



Universidad de Valladolid
Campus de Palencia

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍAS
AGRARIAS**

Máster en Calidad, Desarrollo e Innovación de los Alimentos

Estabilización lipídica de harinas de tef
mediante tratamientos térmicos con
microondas

Alumno: Manuel Martínez Ruiz

Tutor/a: Felicidad Ronda Balbás

Cotutor/a: Grazielle Nathia Neves

Cotutor/a: Wornkineh Abebe Zeleke

Junio de 2022

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. TEF	3
1.2. Estabilización lipídica de harinas.....	4
1.3. Uso de microondas para la modificación física de las harinas	5
2. OBJETIVOS.....	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1. Materiales	8
3.2. Métodos	8
3.2.1. Molturado de la harina	8
3.2.2. Obtención de las muestras de harina	8
3.2.3. Contenido lipídico de la harina	10
3.2.4. Efecto del tratamiento microondas sobre la actividad lipásica	10
3.2.5. Efecto del tratamiento sobre el contenido en ácidos grasos libres	12
3.2.6. Efecto del tratamiento microondas sobre las propiedades de empastado.	13
3.2.7. Análisis estadístico	13
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1. Contenido lipídico de la harina	14
4.2. Efecto del tratamiento microondas sobre la actividad lipásica	14
4.3. Efecto del tratamiento microondas sobre el contenido en ácidos grasos libres	18
4.4. Efecto del tratamiento microondas sobre las propiedades de empastado....	20
CONCLUSIONES.....	25
AGRADECIMIENTOS	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27

RESUMEN

En este estudio se planteó el uso de tratamientos con radiación microondas para la reducción de la actividad lipásica en harina de tef (*Eragrostis tef*), un cereal sin gluten con alto contenido en fibra y minerales. Se eligió el tratamiento microondas como una tecnología térmica rápida y eficiente alternativa a tratamientos térmicos convencionales y mixtos. Se trataron harinas de tef a varias humedades iniciales (12%, 15%, 20% y 25%) y con diferentes tiempos de tratamiento (1 min, 2 min, 4 min y 6 min). Los resultados obtenidos arrojaron una influencia significativa de la humedad inicial de la harina tratada y el tiempo de tratamiento, así como la interacción de ambos factores respecto a la tasa de inactivación enzimática a partir de los cuales se obtuvo la ecuación cinética que regula el grado de inactivación lipásica con la que se puede predecir dicha inactivación en función de ambos factores. La actividad lipásica se redujo hasta alcanzar un 10% del valor inicial en las muestras con mayor humedad bajo mayor tiempo de tratamiento. Se llevó a cabo la determinación del contenido en materia grasa de la muestra inicial, con el fin de conocer la importancia de la inactivación lipásica. Igualmente se estudió el efecto del tratamiento sobre el contenido de ácidos grasos (AG) libres, en función de los factores tiempo de tratamiento y humedad inicial. Se observó una reducción de hasta un 20% tras el tratamiento más breve. Dicha concentración aumentó con el tiempo del tratamiento, manteniéndose no obstante en valores inferiores a los presentados por la harina nativa. Las propiedades de empastado también se vieron afectadas, percibiéndose variaciones en relación con las dos variables estudiadas. Se obtuvieron incrementos de hasta 4 °C en la temperatura de empastado, reducciones en la viscosidad de pico (hasta un 15%), desaparición de la viscosidad de caída y aumento de la viscosidad final (hasta un 20%). En base a estos resultados fue posible concluir que el tratamiento con radiación microondas de harina de tef es un método eficaz para lograr una alta tasa de inactivación lipásica, que a su vez produce reducción de AG libres, a la par que modifica las propiedades de empastado de las harinas obtenidas.

Palabras clave: Tratamiento microondas, harina de tef, actividad lipásica, lipasa, ácidos grasos libres, propiedades de empastado.

ABSTRACT

In this essay treatments on microwave radiation to decrease lipase activity on teff (*Eragrostis tef*) flour are studied. Teff is a gluten free cereal with a high percentage of fibre and minerals. Microwave treatments are used as a quick and efficient thermic technology because they are an efficient alternative to current thermic treatments. Different teff flours were treated at diverse starting humidities (12%, 15%, 20% and 25%) and on varied times (1, 2, 4 and 6 minutes). The results that we obtained showed a significant connection between both initial humidity and treatment times and also on the interaction of both items referring to the enzymatic inactivation. These two aspects were the basic facts to produce the kinetic equation that regulates the degree of lipase inactivation with which that inactivation can be predicted on both premises. Lipase activity was reduced to a 10% of the starting value of the samples with a higher humidity on less treatment time. The level of fat in the starting sample was measured to know the importance of lipase inactivation. At the same time, we studied the effects of the treatment on free fatty acid contents on time treatment and starting humidity premises. A decrease of 20% of free fatty acids after the shorter treatment was observed. This decrease started growing within the treatment time, keeping nevertheless lower values to those showed with the native flour. The pasting properties were also affected, detecting variations on relation with both studied issues. We obtained increases of 4°C on the pasting temperature, lowering of peak viscosity (to a 15%), fading of trough viscosity and increase of final viscosity (to a 20%). All these results throw light to think that the teff microwave radiation treatment is an efficient method to achieve a high level of lipase inactivation which produces on its own the reduction of free fatty acids and also modifies the pasting of the obtained flours

Key words: microwave treatment, teff flour, lipase activity, free fatty acids, pasting properties

1. INTRODUCCIÓN

La demanda de productos sin gluten ha presentado un claro aumento en los últimos años debido al incremento del diagnóstico de las enfermedades relacionadas con reacciones adversas a la ingesta de alimentos con dichas proteínas, tales como sensibilidad, alergia, o enfermedad celíaca. Hoy en día el manejo de dichas enfermedades se realiza suprimiendo la exposición a dichas proteínas, siendo las dietas sin gluten la solución a seguir. Igualmente hay una tendencia por parte de la población cuyo organismo tolera adecuadamente el gluten, a seguir dietas sin gluten, consideradas por dicho segmento de la población más saludables al eliminar alérgenos (Arranz et al., 2015; Tovoli et al., 2015; Valenti et al., 2017).

