



ESTUDIO DE LA MEJORA TECNOLÓGICA DE HARINAS SIN GLUTEN MEDIANTE TRATAMIENTO DE ULTRASONIDOS

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Curso: 2019/20

Alumno: Oscar Fernández Oraá

Tutor: Felicidad Ronda Balbás, Antonio Vela Corona

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
2. OBJETIVOS	6
3. MATERIAL Y MÉTODOS	6
3.1. Material	6
3.2. Métodos	7
3.2.1. Tratamiento por ultrasonidos	7
3.2.2. Tamaño de partícula	8
3.2.3. Color	8
3.2.4. Propiedades funcionales	8
3.2.5. Propiedades de empastado	10
3.2.6. Reología de geles	11
3.2.7. Calorimetría diferencial de barrido	11
3.2.8. Análisis estadístico	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
4.1. Tamaño de partícula	12
4.2. Color	14
4.3. Propiedades funcionales	15
4.4. Propiedades de empastado	19
4.5. Reología de geles	21
4.6. Calorimetría diferencial de barrido	22
5. CONCLUSIONES	26
AGRADECIMIENTOS	27
BIBLIOGRAFÍA	27

RESUMEN

El tratamiento de ultrasonidos es un método de procesado no térmico de harinas poco estudiado hasta la fecha, que ofrece la posibilidad de modificar y mejorar las propiedades tecnológicas de las mismas. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos que los ultrasonidos tienen sobre cinco tipos de harinas sin gluten (harina de teff blanco, teff rojo, arroz, maíz y quinoa), y comprobar si el método de eliminación del agua tras el tratamiento por centrifugación o liofilización juega un papel importante en estas propiedades. Se ha observado que el tratamiento de ultrasonidos reduce el tamaño de partícula y modifica el color de la harina, además de provocar cambios en la estructura interna de los gránulos que afectan a sus propiedades tecno-funcionales. Se detectó un descenso de los perfiles viscométricos de las harinas tratadas (a excepción de TB-C, TR-C, MA-C y QU-C) y un aumento de la consistencia de los geles obtenidos a partir de las harinas tratadas respecto a las nativas. Se concluyeron resultados claramente diferenciados en función del sistema de eliminación de agua aplicado tras el tratamiento de ultrasonidos, lo cual permite deducir que la pérdida de sustancias solubles en agua asociada a la centrifugación ejerce un efecto importante en las propiedades de las harinas tratadas.

ABSTRACT

Ultrasound treatment is a non-thermal processing method of flour not very explored so far, that offers the opportunity to modify and improve the technological properties of the flours. The objective of this project was to study the effects that ultrasound treatment has on five types of gluten-free flours (white teff, red teff, rice, maize and quinoa), and see if the way to remove the water after the treatment by centrifugation or lyophilization has an impact on these properties. It has been observed that ultrasound treatment reduce the particle size and modifies the flour colour, in addition to make changes in the internal structure of the granules that affect the techno-functional properties. A decrease in the viscometric profile has been detected in the treated flours (except in TW-C, T-C, RI-C and MA-C) and an increase of gel consistency in US treated flours respect the native ones. Clearly different results were obtained regarding the method used to remove the water after the US treatment, so we can conclude that the loss of certain soluble substances dissolved in water makes a notable impact on the flour properties.

1. INTRODUCCIÓN

Los cereales son el alimento básico más cultivado y consumido en todo el mundo. El trigo es considerado el cultivo más importante debido a su alto impacto en la nutrición humana, siendo el tercer cereal con mayor producción global tras el maíz y el arroz, y cuya producción es la más extendida en todo el mundo (Shewry & Tatham, 2016). Gluten es el nombre que recibe la principal proteína de almacenamiento del grano de trigo y de otros cereales, como el centeno o la cebada. El gluten representa entre el 80 y el 90% de las proteínas del trigo, y es el responsable, cuando la harina se mezcla con el agua, de la formación de una red viscoelástica constituida por gluteninas, responsables de la elasticidad de la masa, y gliadinas, responsables de la viscosidad de las masas y de la esponjosidad del pan y masas horneadas. Esta proteína es la responsable de que los gases producidos en la fermentación sean retenidos en el interior de la masa, haciendo que esta suba y aumente su volumen. Tras la cocción, la coagulación del gluten y la gelatinización del almidón hacen que el producto no se desinfe (Bashir et al., 2020). En los últimos años la atención en el gluten se ha visto aumentada debido al incremento de trastornos relacionados con el consumo de esta proteína. La enfermedad celiaca está reconocida como una enteropatía autoinmune causada por una intolerancia permanente al gluten. La ingesta de pequeñas cantidades de gluten en individuos intolerantes puede causar importantes trastornos, y dado que actualmente no existe un tratamiento efectivo, llevar una dieta libre de gluten toda la vida es esencial, consiguiéndose así la remisión completa de los síntomas.

En los últimos años ha crecido el interés en el desarrollo de productos sin gluten, convirtiéndose en uno de los mercados más prósperos en el sector de la alimentación (Miranda, Lasa, Bustamante, Churruca, & Simon, 2014). Esto se debe al aumento significativo del número de casos de problemas de salud relacionados con la ingesta de gluten, y a un creciente grupo de personas sanas que optan por seguir una dieta libre de gluten por considerarla más saludable (Estévez & Araya, 2016). Debido al rápido crecimiento de este mercado, es esencial la comprensión tanto de las propiedades como de los procesos de fabricación de los productos sin gluten. La eliminación del gluten de los alimentos se traduce en defectos que aparecen en el producto final en términos de características nutricionales, calidad del producto y aceptación del consumidor. El objetivo de investigadores e industrias alimentarias basadas en la producción a base de cereales y pseudocereales, por tanto, no es únicamente centrarse en la producción de alimentos que satisfagan las necesidades de las personas que sufren de trastornos alimentarios relacionados con la ingesta de gluten, sino el desarrollo de alimentos de gran calidad comparables a sus homólogos con gluten. Las investigaciones para el

desarrollo de productos sin gluten se han centrado en la sustitución de harinas de trigo por harinas sin gluten (arroz, maíz, almidones de maíz, arroz, tapioca, patata...) y por ingredientes capaces de imitar las propiedades funcionales del gluten.

El teff (*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter) es un cereal originario de Etiopía, donde se cree que fue domesticado. Es un grano muy pequeño cuyo embrión es rico en proteínas y lípidos, y ocupa la mayor parte del grano. La aleurona la forma una gruesa célula rica en cuerpos lipídicos proteicos. La testa se sitúa en el pericarpio, y es responsable de la variación del color del grano, ya que está rellena con pigmentos como taninos y compuestos polifenólicos, siendo más gruesa en el teff rojo que en el blanco (Umeta y Parker, 1996). Este cereal es un cultivo poco común en el mundo, aunque en Etiopía es altamente utilizado en alimentación para hacer *injera*, una tortita fermentada tradicional. En países como Australia, Sudáfrica y Estados Unidos, el teff es usado principalmente como forraje para alimentación animal. Dado que se trata de un cereal de consumo minoritario, no se conoce mucho acerca de su composición nutricional y de sus potenciales beneficios. Eso, unido a las limitaciones tecnológicas de procesado, ha influido en su escasa propagación. Sin embargo, en la última década, el hecho de ser un cereal sin gluten ha incentivado diversas investigaciones, habiendo aumentado el número de estudios acerca de su composición nutricional y sus cualidades de procesado, así como el desarrollo de nuevos productos a base de teff (Abebe, Collar, & Ronda, 2015). De lo que se conoce, el teff tiene una composición correcta de aminoácidos (incluyendo los 8 aminoácidos esenciales para el ser humano), el contenido en fibra es alto y su contenido nutricional es adecuado en general, lo que convierte al teff en un cereal que encaja en el mercado de los productos sin gluten.

El arroz (*Oryza sativa* L.) también ha sido siempre considerado cereal sin gluten. La harina obtenida a partir de este cereal encaja bien para su aplicación en productos horneados debido a su suave sabor, su color blanco, su buena digestibilidad y sus propiedades hipoalergénicas. Por otra parte, el bajo contenido en proteína y sodio, y la presencia de carbohidratos fácilmente digeribles son beneficios adicionales (Rosell, Barro, Sousa, & Mena, 2014). El ratio de albúmina-globulina-prolamina-glutenina en el arroz es único entre los cereales, teniendo una alta concentración de gluteninas y baja en prolaminas (Hamaker, 1994).

El maíz (*Zea mays*) es un cereal de origen americano que actualmente se cultiva en todo el mundo. Este cereal no contiene gluten, por lo que puede ser consumido por personas celiacas. La composición de la harina de maíz depende del grado de extracción (a mayor grado de extracción, menor proporción de almidón y más cantidad

de vitaminas, minerales y fibra aportada por la cáscara). El valor energético del maíz es similar al del trigo, pero también aporta más grasas y menos proteínas. La harina de maíz es de color amarillo, y no aporta olores extraños ni malos sabores u otros defectos.

La quinoa (*Chenopodium quinoa*) es el grano de la planta del mismo nombre originario de América del Sur. La quinoa es un pseudocereal cuya semilla aporta todos los aminoácidos esenciales. Los granos de quinoa son altamente nutritivos y superan en valor biológico, calidad nutricional y calidad funcional a cereales como el trigo, el maíz o el arroz. Posee un equilibrio de proteínas, grasas y carbohidratos, y no tiene gluten, por lo que es apta para celíacos. La harina de quinoa se produce a partir de granos tostados, generalmente molida como un grano integral, y puede destinarse a la elaboración de distintos tipos de panes o productos horneados. Tiene un sabor amargo característico que puede ser eliminado a través de métodos mecánicos (pelado) y lavado de las semillas.

Tanto el arroz como el maíz son cereales bajos en proteínas, fibra y folatos en comparación con el trigo. La quinoa, en cambio, muestra una composición alta en ácidos grasos y en proteínas. El teff es alto en calcio, magnesio y hierro, aunque el contenido depende en gran medida de la región donde ha sido cultivado (Rosell et al., 2014).

Dada la dificultad tecnológica que representa utilizar harinas sin gluten en productos de panadería y bollería, y debido a que muchas veces las harinas y almidones no tienen las características idóneas para las diferentes aplicaciones a las que se les destina, existe la alternativa de las modificaciones químicas, enzimáticas o físicas, que cambian sus propiedades funcionales (Zheng et al., 2013). Entre los posibles métodos de modificación, en los últimos años existe la tendencia a optar por las formas de modificación física de harinas y almidones, debido a que son tecnologías amigables con el medio ambiente, e involucran un uso limitado de químicos, a la vez que requieren tiempos cortos de procesado (Amini, Razavi, & Mortazavi, 2015). Los ultrasonidos (US) han sido utilizados en la industria de los alimentos como una forma de generar modificaciones físicas en harinas y almidones.

Los ultrasonidos son ondas sonoras con una frecuencia superior al umbral perceptible por el oído humano (superior a los 16 kHz). Se dividen generalmente en tres regiones de frecuencia: los US de baja frecuencia, que van de 16 a 100 kHz, generalmente se utilizan como un método no destructivo de las propiedades del alimento, los US de alta frecuencia, que comprenden desde 100 kHz a 1MHz, y los US de diagnóstico, entre 1 y 10 MHz (Jambrak et al., 2010). El objetivo de los tratamientos con US es reducir tiempos de procesado, ahorrar energía y mejorar la vida útil de los productos alimenticios

(Rodriguez-Gonzalez, Buckow, Koutchma, & Balasubramaniam, 2015). Los ultrasonidos tienen un amplio número de potenciales aplicaciones en el procesado de alimentos, entre los que se incluyen el control de calidad, la filtración, desgasificación/desaireación, despolimerización, cocinado, desmoldado y extrusión, cortado, congelación y cristalización, descongelación, secado, ablandamiento de la carne, salmuera, decapado y marinado, esterilización y pasteurización, emulsificación y homogeneización, y limpieza de superficies, entre otras aplicaciones (Ashokkumar, 2015; Chemat, Zill-E-Huma, & Khan, 2011).

