y a daño superficial en dichas partículas, lo que incrementa el área superficial que entra en contacto con el agua y permite una mayor absorción de agua durante la gelatinización. Se registraron resultados similares en tratamientos realizados sobre almidones de arroz (Sujka y Jamroz, 2013) y maíz (Amini et al., 2015).

El índice de solubilidad de agua (WSI) de las harinas representa la cantidad de amilosa liberada del interior de un gránulo cuando el mismo comienza a perder su estructura por efecto de la absorción de agua. Los resultados obtenidos para el teff rojo indican que los tratamientos de US provocaron un descenso significativo en los valores de WSI. Sin embargo, en el caso del teff blanco únicamente TB-55 mostró un resultado significativamente diferente al reportado para la harina nativa, indicando que esta propiedad se mantuvo estable hasta un tratamiento a 50°C. En el caso de las muestras de teff rojo se observó un claro descenso en el valor de WSI, desde la temperatura más baja estudiada, hasta los 45 °C donde alcanzó su mínimo, un 30% menor que la harina nativa. El rango de disminución de WSI en el teff rojo fue de entre el 13% (TR-40) y el 31% (TR-45). Esta tendencia puede explicarse como una modificación en la relación amilosa/amilopectina de las muestras tratadas debido a la ruptura de cadenas que generan los US (Zheng et al., 2013), ya que proporciones mayores de amilosa llevan a la formación de una estructura más compacta de gel, lo que dificulta que los compuestos solubles salgan de los gránulos, llevando a valores menores de solubilidad (Seguchi et al., 2003).

El poder de hinchamiento (SP) representa el grado de interacción entre las cadenas de almidón, dentro de los dominios amorfo y cristalino del gránulo de almidón. A partir de

los resultados recogidos en la Tabla 4 se vió cómo el efecto del tratamiento de US provoca un aumento significativo en los valores de SP de las muestras tratadas respecto a las muestras nativas de los dos tipos de harina estudiados. Tanto en el caso de las muestras tratadas de teff blanco como de teff rojo aumentó con la temperatura de tratamiento, alcanzando hasta un valor en el que se estabiliza, que fue 40 y 45°C para el teff blanco y rojo respectivamente, de la misma manera que se observó en WAI.

El comportamiento general mostrado por los valores obtenidos para WAI, WSI y SP se deben a la ruptura de cadenas de amilosa y las cadenas laterales de amilopectina, debido al tratamiento de US, y el consecuente aumento del porcentaje de amilosa (Zheng et al., 2013; Zhu y Li, 2019; Constantino et al., 2020). Por tanto, dado que la capacidad de absorción y poder de hinchamiento son directamente proporcionales a la cantidad relativa de amilosa y la solubilidad es inversamente proporcional al contenido de amilosa es de esperar que con el tratamiento de US se produzca un aumento de los valores de WAI y un descenso de los valores de WSI respecto a las muestras nativas.

4.3.4- Actividad de emulsión y estabilidad de la emulsión (EA/ES)

La actividad de emulsión (EA), que alude a la capacidad de una harina para formar emulsiones, se vió afectada por el tratamiento de US y por la temperatura a la que se realizó, de manera que las muestras presentaron diferencias significativas entre sí (p -valor $<0,05$). En el caso del teff blanco se observó un aumento de EA en las muestras tratadas, siendo la muestra de TB-20 la que alcanzó mayor EA, un 30% mayor que el de la harina nativa; mientras que TB-55 presentó un valor de EA similar a los de la muestra nativa. En el caso del teff rojo se observaron variaciones en el valor de EA, aunque la mayoría fueron similares al valor de la muestra nativa, excepto la muestra TR-55 que tuvo un valor significativamente menor que el de la muestra nativa.

La estabilidad de la emulsión (ES), que cuantifica la estabilidad de una emulsión formada por una harina, también se vió afectada por el tratamiento de US y por la temperatura a la que se realizó el tratamiento. En el caso del teff blanco se observó aumento importante del valor de ES en todas las muestras tratadas, respecto a la muestra nativa, sin verse una tendencia clara ascendente o descendente conforme varía la temperatura. El caso del teff rojo es similar, ya que también experimentó un aumento del valor de ES en las muestras tratadas, sin embargo pese a que el tratamiento sigue mejorando la estabilidad de la emulsión, se observó un descenso de ES conforme se aumentó la temperatura del tratamiento de US hasta que en la muestra TR-55 se obtuvo un valor inferior al de la muestra nativa.

Los efectos observados se justifican debido a que los tratamientos de US y ANN mejoran las propiedades interfaciales de los péptidos alterando su estructura molecular exponiendo grupos hidrófobos, aumentando las cargas de superficie (Constantino et al., 2020; Ai et al., 2021). En cuanto al caso de la muestra TR-55, el descenso de los valores de ES pueden deberse a que el grado de alteración que experimentan los péptidos haya alcanzado un punto que estabiliza las propiedades del polímero.

Tabla 4. Resultados de propiedades funcionales:

MUESTRA	WHC	WAC	WAI	WSI	SP	EA	ES	FC	FS
Teff Blanco									
TB-N	2,38 a	1,15 c	5,4 a	6,0 bc	5,7 a	43 a	6 a	4,6 a	66 a
TB-20	2,50 ab	1,02 ab	7,6 b	6,4 c	8,1 b	56 c	38 e	7,0 b	58 a
TB-40	3,08 c	1,00 ab	8,6 c	5,8 bc	9,1 c	49 b	17 bc	4,5 a	68 a
TB-45	2,57 b	1,01 ab	8,3 c	5,5 b	8,8 c	50 b	24 d	5,0 a	60 a
TB-50	2,60 b	0,98 a	8,5 c	6,0 bc	9,0 c	52 b	18 c	4,5 a	100 b
TB-55	2,60 b	1,03 b	8,5 c	4,7 a	8,9 c	41 a	12 b	4,0 a	100 b
ES	0,05	0,01	0,2	0,3	0,2	1,3	2	0,5	5
p-valor	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,047	0,002
Teff Rojo									
TR-N	2,13 a	1,13 c	5,4 a	5,4 c	5,7 a	48 bcd	6 a	6,5 bc	54 ab
TR-20	2,28 ab	1,02 a	7,2 b	4,5 b	7,5 b	52 d	29 c	7,5 c	46 ab
TR-40	2,28 ab	1,07 b	7,0 b	4,7 bc	7,3 b	46 bc	29 c	6,5 bc	61 ab
TR-45	2,45 bc	1,01 a	8,0 c	3,7 a	8,3 c	50 cd	20 b	6 ab	42 a
TR-50	2,42 bc	1,11 bc	7,8 c	4,4 ab	8,1 c	44 b	18 b	7 bc	50 ab
TR-55	2,67 c	1,16 c	8,2 c	4,5 b	8,6 c	34 a	5 a	5 a	70 b
ES	0,09	0,02	0,2	0,2	0,2	1,7	3	0,4	8
p-valor	0,011	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000	0,000	0,026	0,257

Las diferentes letras indican diferencias significativas (p -valor $<$ 0,05) para la variable estudiada en cada tipo de harina. Capacidad de retención del agua WHC (g agua/g muestra), capacidad de absorción de agua WAC (g agua/g muestra), actividad de emulsión EA (%) y estabilidad de la emulsión ES (%), índice de absorción de agua WAI (g gel/g harina), índice de solubilidad de agua WSI (g sólido soluble / 100 g harina) y poder de hinchamiento SP (g gel/g harina insoluble), capacidad de espumación FC (ml) y estabilidad de espumación FS (%). Las letra diferentes en el mismo parámetros indica que se agrupan en grupos homogéneos significativamente diferentes (p $<$ 0,05). ES: Error estándar promediado obtenido del estudio ANOVA.

4.3.5- Capacidad de espumación y estabilidad de espumación (FC/FS)

La capacidad de espumación (FC) y estabilidad de espumación (FS) miden la capacidad de una muestra de harina para formar espuma y la estabilidad de la espuma formada. A partir de los resultados recogidos en la Tabla 4 se puede observar el efecto que los tratamientos de US, a diferentes temperaturas, tienen sobre el FC y FS de las harinas estudiadas. El tratamiento de US provocó un aumento de FC en los tratamientos de 20 °C, pero a medida que se aumentó la temperatura del tratamiento

los valores de FC no muestran diferencias significativamente con los valores obtenidos para las muestras nativas, excepto TR-55 que fue significativamente menor. Por el contrario, los valores obtenidos de FS mostraron efectos significativos en el caso de las muestras de teff blanco (p -valor $<0,05$), con un aumento de FS para los tratamientos realizados a 50 y 55°C (TB-50 y TB-55). En el caso de las muestras de teff rojo no se determinaron diferencias significativas entre las harinas tratadas y la nativa.