Las proteínas que generan los diferentes cuadros de respuesta inmunitaria inadecuada, popularmente conocidas como gluten, se encuentran presentes de forma natural en el trigo, centeno y cebada, así como en la avena, fruto de la contaminación con prolaminas de otros cereales (Fric et al., 2011). Es por este hecho por lo que se deben buscar materias primas alternativas que sustituyan a los cereales de consumo tradicional en Europa.

La complejidad de la sustitución de harina de trigo por otras harinas sin gluten se debe a que es el propio gluten el que presenta unas propiedades tecnofuncionales deseables en los productos desarrollados con dichas harinas. El otro gran problema de las dietas libres de gluten radica en la peor calidad nutricional de los productos sin gluten, así como peores características sensoriales. (Hallert et al., 2002; Miranda et al., 2014).

Por estos motivos los estudios sobre materias primas alternativas, como los pseudocereales, o en el caso del tef, cereales sin gluten con elevado valor nutricional, y su inclusión en los productos libres de gluten, pueden posicionarse como un pilar fundamental para los productos desarrollados con el objetivo de prescindir del gluten (Khoury et al., 2018).

1.1. TEF

El tef, o teff, es un cereal (pertenece a la familia Poaceae) sin gluten, perteneciente a la subfamilia Chloridoideae. Su origen está en Etiopía y Eritrea, donde es empleado para la producción de comidas y bebidas tradicionales tales como *injera*, *kitta* y *tella*. Se trata de un cultivo anual, resistente a las condiciones climatológicas duras y fácilmente adaptable a un amplio abanico de climas, tanto áridos como monzónicos.

Al igual que el sorgo y el maíz su primer producto fotosintético contiene 4 carbonos (C4), lo que se traduce en una alta eficiencia de la utilización del dióxido de carbono durante el proceso de la fotosíntesis (Zhu, 2018). En los últimos años el tef ha ganado popularidad en diferentes regiones geográficas logrando la adaptación de su cultivo a zonas como Estados Unidos, India y Australia (Gebremariam et al., 2014).

La inclusión de tef en productos sin gluten toma importancia debido a las características nutricionales de este. El tef presenta un contenido en almidón y proteína cruda similar al trigo, pero con un perfil aminoacídico ligeramente diferente, casi el doble de lisina que el trigo, similar al del arroz, y un contenido en triptófano superior al del trigo y el arroz (aminoácidos deficientes en cereales). El contenido lipídico es inferior en comparación con el trigo presentando concentraciones similares a las del arroz, mientras que la concentración en fibra y minerales es casi dos veces superior, destacando una alta concentración en calcio, cobre, hierro, manganeso, fósforo y zinc (Bultosa, 2007; Ketema, 1997; Obilana, 2003).

Desde el punto de vista tecnofuncional, el tef también aporta una serie de características interesantes en el mundo de la panificación, Villanueva et al. (2021) observaron que la elaboración de un pan sin gluten era posible a partir de almidón de maíz y harina de tef entre el 75% y el 50%, obteniendo un producto con un desarrollo volumétrico adecuado y una estructura de miga regular, superando la calidad estándar del pan comercial sin gluten. Otros estudios demuestran también mejoras en panificación tales como el incremento del volumen de la masa madre, así como el incremento de la porosidad de la miga y la vida útil del mismo (Wolter et al., 2014), y la mejora del aspecto final del producto obtenido (Campo et al., 2016). De igual forma también se han obtenido interesantes resultados en diferentes productos sin gluten, tales como galletas dulces con un 25% de harina de tef, observándose mejoras en el sabor, flavor y en las propiedades texturales finales además de durante su procesado (Inglett et al., 2016; Kenney et al., 2014). En magdalenas, en combinación a partes iguales de harina de tef y arroz se han obtenido llamativas mejoras organolépticas y nutricionales (Assefa et al., 2011). En el caso de la pasta a partir de harina de tef, se han observado mejoras en la textura (Hager et al., 2012).

1.2. Estabilización lipídica de harinas

Todos los cereales y pseudocereales tienen presente de forma natural entre sus macronutrientes una porción lipídica. Dicha porción es susceptible a la hidrólisis dando como producto la formación de AG libres y lo que se conoce comúnmente como

enranciamiento por hidrólisis (García et al., 2014). El proceso de hidrólisis de grasas está catalizado por enzimas lipolíticas presentes en el propio grano del cereal, dando lugar a un proceso que depende, como en todas las reacciones, del tiempo y la temperatura. En el caso de la lipólisis también influye la humedad y la presencia de enzimas lipásicas. La concentración de AG libres determina la acidez de dicho aceite, siendo un factor tan importante que en la actualidad la clasificación del aceite de oliva se evalúa en función de dicha acidez, la cual va en aumento a lo largo de la vida del producto, limitando de esta forma su vida útil (García et al., 2014). Esta reacción también cobra importancia durante el procesado del producto debido a que, por ejemplo, durante la fermentación del pan se eleva la temperatura de la masa a unos rangos óptimos para que se produzca dicha reacción microbiana. Sin embargo, al mismo tiempo, se está sometiendo a la harina a unas condiciones óptimas para que se produzca la hidrólisis de los aceites y grasas.