Los ultrasonidos son generados por transductores piezoeléctricos o ferroeléctricos que crean vibraciones de alta energía dentro de campos eléctricos de alta frecuencia. Estas vibraciones son amplificadas y transferidas a una sonda, que se encuentra en contacto directo con el fluido que se quiere tratar. En los procesos industriales, el uso de US requiere de un medio líquido, generalmente agua, por el cual viajan las ondas generadas. Durante el tratamiento, las ondas son propagadas en el fluido por ciclos de expansión y compresión de forma alterna. Durante los ciclos de expansión los US provocan la formación de millones de pequeñas burbujas, que crecen hasta un tamaño crítico donde ya no pueden absorber más energía e implosionan violentamente, lo que se conoce como cavitación. La cavitación se produce miles de veces por segundo (Ashokkumar, 2015). La implosión de las burbujas de cavitación provoca acumulaciones de energía en puntos calientes en los que se llegan a generar temperaturas (hasta 5000 K) y presiones extremas (1000 atm) durante periodos de tiempo muy cortos, lo que produce ondas de energía de corte y turbulencias en la zona de cavitación (Patist & Bates, 2008). A pesar de que el tratamiento de US es un proceso no térmico, parte de la energía producida por la cavitación puede ser absorbida por el alimento en forma de calor, lo que aumenta la temperatura del alimento (Soria & Villamiel, 2010). En las modificaciones físicas de harinas y almidones, efecto de los US depende de diversos factores como la potencia y la frecuencia de los US, la temperatura, el tiempo de tratamiento y las propiedades de la harina o almidón, su concentración y su origen botánico (Sujka & Jamroz, 2013; Zhu, 2015), dando la posibilidad de crear un rango muy amplio de productos con propiedades únicas (Patist & Bates, 2008)

Tras el tratamiento con US, se debe eliminar el agua de la disolución tratada y secar la muestra. Es importante no utilizar temperaturas altas para ello, ya que al ser harinas sus características y propiedades físico-químicas pueden verse afectadas. Existen diferentes métodos para llevar a cabo la separación del agua a temperaturas bajas. Uno de ellos es la eliminación de agua por centrifugación y secado, un proceso rápido y económico que permite secar la muestra en menos de 24 horas. Sin embargo, durante

el proceso se pierde la fracción soluble de la muestra que no puede separarse de la fracción líquida. Esta forma de separación ha sido utilizada anteriormente por autores como Sujka & Jamroz (2013). Por otra parte se encuentra el secado por liofilización, el cual evita la pérdida de la fracción soluble de la muestra ya que únicamente elimina el agua, pero es un proceso caro y muy lento, que puede llegar a durar incluso semanas, por la alta concentración de agua a la que se realizan los tratamientos US. En el caso de las harinas, que se dedican a la alimentación, no es interesante que su precio se encarezca por el tratamiento aplicado. Autores como Hu et al. (2013) y Amini, Razavi, & Mortazavi (2015) han aplicado este método de secado en sus estudios.

Pocos son los estudios hechos hasta la fecha de tratamiento de harinas por US, y ninguno comparando estos dos métodos de secado. En este trabajo se pretende contrastar las diferencias obtenidas en harinas tratadas con ultrasonidos bajo las mismas condiciones de tratamiento, variando únicamente la forma de eliminación del agua, mediante centrifugación y secado, y mediante liofilización.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es estudiar la modificación física de cinco tipos de harina sin gluten (teff blanco, teff rojo, arroz, maíz y quínoa) mediante tratamiento de ultrasonidos y evaluar el efecto de la liofilización y sedimentación por centrifugación como métodos de eliminación del exceso de agua sobre las propiedades morfológicas, tecnológicas, reológicas y térmicas de las harinas estudiadas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Material

Los granos de teff blanco y rojo de origen español fueron facilitados por la empresa CYLTEFF: teff blanco (TW) procedente de Toro (Zamora, España) con la siguiente composición: 13,15% humedad, 10,2% proteína, 6,7% fibra, 2,2% grasa, y teff rojo (TR) procedente de Villanazar (Zamora, España) con la siguiente composición: 12,25% humedad, 9,0% proteína, 7,0% fibra, 2,6% grasa. La harina de arroz de variedad *indica* fue facilitada por la empresa Herba Ricemills SL (Algemesí, Valencia, España). Tuvo la siguiente composición: 13,17% de humedad, 6,89% de proteínas, 2,5% de fibra y 0,69% de grasa. La harina de maíz procedió de la empresa ADAPAN Europa S.L. (El Berrón, Asturias, España) y su composición fue: 12,12% humedad, 7,51% proteínas, 4,4% grasa, 1,14% cenizas. Los granos de quínoa fueron suministrados por la empresa Extremeña de Arroces (Cáceres, España) con la siguiente composición: 10,47% humedad, 15,58% proteínas, 6,14% lípidos, 2,35% cenizas, 63,20% almidón.

Las harinas de teff blanco, teff rojo y quinoa se obtuvieron a partir de la molienda integra de los granos utilizando un molino de laboratorio marca Perten Instrument, modelo LM 3100 (Hägersten, Suecia) con un tamiz de apertura de 500µm.

El agua destilada utilizada para los ensayos realizados de propiedades funcionales y propiedades de empastado se obtuvo con el equipo Milli RO de Millipore (Madrid, España). El aceite refinado de germen de maíz utilizado para la determinación de la actividad emulsionante fue de la marca Koipe Asua (Deoleo, Córdoba, España).

3.2. Métodos

3.2.1. Tratamiento por ultrasonidos

El tratamiento de las harinas se llevó a cabo empleando el equipo de ultrasonidos Hielscher UP400St (Hielscher Ultrasonics, Alemania) equipado con una sonda de titanio S24d22D de 22 mm de diámetro. El tratamiento se aplicó a una frecuencia constante de 24 kHz con un pulso del 80% (80% encendido y 20% apagado por cada segundo de tratamiento), durante 10 minutos, a una temperatura de 20°C y una concentración de harina del 25% (m/m) en una masa de dispersión acuosa de 400 gramos (100 gramos de harina en peso seco y 300 gramos de agua destilada). La temperatura se mantuvo constante durante el tratamiento utilizando un baño termostático marca LAUDA, modelo RA12 (Lauda-Königshofen, Alemania), controlada con un termómetro testo 735-2 (Barcelona, España).

Una vez tratada cada harina, la eliminación del exceso de agua se llevó a cabo mediante dos procedimientos: sedimentación por centrifugación y liofilización. Para la sedimentación se utilizó una centrífuga de alta velocidad de la marca Beckman Coulter, modelo Avanti J-26 XP (Indianápolis, Indiana, Estados Unidos) a 13000 rpm durante 1:15 horas y posteriormente un secado del sedimento a 40°C en una estufa Memmert, modelo UN750 (Schwabach, Alemania) durante 24 horas para eliminar el agua restante de la muestra. Para la liofilización se utilizó un liofilizador Telstar, modelo LyoQuest-85 (Terrassa, Barcelona, España) hasta la eliminación íntegra del agua. En ambos casos, una vez retirado el exceso de agua, se procedió a la disgregación a mano de los posibles aglomerados haciendo uso de un tamiz para obtener un tamaño máximo de partícula de 250 µm. En el caso de las harinas de maíz y quinoa secadas por centrifugación fue necesaria la utilización de un molino marca Komo, modelo Fidibus Medium (Penningdörfl, Austria) para conseguir la disgregación de los aglomerados formados.

Se hicieron dos réplicas de cada tratamiento para cada harina estudiada. La nomenclatura utilizada para cada muestra se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Nomenclatura utilizada en el estudio.

Muestra	Nativo	Secado por liofilización	Secado por sedimentación
Teff blanco	TW-N	TW-L	TW-S
Teff rojo	TR-N	TR-L	TR-S
Arroz	RI-N	RI-L	RI-S
Maíz	MA-N	MA-L	MA-S
Quinoa	QU-N	QU-L	QU-S

3.2.2. Tamaño de partícula

El tamaño de partícula de las harinas se determinó mediante difracción láser con un equipo Mastersizer 2000 (Malvern Panalytical Ltd, Malvern, Reino Unido). Se cuantificaron los tamaños medios de partícula (D_{50}), y la variabilidad del tamaño de partícula (VTP) a partir de D_{90} , D_{50} y D_{10} mediante la relación $((D_{90}-D_{10})/D_{50})$ para obtener la dispersión de los tamaños de partícula de la harina.

3.2.3. Color

Se analizó el color de las diferentes harinas con un colorímetro PCE-CSM 2 de PCE Instruments (PCE Ibérica SL, Tobarra, Albacete) y con el software 3nh Color Quality Controller System CQCS3. Cada muestra de harina se midió cinco veces, renovando la muestra en cada medida, en el espacio de color CIE $L^* a^* b^*$ con el observador patrón 10° y el iluminante D65, donde L^* mide la luminosidad y a^* y b^* la cromaticidad. A partir de estos valores se obtuvieron el tono (h^*) y la saturación (C^*).

3.2.4. Propiedades funcionales

Capacidad de absorción de agua (WAC)

Propiedad que cuantifica la capacidad que tiene la harina de absorber agua tras haber sido sometida a una mezcla intensa entre el sólido y el líquido y a una posterior separación de ambas fases forzada por centrifugación. La prueba se realizó por triplicado. En primer lugar, se pesan los tubos falcon® sin faldón vacíos de 50 ml (PR), se añadieron 2 g de harina en peso seco (PM) en cada tubo y 20 ml de agua destilada, y se agitó con vórtex a baja velocidad durante 30 segundos. Después se dejaron reposar los tubos durante 10 minutos, y se repitió la agitación y el reposo tres veces. Después se centrifugaron los tubos durante 30 minutos a 3000xg y se desechó el sobrenadante. Por último, se pesan los tubos con la muestra y el agua absorbida por esta (PT). La capacidad de absorción de agua se calculó a partir de la siguiente fórmula:

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

Índice de absorción de agua (WAI), índice de solubilidad de agua (WSI) y poder de hinchamiento (SP)

Estos índices miden la capacidad de absorber agua, la solubilidad en agua y el poder de hinchado de la harina como resultado de su calentamiento en exceso de agua. La prueba se realizó por triplicado. Se pesaron tubos falcon® sin faldón de 50 ml (PR) y se añadieron 2 g de muestra en peso seco en cada tubo (PM) y 20 ml de agua destilada, y se mezcló con vórtex durante 30 segundos. Después se calentaron los tubos al baño maría en agua hirviendo durante 15 minutos, y se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta reducir la temperatura por debajo de los 30°C. Posteriormente se centrifugaron durante 10 minutos a 3000xg. El sobrenadante se decantó en cápsulas pesadas previamente (PC) y se secaron en la estufa a 110°C durante 24 horas, para posteriormente ser pesadas con el residuo seco (PSL). Se pesaron los tubos con el sedimento (PS). Los índices de absorción de agua, de solubilidad y el poder de hinchamiento se calcularon con estas fórmulas:

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

$$WSI (g \text{ sólidos solubles} / 100 g \text{ de harina}) = \frac{(PSL - PC)}{PM} \times 100$$

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

Actividad emulsionante (EA) y estabilidad de emulsión (ES)

Mide la capacidad de la harina en solución acuosa de formar emulsión con aceite. Se pesaron 7 g de muestra en peso seco y se mezcló en un vaso de precipitados añadiendo 100 ml de agua destilada hasta la total dispersión de la harina. Después se añadieron 100 ml de aceite de maíz y se batió la mezcla con el homogeneizador IKA, modelo T 25 digital ULTRA-TURRAX (Staufen, Alemania) a 1000 rpm durante 1 minuto exacto moviendo el vaso ligeramente. Inmediatamente después se transfirió el contenido de manera uniforme en cuatro tubos falcon® sin faldón de 50 ml, añadiendo 45 ml en cada tubo y anotando el volumen exacto (VT), y se centrifugó a 1300xg durante 5 minutos, y se anotó el volumen ocupado por la capa de emulsión (VE₁). La actividad emulsionante se calculó aplicando esta fórmula:

$$EA (\%) = 100 \times (VE_1 / VT)$$

En los casos en los que se formó emulsión, se analizó su estabilidad calentando los tubos en un baño a 80°C durante 30 minutos, se atemperaron a temperatura ambiente durante otros 30 minutos, y se centrifugaron de nuevo a 1300xg durante 5 minutos. Se

anotó el nuevo volumen ocupado por la capa de emulsión (VE_{80}), y la estabilidad de la emulsión se calculó con la siguiente fórmula:

$$ES (\%) = 100 \times (VE_{80} / VT)$$

Capacidad de formación de espuma (FC) y estabilidad de la espuma (FS)

Determina la capacidad que tiene una harina de formar espuma (FC) y la estabilidad de dicha espuma formada (FS). Se pesaron 2 g de muestra en peso seco (PM) y se añadieron cuidadosamente en probetas con 40 ml de agua destilada a 30°C, evitando que la muestra se pegase a las paredes de la probeta y dejando que cayese al fondo. Se cubrieron las probetas con Parafilm® para evitar pérdida de muestra y se agitaron fuertemente de forma manual durante 5 minutos, tratando de formar la mayor cantidad de espuma posible. A continuación, se anotó el volumen de espuma (VE_0). Se dejaron reposar las probetas durante 60 minutos y se apuntó el volumen final de espuma (VE_{60}). La capacidad de formación de espuma y la estabilidad de la espuma se calcularon así:

$$FC = VE_0$$

$$FS = \frac{VE_{60}}{VE_0} \times 100$$

3.2.5. Propiedades de empastado

Las propiedades de empastado se analizaron utilizando un reómetro Kinexux Pro+, modelo KNX2210 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido), con la geometría de medida de almidón *Starch Paddle Plastic 2 Blade SW1582 SS* de 35 mm de diámetro siguiendo el método 76-21.02 Standard 2 (AACC, 2017). Los perfiles de viscosidad se midieron a partir de suspensiones de 3,5 g de harina en peso seco (en base a 14% humedad y ajustando según la humedad de cada muestra) en 25 g de agua destilada.