La capacidad de formación de espuma de las harinas depende de la concentración de proteínas. Durante el tratamiento con ultrasonido las estructuras proteicas se desordenaron provocando el aumento del poder espumante (Jambrak et al., 2008; Rodríguez et al., 2010). Los resultados parecen indicar que ambas harinas estudiadas fueron capaces de mantener su capacidad espumante a pesar de las condiciones intensas a las que se les expuso durante los tratamientos US+ANN, (con excepción de TR-55) e incluso son capaces de generar una espuma más estable (TB-50 y TB-55).

4.4- Propiedades de empastado

Las propiedades de empastado permitieron conocer el comportamiento de las harinas en exceso de agua, bajo condiciones de calentamiento y enfriamiento controlados, generando su gelatinización y posterior retrogradación, registrando su viscosidad en cada momento del ciclo. Al observar los resultados de las propiedades de empastado se concluyó en que los tratamientos de US+ANN tendieron a disminuir el perfil de viscosidad de las harinas de teff durante el proceso de empastado (Tabla 5), y que todas las muestras tratadas en cada uno de los parámetros estudiados, fueron significativamente diferente (p -valor $<0,05$) a su respectiva harina nativa.

En el caso de las harinas estudiadas de teff blanco, la disminución del pico de viscosidad (PV) alcanzó un máximo en el tratamiento a 45°C y supuso un descenso de ~20%, mientras que la viscosidad final (FV) disminuyó hasta un ~16% (TB-45). La viscosidad de caída (TV) pasó de un valor de 1,32 Pa·s, en TB-N, a valores de entre 1,20-1,25 Pa·s en las muestras tratadas. Las reducciones obtenidas en la viscosidad de ruptura (BV) y viscosidad de retrogradación (SV) también mostraron un valor mínimo en TB-45, ya se calcularon a partir de los valores de PV, TV y FV.

En el caso de las harinas estudiadas de teff rojo, la disminución del pico de viscosidad (PV) alcanzó un máximo en TR-55, representando un descenso de ~23%, mientras que la viscosidad final (FV) disminuyó hasta un ~20% (TR-55). La viscosidad de caída (TV) pasó de un valor de 1,25 Pa·s en TR-N a valores de entre 1,11-1,19 Pa·s en las muestras tratadas. La reducción de la viscosidad de ruptura (BV) y viscosidad de

retrogradación (SV) también mostraron un valor mínimo en TR-55. Tanto BV como SV siguieron una tendencia descendente con tratamientos a temperaturas más altas.

Los valores más bajos de BV indicaron una mejor capacidad de las harinas tratadas para soportar estrés y calentamiento, mientras que valores más bajos de SV indicaron una menor capacidad de retrogradación de la amilosa, mejor. Tanto BV como SV parecieron seguir una tendencia a disminuir conforme aumenta la temperatura del tratamiento, hasta los 45°C. Aumentos adicionales de temperatura no provocaron una mayor disminución en estas propiedades.

Tabla 5. Resultados de propiedades de empastado:

MUESTRA	PV (Pa·s)	FV (Pa·s)	TV (Pa·s)	BV (Pa·s)	SV (Pa·s)	PT (°C)
Teff Blanco						
TB-N	2,05 c	2,43 d	1,32 c	0,73d	1,10 d	76,81 a
TB-20	1,70 a	2,12 cd	1,20 a	0,49ab	0,92 bc	79,74 bc
TB-40	1,80 b	2,19 c	1,25 b	0,54c	0,94 c	79,72 bc
TB-45	1,65 a	2,04 a	1,20 a	0,46a	0,85 a	79,05 b
TB-50	1,69 a	2,10 ab	1,21 a	0,48ab	0,89 ab	80,30 c
TB-55	1,77 b	2,16 bc	1,25 b	0,52bc	0,90 bc	80,85 c
ES	0,04	0,04	0,02	0,02	0,02	0,57
p-valor	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Teff Rojo						
TR-N	2,04 c	2,49 c	1,25 c	0,78c	1,24 d	79,23 a
TR-20	1,64 ab	2,10 a	1,11 a	0,53ab	0,99 b	81,87 b
TR-40	1,73 b	2,29 b	1,16 ab	0,58b	1,13 c	84,02 c
TR-45	1,73 b	2,30 b	1,19 bc	0,54ab	1,11 c	83,44 c
TR-50	1,65 ab	2,05 a	1,12 a	0,53ab	0,93 ab	82,88 bc
TR-55	1,57 a	1,98 a	1,11 a	0,46a	0,87 a	83,35 bc
ES	0,05	0,06	0,02	0,03	0,04	0,56
p-valor	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000

Las diferentes letras indican diferencias significativas (p -valor $<0,05$) para la variable estudiada en cada tipo de harina. El pico de viscosidad (PV), viscosidad final (FV), viscosidad de caída (TV), viscosidad de ruptura (BV), viscosidad de retrogradación (SV) y temperatura de empastado (PT). ES: Error estándar promediado obtenido del estudio ANOVA.

La temperatura de empastado (PT) determinada para las harinas tratadas indicó un retraso en el inicio de la gelatinización, siendo más marcado para temperaturas de tratamiento más altas en el caso del teff blanco (80,85 °C de TB-55 vs. 76,81°C de TB-N), mientras que en el caso del teff rojo, dicho incremento se marcó desde la harina tratada a 40°C (84,02 °C de TR-40 vs. 79,23°C de TR-N), temperatura a partir de la cual no se determinaron diferencias significativas. Estos resultados indican una mayor dificultad para hidratar los gránulos de almidón en las harinas tratadas, al requerir temperaturas más altas para lograrlo, probablemente debido a una reorganización en la cristalinidad de las muestras causada por los tratamientos US+ANN. La bibliografía disponible actualmente indica que los tratamientos con ANN facilitan la movilidad de

las fases amorfas a una configuración más estable, asociada a una estructura más compacta, resultado en un material con un mejorado orden de cristalinidad (Zavareze et al., 2011).

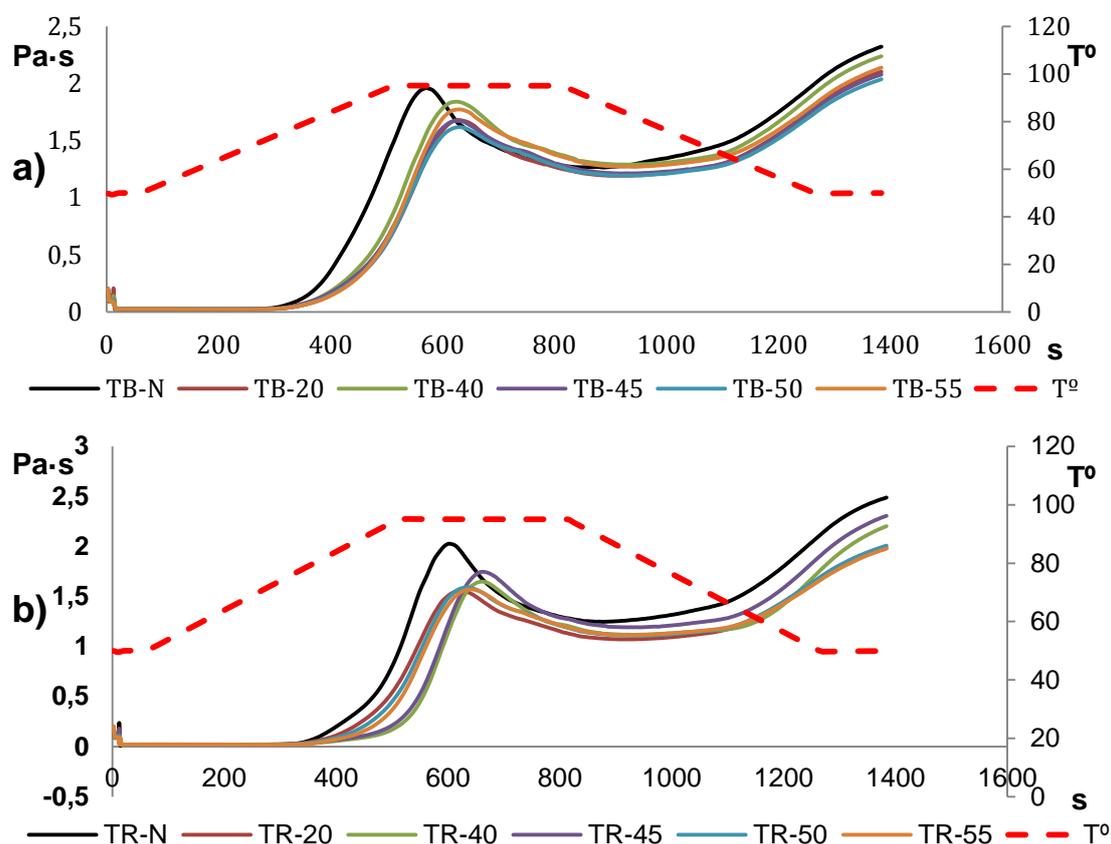


Figura 2: Graficas de propiedades de empastado del teff blanco (a) y rojo (b).