Para evitar que se produzca la hidrólisis de los aceites naturales de las harinas, tanto durante su almacenado como durante su procesado para la elaboración de productos, se puede recurrir a la estabilización lipídica de los ingredientes, la cual consiste en que, mediante diversas técnicas por separado, o combinadas entre sí, se persigue la inactivación enzimática de aquellas involucradas en la hidrólisis de grasas. Dicho proceso cobra especial importancia cuanto mayor es la cantidad de sustrato susceptible para sufrir la hidrólisis, con lo que aquellas harinas que se consumen en su forma integral, incluyendo el germen, y por tanto con un mayor contenido lipídico, como en el caso del tef, da lugar a un producto en el que es interesante valorar la estabilización lipídica a fin de lograr un producto de mejores características tras su procesado, a la par que alargar la vida útil del mismo (Stephany et al., 2016).

1.3. Uso de microondas para la modificación física de las harinas

Para lograr la inactivación enzimática se puede recurrir a diversos tratamientos, algunos ya conocidos en la antigüedad, tales como el escaldado, la pasterización o la esterilización. Sin embargo, este tipo de tratamientos son poco selectivos, logrando no solo la inactivación enzimática, si no que se produce de forma colateral la pérdida de funcionalidad de proteínas y de propiedades nutricionales debido a la pérdida de vitaminas y nutrientes (Stephany et al., 2016). Un método que se ha estudiado para conseguir la inactivación lipásica en otro tipo de harinas es mediante la aplicación de radiación microondas (Adebowale et al., 2020; Kermasha et al., 1993), el cual consiste en el calentamiento del objetivo mediante la creación de un campo magnético de energía

alterna que afecta a las moléculas polares, produciendo cambios en su orientación espacial al perseguir un campo magnético oscilante, ocasionando fricción y dando lugar a choques entre las moléculas que dispersan la energía cinética en forma de energía térmica (Ramaswamy, 2008).

Otro de los efectos causados por la radiación microondas es la modificación de las propiedades físicas de las harinas permitiendo adecuarlas a distintos usos y otorgándoles diferentes propiedades funcionales (Román et al., 2015). Otras tecnologías empleadas para la modificación de propiedades físicas y químicas en la actualidad son las altas presiones hidrostáticas y los ultrasonidos. No obstante, el empleo de radiación microondas es una alternativa superior respecto a las otras ya que precisa de menor tiempo de arranque, proporcionan un calentamiento rápido y eficiente desde el punto de vista energético, hacen un uso del espacio contenido, facilitan la precisión del proceso e incluso consiguen un tratamiento selectivo (Colman et al., 2014)

Entre los factores que influyen a la hora de llevar a cabo un tratamiento mediante radiación microondas nos encontramos con la potencia, la frecuencia de la radiación dentro del espectro y la duración del tratamiento, tanto desde el punto de vista absoluto, consistente en la suma del tiempo de radiación emitida, como del patrón temporal en el que se ha suministrado dicha radiación, entendido como tiempo de acción microondas (ON) alternado con tiempos de reposo (OFF) (Stevenson et al., 2015). Otro factor que cobra relevancia a la hora de llevar a cabo un tratamiento mediante dicha técnica es el contenido en humedad inicial. Puesto que el agua es de naturaleza polar y por tanto se trata de una fracción de peso en cuanto a concentración y por ende es vehículo de transformación de la energía magnética recibida en energía térmica, a la par que mantiene en disolución una gran cantidad de solutos polares que también serán diana de dicha radiación (Olayinka et al., 2008)).

Los esfuerzos científicos enfocados al estudio de la aplicación de la radiación microondas sobre la modificación física de las harinas hasta la fecha son escasos y realizados en su gran mayoría sobre el trigo, no habiéndose realizado en la actualidad ninguno sobre la harina de tef. Por tanto, el estudio del efecto en la modificación de las propiedades físicas de la harina de tef, así como en la inactivación de la actividad lipásica y su efecto sobre el contenido en ácidos grasos, resulta novedoso. De igual forma el estudio de las variables de humedad inicial en la harina y el tiempo de tratamiento con radiación microondas y su efecto en los resultados finales supone una innovación.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es evaluar la eficacia de los tratamientos por radiación microondas aplicados sobre harina de tef para conseguir la estabilización lipídica mediante la inactivación de las enzimas lipásicas.

Este objetivo principal se puede dividir en los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar la influencia del tiempo de tratamiento de microondas y la humedad inicial de la harina sobre la inactivación enzimática mediante la obtención de la ecuación cinética que regula el grado de inactivación lipásica en función de ambos factores.
- Evaluar los efectos colaterales ocasionados por el tratamiento sobre el contenido en ácidos grasos en la harina de tef.
- Evaluar el impacto de los distintos tratamientos en la modificación de las propiedades de empastado de las harinas resultantes.

Para lograr estos objetivos se molturó la harina de tef y se sometió a diversos tratamientos microondas variando su duración y modificando la humedad inicial de la harina. De forma posterior al tratamiento se llevó a cabo un tamizado de las harinas y se procedió al análisis de las muestras resultantes a fin de evaluar la actividad lipásica, el contenido en ácidos grasos libres y las propiedades de empastado.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

El presente experimento ha sido llevado a cabo mediante el empleo de harina de tef a partir de grano de tef marrón entero (Salutef, Palencia, España), proveniente de cultivo ecológico (certificado ES-ECO-016-CL) (lote L0HTBSG04 DIC-19), cuya composición declarada es, sobre 100 g, 2,1 g de grasa (0,7 g saturadas) 64,4 g de hidratos de carbono (0 g de azúcares), 8,0 g de fibra, 13,3 g de proteína y un valor energético de 1.399 KJ (330 kcal).