El método comenzó con la muestra en agitación constante a 50°C durante 1 minuto, para después aumentar la temperatura a un ritmo de 6°C/min hasta alcanzar los 95°C, que se mantuvieron durante 5 minutos. Posteriormente se redujo la temperatura a un ritmo constante de 6°C/min, hasta los 50°C y se mantiene durante 2 minutos. El ensayo tuvo una duración total de 23 min, durante el cual se midió la viscosidad de la mezcla. Todas las muestras se midieron por duplicado. Los parámetros aportados por el equipo, identificados con sus siglas en inglés, se muestran en la figura 1, y son: viscosidad de pico (Peak Viscosity, PV), referido a la máxima viscosidad alcanzada por la muestra antes de que se produzca la ruptura de los gránulos hinchados de almidón; viscosidad de caída (Trough Viscosity, TV), el valor mínimo de viscosidad antes de iniciarse la retrogradación; estabilidad (Breakdown Viscosity, BV), es la diferencia entre la

viscosidad de pico y la viscosidad de caída, e informa de la estabilidad de la muestra frente al calentamiento y la cizalla; viscosidad final (Final Viscosity, FV), viscosidad que presenta la muestra al final del ciclo de ensayo; retrogradación (Setback Viscosity, SV), es la diferencia entre la viscosidad final y la viscosidad de caída; y la temperatura de empastado (Pasting Temperature, PT), que indica la temperatura a la que comienza a aumentar la viscosidad de la muestra.

3.2.6. Reología de geles

Las propiedades reológicas se estudiaron a partir de los geles formados tras la realización de la medida de las propiedades de empastado. La determinación de las propiedades reológicas se llevó a cabo utilizando un reómetro Kinexus Pro+, modelo KNX2210 (Malvern Instruments Ltd, Malvern, Reino Unido), con una geometría de placas paralelas de 40mm con superficie serrada y de acero inoxidable, con una separación entre placas de 1 mm. Se realizaron ensayos de barrido de esfuerzos y barrido de frecuencias, y cada muestra se analizó por duplicado.

Inicialmente se realizó un barrido de esfuerzos con cada gel para determinar la zona viscoelástica lineal (LVR), y establecer así el esfuerzo a aplicar en el barrido de frecuencias. Para ello se realizó un barrido en el rango de 0,1 y 100 Pa a una frecuencia constante de 1 Hz, manteniéndose una temperatura constante de 25°C, gracias al módulo Peltier KNX2002 C25P, apoyado con un baño de recirculación KNX2002 (Malvern Instruments Ltd, Reino Unido). El resultado de estos ensayos permitió determinar el esfuerzo máximo (τ_{\max}) que la estructura del gel era capaz de soportar antes de romperse (al producirse un descenso del módulo elástico G' y el aumento de la tangente del ángulo de desfase o $\tan \delta$).

El barrido de frecuencias fue realizado en el intervalo de 10 hasta 1 Hz a un esfuerzo constante de 10 Pa, comprendido en la LVR. Los módulos viscoso y elástico, así como la tangente del ángulo de desfase obtenidos del barrido de frecuencias, se ajustaron a una ecuación potencial (Ronda, Pérez-Quirce, & Villanueva, 2017).

Los coeficientes G'_1 , G''_1 y $(\tan \delta)_1$ representan los módulos de elasticidad, viscosidad, y la tangente de pérdida, respectivamente. Los exponentes a , b y c son constantes experimentales que cuantifican el grado de dependencia de estos módulos y de la tangente de pérdida con la variación de frecuencia.

3.2.7. Calorimetría diferencial de barrido

Se estudiaron las propiedades térmicas de las diferentes harinas mediante calorimetría diferencial de barrido, utilizando el equipo DSC3 (Mettler Toledo SA Española, España)

calibrado en temperatura y entalpía con indio y agua. Se pesaron ~6 mg de harina en cápsulas de aluminio de 40 µl y se añadió agua destilada con una micropipeta a una concentración del 70%. A continuación, se sometió a las muestras a un barrido de 0°C a 110°C con un aumento de temperatura de 5°C/minuto, y se evaluó la entalpía y las temperaturas de las transiciones de gelatinización del almidón y del complejo amilosa-lípido. Al finalizar se almacenaron las muestras ya gelatinizadas en refrigeración a 4°C durante 7 días y se volvieron a someter a un segundo barrido para evaluar la entalpía y las temperaturas de las transiciones del almidón (retrogradación de la amilopectina) y del complejo amilosa-lípido después del almacenamiento.

3.2.8. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de tamaño de partícula, color, propiedades funcionales, de empastado, reológicas y térmicas de las harinas nativas y tratadas fueron analizados utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion XVII (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, USA). Los valores aportados corresponden a valores medios y se han analizado mediante el análisis de varianza paramétrico unidireccional (ANOVA) utilizando el test LSD de Fischer ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Tamaño de partícula

La Tabla 2 resume los valores del tamaño de partícula de la harina, D_{50} y TVP. En el anexo se recogen los gráficos de distribución de tamaño del que se extrajeron estos valores (Figura 1-Anexo).

Se observó una disminución del tamaño medio de partícula (D_{50}) de las harinas tratadas frente a las harinas nativas tanto en teff blanco, como en teff rojo y arroz (Tabla 2), aumentando la fracción de partículas de menor tamaño ($< 30 \mu\text{m}$), mientras que los valores determinados de la variabilidad del tamaño de partícula (VTP) fueron mayores en el caso de las harinas tratadas que su correspondiente harina nativa. Esta variación del tamaño puede deberse a que el tratamiento de ultrasonidos rompe partículas de harina, aumentando la proporción de partículas de menor tamaño, próximos al tamaño de los gránulos de almidón (7-10 μm) (Cui & Zhu, 2020). El fenómeno de cavitación induce gradientes de presión y temperatura altas locales, causando una fuerza de cizalla que favorece la ruptura de las cadenas de polímeros, que son más severas en las regiones amorfas del gránulo (Yu, Ma, Menager, & Sun, 2012). Esto ya se demostró en anteriores estudios con almidón de maíz (Amini et al., 2015), concluyendo también que la reducción del tamaño de partícula es directamente proporcional al tiempo de

tratamiento aplicado. Los resultados obtenidos para D₅₀ de las harinas de teff blanco y teff rojo mostraron una reducción de hasta el 85%, en ambos casos, para las harinas tratadas cuya agua se eliminó mediante centrifugación (TW-C y TR-C). El arroz, por su parte, mostró un menor valor de D₅₀ para la muestra que fue liofilizada, siendo un 38% menor que el valor determinado para la harina nativa. En el caso de la harina de quinoa se determinó una tendencia similar. Sin embargo, la disminución fue bastante menor que lo obtenido para los dos tipos de teff y el arroz. Los valores obtenidos de D₅₀ en las harinas de quinoa TQ-L no mostraron diferencias significativas frente a TQ-N, mientras que la disminución obtenida en TQ-C fue significativa, aunque únicamente del 11%.

Tabla 2. Valores obtenidos para el tamaño medio de partícula y distribución de tamaños, y del análisis de color usando el espacio de color CIELAB (CIE L*a*b*) y CIELCh (CIE L*C*h).

	D50	TVP	L*	a*	b*	c*	h
TW-N	40,3c	2,20a	73,4a	4,49c	13,2c	13,96c	71,26a
TW-C	6,2a	3,00c	78,4c	2,55a	7,5a	7,89a	71,18a
TW-L	8,5b	2,75b	76,4b	3,35b	11,8b	12,27b	74,15b
p-valor	***	***	***	***	***	***	***
SE	0,4	0,02	0,4	0,07	0,1	0,1	0,2
TR-N	30,9c	2,44a	59,1a	8,1c	11,8c	14,3c	55,56a
TR-C	4,4a	3,16c	72,5c	3,8a	6,6a	7,6a	60,08b
TR-L	6,8b	3,06b	65,6b	5,7b	10,1b	11,6b	60,71b
p-valor	***	***	***	***	***	***	***
SE	0,1	0,01	0,4	0,1	0,1	0,2	0,3
RI-N	209,8c	1,51a	86,2a	0,49b	5,11c	5,13c	84,53a
RI-C	165,4b	2,11b	88,7b	-0,06a	3,23a	3,23a	91,09b
RI-L	130,2a	2,40c	88,2b	-0,08a	3,41b	3,41b	91,28b
p-valor	***	***	***	***	***	***	***
SE	1,2	0,01	0,2	0,02	0,03	0,03	0,2
MA-N	183,7b	2,09b	77,8b	5,82c	31,3c	31,8c	79,46b
MA-C	223,2c	1,80a	75,9a	5,07b	25,6a	26,1a	78,80a
MA-L	143,5a	2,45c	78,4b	4,60a	29,3b	29,6b	81,07c
p-valor	***	***	***	***	***	***	***
SE	4,9	0,04	0,3	0,08	0,3	0,3	0,1
QU-N	161,1b	2,23b	75,3a	3,57c	13,35c	13,82c	75,05b
QU-C	142,7a	2,29c	76,7b	3,05a	10,37a	10,81a	73,60a
QU-L	161,8b	2,06a	75,0a	3,25b	12,67b	13,08b	75,64c
p-valor	***	***	**	***	***	***	***
SE	0,6	0,01	0,3	0,03	0,06	0,06	0,07

D50: tamaño medio de partícula; TVP: variabilidad del tamaño de partícula, luminosidad (L*), cromaticidad (coordenadas a* y b*), saturación (C*) y tono (h). Las diferentes letras indican diferencias significativas (p-valor<0,05) en cada variable estudiada para cada tipo de harina; SE: error estadístico estándar; p-valor: análisis de varianza y significancia. ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05, ns: no significativo.

En el maíz se determinó que el tamaño medio de partícula se redujo en la harina tratada y secada por liofilización, mientras que en la harina secada mediante centrifugación aumentó, siendo incluso mayor que el valor determinado en la harina nativa. Esta situación tan particular puede deberse a que la fuerza centrífuga a la que se sometió esta harina formó aglomerados de mayor tamaño que resultaron difíciles de separar, por lo que no fue posible disociarlos en su totalidad. Esta harina, incluso, fue necesario

pasarla por un molino de disco para reducir los aglomerados formados. Se puede pensar que el efecto real de los tratamientos por ultrasonidos sobre la harina de maíz habría sido la disminución de su tamaño medio de partícula, como lo que se observa en la muestra MA-L, que presentó una reducción de su tamaño medio del 22% respecto a la muestra nativa, MA-N.

4.2. Color

La Tabla 2 resume los valores obtenidos del análisis de color utilizando el espacio CIELAB y CIELCh. Se observaron variaciones en el color entre las harinas nativas y las tratadas, así como diferencias en función del tipo de secado (Tabla 2). Los valores de luminosidad (L^*) aumentaron significativamente tras el tratamiento de US en el teff blanco, teff rojo y arroz, asociado a colores más claros. Los cambios más marcados fueron determinados para el teff rojo, en el que las harinas tratadas mostraron un incremento del 23% (TR-C) y 11% (TR-L) respecto a TR-N. En el caso de las harinas de maíz y quinoa, los valores de L^* de las harinas liofilizadas (MA-L y QU-L) no mostraron diferencias significativas respecto a las harinas nativas, mientras que las harinas centrifugadas mostraron una ligera diferencia, disminuyendo en el caso de MA-C y aumentando en QU-C, respecto a sus correspondientes harinas nativas. Hay que tener en cuenta que el tratamiento con US puede afectar de diferentes formas en función del origen botánico de las muestras (Cui & Zhu, 2020), haciendo que los cambios determinados sean más evidentes en ciertas harinas dependiendo de la concentración y naturaleza de los pigmentos (como ambas harinas de teff estudiadas, en este caso). También se observó una variación significativa de L^* en función del proceso de eliminación del agua, por lo que se puede inferir que parte de la pigmentación se perdió con la fracción soluble en las harinas tratadas y centrifugadas. En todos los casos (con excepción del arroz, donde no hubo diferencias, y del maíz, donde el efecto fue el opuesto) se obtuvieron valores de L^* más elevados en las muestras centrifugadas que en las liofilizadas.

Todas las harinas presentaron reducciones en los valores tanto de a^* como de b^* tras el tratamiento de US. También se apreciaron diferencias entre las harinas liofilizadas y las centrifugadas, con coordenadas cromáticas menores en las centrifugadas de teff blanco y rojo, arroz y quinoa. El maíz siguió la misma tendencia en b^* , pero en a^* se obtuvieron valores ligeramente superiores en la harina centrifugada frente a la liofilizada. Estudios previos coinciden en que los ultrasonidos reducen a^* y b^* y aumentan la luminosidad, (Zhang, Feng, Niu, & Eckhoff 2005). Zhu & Li (2019) también concluyeron que los ultrasonidos reducían en la luminosidad de la quinoa, pero aportaron resultados opuestos en el caso de los valores a^* y b^* de la harina de quinoa tratada. Esos resultados

fueron obtenidos al tratar directamente el grano de quinoa, lo cual puede explicar las diferencias respecto al presente estudio.