El descenso de los perfiles de viscosidad en ambas harinas estudiadas puede deberse a que los tratamientos de US+ANN tuvieron un efecto dañino de los gránulos de almidón, que provocó alteraciones en las moléculas de amilosa y amilopectina. Entre los cambios experimentados durante el tratamiento se encontraría la ruptura de enlaces α (1-6) de las moléculas de amilopectina y el consecuente aumento de moléculas desordenadas de amilosa capaces de interactuar con las moléculas de agua reduciendo la viscosidad, en concordancia con el aumento de los valores de WHC y WAI. Estos efectos sobre la viscosidad también se vieron en otros estudios (Iida et al., 2008; Zuo et al., 2009; Zheng et al., 2013; Chen et al., 2014; Zhu y Li, 2019; Cui y Zhu, 2020). El mayor descenso, que se observó para temperaturas de tratamiento más altas, pudo explicarse como una consecuencia del efecto de annealing en estos tratamientos. Ji (2020) indicó que cuando las harinas pasan por un tratamiento de ANN, las proteínas presentes en ellas pueden restringir la capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón, resultando en una disminución de sus

parámetros de viscosidad. Resultados similares se determinaron en almidón de maíz tras tratamientos con ANN (Chung et al., 2009).

4.5-Propiedades reológicas.

En el análisis de las propiedades reológicas de los geles formados con las harinas estudiadas se llevaron a cabo barridos de esfuerzos para establecer la región viscoelástica lineal (LVR, por sus siglas en inglés), y el valor de esfuerzo máximo τ_{\max} que los geles eran capaces de soportar antes de la ruptura de su estructura. Después de dicha ruptura se produjo un descenso del módulo elástico (G') y del módulo viscoso (G''), hasta alcanzar el cruce de ambas líneas ($G'_1=G''_1$), punto denominado de cruce, en el que el gel pasa de tener un carácter predominantemente elástico a uno mayormente viscoso.

En la Tabla 6 se muestran los valores obtenidos de τ_{\max} y el punto de cruce ($G'_1=G''_1$). Dentro de la LVR, el módulo elástico G' mostró siempre valores superiores al módulo viscoso G'' , indicativo de un comportamiento predominantemente elástico en todas las muestras analizadas. Las muestras tratadas de teff blanco mostraron esfuerzos máximos, τ_{\max} , significativamente mayores al de TB-N, aumentando en un rango del 22% (TB-50) al 64% (TB-40). Los valores determinados del punto de cruce para estas harinas no mostraron diferencias significativas. En las muestras de teff rojo se determinó una cierta tendencia de τ_{\max} a disminuir a medida que aumenta la temperatura del tratamiento, para las harinas tratadas a temperaturas por debajo de 50°C, mientras que TR-50 y TR-55 a pesar de ser ligeramente superiores a TR-N no mostraron ser significativamente diferentes. Estos incrementos determinados en la mayoría de las harinas tratadas confirmaron una tendencia a aumentar la fuerza de los geles formados como resultado de los tratamientos US+ANN.

Con la información de la LVR se realizaron barridos de frecuencias para calcular los coeficientes del módulo elástico (G'_1), módulo viscoso (G''_1) y la tangente de pérdida ($\tan(\delta)_1$) en un rango de frecuencia de 10 a 1 Hz, así como sus correspondientes exponentes a, b y c. en general cuantificaron pocas diferencias significativas en estos parámetros de estudio. Los valores de G'_1 permanecieron constantes independientemente del tratamiento aplicado, para ambas harinas estudiadas. En el caso de G''_1 , para las harinas de teff blanco se determinó una leve tendencia descendente conforme aumenta la temperatura del tratamiento, a ser significativamente diferente en la temperatura máxima de estudio (TB-55), mientras que las harinas de teff rojo indicaron un claro descenso en todas harinas tratadas, siendo significativamente diferente a TR-N desde la temperatura más baja estudiada. Kaur y Gill (2019) indicaron que la disminución de los módulos elástico y viscoso tras

el tratamientos con US se debió al daño que sufren los gránulos de almidón, debido a las fuerzas de cizalla que inducen los ultrasonidos, lo que causó la ruptura de moléculas de amilosa y redujo la fricción que generan entre capas del fluido, llevando a un descenso de la viscosidad del gel.

Tabla 6. Resultados de propiedades reológicas:

MUESTRA	G'_1	a	G''_1	B	tan (δ)	c	τ_{max}	$G'_1 = G''_1$
Teff Blanco								
TB-N	327 a	0,003 a	45 b	0,29 b	0,14 b	0,29 a	390 a	531 a
TB-20	401 a	-0,02 a	45 b	0,27 ab	0,12 ab	0,29 a	619 c	633 a
TB-40	386 a	-0,04 a	44 b	0,28 ab	0,12 ab	0,31 a	639 c	646 a
TB-45	426 a	-0,05 a	44 b	0,26 a	0,10 a	0,31 a	579 bc	613 a
TB-50	337 a	-0,02 a	41 ab	0,29 b	0,12 ab	0,31 a	474 ab	549 a
TB-55	329 a	-0,02 a	40 a	0,29 b	0,12 ab	0,31 a	534 bc	545 a
ES	53	0,02	2	0,01	0,01	0,01	51	55
p-valor	0,37	0,40	0,08	0,07	0,32	0,59	0,01	0,25
Teff Rojo								
TR-N	254 a	0,08 b	45 c	0,31 ab	0,18 b	0,23 a	310 bc	322 bc
TR-20	262 a	0,04 ab	34 ab	0,31 ab	0,14 a	0,27 abc	272 b	303 b
TR-40	230 a	0,08 b	30 a	0,34 c	0,13 a	0,26 ab	130 a	139 a
TR-45	250 a	0,08 b	35 ab	0,33 bc	0,14 a	0,24 a	119 a	157 a
TR-50	290 a	0,001 a	36 b	0,30 a	0,13 a	0,30 bc	351 bc	448 c
TR-55	286 a	-0,02 a	35 ab	0,30 a	0,12 a	0,32 c	399 c	457 c
ES	28	0,02	2	0,01	0,01	0,02	47	50
p-valor	0,404	0,018	0,007	0,010	0,085	0,033	0,001	0,000

Las diferentes letras indican diferencias significativas (p -valor $<0,05$) para la variable estudiada en cada tipo de harina. G'_1 representa el módulo de elasticidad, G''_1 es la representación del módulo de viscosidad, tan (δ), siendo δ el ángulo de desfase a una frecuencia constante de 1 Hz; a, b y c son constantes experimentales de dependencia de los módulos elástico (a) y viscoso (b), así como de la tangente del ángulo de desfase, el esfuerzo máximo (τ_{max}) que soportar el gel antes de romperse y el punto de cruce del módulo elástico y viscoso ($G'_1 = G''_1$). ES: Error estándar promediado obtenido del estudio ANOVA.

Los valores de tan (δ) determinados para las harinas tratadas mostraron una ligera tendencia a disminuir en ambas harinas estudiadas, siendo todas significativamente diferentes a la harina nativa en el caso del teff rojo, mientras que para el teff blanco únicamente TB-45 fue significativamente diferente de TB-N. Los valores más bajos de tan (δ) indican que los geles formados con las harinas tratadas tuvieron un comportamiento más sólido que aquellos formados con las harinas nativas. Estos resultados concordaron con los resultados observados en las propiedades de empastado, que hacen referencia a una estructura reorganizada más rígida como efecto del US+ANN.