Para los ensayos se utilizó agua destilada obtenida con el equipo Milli RO de Millipore, (Madrid, España)

Para los ensayos de actividad lipásica se utilizó y aceite de oliva a partir de aceites de oliva refinados y vírgenes, marca Hacendado, envasado por Mercaoleo, S.L. (Antequera, Málaga, España) (lote L020742 R2053D).

Los reactivos empleados fueron de calidad mínima “para análisis”. Concretamente para la medida de activación lipásica se empleó n-Hexano (C_6H_{14}) 95% (grado HPLC), tanto para el desgrasado de las muestras como para la extracción del sustrato tras la incubación, iso-octano (C_8H_{18}) grado analítico ambos de la marca comercial labkem (Premia de Dalt, Barcelona, España) y una solución de acetato de cobre (II) ($Cu(CH_3COO)_2$) al 5% y piridina (C_5H_5N) al 3% realizada con acetato cúprico y piridina para análisis, ambos con un grado de pureza superior al 99% de la marca comercial Acrós organics (Benton Harbor, Michigan, Estados Unidos).

3.2. Métodos

3.2.1. Molturado de la harina

El molturado del grano fue realizado en un molino de laboratorio (Perten 120, Finlandia) equipado con un tamiz de apertura 500 μ m.

3.2.2. Obtención de las muestras de harina

Determinación de la humedad

El método para determinar la humedad ha sido el método oficial AACC 44-19 (AACC,

2010a). Para ello se procedió al pesado en balanza de precisión Cobos precisión AX-200 (Barcelona, España) de 2g de harina por duplicado en cápsulas de metal atemperadas previamente en un desecador, las cuales se introdujeron durante 1h en una estufa de convección Binder (Binder GmbH, Tuttlingen, Alemania) a 130 °C. Después se dejaron atemperar en el desecador durante 45 min y se pesaron de nuevo para calcular la humedad.

Preparación y acondicionamiento de la harina

Para cuantificar el efecto del factor humedad en los tratamientos microondas sobre la actividad lipásica, se procedió a la preparación de muestras de harina con humedades de 12% (humedad original de la harina nativa), 15%, 20% y 25%. Para conseguir dichas humedades se procedió a la adición de agua necesaria para conseguir la humedad deseada. Tras incorporar la masa de agua calculada la harina se dejó reposar durante 24 h a 4°C en envase hermético, tras lo cual se sometió a análisis mediante el mismo método empleado para la determinación de la humedad nativa con el fin de conocer si la humedad alcanzada era la deseada.

Una vez que se confirmó la humedad de la harina, se procedió al envasado hermético de las muestras en porciones de 80 g y a su almacenamiento en cámara a -40 °C.

Tratamiento microondas

El tratamiento microondas fue realizado sobre muestras de 75 g de harina, depositados en botes de politetrafluoroetileno (teflón) de 1 l, con cierre hermético, colocado de forma horizontal para evitar su adherencia al fondo del mismo.

El tratamiento fue realizado en un microondas (Sharp R-342(IN)W, Osaka, Japón) con una potencia de 900 W, aplicado en ciclos de 10 s (On) / 50s (Off). Durante el tratamiento fueron sometidas a rotación longitudinal continua de 60-70 rpm, con el fin de que se repartiese la radiación de forma homogénea. La temperatura de cada tratamiento fue medida con tiras de temperatura Testoterm ® (Testo, Barcelona, España), las cuales fueron colocadas dentro del envase en contacto permanente con la muestra de harina.

Una vez terminado el tratamiento, las muestras se dejaron enfriar durante 30 min y se secaron en estufa a 35°C. Los posibles aglomerados de harina formados durante el tratamiento fueron disgregados manualmente y tamizados a 500 µm. Posteriormente las muestras fueron envasadas en botes herméticos donde fueron almacenadas a 4°C para su posterior análisis.

Las muestras fueron tratadas con radiación microondas durante tiempos de 1, 2, 4 y 6

min (tiempo total de encendido del magnetrón). La Tabla 1 recoge los niveles de los factores estudiados (humedad de la harina y tiempo de tratamiento) así como la temperatura alcanzada por las muestras durante el tratamiento.

Tabla 1. Experimentos realizados sobre la harina de tef a distintas humedades y tiempos.

Humedad (%)	Tiempo de tratamiento (min)	Temperatura (°C)
12	1	60
	2	65
	4	93
	6	104
15	1	60
	2	71
	4	93
	6	107
20	1	60
	2	71
	4	99
	6	110
25	1	60
	2	77
	4	104
	6	116

3.2.3. Contenido lipídico de la harina

La cuantificación de contenido lipídico de la harina de tef se realizó empleando un extractor Soxhlet. Para ello se sometieron 3 g de harina a un proceso de extracción con éter durante 7 h. Tras el proceso de extracción se llevó a cabo la evaporación del éter en estufa durante 24 h y se calculó el porcentaje de grasa en función del aumento de peso del matraz aforado.

La cuantificación del porcentaje de lípidos en la harina empleada ha sido realizada por duplicado.

3.2.4. Efecto del tratamiento microondas sobre la actividad lipásica

El método empleado para la determinación de la actividad lipásica ha sido el descrito por Rose y Pike (2006).

En primer lugar se procedió al desgrasado de la harina. Para ello se añadieron 5 ml de hexano a 2 g de harina en tubos Falcón y tras su mezclado en agitador vórtex durante 30 s se mantuvieron en un agitador orbital durante 30 min. A continuación, se procedió a la centrifugación de los tubos durante 5 min a 1.500 xg. Finalmente se desechó el sobrenadante y se repitió el proceso de lavado con hexano otras 2 veces. Todo ello fue realizado por quintuplicado para cada muestra de cada tratamiento.