La saturación o croma (C*) se redujo significativamente con el tratamiento de US, por lo que puede concluirse que los colores de las harinas perdieron viveza tras los tratamientos, haciendo que adquirieran un color más apagado que las harinas nativas. Además, las harinas que fueron secadas por centrifugación presentaron valores de C* más bajos que las liofilizadas, debido probablemente a la eliminación de pigmentos solubles en agua. La reducción de C* en estas muestras fue del 43% (TW-C), 47% (TR-C), 37% (RI-C), 18% (MA-C) y 22% (QU-C), respecto a las harinas nativas.

4.3. Propiedades funcionales

La Tabla 3 resume los valores de todas las propiedades funcionales tanto de las muestras nativas como de las tratadas.

Tabla 3. Propiedades funcionales

Muestra	WAC	WAI	WSI	SP	EA %	ES%	FC	FS
TW-N	1,15b	5,4a	6,0b	5,7a	43,1a	6a	4,6ab	66b
TW-C	1,22c	8,8c	2,9a	9,1c	42,1a	18b	3,0a	0a
TW-L	1,02a	7,6b	6,4b	8,1b	55,6b	38c	7,0b	58b
p-valor	***	***	***	***	***	***	*	**
SE	0,01	0,1	0,1	0,1	0,9	2	0,6	5
TR-N	1,13b	5,4a	5,4c	5,7a	48b	6a	6,5b	54b
TR-C	1,23c	9,2c	2,3a	9,4c	40a	25b	2,5a	0a
TR-L	1,01a	7,2b	4,5b	7,5b	52c	29b	7,5b	46b
p-valor	***	***	***	***	***	***	*	**
SE	0,01	0,1	0,3	0,2	1	3	0,5	3
RI-N	1,31b	7,2a	1,6a	14,8a	-	-	3,0a	31a
RI-C	1,22a	8,8b	2,1a	18,3b	-	-	3,5a	60a
RI-L	1,19a	9,2b	1,9a	19,1b	-	-	2,5a	35a
p-valor	**	***	ns	***	-	-	ns	ns
SE	0,02	0,2	0,2	0,5	-	-	0,6	18
MA-N	1,61a	6,05a	4,9b	13,42a	40,6b	5,9b	4,5b	90b
MA-C	1,62a	6,41b	4,2a	13,98b	0,0a	0,0a	1,5a	0a
MA-L	1,56a	6,83c	6,0c	15,53c	45,1c	16,5c	4,5b	100b
p-valor	ns	***	***	***	***	***	*	**
SE	0,02	0,04	0,1	0,07	0,2	0,3	0,5	6
QU-N	0,922b	8,1a	6,2ab	8,6a	57,7a	55,6a	6,0a	83b
QU-C	1,013c	8,2a	5,1a	8,6a	57,4a	55,4a	4,0a	88b
QU-L	0,850a	8,3a	7,3b	9,0a	57,1a	56,2a	9,0b	23a
p-valor	***	ns	*	ns	ns	ns	*	*
SE	0,006	0,1	0,3	0,1	0,4	0,7	0,6	7

Datos obtenidos para las propiedades funcionales estudiadas de las diferentes harinas: WHC, capacidad de absorción de agua (g de agua/g de muestra); WAC, capacidad de absorción de agua (g de agua/g de muestra); WAI, índice de absorción de agua; WSI, índice de solubilidad del agua (g de gel/g de harina); SP, índice de solubilidad de agua (g de sólidos/100 g de harina); EA, actividad emulsionante (%); ES, estabilidad de emulsión (%); FC, capacidad de espumación; FS, estabilidad de espumación. Las diferentes letras indican diferencias significativas (p-valor<0,05) en cada variable estudiada para cada tipo de harina; SE: error estadístico estándar; p-valor: análisis de varianza y significancia. ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05, ns: no significativo.

- Capacidad de absorción de agua (WAC)

Esta propiedad representa la cantidad máxima de agua capaz de ser absorbida por cada gramo de harina, al aplicar una fuerza externa. Los resultados obtenidos no mostraron una tendencia clara en esta propiedad como resultado del tratamiento US (Tabla 4). En el caso de las harinas de teff blanco, teff rojo y quinoa se observó un aumento significativo del WAC en la harina centrifugada respecto a la nativa, mientras que disminuyó en la harina liofilizada. En la harina de arroz el WAC disminuyó significativamente en ambas harinas tratadas, mientras que la harina de maíz no mostró diferencias significativas. Estas diferencias encontradas en ambos tipos de teff y quinoa indican que la forma en la que se retira el exceso de agua tras el tratamiento influyó sobre el WAC en mayor medida que el propio tratamiento con US. Esto puede estar relacionado con el mayor contenido en proteína de estas tres harinas (10,62% en teff blanco, 9% en teff rojo y 15,58% en quinoa), cuya fracción soluble puede perderse en el líquido separado con la centrifugación, por lo que se obtienen diferencias más marcadas entre las muestras centrifugadas y liofilizadas que en el caso del arroz y el maíz, cuyo contenido proteico es bastante más bajo. Un aumento en los valores del WAC ha sido indicado en estudios anteriores (Herceg et al., 2010). Sin embargo, estos resultados fueron obtenidos al aplicar tratamientos durante altos periodos de tiempo, pudiéndose deber a este hecho las diferencias observadas en nuestro estudio.

- Índice de absorción de agua (WAI) y capacidad de hinchado (SP)

El índice de absorción de agua y el SP cuantifican la cantidad de agua absorbida por la harina durante su cocinado. Este índice mide el volumen ocupado por el almidón gelatinizado, proteínas desnaturalizadas y otros componentes del granulo tras su hinchamiento en exceso de agua (Abebe et al., 2015). El poder de hinchamiento es una medida del aumento en masa del almidón como consecuencia de la absorción de agua por los grupos hidroxilo de los polímeros de amilosa y amilopectina (Meaño Correa, Teresa Ciarfella Pérez, & MariNa DorTa Villegas, 2014).

El WAI y SP aumentaron en las harinas tratadas en todos los casos, aunque en el caso de la quinoa dicho incremento no fue significativo. Esto puede deberse al aumento de las regiones expuestas a la unión con moléculas de agua debido a los daños producidos por la cavitación en la estructura del gránulo, que facilitan la entrada y captación de moléculas de agua (Jambrak et al., 2010). Las harinas de teff fueron las que mostraron un aumento más notable del WAI, de hasta un 63% (TW-C) y 70% (TR-C), en las harinas centrifugadas, mientras que en las harinas liofilizadas los aumentos respecto a las harinas nativas fueron menores, de 41% (TW-L) y 33% (TR-L). Esta diferencia podría

deberse, al menos en parte, a una mayor proporción de almidón en las harinas centrifugadas en comparación con las harinas liofilizadas, debido a la eliminación de los componentes solubles de la harina como consecuencia de la fase de centrifugación. El arroz, por su parte, no mostró diferencias significativas entre ambas harinas tratadas, mostrando un incremento del 22% y 28% (RI-C y RI-L, respectivamente). Algo similar se observó en el caso del maíz, con incrementos discretos, del 6% y 12% en las muestras MA-C y MA-L, respecto a la nativa.

Los incrementos en el WAI y SP de las harinas como consecuencia del tratamiento siguieron la misma tendencia (teff rojo > teff blanco > arroz > maíz > quinoa) observada en la disminución del tamaño de partícula. Se concluye que existe una mayor capacidad de interacción con el agua en las harinas cuyo tamaño sufrió una mayor disminución. Las diferencias observadas entre diferentes granos estudiados pueden atribuirse al origen botánico de la harina, ya que su composición es determinante en esta propiedad.

- Índice de solubilidad del agua (WSI)

El índice de solubilidad de agua (WSI) está relacionado con la cantidad de sólidos disueltos y de la amilosa que es liberada del interior del gránulo cuando comienza a perder su estructura por efecto de la absorción de agua durante la gelatinización del almidón (Meaño Correa et al., 2014). Los ultrasonidos tienen la capacidad de romper las cadenas laterales de amilopectina, incrementando el contenido en cadenas lineales asimilables a amilosa (Yu et al., 2013), y aumentando la proporción de amilosa/amilopectina (Amini et al., 2015). Esto provocaría un descenso en la solubilidad de la harina. Los resultados obtenidos (Tabla 3) mostraron efectos diferentes dependiendo del tipo de harina. El método de separación del agua tras el tratamiento ejerció siempre un efecto significativo sobre este parámetro. La variabilidad en esta propiedad entre harinas tratadas y liofilizadas y las harinas nativas. Salvo en el caso del arroz, todas las harinas centrifugadas mostraron valores de WSI más bajos que las liofilizadas. Estas diferencias se deben a la pérdida de compuestos solubles de la harina que son eliminados junto al agua tras la centrifugación. En el caso del arroz, cabe pensar que la fracción soluble es menor a lo obtenido en las otras harinas, por lo que las pérdidas con la eliminación del agua no llevan a cambios significativos respecto a ambos métodos de secado. Amini et al. (2015) concluyeron que la solubilidad de los gránulos de almidón sufre un mayor aumento cuanto mayor es la temperatura de tratamiento. Sin embargo, a temperaturas bajas la solubilidad puede disminuir, que es lo observado en los resultados obtenidos.

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

La capacidad de formar emulsiones depende del balance de grupos hidrofílicos y lipofílicos presentes en los componentes de la harina. Además, la acción de las proteínas en las harinas como emulsificantes es influenciada por la concentración de proteína, la velocidad de mezcla, el tipo de aceite y el tipo de sistema de emulsificación harina (Khalid, Babiker, & EL Tinay, 2003). El desplegamiento de las proteínas en la interfase agua/aceite juega un papel importante en la capacidad y en la estabilidad emulsificante, debido al aumento de la hidrofobicidad. La estabilidad emulsionante de las proteínas está relacionada con su habilidad para reducir la tensión interfacial entre el aceite y el agua en la emulsión. La actividad superficial es una función de la habilidad de la proteína de migrar, de absorber, de desplegarse y de reorganizarse en una interfase. Las harinas sonicadas y centrifugadas de teff blanco, teff rojo y maíz mostraron una reducción de su capacidad emulsionante, llegando en el caso del maíz a no formar emulsión, mientras que las harinas liofilizadas presentaron un incremento significativo respecto a las harinas nativas (Tabla 3).. El proceso de eliminación de agua por centrifugación es un proceso no selectivo que además del agua elimina gran parte de los componentes solubles originalmente presentes en las harinas y liberadas como consecuencia del tratamiento de US, incluidas proteínas. De esta forma, la harina centrifugada tendría una menor proporción de proteínas, lo que se traduciría en una menor capacidad emulsionante, tal y como muestran los datos obtenidos. Los valores de la harina liofilizada aumentan respecto a sus harinas nativas, lo que indica que el efecto de los tratamientos con US es promover una mayor capacidad emulsionante, ya que la liofilización permite eliminar únicamente el agua, reteniendo las proteínas que, tras el tratamiento de US, es posible que haya modificado y desplegado su estructura, permitiendo una mejor capacidad de emulsionar.

La harina de arroz no fue capaz de formar emulsión ni antes ni después del tratamiento debido a que el contenido en proteína de esta harina es muy bajo. En la harina de quinoa no se apreció una variación significativa entre las diferentes harinas estudiadas, indicando que fue menos susceptible a la modificación con ultrasonidos.

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

Los valores de FC y FS se recogen en la Tabla 3. Las únicas harinas tratadas que mostraron diferencias significativas respecto a su harina nativa correspondiente fueron TR-C, MA-C (valores menores) y QU-L (valor mayor). Incrementos en la capacidad de espumación y en la estabilidad de la espuma han sido indicados previamente por Jambrak et al. (2008) en muestras de aislados de proteínas de trigo tratadas con US,

debido a la hidrólisis de las proteínas que daba como resultado un aumento tanto de la capacidad de formación de espuma como de la estabilidad de esta. La capacidad para formar espuma depende de la cantidad de proteínas presentes, de su estructura y de la habilidad relativa de dichas proteínas para desnaturalizarse, precipitar y disminuir la tensión superficial en la interfase aire-líquido de la espuma (Khalid et al., 2003). La energía producida por el tratamiento US puede provocar que las proteínas se desplieguen e interactúen unas con otras, incrementando la flexibilidad de la interfase aire-líquido y aumentando la capacidad de formar espuma. Los pequeños cambios observados en el presente estudio en comparación con los obtenidos por otros autores pueden deberse al menor contenido en proteínas de las harinas estudiadas (en comparación con los aislados de proteínas de trigo), y a las condiciones de tratamiento, ya que el tiempo de sonicación fue de 10 minutos, mientras que en el estudio mencionado anteriormente se realizaron tratamientos de 15 y 30 minutos.