Las variaciones detectadas en los parámetros de las propiedades reológicas se deben al efecto de los tratamientos US+ANN sobre la estructura de las harinas estudiadas aumentando su resistencia (Zuo et al., 2009; Jambrak et al., 2010; Zheng et al., 2013; Chen et al., 2014; Zhu y Li, 2019; Cui y Zhu, 2020). No se obtuvieron valores con diferencias significativas entre las muestras estudiadas para el resto de parámetros estudiados (exponentes a, b y c).

A partir de los resultados obtenidos podemos concluir en que los tratamientos de US+ANN conducen a cambios significativos sobre el conjunto de propiedades reológicas de las harina de teff cuando son tratados a temperaturas $\geq 50^{\circ}\text{C}$.

4.6- Propiedades térmicas.

4.6.1-Gelatinización

Las propiedades térmicas se estudiaron con la calorimetría diferencial de barrido (DSC), mediante la cual se cuantifica la energía requerida para llevar a cabo la gelatinización del almidón al calentarse en condiciones de exceso de agua , así como las temperaturas a las que sucede este fenómeno (Zuo et al., 2009; Jambrak et al., 2010; Zheng et al., 2013; Chen et al., 2014; Zhu y Li, 2019; Cui y Zhu, 2020). En la tabla 7 se presentan los datos obtenidos del análisis de los termogramas correspondientes a cada una de las muestras estudiadas (Figura anexo 1 y 2).

A partir de los datos obtenidos se pudo ver que con el tratamiento de US+ANN se produjo un descenso de la energía necesaria para llevar a cabo la completa gelatinización (ΔH_1) del almidón. Este descenso de ΔH_1 en las muestras tratadas pudo deberse al efecto de rotura que el tratamiento de US tiene sobre la estructura de la región amorga, así como las ramificaciones externas de la región cristalina, de los gránulos de almidón y la reducción de azúcares debido a su difusión, como sólidos solubles, en el agua (Zuo et al., 2009; Jambrak et al., 2010; Zheng et al., 2013; Chen et al., 2014; Zhu y Li, 2019; Cui y Zhu, 2020).

Sin embargo, dentro de las muestras tratadas, para ambas harinas estudiadas, se observó una tendencia de ΔH_1 a aumentar conforme aumenta la temperatura a la que se realizó el tratamiento. Dicho comportamiento es resultado del efecto del ANN en la modificación de las harinas. A medida que la temperatura del tratamiento aumenta, el efecto de ANN será mayor, llevando a la harina tratada a un arreglo molecular termodinámicamente más estable mediante la inducción de una reorganización de almidón (Jacobs et al., 1995), y por consiguiente ΔH_1 continua aumentando hasta el punto de que en las muestras tratadas a 55°C los valores serán ligeramente mayores que en la muestra nativa (9,4 J/g vs 9,0 J/g en el teff blanco, y 8,7 J/g vs 8,6 J/g en el teff rojo).

Tablas 7: DSC gelatinización:

MUESTRA	ALMIDÓN					COMPLEJO AMILOSA-LÍPIDO			
	ΔH_1	T_{O1}	T_{P1}	T_{E1}	$T_{E}-T_{O1}$	$\Delta H_{am-lip1}$	$T_{O am-lip1}$	$T_{P am-lip1}$	$T_{E am-lip1}$
Teff Blanco									
TB-N	9,0 bc	62,42 a	69,1 a	76,6 b	14,2 d	0,50 a	87,2 a	96,2 a	102,8 a
TB-20	7,8 a	62,30 a	68,7 a	75,8 a	13,5 c	0,53 a	86,8 a	96,1 a	101,9 a
TB-40	8,3 bc	62,30 a	68,6 a	75,3 a	13,0 b	0,73 a	85,8 a	94,9 a	102,9 a
TB-45	8,5 bc	62,33 a	68,8 a	75,5 a	13,2 bc	0,67 a	85,9 a	95,6 a	100,9 a
TB-50	8,6 bc	62,19 a	68,6 a	75,3 a	13,1 bc	0,62 a	87,5 a	95,9 a	101,8 a
TB-55	9,4 c	63,47 b	68,7 a	75,2 a	11,7 a	0,69 a	86,7 a	95,1 a	102,9 a
ES	0,2	0,09	0,2	0,2	0,1	0,11	1,4	1,0	0,7
p-valor	0,025	0,001	0,445	0,03	0,000	0,66	0,93	0,91	0,350
Teff Rojo									
TR-N	8,6 b	64,8 c	71,06 cd	78,8 c	14,0 c	0,52 a	90,0 b	97,1 bc	101,9 a
TR-20	8,0 a	64,41 a	70,65 a	77,4 b	13,0 b	0,55 ab	88,8 ab	95,3 a	102,3 a
TR-40	8,1 a	64,66 b	70,92 bc	77,8 b	13,1 b	0,74 b	87,2 a	97,9 c	104,1 b
TR-45	7,9 a	64,71 bc	71,02 cd	77,7 b	13,0 b	0,74 b	88,9 ab	95,7 ab	101,7 a
TR-50	8,5 b	64,62 b	70,74 ab	77,6 b	13,0 b	0,35 a	89,5 ab	94,7 a	100,9 a
TR-55	8,7 b	68,15 d	71,26 d	76,3 a	8,12 a	0,37 a	90,4 b	95,8 ab	101 a
ES	0,1	0,04	0,08	0,1	0,1	0,06	0,8	0,5	0,5
p-valor	0,008	0,000	0,011	0,000	0,000	0,010	0,171	0,029	0,023

Las diferentes letras indican diferencias significativas (p -valor $<0,05$) para la variable estudiada en cada tipo de harina. ΔH =Entalpía (J/g en base seca), T_{O} =Temperatura Onset ($^{\circ}C$), T_{P} =Temperatura Peak ($^{\circ}C$), T_{E} =Temperatura Endset ($^{\circ}C$), $T_{E}-T_{O}$ =Temperatura Endset -Temperatura Onset ($^{\circ}C$). ES: Error estándar promediado obtenido del estudio ANOVA.

Los valores determinados para la temperatura de inicio de la gelatinización (T_{O}) mostraron pocas diferencias en el caso del teff blanco, siendo TB-55 la única significativamente diferente a TB-N, mientras que en el caso del teff rojo, se vio un claro descenso para las temperaturas bajas de tratamiento, y un incremento de $3,35^{\circ}C$ para TR-55 con respecto a TR-N. Así mismo, se observó un marcado descenso en los valores de T_{E1} , siendo todas las harinas tratadas significativamente diferentes a su correspondiente harina nativa, que se manifestó en una reducción del rango de temperaturas de gelatinización ($T_{E1}-T_{O1}$) para el almidón 3n ambos tipos de harinas (Figura anexo 1 y 2).

Para las harinas de teff blanco se pudo observar la tendencia de $T_{E1}-T_{O1}$ a disminuir a medida que aumentó la temperatura del tratamiento, alcanzando un máximo en TB-55 que representa una reducción de $\sim 18\%$ con respecto a TB-N. El teff rojo, por otra parte, mostró una cierta estabilidad en los resultados obtenidos para las harinas tratadas en un rango de entre $20^{\circ}C$ y $50^{\circ}C$ ($13,0-13,1^{\circ}C$), y también alcanzó una reducción máxima en su temperatura de tratamiento más alta (TR-55), siendo $\sim 42\%$ menor que la determinada en (TR-N). Se pudo concluir que ésta reducción del rango

de temperatura de gelatinización se debió principalmente al efecto del ANN sobre la organización molecular de las estructuras de almidón después de los tratamientos, ya que ha sido indicado por otros autores que los tratamientos ANN de harinas llevan a un incremento en el orden del empaquetado de las cadenas de amilosa dentro de los gránulos de almidón, que se hace más evidente mientras más cerca está la temperatura del tratamiento a la temperatura de gelatinización de la harina nativa (Hoover & Vasanthan, 1993).