La eliminación total del hexano de la harina se consiguió por evaporación a temperatura ambiente durante 24h en campana extractora. Para la determinación de la actividad lipásica se procedió a la mezcla de harina desgrasada de las mismas características procedente de diferentes tubos Falcón en un único tubo.

La actividad lipásica en cada muestra se midió de forma indirecta mediante la determinación de AG libres generados por la muestra tras un periodo de incubación con aceite de oliva. El contenido inicial de AG de aceite de oliva era determinado de forma pareja a la medición de cada experimento y restado del resultado final.

El proceso consistió en la incubación de dos muestras de 2 g de harina de tef desgrasada con 0,4 ml de aceite de oliva y 0,2 ml agua destilada, homogeneizadas mediante vórtex durante 30 s e incubadas en un agitador orbital durante 4 h a 40 °C. De forma paralela el mismo proceso se llevó a cabo sobre otras 2 muestras idénticas prescindiendo de la etapa de incubación a fin de determinar el contenido inicial de AG libres del aceite de oliva en las mismas condiciones y proceder a su restado en el resultado final como se observa en la ecuación indicada posteriormente.

La extracción del aceite de oliva de la mezcla con la harina de tef se realizó mediante la adición de 5 ml de hexano en cada muestra, agitando durante 2 min en vórtex y separado las dos fases mediante centrifugación a 1.500 xg, transvasando el sobrenadante con la fracción lipídica en disolución a matraces florentinos. El proceso de extracción de aceite se realizó dos veces sobre cada muestra. Posteriormente se eliminó el hexano mediante un rotavapor durante 2 min y se procedió a la redisolución del aceite en 4 ml de iso-octano. Dicha solución se puso en contacto con 1 ml de disolución de acetato cúprico y piridina en un tubo Falcón, se mezclaron mediante agitación con vórtex durante 1 min y se recurrió a la centrifugación para separar las dos fases.

Finalmente, el iso-octano con la porción lipídica revelada se sometió a análisis espectrofotométrico a 715 nm.

Para calcular la determinación de la actividad lipásica se empleó la fórmula descrita por Rose & Pike (2006):

$$LA = 1000 \frac{(4 + v)(Af - Ai)}{\epsilon t l s}$$

Donde LA es la actividad lipásica (U/g), 1000 el factor de conversión de mol/L a μ equivalentes/ml, 4 el volumen de iso-octano empleado para la redisolución de los líquidos, V son los 0,4 ml de aceite de oliva añadidos como sustrato, Af la absorbancia a 715 nm, Ai la absorbancia del blanco, ϵ la absortividad molar del ácido oleico obtenido en la recta de calibrado, T el tiempo de incubación expresado en h, L la longitud de la cubeta y S el peso de la muestra en gramos.

La absortividad molar del ácido oleico fue determinada mediante la elaboración de una recta de calibrado con disoluciones seriadas de ácido oleico a distintas concentraciones molares.

3.2.5. Efecto del tratamiento sobre el contenido en ácidos grasos libres

Para la determinación de los ácidos grasos se empleó el método rápido para granos pequeños AACC 02-02 (AACC, 2009).

Para extraer la porción lipídica se emplearon 50 ml de tolueno sobre 20 g de harina y se mantuvieron en un agitador orbital durante 30 min a 30 °C. A continuación, se procedió a la centrifugación a 12.000 xg durante 5 min, se transvasó el sobrenadante a tubos falcón y se realizó una segunda centrifugación a 3.500 xg durante 5 min. Se procedió a la recuperación de 20 ml del segundo sobrenadante en un vaso de precipitados al cual se añadió 20 ml de una solución de fenolftaleína en etanol al 0,04%.

La acidez de la mezcla se valoró con una disolución de hidróxido de potasio 0,0356 N, mientras que era sometida a agitación mediante agitador magnético.

El blanco fue realizado mediante la valoración de una mezcla de 20 ml de tolueno y 20 ml de fenolftaleína en etanol 0,04%

Como referencia colorimétrica se llevó a cabo la preparación de dos muestras, una para el blanco, formulada con 2,5 ml de permanganato potásico 0,01% en 50 ml de agua; y otra referencia, como color objetivo, creada mediante la adición de dicromato potásico 0,05% en 50 ml de agua hasta alcanzar el color de la disolución de tolueno y aceite de tef junto con 2,5 ml de permanganato potásico 0,01%.

3.2.6. Efecto del tratamiento microondas sobre las propiedades de empastado.

Las propiedades de empastado de las harinas se determinaron usando un Rapid Visco Analyser (RVA) (Perten 4500, Finlandia) siguiendo el método Standard 2 76-21.01 (AACC,2010b). El análisis, de 23 min de duración aproximadamente, consistió en el calentamiento de la harina de tef y agua (3 g harina, humedad 14% en 25 g totales) hasta los 95 °C, tras una agitación previa durante 4 min, con una rampa de temperatura de 10 °C/minuto y una meseta de 5 min con un enfriamiento posterior en rampa de refrigeración continua hasta los 50 °C en 7,5 min y un periodo de reposo de 2 min.

Los parámetros obtenidos de la realización de este ensayo fueron los siguientes: temperatura de empastado (PT, *pasting temperature*), que es la temperatura a la cual los gránulos de almidón comienzan a hincharse y gelatinizar; viscosidad máxima o de pico (PV, *peak viscosity*), siendo ésta la viscosidad máxima en la etapa de calentamiento, y tiempo de pico (PM, *peak time*) que es el tiempo en que se produce la PV; viscosidad de caída (TR, *trough viscosity*) que es la viscosidad mínima durante la meseta a 95°C; la estabilidad (BR, *breakdown*) que es la diferencia entre la PV y TR; la viscosidad final (FV, *final viscosity*), siendo el valor de la viscosidad de la muestra al final del ciclo aplicado y la retrogradación (SV, o *setback*) que es la diferencia entre FV y TR

3.2.7. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de las pruebas realizadas fueron analizados estadísticamente con el programa Statgraphics Centurion XVIII (StatPoint Technologies Inc, Warrenton, USA).