Estos resultados confirman que, tras la centrifugación, parte de los compuestos solubles y proteínas presentes en la harina se eliminaron junto al agua, bajando la capacidad espumante de la harina resultante. Sin embargo, en las muestras liofilizadas (QU-L, TW-L y TR-L) se observó una mayor capacidad de formar espuma que en las nativas (aunque las dos últimas no fueron significativamente diferentes).

En la estabilidad de la espuma formada no se apreció un patrón claro, mostrando pocas diferencias significativas entre las harinas estudiadas. En la harina de teff rojo y maíz la estabilidad fue mayor en la harina liofilizada (sin ser significativamente diferente a la nativa), mientras que en la harina de teff blanco, arroz y quinoa la estabilidad fue mayor en la muestra centrifugada (únicamente TW-C mostró diferencias significativas respecto a su harina nativa). En general se puede concluir que la estabilidad de la espuma formada no se vio mejorada con los tratamientos con ultrasonidos, y que la forma de eliminar el agua no fue determinante en esta propiedad.

4.4. Propiedades de empastado

La Tabla 4 contiene los valores de todas las propiedades de empastado. De valores obtenidos se deduce un comportamiento diferente dependiendo de la harina estudiada. Los cambios en el perfil de viscosidad están atribuidos a cambios en la estructura de los gránulos de almidón, y el papel de las proteínas y los lípidos al interactuar con el almidón mientras se realizan estos cambios de temperatura, explicando las diferencias encontradas entre ambos métodos de eliminación del exceso de agua. También dependen del origen botánico de las harinas y su susceptibilidad a ser modificados por los tratamientos con ultrasonidos.

Las harinas de teff blanco, teff rojo y quinoa tratadas y liofilizadas mostraron una disminución de los perfiles de viscosidad, mientras que las harinas centrifugadas presentaron un aumento respecto a la harina nativa. La mayor reducción obtenida del pico de viscosidad (PV) en las harinas liofilizadas se obtuvo en las harinas de teff, con una reducción del 17% y 19,6% en el teff blanco y rojo respectivamente. La harina de quinoa liofilizada presentó una reducción de PV del 6,6%. También se observó una reducción en la viscosidad final (FV) del 15% en el teff blanco y rojo, y del 10,5% para la quinoa. Esta tendencia coincide con la reducción del perfil de viscosidad debido al daño que los ultrasonidos causan en los gránulos de almidón reportado por Zuo, Knoerzer, Mawson, Kentish, & Ashokkumar (2009). El tratamiento produce una desorganización en el interior del gránulo que favorece un mayor contacto con el agua, y disminuye la fuerza de corte entre las capas del fluido reduciéndose la viscosidad (Carmona-García et al., 2016). Estos autores explican la reducción en las curvas de empastado de almidones tratados por US por la ruptura de cadenas de amilosa y la amilopectina que no contribuyen a la formación de gel como lo harían en estado nativo.

En las harinas tratadas y centrifugadas se obtuvieron resultados opuestos a los descritos anteriormente. Los valores de PV y FV aumentaron hasta un 15% en el caso de la harina de quinoa, un 8% en el teff blanco y un 3,5% en el teff rojo. Estas diferencias entre liofilizar y centrifugar parecen indicar que al perder la fracción soluble que se descarta con la centrifugación, hace que la nueva harina centrifugada tenga en proporción una mayor cantidad de almidón que su correspondiente harina nativa y que la harina liofilizada, haciendo que estas harinas tiendan a dar valores de viscosidad superiores a los reportados por la harina nativa a pesar de haber sido tratadas con ultrasonidos.

Las harinas de arroz y maíz, por su parte, mostraron diferencias más ligeras respecto a ambos métodos de eliminación del agua. La harina de arroz mostró una reducción en la viscosidad tras el tratamiento de US tanto en la harina liofilizada como en la centrifugada. El bajo contenido en proteína de la harina de arroz explica que se pierda una menor proporción en la fracción soluble durante la centrifugación, por lo que el contenido de almidón de la harina centrifugada no difiere significativamente respecto a la harina liofilizada, y el daño producido por los US se ve reflejado en ambas harinas tratadas como una reducción del perfil de viscosidad. En la harina de maíz, en cambio, se observó un aumento de PV y de FV en ambas harinas tratadas. Estos resultados concuerdan con Carmona-García et al. (2016) que concluyeron que los US aumentan el pico de viscosidad de almidones de gránulos grandes, como es el caso del maíz, ya que los gránulos pequeños son más resistentes a los US que los gránulos de mayor tamaño.

En cuanto a los resultados de BV, se determinó una disminución tanto en las harinas tratadas de teff como en el arroz frente a las harinas nativas. Esto denota un aumento de la estabilidad de la pasta frente al calentamiento y la cizalla. Generalmente se espera que un mayor daño producido en el gránulo reporte incrementos en este parámetro. Sin embargo, el tratamiento de US aplicado para este estudio se realizó durante un corto periodo de tiempo (10 minutos) y a baja temperatura (20°C), lo que puede explicar estos resultados. Un mayor tiempo de tratamiento y la aplicación de altas temperaturas probablemente podría provocar una mayor variación de este parámetro. En la harina de maíz no se observaron diferencias significativas entre la harina tratada y centrifugada y la nativa, mientras que se obtuvo un ligero aumento en la harina liofilizada.

La temperatura de empastado (PT) aumentó en las harinas de teff blanco, rojo, maíz y quinoa tratadas (centrifugadas y liofilizadas) frente a las nativas entre un 1°C y 3°C. Los US provocan la ruptura de cadenas de amilosa y cadenas externas de amilopectina, por lo que las harinas tratadas tendrán una estructura más resistente (las partes que no fueron dañadas por los US que requerirán una temperatura mayor para hidratarse por completo e iniciar la gelatinización en comparación las harinas nativas) explicando ese retraso observado en PT. La harina de arroz no siguió esta tendencia, y las harinas tratadas no mostraron diferencias significativas respecto a la harina nativa.

4.5. Reología de geles

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4. El esfuerzo máximo (τ_{\max}) aumentó en la harina liofilizada de teff blanco (TW-L), teff rojo (TR-L) y quinoa (QU-L), y disminuyó en la harina centrifugada, siendo significativamente diferentes entre ambas harinas tratadas. En el caso de la harina de arroz no se determinaron diferencias significativas entre las harinas tratadas y la harina nativa. Un aumento de τ_{\max} indica un aumento en la capacidad del gel a resistir fuerzas aplicadas sobre él, debido probablemente al daño producido en los gránulos de almidón y a la ruptura de las cadenas externas de amilopectina, que favorece la formación de cadenas lineales, lo que lleva a la formación de un gel más compacto y resistente. En el caso de las harinas centrifugadas, se obtuvieron valores menores de τ_{\max} . Las cadenas externas de amilopectina dañadas por el tratamiento de ultrasonidos pueden haberse perdido tras la centrifugación disueltas en el agua, lo que podría explicar estos valores obtenidos. La muestra MA-C condujo a geles con valores mayores de τ_{\max} que MA-N, mientras que en MA-L el valor de τ_{\max} fue inferior, aunque no fue significativamente diferente a MA-N. Los gránulos de almidón de mayor tamaño se ven más afectados por el tratamiento de ultrasonidos (Carmona et al.,

2016). Los resultados de $G'=G''$, donde el módulo elástico iguala al módulo viscoso, siguieron la misma tendencia que el esfuerzo máximo en todas las harinas estudiadas.

Con los resultados obtenidos del barrido de esfuerzos se procedió a realizar un barrido de frecuencias entre 10 y 1 Hz, a un esfuerzo constante de 10 Pa (dentro de la LVR), y una temperatura constante de 25°C. En todas las harinas analizadas en este estudio se obtuvieron valores mayores del G'_1 frente a G''_1 , lo que indica un predominio del comportamiento sólido/elástico, que es frecuente en las harinas sin gluten (Kaur & Gill, 2019). No se observaron variaciones destacables en el módulo elástico (G'_1). En cambio, si se obtuvieron reducciones en el módulo viscoso (G''_1) en las harinas tratadas de teff, arroz y quinoa, además de la harina de maíz liofilizada (no así la harina de maíz centrifugada, que reportó un ligero aumento). Esto puede deberse a que los US afectaron en mayor medida a las cadenas ramificadas de amilopectina, generando una mayor proporción de cadenas lineales que interaccionaron entre si produciendo una red más compacta (Carmona-García et al., 2016).

Se observaron ligeras variaciones de $\tan(\delta)_1$ en las harinas tratadas, aunque en general, no llegaron a ser significativamente diferentes a las harinas nativas. La $\tan(\delta)_1$ de MA-C disminuyó un 27% respecto a MA-N (MA-L no varió), al contrario que la harina de quinoa, donde la QU-L aportó una reducción de este parámetro del 21%, mientras que QU-C únicamente disminuyó un 6%. El origen botánico puede influir en los efectos reológicos producidos, así como las condiciones de tratamiento, que pudieron ser muy leves y no llevar a generar cambios marcados en las harinas tratadas.

4.6. Calorimetría diferencial de barrido

Las propiedades térmicas de las transiciones de fase determinadas a partir de los barridos de gelatinización y retrogradación de las harinas estudiadas se muestran en la Tabla 5. Los termogramas de todas las muestras mostraron dos picos. En el primer barrido, el primero de ellos corresponde a la gelatinización del almidón presente en la harina, mientras que el segundo, que aparece a temperaturas más elevadas, es debido a la disociación del complejo amilosa-lípido (Villanueva, Ronda, Moschakis, Lazaridou, & Biliaderis, 2018). Los valores de entalpía de gelatinización de las harinas (ΔH_{gel}) reflejan principalmente la pérdida de orden en la estructura del almidón que conlleva la fusión durante el calentamiento de las harinas en exceso de agua, llevando a su gelatinización (Huang, Li, & Fu, 2007).

Tabla 4. Datos obtenidos de las propiedades de empastado y propiedades reológicas de las diferentes harinas estudiadas.

	PV (Pa · s)	TV (Pa · s)	BV (Pa · s)	FV (Pa · s)	SV (Pa · s)	PT (°C)	G'₁ (Pa)	a	G''₁ (Pa)	b	tan (δ)₁	c	τ _{max} (Pa)	G' = G'' (Pa)
TW-N	2,05b	1,32b	0,73b	2,43b	1,10b	75,0a	327ab	0,003a	45b	0,292b	0,138ab	0,289b	390b	531b
TW-C	2,21c	1,49c	0,73b	2,68c	1,18b	78,9b	265a	0,074b	38a	0,312b	0,145b	0,238a	230a	262a
TW-L	1,70a	1,20a	0,49a	2,07a	0,86a	77,8b	401b	0,023a	45b	0,271a	0,116a	0,294b	635c	633b
p-valor	***	***	**	***	***	**	ns	***	*	**	ns	***	***	***
SE	0,03	0,04	0,04	0,05	0,05	0,6	47	0,01	2	0,007	0,011	0,008	50	48
TR-N	2,04b	1,25b	0,78c	2,49b	1,24b	79,2a	254ab	0,08a	45c	0,314a	0,18b	0,23a	269ab	322b
TR-C	2,11b	1,43c	0,64b	2,75c	1,32b	81,8b	315b	0,07a	38b	0,316a	0,12a	0,25a	175a	198a
TR-L	1,64a	1,11a	0,53a	2,10a	0,99a	79,9a	262a	0,04a	34a	0,310a	0,14ab	0,27a	296b	303b
p-valor	***	***	**	***	***	***	ns	ns	**	ns	ns	ns	*	ns
SE	0,05	0,03	0,03	0,07	0,04	0,3	22	0,03	2	0,007	0,02	0,02	39	40
RI-N	6,25b	2,34b	3,91b	5,02c	2,68c	85,2a	203c	0,106a	36c	0,323a	0,176ab	0,217a	268a	304a
RI-C	5,01a	2,18a	2,83a	4,17a	1,99a	83,8a	143a	0,115b	26a	0,343b	0,181b	0,228b	285a	314a
RI-L	5,09a	2,25ab	2,84a	4,48b	2,22b	85,0a	164b	0,107ab	28b	0,341b	0,171a	0,233b	265a	292a
p-valor	***	ns	***	***	***	ns	***	ns	***	**	ns	*	ns	ns
SE	0,07	0,05	0,09	0,06	0,06	0,5	4	0,003	1	0,002	0,003	0,003	11	9
MA-N	1,44a	1,10a	0,33a	2,61a	1,50a	79,1a	399a	0,073b	56a	0,230b	0,139b	0,157a	171a	232b
MA-C	1,60b	1,30b	0,31a	3,06b	1,76b	79,5b	649b	0,029a	66b	0,190a	0,101a	0,162a	311b	354c
MA-L	1,56b	1,09a	0,48b	2,60a	1,51a	80,4c	394a	0,066b	52a	0,241b	0,131b	0,175b	118a	165a
p-valor	***	***	***	***	***	***	***	***	*	***	***	**	**	***
SE	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,1	32	0,004	3	0,004	0,003	0,003	31	16
QU-N	1,21a	1,16a	0,046a	1,34b	0,176b	75,7a	276a	0,040a	28a	0,26a	0,100b	0,22a	32ab	53b
QU-C	1,40b	1,34b	0,057a	1,69c	0,352c	77,9b	300a	0,048a	29a	0,26a	0,094ab	0,21a	17a	40a
QU-L	1,13a	1,07a	0,061a	1,20a	0,132a	77,1b	217a	0,040a	17a	0,32b	0,079a	0,28b	33b	43a
p-valor	**	**	ns	***	***	*	ns	ns	ns	*	*	*	ns	**
SE	0,04	0,04	0,008	0,04	0,004	0,4	32	0,003	5	0,01	0,006	0,02	5	2

Parámetros estudiados: PV, peak viscosity; TV, through viscosity; BV, breakdown viscosity; FV, final viscosidad; SV, setback viscosity; PT, temperatura de empastado; G'₁, módulo elástico; G''₁, módulo viscoso; Tan (δ)₁, tangente de pérdida; a, b, c: parámetros experimentales; τ_{max}, esfuerzo máximo; G' = G'', punto de corte. Las diferentes letras indican diferencias significativas (p-valor<0,05) en cada variable estudiada para cada tipo de harina; SE: error estadístico estándar; p-valor: análisis de varianza y significancia. ***p<0,001, **p<0,01, *p<0,05, ns: no significativo.