Los valores obtenidos de energía requerida para la formación del complejo amilosa-lípido ($\Delta H_{am-lip1}$) de las harinas de teff blanco tratadas no mostraron diferencias significativas respecto a TB-N. Sin embargo, estos valores si indican un aumento en todas las temperaturas de estudio, siendo más evidente a temperaturas $\geq 40^\circ\text{C}$. En el caso de las harinas de teff rojo, los tratamientos realizados a temperaturas entre 20°C y 45°C generan un aumento de $\Delta H_{am-lip1}$, mientras que disminuye en los tratamientos a realizados a 50°C y 55°C , sin ser significativamente diferentes a TR-N. Este incremento puede deberse a una mayor disponibilidad de amilosa en las harinas tratadas debido al ataque que los US generan a las regiones amorfas de los gránulos de almidón (Amini et al., 2015). Por el contrario, los parámetros, $T_{O\ am-lip1}$, $T_{P\ am-lip1}$ y $T_{E\ am-lip1}$ de las muestras de teff blanco y rojo no presentaron diferencias significativas entre la muestra nativa y las muestras tratadas.

4.6.2- Retrogradación

Los resultados obtenidos de las propiedades de retrogradación de las harinas de teff blanco presentaron un mayor grado de diferencia que el observado en el proceso de gelatinización, mientras que pocas diferencias fueron observadas para las harinas de teff rojo (Tabla 8).

Las muestras de harina de teff blanco tratadas con US+ANN presentaron un aumento significativo ($p\text{-valor} < 0,05$) del valor de la energía requerida para la ruptura de la estructura de almidón retrogradado (ΔH_2), para todos los tratamientos realizados, alcanzando su valor máximo en el tratamiento a 40°C ($4,13\ \text{J/g}$). Estos resultados parecen indicar que en las harinas tratadas la amilopectina tuvo una mayor presencia, luego del ataque por parte de los US a la amilosa, que permitió ver diferencias más marcadas en la retrogradación de la amilopectina de las que se ve en la retrogradación de la amilosa (como se vio en las propiedades de empastado). Por el contrario, ninguna de las harinas tratadas de teff rojo mostró diferencias significativas respecto a la harina nativa, lo que indicó que los tratamientos a diferentes temperaturas no afectan su capacidad de retrogradación.

Tabla 8: DSC resultados retrogradación:

MUESTRA	ALMIDÓN					COMPLEJO AMILOSA-LÍPIDO			
	ΔH_2	T_{O_2}	T_{P_2}	T_{E_2}	$T_{E_2}-T_{O_2}$	$\Delta H_{am-lip2}$	$T_{Oam-lip2}$	$T_{Pam-lip2}$	$T_{Eam-lip2}$
Teff Blanco									
TB-N	3,36 a	36,1 a	51,4 a	62,4 b	26,2 b	1,05 cb	84,7 a	96,8 ab	102,0 a
TB-20	3,87 bc	36,1 a	50,3 a	62,4 b	26,3 b	1,14 c	87,2 cd	96,7 ab	102,4 a
TB-40	4,13 c	36,9 a	50,3 a	63,0 b	26,1 b	0,84 a	88,2 d	96,8 ab	102,7 a
TB-45	3,90 bc	36,5 a	51,0 a	62,9 b	26,4 b	0,87 a	88,3 d	96,6 ab	101,8 a
TB-50	3,74 b	39,4 b	50,3 a	62,5 b	23,0 a	0,91 ab	86,1 bc	95,6 a	101,7 a
TB-55	3,78 b	38,4 b	50,1 a	61,7 a	23,2 a	1,09 c	85,5 ab	97,5 b	102,4 a
ES	0,09	0,4	0,6	0,2	0,5	0,04	0,4	0,4	0,5
p-valor	0,013	0,003	0,684	0,021	0,005	0,013	0,002	0,144	0,59
Teff Rojo									
TR-N	4,13 ab	37,6 a	50,9 a	62,9 ab	25,3 abc	1,60 c	74,2 a	96,1 ab	102,0 ab
TR-20	4,33 b	37,3 a	50,6 a	63,6 b	26,4 c	0,93 ab	85,7 a	97,3 b	101,6 a
TR-40	3,94 ab	38,2 a	50,3 a	62,3 a	24,2 a	1,22 abc	87,1 a	96,1 ab	102,6 b
TR-45	3,80 ab	38,0 a	50,7 a	64,0 b	26,0 bc	1,52 bc	85,4 a	94,3 a	101,2 a
TR-50	4,10 ab	37,7 a	50,8 a	63,0 ab	25,2 abc	1,22 abc	85,4 a	96,3 ab	102,7 b
TR-55	3,68 a	38,5 a	51,3 a	63,1 ab	24,7 ab	0,78 a	87,3 a	96,4 ab	102,0 ab
ES	0,17	0,4	0,8	0,4	0,5	0,17	0,4	0,7	0,3
p-valor	0,22	0,496	0,970	0,142	0,106	0,083	0,331	0,191	0,045

Las diferentes letras indican diferencias significativas (p -valor $<$ 0,05) para la variable estudiada en cada tipo de harina. ΔH =Entalpía (J/g en base seca), T_O =Temperatura Onset ($^{\circ}$ C), T_P =Temperatura Peak ($^{\circ}$ C), T_E =Temperatura Endset ($^{\circ}$ C), T_E-T_O =Temperatura Endset -Temperatura Onset ($^{\circ}$ C). ES: Error estándar promediado obtenido del estudio ANOVA.

Para T_{O_2} se observó un aumento significativo (p -valor $<$ 0,05) a partir del tratamiento a 50 $^{\circ}$ C, en el caso del teff blanco, mientras que en el teff rojo no se reportaron diferencias significativas. Los valores obtenidos de T_{E_2} en las harinas tratadas no mostraron diferencias significativas respecto a las harinas nativas (Tabla 8 y Figura anexo 3 y 4), con la única excepción de TB-55. Los valores de $T_{E_2}-T_{O_2}$ permanecieron estables, mostrando un descenso, apreciable únicamente en TB-50 y TB-55, debido a los cambios generados en T_{E_2} y T_{O_2} por tratamientos de US+ANN a estas temperaturas. Los parámetros que no presentaron cambios significativos de las muestras tratadas respecto a las muestras nativas fueron la temperatura pico, tanto del almidón (T_{P_2}) como el complejo amilosa-lípido ($T_{P-am-lip2}$), y la temperatura endset del complejo amilosa-lípido ($T_{E-am-lip2}$). La energía requerida para llevar a cabo la disociación del complejo amilosa-lípido ($\Delta H_{am-lip2}$) disminuyó para las harinas tratadas, a excepción de TB-20, y TB-55, las cuales no mostraron diferencias significativas respecto a TB-N. Esta disminución reforzó la idea de que las cadenas de amilosa son las mayormente afectadas por los tratamientos US.

Durante el análisis de las propiedades térmicas de las harinas estudiadas se observó que los tratamientos de US+ANN dañan principalmente a las moléculas de amilosa y no a la amilopectina, mostrando una diferente magnitud del efecto entre las muestras de teff blanco y rojo posiblemente debido a diferencias en su composición (Zhu y Li, 2019; Cui y Zhu, 2020).

5- CONCLUSIÓN

Se ha demostrado que el tratamiento mediante ondas de ultrasonidos combinado con el aumento de la temperatura de la dispersión tratada, ejerce un efecto sobre las harinas de teff blanco y rojo, provocando modificaciones significativas sobre su tamaño de partícula, color, propiedades funcionales, de empastado y térmicas.

Con los resultados de este estudio se ha observado que los tratamientos US+ANN disminuyen el tamaño de partícula de las harinas incrementando su capacidad de unión al agua. Se ha visto que los tratamientos mejoran las propiedades funcionales de las harinas aumentando su capacidad de retención de agua (WHC), el índice de absorción de agua (WAI), el poder de hinchamiento (SP), la actividad de emulsión (EA), la estabilidad de emulsión (ES), la capacidad espumante (FC) y al estabilidad espumante (FS).

También puede afirmarse que los tratamiento US+ANN tienden a disminuir los valores de viscosidad de las curvas de empastado de las harinas, aunque no se haya visto una relación clara de este efecto con la temperatura a la que se llevaba a cabo el tratamiento. Sin embargo, los resultados del estudio no han mostrado cambios significativos en las propiedades combinado con el aumento de la temperatura de la dispersión tratada. Los tratamientos US+ANN disminuyeron la energía necesaria para los procesos de gelatinización, como puede observarse en los resultados del análisis de la propiedades térmicas, lo que demuestra un cambio en la estabilidad de las estructuras cristalinas del almidón.