Todos los datos se han presentado como valores medios y han sido analizados mediante el análisis de varianza paramétrico unidireccional (ANOVA) utilizando el test LSD de Fisher ($p < 0,05$) para detectar diferencias significativas entre las medias con un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

Asimismo, se realizó un análisis de varianza multifactorial para evaluar el efecto de los tratamientos según el tiempo de tratamiento y la humedad.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Contenido lipídico de la harina

A fin de determinar la importancia de la inactivación lipásica se procedió a la cuantificación del contenido total lipídico de la harina resultante, puesto que la importancia de dicha fracción radica en que supone el sustrato de la enzima estudiada. Los resultados obtenidos cifran la concentración en materia grasa en 2,26 % con una desviación estándar de 0,0002.

Dicho resultado varía de forma mínima respecto al 2,1 % anunciado en la etiqueta del producto, a la par que nos indica que el sustrato disponible para las enzimas estudiadas es mucho menor respecto a otros cereales.

El resultado está dentro del rango obtenido por Bultosa (2007), así como por Teben et al. (2018) en su estudio de 13 variedades de tef, en el cual cifra un contenido en grasa entre el 2 y 3% y muy cercano al resultado obtenido por Baretto et al. (2021), quienes cifran el contenido graso en 2%, no obstante se deben de tener en cuenta variabilidades intraespecíficas, así como las originadas por distintos factores geográficos y climatológicos que afectan en las características finales del producto obtenido a partir de un cultivo.

4.2. Efecto del tratamiento microondas sobre la actividad lipásica

La Tabla 2 y Figura 1 muestran los valores de actividad lipásica en función del tiempo de tratamiento de microondas y humedad de la harina durante el tratamiento. Se puede comprobar que el tratamiento tuvo un efecto significativo sobre la actividad lipásica, incluso a los tiempos más cortos aplicados, excepto en la harina con humedad nativa a tratamiento 1 min, donde no se obtuvieron diferencias significativas respecto a la harina control. Esto último podría deberse a que el tiempo corto, sumado con la ausencia de una concentración de agua superior al resto de muestras, no ha permitido que la harina alcance una temperatura apreciable para que la cinética de inactivación fuese suficientemente alta como para mostrar diferencias entre ambas muestras.

Igualmente puede observarse un descenso significativo de la actividad lipásica con el aumento de la humedad de la harina durante el tratamiento. No obstante, los resultados solo muestran diferencias significativas en función de la humedad a tiempos superiores o iguales a 4 min.

Tabla 2. Resultados de actividad lipásica obtenida tras tratamiento microondas durante distintos tiempos y a distintas humedades.

Humedad (%)	Tiempo de tratamiento (min)	Actividad lipásica (U/g)
12	0	0,62 a
	1	0,56 abA
	2	0,50 bB
	4	0,41 cC
	6	0,26 dD
15	0	0,62 a
	1	0,50 eA
	2	0,39 fC
	4	0,34 gE
	6	0,27 hD
20	0	0,62 a
	1	0,53 iA
	2	0,39 jC
	4	0,29 kF
	6	0,20 IH
25	0	0,62 a
	1	0,52 mA
	2	0,37 nC
	4	0,15 oG
	6	0,07 pI
SE		0,015
<i>Análisis de varianza y significancia (p-valor)</i>		
Tiempo tratamiento (F1)		***
Humedad (F2)		***
(F1) x (F2)		***

SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para un valor de actividad lipásica implican diferencias significativas entre medias con un intervalo de confianza del 95%. Las letras minúsculas hacen referencia a las diferencias entre los resultados de la actividad lipásica sobre el factor tiempo de tratamiento dentro del mismo grupo de humedad. Las letras mayúsculas hacen referencia a la existencia de diferencias significativas entre los resultados de la actividad lipásica sobre el factor humedad a mismo grupo de tiempo de tratamiento. Las muestras correspondientes a 0 min de tratamiento, en todos los casos, se corresponden con la muestra nativa, sin tratar (control) que se ha introducido en todas las series para comparar sus resultados con los obtenidos en las muestras tratadas a diferentes humedades.

Análisis de varianza y significancia: ***p < 0,001.

La reducción de la Actividad lipásica se puede predecir ajustando los resultados estadísticos a la siguiente ecuación exponencial:

$$AI = A_0 \cdot e^{-K \cdot t}$$

En la que K es la constante cinética de inactivación lipásica de la harina, expresada en 1/min, que resultó dependiente del contenido de humedad de la muestra (H), y cuya dependencia se ha ajustado a una ecuación exponencial del tipo:

$$K = K_0 \cdot e^{-b \cdot H}$$

Generándose la siguiente ecuación de ajuste de carácter general:

$$A = A_0 \cdot e^{-K_0 \cdot t} \cdot e^{b \cdot H}$$

Donde A es la actividad lipásica, expresada en U/g, que depende del tiempo de tratamiento por microondas (t) expresado en min y de la humedad de la harina (H), expresada en porcentaje.