Tabla 5. Propiedades térmicas obtenidas para las harinas estudiadas en el barrido de gelatinización del almidón y del complejo amilosa-lípido, y de la entalpía del barrido de retrogradación.

Muestra	Gelatinización del almidón				Complejo amilosa-lípido				Retrogradación del almidón	Retrogradación - Complejo amilosa-lípido
	ΔH_{gel} (J/g ms)	T_{O-gel} (°C)	T_{P-gel} (°C)	T_{E-gel} (°C)	$\Delta H_{gel-am-lip}$ (J/g ms)	$T_{O-gel-am-lip}$ (°C)	$T_{P-gel-am-lip}$ (°C)	$T_{E-gel-am-lip}$ (°C)	ΔH_{ret} (J/g ms)	$\Delta H_{ret-am-lip}$ (J/g)
TW-N	7.8ab	62.4a	69.1a	76.6a	0.4a	87a	96.2a	102.8a	3.02b	0.91a
TW-C	8.4a	62.1a	68.8a	75.4a	0.8a	87a	94.6a	102.6a	3.53a	1.00a
TW-L	7.5b	62.3a	68.6a	75.8a	0.5a	87a	96.1a	101.9a	3.70a	0.87a
p-valor	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
SE	0.1	0.1	0.2	0.3	0.1	1	0.5	0.8	0.08	0.05
TR-N	7.5a	64.80c	71.06c	78.8b	0.43b	90a	97.1b	101.8a	3.9b	1.5a
TR-C	7.9a	64.02a	70.31a	77.1a	0.83a	88a	96.2ab	102.0a	3.7b	1.1a
TR-L	7.6a	64.41b	70.65b	77.4a	0.55ab	89a	95.3a	102.3a	4.6a	0.3a
p-valor	ns	**	**	**	ns	ns	*	ns	ns	ns
SE	0.1	0.05	0.05	0.1	0.07	1	0.2	0.3	0.1	0.6
RI-N	9.0a	69.15b	74.37b	80.32c	0.82a	91a	96.4a	101.62a	5.3a	1.88a
RI-C	9.3a	68.11a	73.18a	78.45a	1.06a	89a	95.5a	101.69a	6.2a	1.88a
RI-L	9.4a	68.04a	73.20a	78.86b	1.03a	91a	96.4a	102.36b	6.3a	2.09a
p-valor	ns	**	***	***	ns	ns	ns	**	ns	ns
SE	0.1	0.07	0.05	0.04	0.06	1	0.6	0.06	0.2	0.09
MA-N	4.8a	62.9b	70.7c	77.6b	0.6a	88a	97a	104a	3.4a	1.7a
MA-C	6.2a	61.5a	69.3a	76.3a	0.5a	87a	97a	104a	3.7a	1.8a
MA-L	4.9a	62.3ab	70.2b	76.9ab	0.7a	93b	99a	103a	3.7a	1.7a
p-valor	ns	ns	**	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns
SE	0.3	0.3	0.1	0.3	0.3	1	2	1	0.2	0.2
QU-N	6.6a	62.3a	70.4b	79.1b	0.5ab	87.2a	93.3a	98.3a	0.78a	1.2b
QU-C	6.4a	61.3a	69.5a	77.7a	0.7a	88.7a	94.0a	98.0a	0.42b	1.8a
QU-L	6.2a	62.4a	70.6b	79.1b	0.4b	88.6a	95.0a	98.4a	0.37b	1.2b
p-valor	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
SE	0.2	0.3	0.1	0.3	0.5	0.4	0.9	0.3	0.05	0.2

ΔH_{gel} = entalpía de gelatinización, T_{O-gel} = Temperatura onset, T_{P-gel} = Temperatura peak, T_{E-gel} = Temperatura endset, $\Delta H_{gel-am-lip}$ = entalpía del complejo amilosa-lípido en el barrido de gelatinización, $T_{O-gel-am-lip}$ = Temperatura onset del complejo amilosa-lípido en el barrido de gelatinización, $T_{P-gel-am-lip}$ = Temperatura peak del complejo amilosa-lípido en el barrido de gelatinización, $T_{E-gel-am-lip}$ = Temperatura endset del complejo amilosa-lípido en el barrido de gelatinización, ΔH_{ret} = entalpía de retrogradación, $\Delta H_{ret-am-lip}$ = entalpía del complejo amilosa-lípido en el barrido de retrogradación.; Las diferentes letras indican diferencias significativas (p -valor<0,05) en cada variable estudiada para cada tipo de harina; p -valor: análisis de varianza y significancia. *** p <0,001, ** p <0,01, * p <0,05, ns: no significativo. SE: error estadístico estándar.

Respecto al tipo de almidón, el empaquetado de las hélices influye mucho en el efecto que tienen los tratamientos de ultrasonidos. Cuando el empaquetado es menos compacto las cadenas de doble hélice que forman los cristales de almidón son más móviles, y por lo tanto más susceptibles a la disrupción, que aquellas presentes en almidones con un empaquetado más compacto, denotando la importancia del origen botánico en la magnitud de los cambios alcanzados (Luo et al., 2008). Los resultados obtenidos mostraron pocas variaciones respecto a $\Delta H_{gel.}$, ninguna de las harinas tratadas mostró diferencias significativas respecto a su correspondiente harina nativa. En cuanto a los dos métodos de secado estudiados, únicamente TW-C fue significativamente diferente a TW-L. La bibliografía disponible indica que los tratamientos con ultrasonidos de bajas frecuencias causan una disminución de la entalpía de gelatinización de almidones de maíz (Amini et al., 2015; Jambrak et al., 2010) y arroz (Yang et al., 2019; Yu et al., 2013) como consecuencia del acortamiento de las cadenas de amilopectina del almidón causada por la energía producida por el efecto de la cavitación (Yang et al., 2019). El hecho de que en este estudio no se hayan encontrado diferencias significativas puede deberse a las condiciones de tratamiento. En los estudios mencionados anteriormente realizaron tratamientos de hasta 30 minutos, a temperaturas que llegaron a los 65°C y a concentraciones menores (10%), a la vez que trabajaron con almidones mientras que este estudio fue hecho en harinas, teniendo los gránulos de almidón menos expuestos al efecto de los ultrasonidos.

Las temperaturas onset (T_{O-gel}) y endset (T_{E-gel}) indican la temperatura a la que inicia y finaliza, respectivamente, la gelatinización del almidón presente en las harinas, mientras que la temperatura de pico (T_{P-gel}) indica la temperatura a la que se alcanzó el valor máximo de entalpía dentro del rango de gelatinización. Los valores determinados para T_{O-gel} mostraron una ligera tendencia a disminuir en las harinas de teff rojo, arroz y maíz, mientras que en el caso del teff blanco y la quinoa no se encontraron diferencias significativas. Las temperaturas T_{P-gel} y T_{E-gel} siguieron una tendencia similar, sin embargo en estos casos fue únicamente la harina de teff blanco la que no mostró diferencias significativas entre las harinas tratadas y la nativa. Ha sido indicado que los tratamientos con US de tiempos cortos a frecuencias bajas no producen cambios importantes en las temperaturas de gelatinización de almidones de maíz (Flores-Silva et al., 2017), arroz (Yang et al., 2019) y quinoa (Zhu & Li, 2019).

No se encontraron diferencias significativas en la entalpía de disociación del complejo amilosa-lípido ($\Delta H_{gel-am-lip}$) de las harinas estudiadas, así como de las temperaturas de dicho complejo. El hecho de que no se hayan encontrado diferencias significativas de

$\Delta H_{\text{gel-am-lip}}$ entre las harinas tratadas y nativas parece indicar que las condiciones a las que se realizaron los tratamientos no generaron daño a las cadenas de amilosa.

Para estudiar la retrogradación de la amilopectina en las harinas se realizó un segundo barrido después de mantener las muestras gelatinizadas almacenadas en su respectiva cápsula del DSC durante 7 días a una temperatura de 4°C. En este barrido se determinaron nuevamente 2 picos, el primero correspondiente a la fusión de la amilopectina retrogradada, y el segundo correspondiente a la disociación del complejo amilosa-lípido.

La entalpía de retrogradación (ΔH_{ret}) fue significativamente menor después de los tratamientos con ultrasonidos en el caso de las harinas de teff blanco y quinoa, mientras que en el caso del teff rojo, arroz y maíz, no se determinaron diferencias significativas. Zhu & Li (2019) en el estudio de tratamientos con ultrasonidos a una frecuencia de 20kHz sobre harina de quinoa indicaron una reducción de ΔH_{ret} después del tratamiento, en línea con lo determinado en los resultados. Las temperaturas en las que sucede la fusión de la amilopectina retrogradada ($T_{\text{O-ret}}$, $T_{\text{P-ret}}$ y $T_{\text{E-ret}}$) no mostraron ser significativamente diferentes después de ser tratadas con ultrasonidos. Los valores obtenidos de entalpía y temperaturas de disociación del complejo amilosa lípido indicaron diferencias muy leves entre las harinas tratadas y nativas, siendo mayoritariamente no significativas. La entalpía de disociación del complejo amilosa lípido determinada en el segundo barrido ($\Delta H_{\text{ret-am-lip}}$) fue superior que la obtenida en el primer barrido ($\Delta H_{\text{gel-am-lip}}$) para todas las muestras estudiadas, tanto nativas como tratadas. Eliasson (1994) indicó que el incremento del valor obtenido durante el segundo barrido se debe probablemente a mejores condiciones para la formación del complejo después del primer calentamiento, debido a la liberación de amilosa del interior de los gránulos de almidón, que ocurre a temperaturas superiores a las temperaturas del rango de gelatinización.

5. CONCLUSIONES

Se han observado cambios en las harinas sin gluten estudiadas debido a la aplicación del tratamiento de ultrasonidos, así como diferencias en función del método de eliminación del agua utilizado. Los US provocaron un daño en las partículas de la harina aumentando la proporción de partículas de pequeño tamaño. El color de las harinas tratadas resultó más claro y menos vivo que el de las harinas nativas correspondientes. Los cambios observados en las propiedades funcionales y de empastado de las harinas tratadas fueron significativos y denotan que los US provocaron alteraciones en la organización interna de los gránulos de almidón. Se observó un aumento de la

capacidad de absorción de agua y en el poder de hinchamiento, y una reducción significativa de la capacidad de retención de agua, solubilidad, capacidad emulsionante y capacidad de espumación. Las harinas tratadas y liofilizadas presentaron menores curvas de empastado con viscosidades de pico, de valle y final menores que las harinas nativas. Sin embargo, en las muestras tratadas y centrifugadas el resultado fue opuesto, mostrando viscosidades mayores que las nativas, a excepción de la harina de arroz, que como en muchos otros parámetros, siguió un comportamiento diferente. Las sustancias solubles eliminadas con la centrifugación de las suspensiones de harinas tratadas demostraron tener un efecto significativo sobre las propiedades tecnofuncionales y reológicas de las harinas resultantes. En concreto, la pérdida de proteínas solubles explicaría la importante reducción de la capacidad de espumación y de emulsión de las harinas centrifugadas, así como el índice de solubilidad en agua.

La temperatura de gelatinización del almidón aumentó con el tratamiento de US, no viéndose afectada por el método de secado, La harina liofilizada reportó valores de mayor consistencia (τ_{max}), aspecto positivo que se busca en las harinas sin gluten, pero no ocurrió lo mismo en la harina centrifugada. El tratamiento aplicado no afectó a la entalpía de gelatinización, pero si se detectaron aumentos en la entalpía de retrogradación de las harinas tratadas. Puede concluirse que el tratamiento de US y los métodos de secado utilizados afectaron en diferente medida en función del origen botánico de la harina y de su naturaleza.