Como conclusión de este estudio se puede confirmar que el tratamiento de 10 minutos mediante ondas de ultrasonidos de dispersiones del 25% de concentración permite modificar las propiedades tecno-funcionales de las harinas de teff blanco y rojo, obteniendo resultados significativamente diferentes cambiando sus propiedades sin requerir el uso de productos químicos o aditivos, suponiendo por tanto una alternativa para la fabricación de productos sin gluten y de “etiqueta limpia” en la industria alimenticia.

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 y VA165G18).

BIBLIOGRAFIA

1. AACC, (2000). Approved Methods of American Association of Cereal Chemists. 10th Ed. The Association, St. Paul, MN, USA. Methods 56-11, 76-21.
2. Ai M., Zhang Z., Fan H., Cao Y., Jiang A. (2021). High-intensity ultrasound together with heat treatment improves the oil-in-water emulsion stability of egg white protein peptides. *Food Hydrocolloids* 111 106256.
3. Amini A.M., Razavi S.M.A., Mortazavi S.A. (2015). Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. *Carbohydrate Polymers* 122 282–292.
4. Assefa, K., Cannarozzi, G., Girma, D., Kamies, R., Chanyalew, S., Plaza-Wuthrich, S., Tadele, Z. (2015). Genetic diversity in tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter]. *Frontiers in Plant Science*, 6, 1–13.
5. Ayenampudi, Surendra, B., Rangarajan, Jagan, Mohan, R., & Parimalavalli. (2019). Effect of single and dual-modifications on stability and structural characteristics of foxtail millet starch. *Food Chemistry*, 271, 457–465.
6. Chen F., Zhang M., Yang C.H. (2019). Application of ultrasound technology in processing of ready-to-eat fresh food: A review, *Ultrason. Sonochem.* 104953.
7. Chen H, Huang Q, Fu X, Luo F. (2014). Ultrasonic effect on the octenyl succinate starch synthesis and substitution patterns in starch granules. *Food Hydrocolloids* 35 636-643
8. Constantino A.B.T. y Garcia-Rojas E.E. (2020). Modifications of physicochemical and functional properties of amaranth protein isolate (*Amaranthus cruentus* BRS Alegria) treated with high-intensity ultrasound. *Journal of Cereal Science* 95 103076
9. Cui R, Zhu F. (2020). Effect of ultrasound on structural and physicochemical properties of sweetpotato and wheat flours. *Ultrasonics - Sonochemistry* 66 105118
10. De-Sarabia E.R.F., Gallego-Juarez J.A., Mason T.J. (2006). Airborne ultrasound for the precipitation of smokes and powders and the destruction of foams, *Ultrason. Sonochem.* 13 107–116.
11. Din, Z. U., Xiong, H., y Fei, P. (2017). Physical and chemical modification of starches a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12), 2691–2705.
12. Drimalova E., Velebny V., Sasinkova V. (2005). Hromadkova Z., Ebringerova A., Degradation of hyaluronan by ultrasonication in comparison to microwave and conventional heating, *Carbohydr. Polym.* 61 420–426.
13. Feng, H., Barbosa-Ca'novas, G. V., & Weiss, J. (2011). *Ultrasound technologies for food and bioprocessing* (Vol. 1): Springer.

14. Gebremariam, M. M., Zarnkow, M., y Beckar, T. (2014). Teff (*Eragrostis tef*) as a raw material for malting, brewing and manufacturing of gluten-free foods and beverages: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 2881–2895.
15. Grönroos A., Pirkonen P. y Ruppert O. (2004). Ultrasonic depolymerisation of aqueous carboxymethylcellulose, *Ultrason. Sonochem.* 11 9–12.
16. Grossner M.T., Belovich J.M., Feke D.L. (2005). Transport analysis and model for the performance of an ultrasonically enhanced filtration process, *Chem. Eng. Sci.* 60 3233–3238.
17. Hidalgo A., Fongaro L., Brandolini A. (2014). Wheat flour granulometry determines colour perception, *Food Res. Int.* 64 363–370.
18. Hoover R. y Vasanthan T. (1993). The effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, St. John's, NF Canada, A1B 3x9.
19. Iida Y., Tuziuti T., Yasui K., Towata A., Kozuka T. (2008). Control of viscosity in starch and polysaccharide solutions with ultrasound after gelatinization, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9 140–146.
20. Jacobs H., Eerlingen R.C., Clauwaert W., y Delcour J.A. (1995). Influence of Annealing on the Pasting Properties of Starches from Varying Botanical Sources. *Cereal Chemistry* 72(5): 480-487.
21. Jambrak A.R., Herceg Z., Šubaric D., Babic J., Brncic M., Brncic S.R., Bosiljkov T., Cvek D., Tripalo B., Gelo J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch, *Carbohydrate Polymers*. 79 91–100.
22. Jambrak A.R., Mason T.J., Lelas V., Herceg Z., Herceg I.L. (2008). Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions, *J. Food Eng.* 86 281–287.
23. Ji Y. (2020). Effect of annealing on the functional properties of corn starch/corn oil/ lysine blends. *International Journal of Biological Macromolecules* 144 553–559
24. Jitngarmkusol S, Hongsuwankul J, Tananuwong K. (2008). Chemical compositions, functional properties, and microstructure of defatted macadamia flours. *Food Chemistry* 110 23–30.
25. Kaur H., Gill B.S. (2019). Effect of high-intensity ultrasound treatment on nutritional, rheological and structural properties of starches obtained from different cereals. *International Journal of Biological Macromolecules* 126 367–375.
26. Kumari S. Ojha, Brijesh K. Tiwari, Colm P. O'Donnell (2018). Effect of Ultrasound Technology on Food and Nutritional Quality. *Advances in Food and Nutrition Research*. Volume 84, Pages 207-240.
27. Laborde J.L., Bouyer C., Caltagirone J.-P., Gerard A. (1998). Acoustic bubble cavitation at low frequencies, *Ultrasonics* 36 589–594.
28. Lebwohl B. y Rubio-Tapia A. (2020). Epidemiology, Presentation, and Diagnosis of Celiac Disease. *Gastroenterology* 18 September 2020.

29. Pinto V. Z., Vanier N. L., Deon V. G.a., Moomand K., El Halal S. L. M., Zavareze E.d. R., Lim L.T., Dias A.R.G. (2015). Effects of single and dual physical modifications on pinh ao starch. *Food Chemistry*, 187, 98–105.
30. Radeloff, M. A., y Beck, R. H. (2016). “Clean label”–Starches and their functional diversity. *Sugar Industry-Zuckerindustrie*, 141(4), 209–215
31. Ravisankar, S., Abegaz, K., y Awika, J. M. (2018). Structural profile of soluble and bound phenolic compounds in teff (*Eragrostis tef*) reveals abundance of distinctly different flavones in white and brown varieties. *Food Chemistry*, 263, 265–274.
32. Rodríguez G., Riera E., Gallego-Juárez J.A., Acosta V.M., Pinto A., Martínez I., Blanco A. (2010). Experimental study of defoaming by air-borne power ultrasonic technology, *Phys. Procedia* 3 135–139.
33. Seguchi M., Hayashi M., Suzuki Y., Sano Y., Hirano H. (2003). Role of Amylose in the Maintenance of the Configuration of Rice Starch Granules. *Starch/Stärke* 55 524–528.
34. Shumoy, H., y Raes, K. (2016). Antioxidant potentials and phenolic composition of tef varieties: An indigenous Ethiopian cereal. *Cereal Chemistry*, 93, 465–470.
35. Sujka M, Jamroz J. (2013). Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. *Food Hydrocolloids* 31 413-419
36. Taylor, J. R. N. (2017). Millets: Their unique nutritional and health-promoting attributes. In J. R. N. Taylor, & J. M. Awika (Eds.). *Gluten-free ancient grains. Cereals, Pseudocereals, and legumes: Sustainable, nutritious, and health-promoting foods for the 21st century.* Cambridge: Woodhead Publishing 55–103.
37. Tervo J.T., Mettin R., Lauterborn W. (2006). Bubble cluster dynamics in acoustic cavitation, *Acta Acust. Acust.* 92 178–180.
38. Wen X., Sui P., Huang X. (2008). Exerting ultrasound to control the membrane fouling in filtration of anaerobic activated sludge-mechanism and membrane damage, *Water Sci. Technol.* 57 773–779.
39. Zavareze, R., Renato, A., & Dias, G. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 317–328. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.08.064>.
40. Zheng, J., Li, Q., Hu, A., Yang, L., Lu, J., Zhang, X., & Lin, Q. (2013). Dual-frequency ultrasound effect on structure and properties of sweet potato starch. *Starch/Stärke*, 65, 621–627.
41. Zhu, F. (2018). Chemical composition and food uses of teff (*Eragrostis tef*). *Food Chemistry*, 239, 402–415.
42. Zhu, F., & Li, H. (2019). Modification of quinoa flour functionality using ultrasound. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 52, 305–310.
43. Zuo J.Y., Knoerzer K., Mawson R., Kentish S., Ashokkumar M. (2009). The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions, *Ultrason. Sonochem.* 16 462–468.