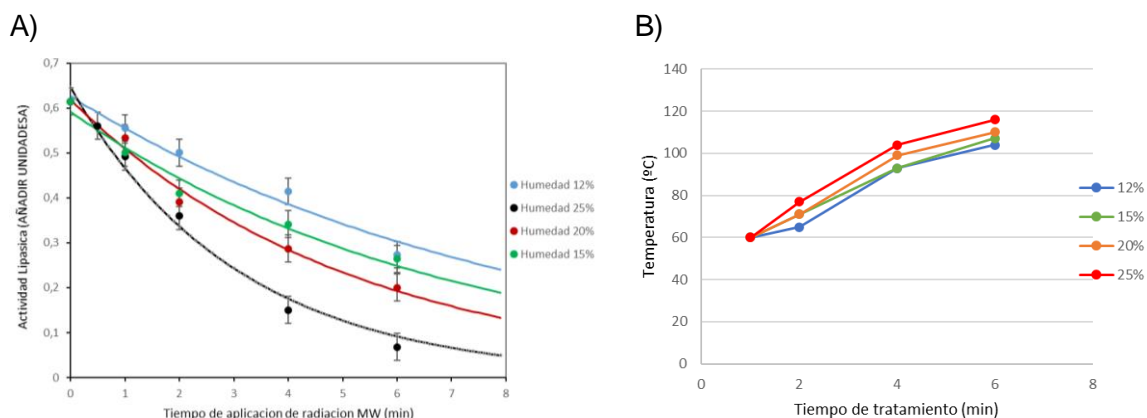


Figura 1. A) Resultados de los distintos valores obtenidos a partir de distintos tratamientos a diferentes humedades. Las líneas continuas representan las ecuaciones de ajuste de los valores experimentales al modelo exponencial correspondiente a una cinética de inactivación de orden uno. B) Evolución de las temperaturas máximas alcanzadas por las muestras durante los tratamientos microondas en función del tiempo de tratamiento y la humedad.

La Tabla 3 recoge los parámetros de ajuste (A_0 y K) de los datos experimentales de actividad lipásica en función del tiempo de tratamiento para cada una de las humedades estudiadas.

El valor de la constante A_0 representa la actividad lipásica de la harina a tiempo cero. Teóricamente este valor debería ser el mismo para todos los ajustes realizados con independencia de la humedad de la harina durante el tratamiento, y similar al valor experimental cuantificado en la harina nativa, sin tratar (0,62 U/g), como de hecho ocurre. Para A_0 se adoptará el valor medio obtenido de los cuatro ajustes realizados (Tabla 3), que coincide exactamente con el valor teórico: 0,62 U/g.

La Figura 2 muestra la evolución de la constante cinética de inactivación lipásica con la humedad de la harina. El ajuste de estos valores a la ecuación exponencial permite obtener los valores de las constantes K_0 y b de dicha ecuación. La tasa de inactivación de la enzima se ve representada por K_0 , cuyo valor se estima en $(0,042 \pm 0,008)$ min⁻¹ y el valor de b ,

que representa la influencia del porcentaje de humedad en la harina en la cinética de inactivación, que resultó ser $(0,081 \pm 0,008)$ (%)⁻¹. El R² de esta regresión resultó ser en 0,981, con lo que se predice de forma aceptable la actividad lipásica durante tratamientos con microondas entre 1 y 6 min, en un rango de humedades comprendido entre el 12 y el 25% y dentro de la potencia del microondas empleado (900 W).

Tabla 3. Valores obtenidos para el cálculo de la ecuación cinética que regula el grado de inactivación lipásica en función de los valores humedad y tiempo de tratamiento.

Humedad	A ₀ (U/g)	K (min ⁻¹)	R ²
12%	0,626 ± 0,019 a	0,121 ± 0,013 a	0,9732
15%	0,591 ± 0,021 b	0,144 ± 0,016 b	0,9720
20%	0,619 ± 0,017 c	0,194 ± 0,015 c	0,9879
25%	0,645 ± 0,023 d	0,325 ± 0,029 d	0,9863
SE			0,016

SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para un valor de actividad lipásica implican diferencias significativas entre medias con un intervalo de confianza del 95%. A₀: valor estimado de la actividad lipásica a tiempo cero de tratamiento; K: constante cinética de inactivación.

La ecuación resultante tras los sucesivos ajustes, que permite el cálculo de la actividad lipásica (U/g) en función de las condiciones de tratamiento (tiempo de tratamiento, en min, y humedad de la harina, en %) es la siguiente:

$$AL = 0,62 \cdot e^{-0,042 \cdot t} \cdot e^{0,081 \cdot H}$$

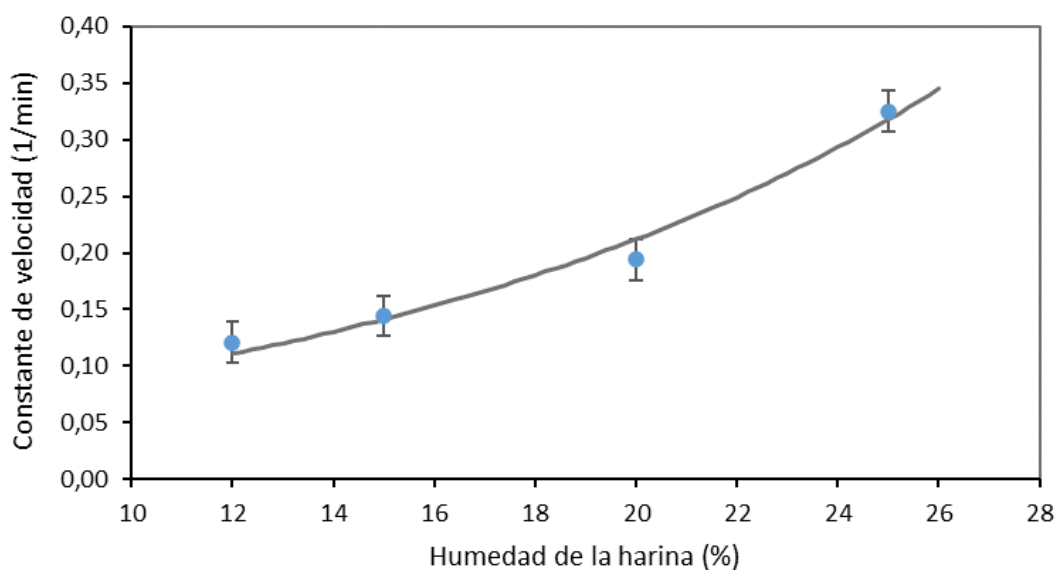


Figura 2. Ajuste de la velocidad de inactivación de la actividad lipásica en función de la humedad.