Queda pendiente la medida del impacto que estos tratamientos ejercen sobre las estructuras moleculares de los biopolímeros principales, almidón y proteína, de estas harinas para explicar el efecto que tienen sobre las propiedades medidas en este trabajo.

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) y de los proyectos de la Junta de Castilla y León/FEDER (Ref: VA195P20 y VA165G18).

BIBLIOGRAFÍA

- AACC. (2017). AACC International methods, 76-21.02. General Pasting Method for Wheat or Rye Flour or Starch Using the Rapid Visco Analyser. AACC International Approved Methods, (11th Edition).
- Abebe, W., Collar, C., & Ronda, F. (2015). Impact of variety type and particle size distribution on

- starch enzymatic hydrolysis and functional properties of tef flours. *Carbohydrate Polymers*, 115, 260–268.
- 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.
- Ashokkumar, M. (2015). Applications of ultrasound in food and bioprocessing. *Ultrasonics Sonochemistry*, 25(1), 17–23.
- Bashir, S., Yaseen, M., Sharma, V., Purohit, S. R., Barak, S., & Mudgil, D. (2020). Rheological and textural properties of gluten free cookies based on pearl millet and flaxseed. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 10(5), 6565–6576.
- Carmona-García, R., Bello-Pérez, L. A., Aguirre-Cruz, A., Aparicio-Saguilán, A., Hernández-Torres, J., & Alvarez-Ramírez, J. (2016). Effect of ultrasonic treatment on the morphological, physicochemical, functional, and rheological properties of starches with different granule size. *Starch - Stärke*, 68(9–10), 972–979.
- Chemat, F., Zill-E-Huma, & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. In *Ultrasonics Sonochemistry* (Vol. 18, pp. 813–835). Elsevier B.V.
- Cui, R., & Zhu, F. (2020). Effect of ultrasound on structural and physicochemical properties of sweetpotato and wheat flours. *Ultrasonics Sonochemistry*, 66, 105118.
- Eliasson, A. C. (1994). Interactions between starch and lipids studied by DSC. *Thermochimica Acta*, 246(2), 343–356.
- Estévez, V., & Araya, M. (2016, December 1). Gluten-free diet and gluten-free foods. *Revista Chilena de Nutricion*. Sociedad Chilena de Nutricion Bromatologia y Toxicologica.
- Flores-Silva, P., Roldan-Cruz, C., Chavez-Esquivel, G., Vernon-Carter, E. J., Bello-Pérez, L. A., & Alvarez-Ramírez, J. (2017). In vitro digestibility of ultrasound-treated corn starch, 1700040, 1–9.
- Hamaker BR (1994) The influence of rice protein on rice quality. In: Marshall WE, Wadsworth JI (eds) *Rice science and technology*, Marcel Dekker, New York, New York, pp 177–194
- Herceg, I. L., Jambrak, A. R., Šubarić, D., Brnčić, M., Brnčić, S. R., Badanjak, M., ... Herceg, Z. (2010). Texture and pasting properties of ultrasonically treated corn starch. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(2), 83–93.
- Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E. C. Y., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., ... Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 647–655.
- Huang, Q., Li, L., & Fu, X. (2007). Ultrasound Effects on the Structure and Chemical Reactivity of Cornstarch Granules. *Starch - Stärke*, 59(8), 371–378.
- Jambrak, A. R., Herceg, Z., Šubarić, D., Babić, J., Brnčić, M., Brnčić, S. R., ... Gelo, J. (2010). Ultrasound effect on physical properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 79(1), 91–100.
- 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. *Journal of Food Engineering*, 86(2), 281–287.
- 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.
- Khalid, E. K., Babiker, E. E., & EL Tinay, A. H. (2003). Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry*, 82(3), 361–366.
- Köhn, C. R., Almeida, Schmidt, M. M., Vidal, A. R., Kempka, Demiate, I. M., ... Prestes, R. C. (2016). Evaluation of water absorption capacity of ingredients and additives used in the meat industry submitted to different saline concentrations and ultrasound. *International Food Research Journal* (Vol. 23).
- 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/Staerke*, 60(11), 646–653.
- Meaño Correa, N., Teresa Ciarfella Pérez, aNa, & Marina Dorta Villegas, Ana. (2014). Evaluación de las propiedades químicas y funcionales del almidón nativo de ñame congo

- (*Dioscorea bulbifera* L.) para predecir sus posibles usos tecnológicos. *Saber*, Universidad de Oriente 26, 182–187.
- Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M. A., Churruca, I., & Simon, E. (2014). Nutritional Differences Between a Gluten-free Diet and a Diet Containing Equivalent Products with Gluten. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(2), 182–187.
- Patist, A., & Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(2), 147–154.
- Rodriguez-Gonzalez, O., Buckow, R., Koutchma, T., & Balasubramaniam, V. M. (2015). Energy Requirements for Alternative Food Processing Technologies-Principles, Assumptions, and Evaluation of Efficiency. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 536–554.
- Ronda, F., Pérez-Quirce, S., & Villanueva, M. (2017). Rheological Properties of Gluten-Free Bread Doughs: Relationship With Bread Quality. In *Advances in Food Rheology and Its Applications* (pp. 297–334). Elsevier Inc.
- Rosell, C. M., Barro, F., Sousa, C., & Mena, M. C. (2014). Cereals for developing gluten-free products and analytical tools for gluten detection. *Journal of Cereal Science*. Academic Press.
- Shewry, P. R., & Tatham, A. S. (2016). Improving wheat to remove coeliac epitopes but retain functionality. *Journal of Cereal Science*, 67, 12–21.
- Soria, A. C., & Villamiel, M. (2010, July 1). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier.
- Sujka, M., & Jamroz, J. (2013). Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 413–419.
- Umeta, Melaku, and Mary L Parker. 1996. Microscopic Studies of the Major Macro-Components of Seeds, Dough and *Injera* from Teff (*Eragrostis Tef*). *Ethiopian Journal of Science*. 19 (1): 141-148.
- Villamiel, M., & De Jong, P. (2000). Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins, and native enzymes of milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 472–478.
- Villanueva, M., Ronda, F., Moschakis, T., Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2018). Impact of acidification and protein fortification on thermal properties of rice, potato and tapioca starches and rheological behaviour of their gels. *Food Hydrocolloids*, 79, 20–29.
- Yang, W., Kong, X., Zheng, Y., Sun, W., Chen, S., Liu, D., ... Ye, X. (2019). Controlled ultrasound treatments modify the morphology and physical properties of rice starch rather than the fine structure. *Ultrasonics Sonochemistry*, 59, 104709.
- Yu, S., Ma, Y., Menager, L., & Sun, D. W. (2012). Physicochemical Properties of Starch and Flour from Different Rice Cultivars. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 626–637.
- Yu, S., Zhang, Y., Ge, Y., Zhang, Y., Sun, T., Jiao, Y., & Zheng, X. Q. (2013). Effects of ultrasound processing on the thermal and retrogradation properties of nonwaxy rice starch. *Journal of Food Process Engineering*, 36(6), 793–802.
- Zhang, Z., Feng, H., Niu, Y., & Eckhoff, S. R. (2005). Starch Recovery from Degermed Corn Flour and Hominy Feed Using Power Ultrasound, 82(4), 447.
- 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.
- Zhu, F. (2015, May 1). Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd.
- Zhu, F., & Li, H. (2019). Modification of quinoa flour functionality using ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 52, 305–310.
- Zuo, J. Y., Knoerzer, K., Mawson, R., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2009). The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(4), 462–468.



ESTUDIO DE LA MEJORA TECNOLÓGICA DE HARINAS SIN GLUTEN MEDIANTE TRATAMIENTO DE ULTRASONIDOS

ANEXOS

Alumno: Oscar Fernández Oraá
Tutor: Felicidad Ronda Balbás, Antonio Vela Corona

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

ANEXO I

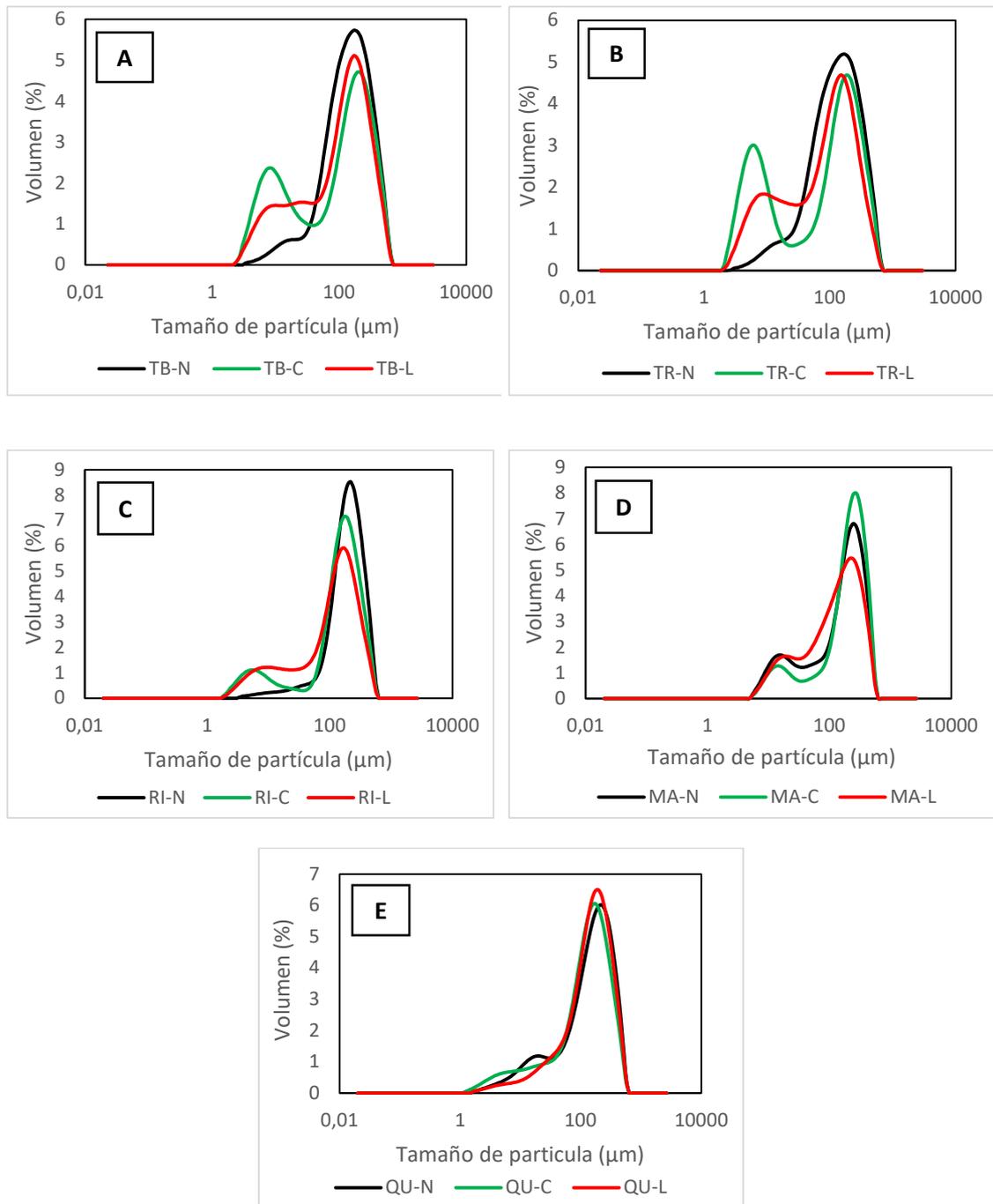


Figura 1. Gráfico de la distribución de los tamaños de partícula de las harinas de (A) teff blanco, (B) teff rojo, (C) arroz, (D) maíz y (E) quinoa.