ANEXOS

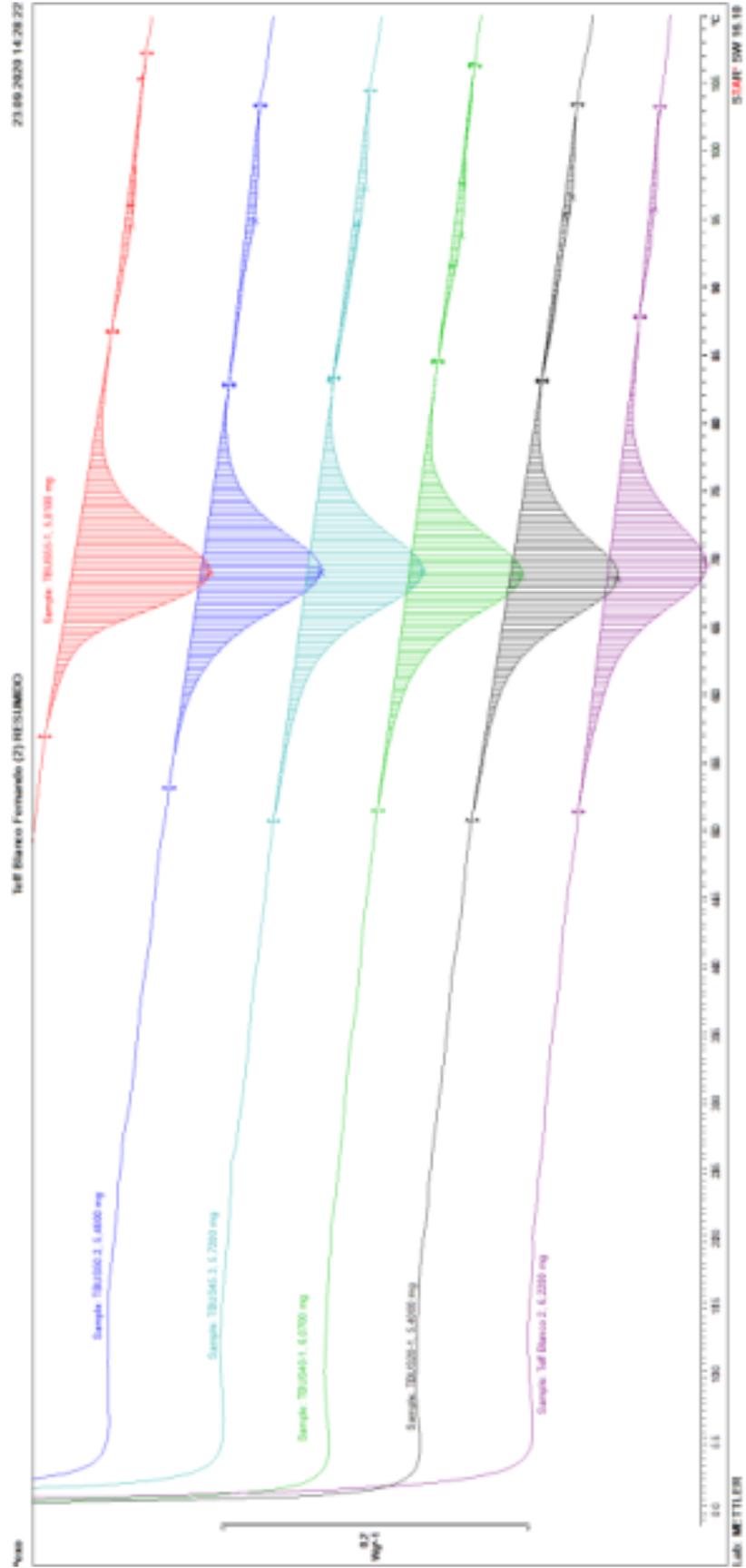


Figura anexo 1: Curvas de gelatinización DSC de muestras de teff blanco (orden ascendente: TB-N, TB-20, TB-40, TB-45, TB-50 y TB-55).

ANEXOS

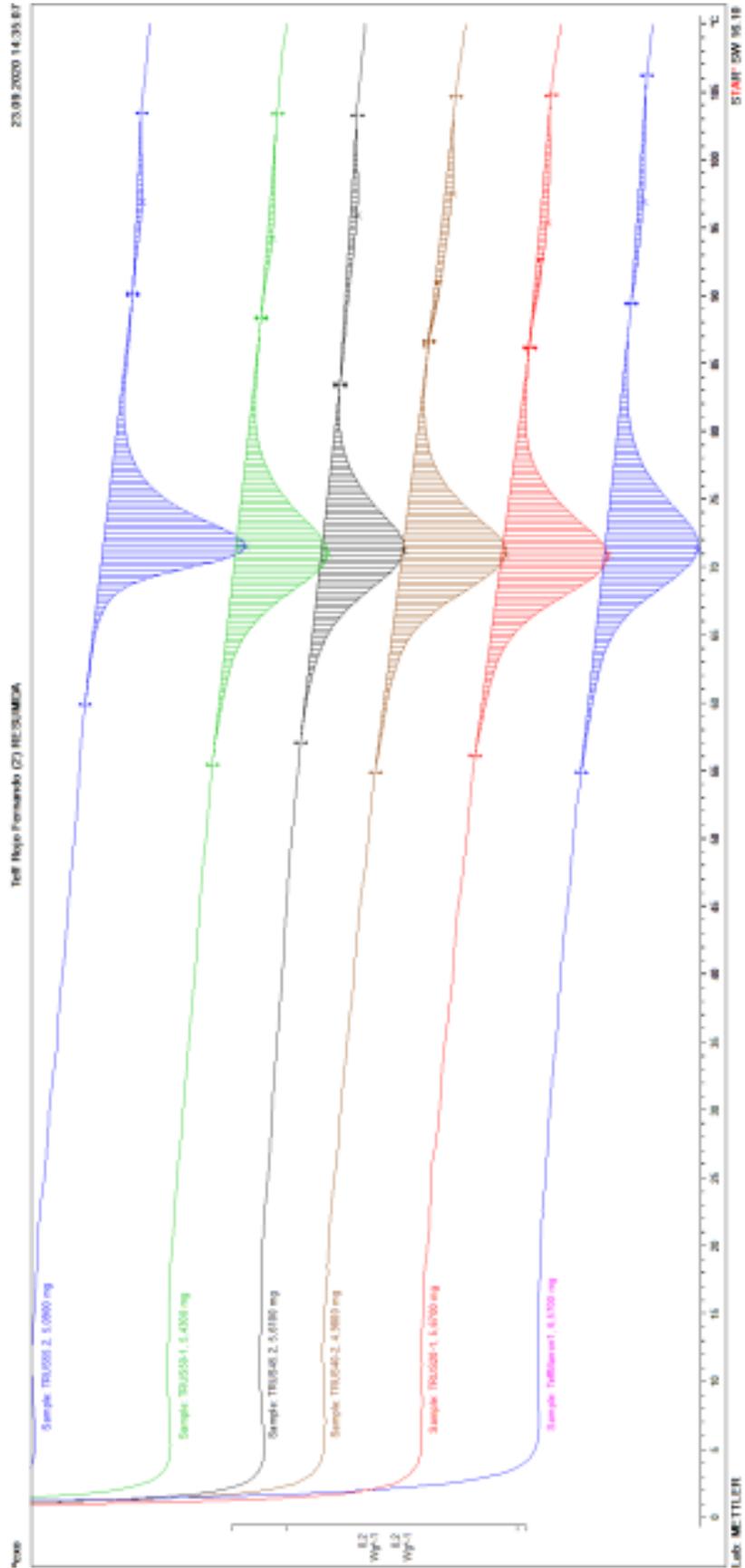


Figura anexo 2: Curvas de gelatinización DSC de muestras de teff rojo (orden ascendente: TR-N, TR-20, TR-40, TR-45, TR-50 y TR-55).