ANEXO II

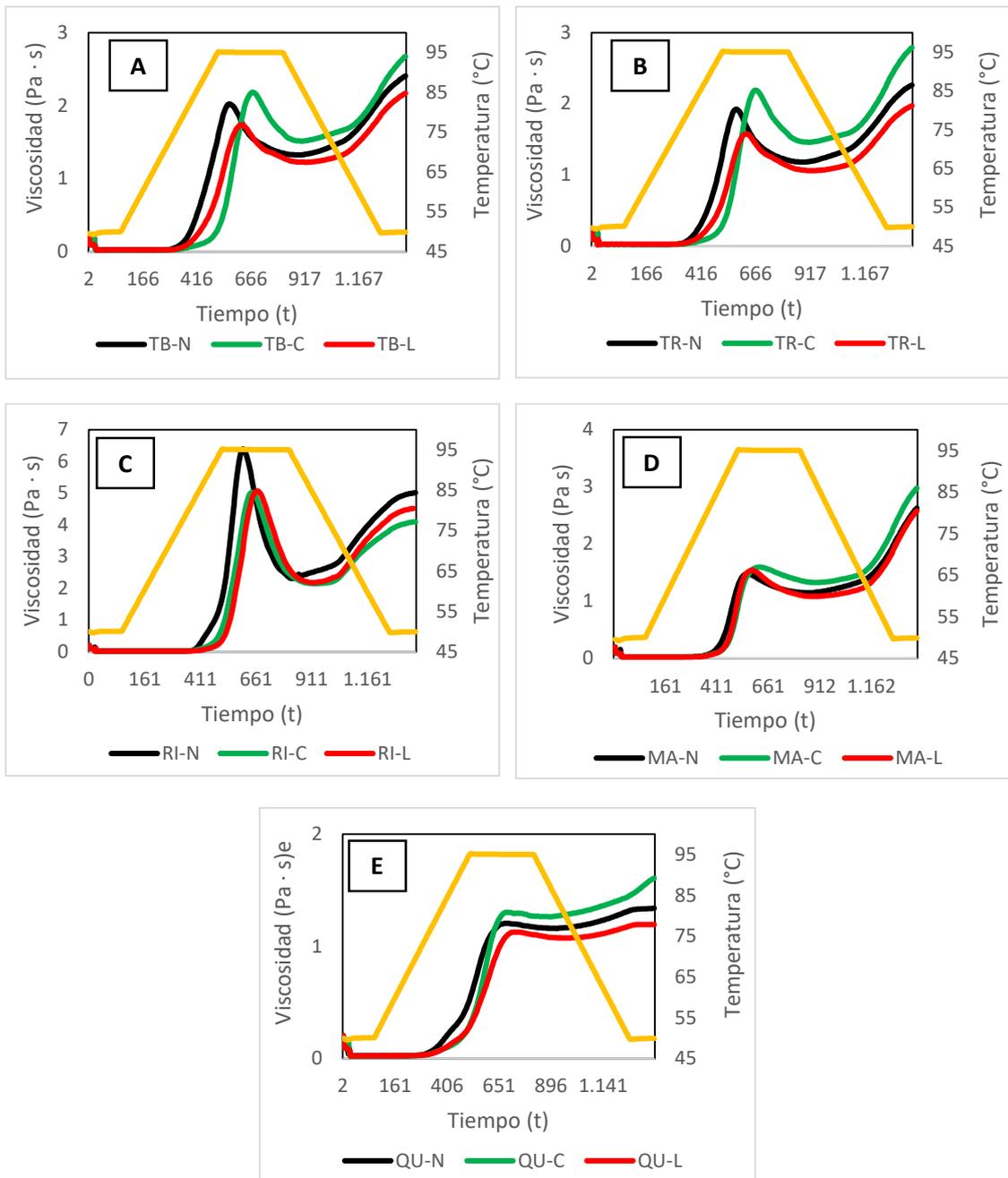


Figura 2. Gráfico de los perfiles viscométricos de las harinas de (A) teff blanco, (B) teff rojo, (C) arroz, (D) maíz y (E) quinoa.

ANEXO III

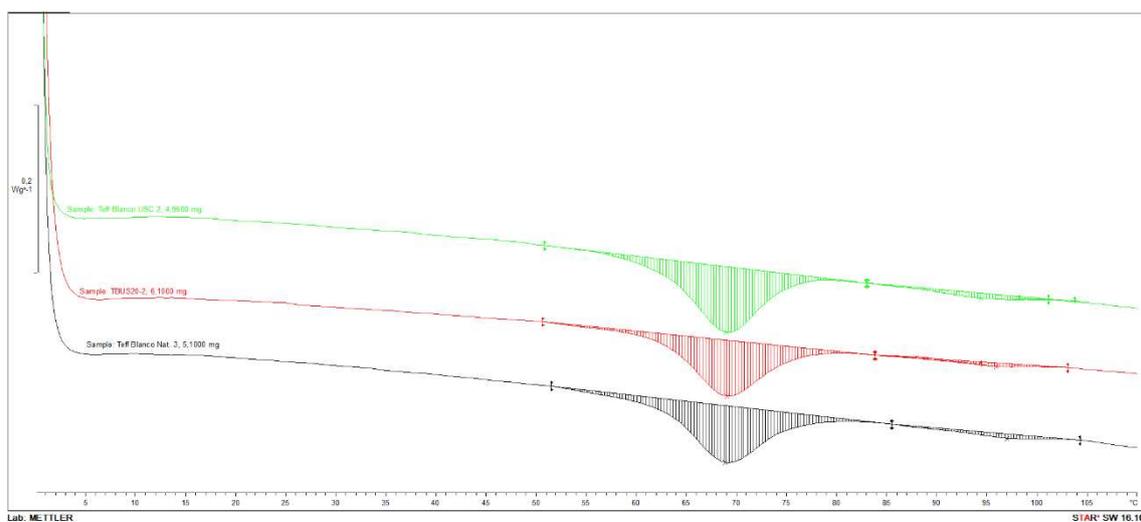


Figura 3. Barrido de gelatinización de las harinas de TW-N (negro), TW-C (verde) y TW-L (rojo).

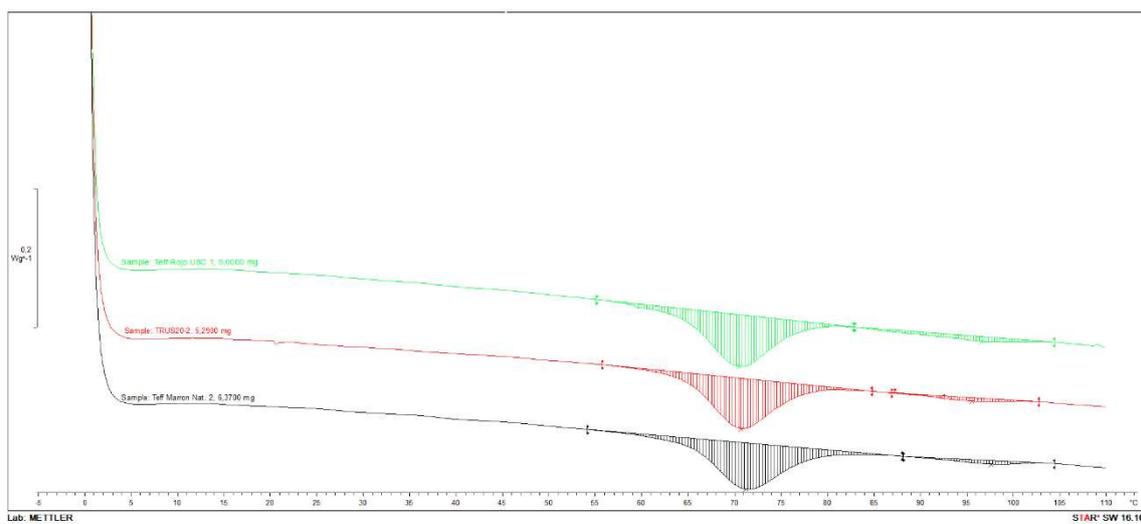


Figura 4. Barrido de gelatinización de las harinas de TR-N (negro), TR-C (verde) y TR-L (rojo).

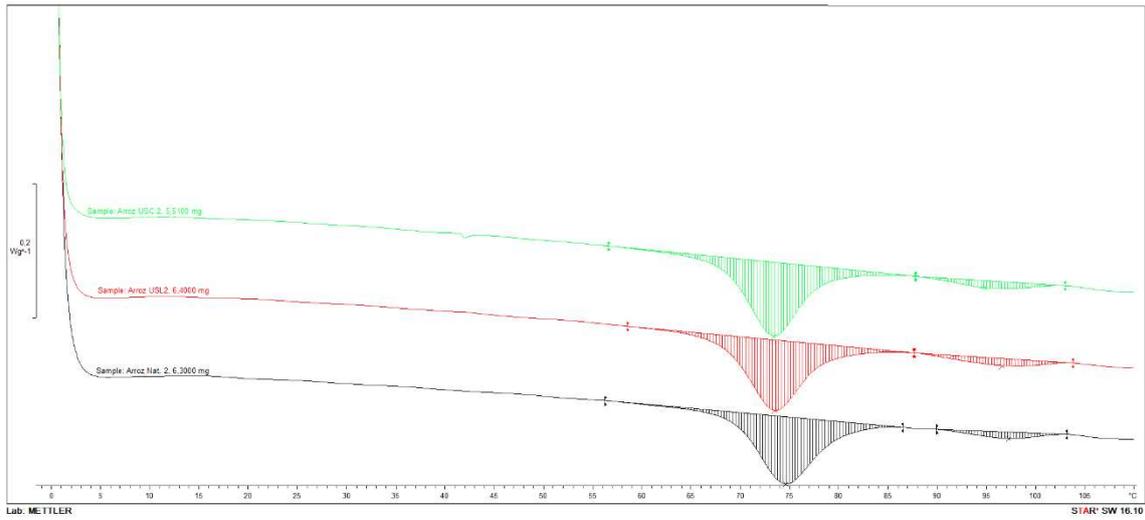


Figura 5. Barrido de gelatinización de las harinas de RI-N (negro), RI-C (verde) y RI-L (rojo).

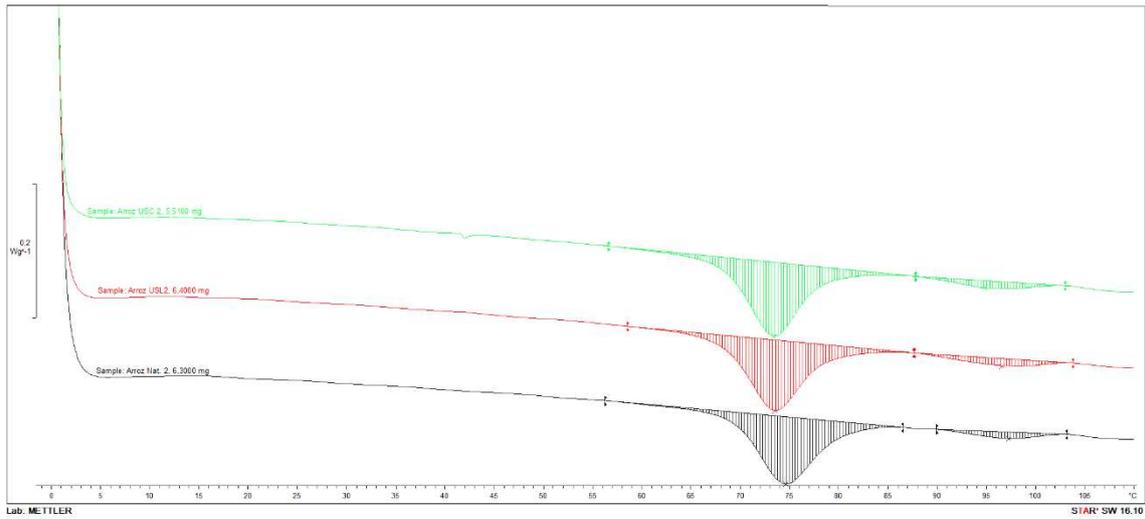


Figura 6. Barrido de gelatinización de las harinas de MA-N (negro), MA-C (verde) y MA-L (rojo).

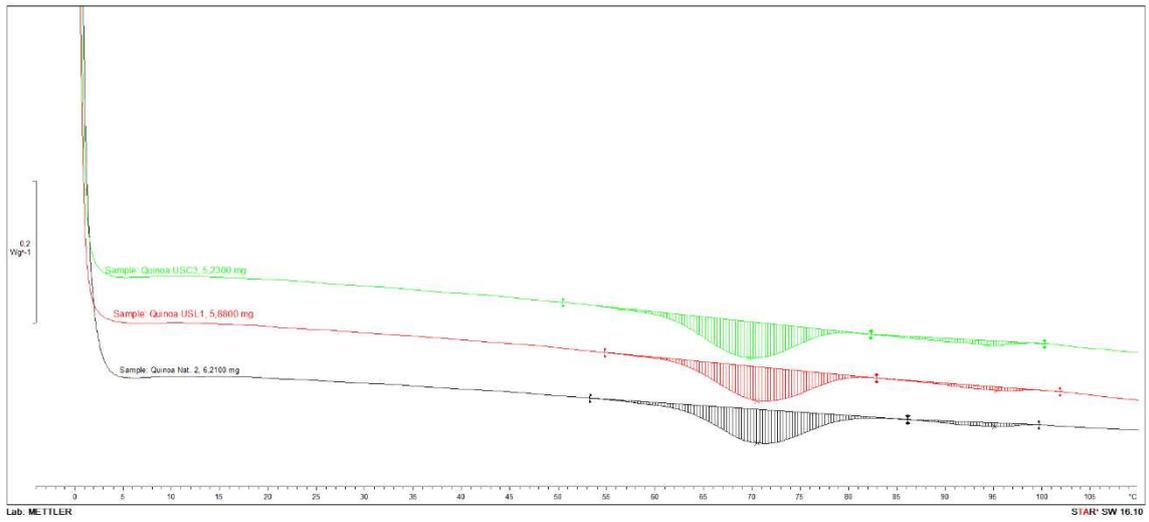


Figura 7. Barrido de gelatinización de las harinas de QU-N (negro), QU-C (verde) y QU-L (rojo).