ANEXOS

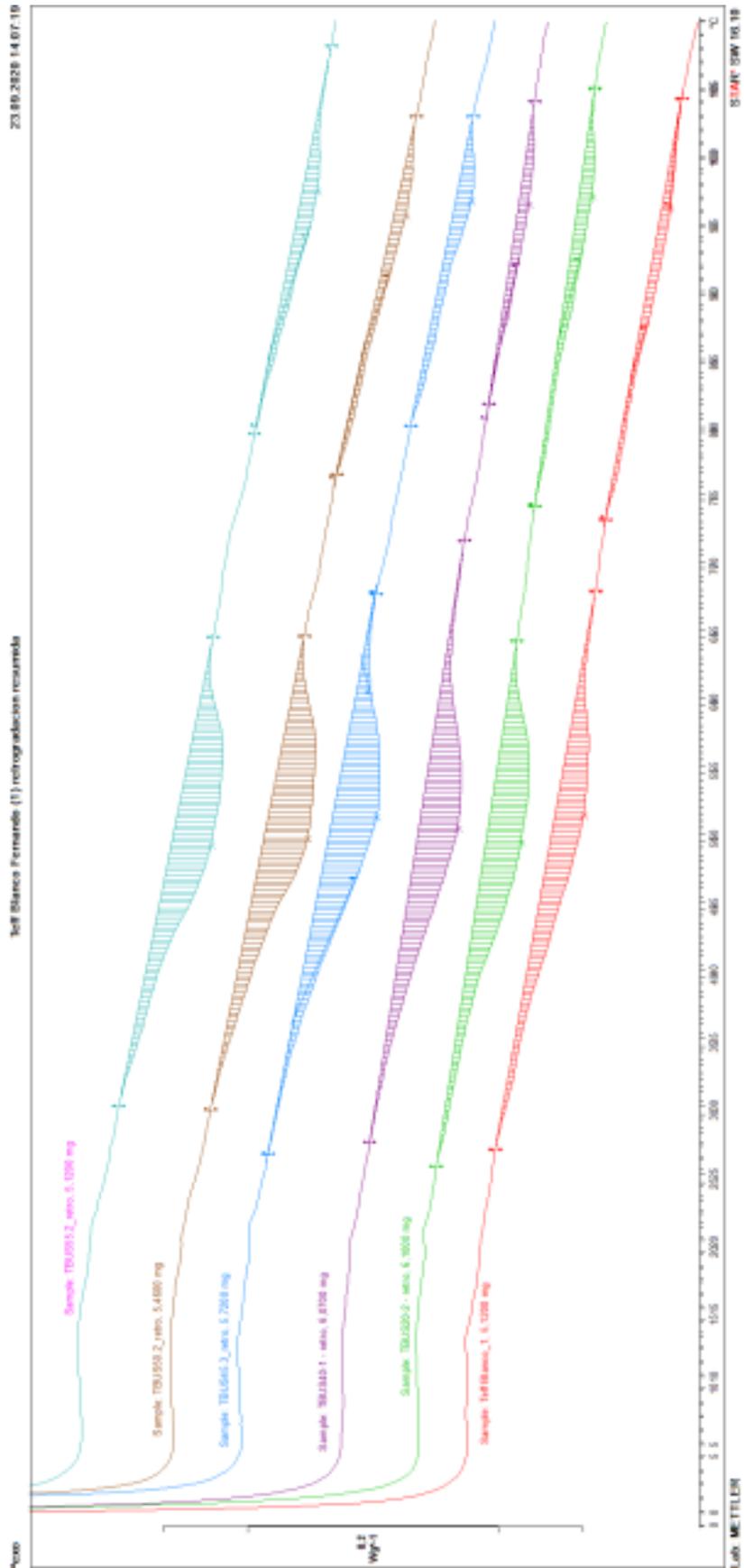


Figura anexo 3: Curvas de retrogradación DSC de muestras de teff blanco (orden ascendente: TB-N, TB-20, TB-40, TB-45, TB-50 y TB-55).

ANEXOS

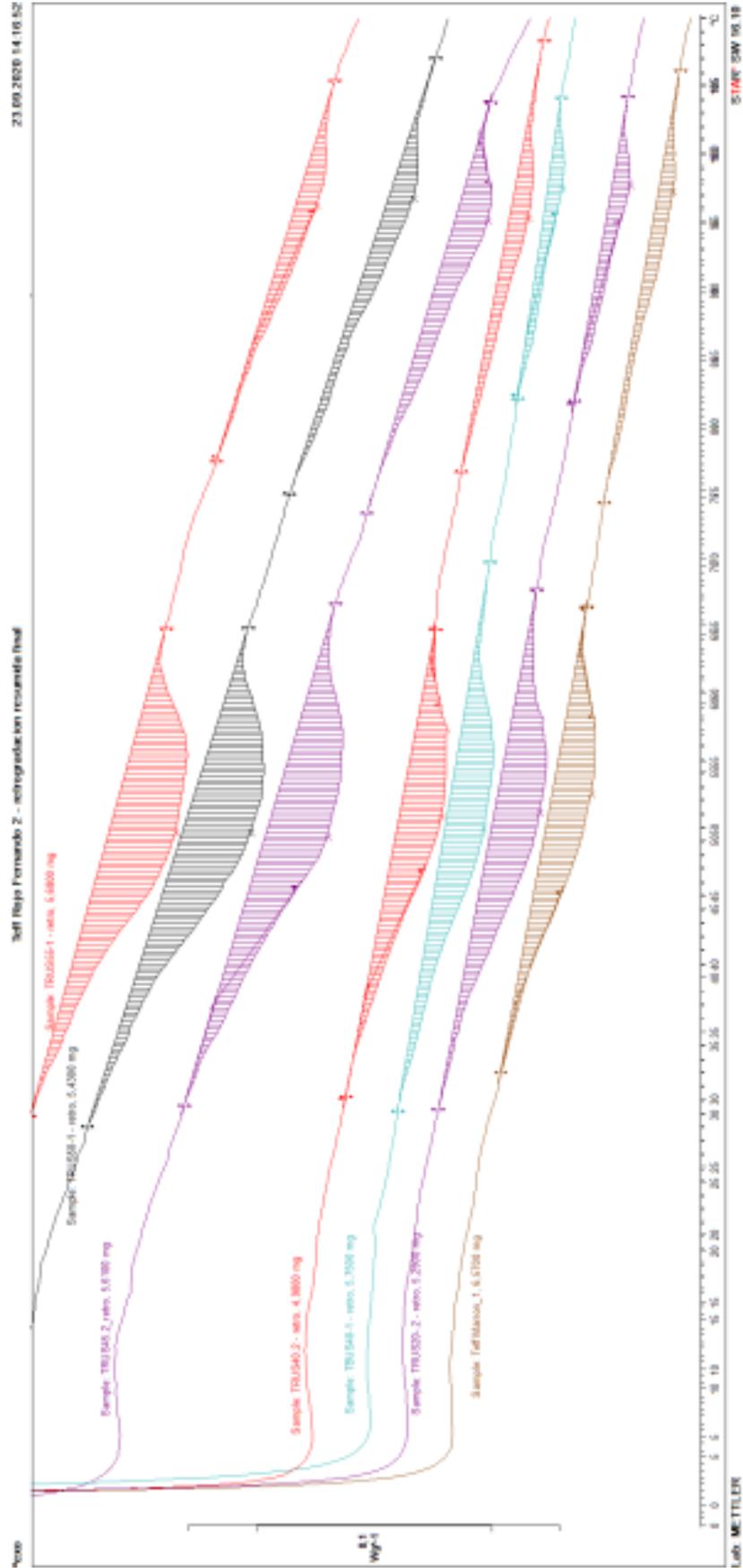


Figura anexo 4: Curvas de retrogradación DSC de muestras de teff rojo (orden ascendente: TR-N, TR-20, TR-40, TR-45, TR-50 y TR-55).