4.3. Efecto del tratamiento microondas sobre el contenido en ácidos grasos libres.

En el actual experimento también se ha estudiado el efecto de los tratamientos microondas sobre la concentración de AG. En la Tabla 4 se muestran los valores obtenidos de concentración de AG en función del tiempo de tratamiento microondas al que han sido sometida la harina de tef a distintas humedades.

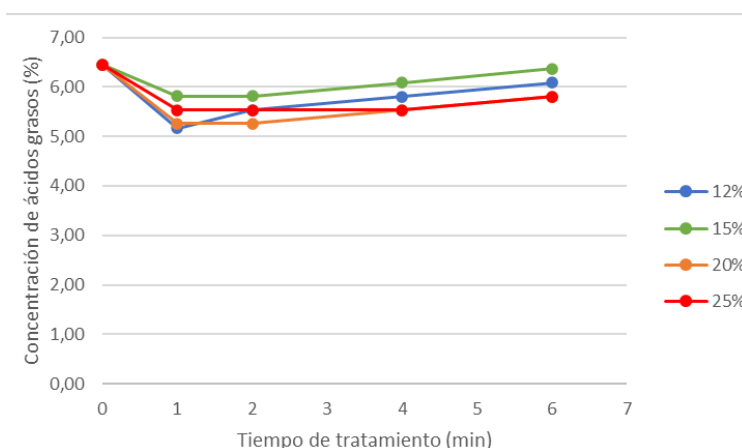


Figura 3. Resultados de los distintos valores de concentración de AG libres obtenidos a partir de distintos tratamientos a diferentes humedades.

Los tratamientos de 1 min redujeron el contenido de AG libres en casi un 10%. Dicho efecto ya fue observado por Hassan et al. (2021) en harina de maíz y por Qu et al. (2017) en harina de trigo, así como en diferentes salvados (Zhao et al., 2007; Irakli et al., 2020).

En los tratamientos de duración superior a 1 min el contenido en AG libres siguió siendo más bajo que en la harina nativa, aunque se observó un aumento progresivo respecto a los valores resultantes de tratamientos más cortos (ver Figura 3). Esto puede ser debido a que durante el tratamiento se produce la hidrólisis de las grasas favorecida por la temperatura y por la actividad lipásica residual en las harinas. Hay que tener en cuenta que la actividad de dichas enzimas no ha llegado a destruirse totalmente en ninguno de los casos y que las medidas de actividad lipásica se han realizado al final de los tratamientos. Es de esperar que antes de finalizar los tratamientos, los contenidos de actividad lipásica fueran aún superiores, explicando la capacidad de las harinas de catalizar la hidrólisis de las grasas. Los tiempos más largos (4 y 6 min) que presentaron mayor reducción de actividad lipásica, inducen a pensar que el aumento del contenido de AG libres en esos casos no se debió solamente a la presencia de dichas enzimas sino también a la temperatura alcanzada por el tratamiento, que en estos casos fue superior a la obtenida a tiempos más cortos.

Tabla 4. Resultados de la concentración en ácidos grasos por 100 g de aceite, cuantificados tras tratamiento microondas durante distintos tiempos y a distintas humedades.

Humedad (%)	Tiempo de tratamiento (min)	Ácidos grasos (%)
12	0	6,45 a
	1	5,16 bA
	2	5,53 cB
	4	5,81 dC
	6	6,08 eD
15	0	6,45 a
	1	5,81 fE
	2	5,81 f
	4	6,08 gG
	6	6,36 aH
20	0	6,45 a
	1	5,26 hA
	2	5,26 hI
	4	5,53 iJ
	6	5,81 jK
25	0	6,45 a
	1	5,53 kL
	2	5,53 kB
	4	5,53 kJ
	6	5,81 lK
SE		0,013
<i>Análisis de varianza y significancia (p-valor)</i>		
Tiempo tratamiento (F1)		***
Humedad (F2)		***
(F1) x (F2)		***

SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para un valor de actividad lipásica implican diferencias significativas entre medias con un intervalo de confianza del 95%. Las letras minúsculas hacen referencia a las diferencias entre los resultados de la concentración de ácidos grasos sobre el factor tiempo de tratamiento dentro del mismo grupo de humedad. Las letras mayúsculas hacen referencia a la existencia de diferencias significativas entre los resultados de la concentración de ácidos grasos por 100 gramos de aceite sobre el factor humedad a mismo grupo de tiempo de tratamiento. Las muestras correspondientes a 0 min de tratamiento, en todos los casos, se corresponden con la muestra nativa, sin tratar (control) que se ha introducido en todas las series para comparar sus resultados con los obtenidos en las muestras tratadas a diferentes humedades.

Análisis de varianza y significancia: ***p < 0,001.

Para comprender el efecto de tratamientos microondas largos respecto la liberación de AG libres es necesario realizar en un futuro más estudios, así como para conocer el efecto de los presentes tratamientos sobre el almacenamiento de las harinas.

4.4. Efecto del tratamiento microondas sobre las propiedades de empastado.

Tabla 5. Parámetros reológicos de las distintas muestras analizadas tras tratamiento microondas durante distintos tiempos y a distintas humedades.

Humedad (%)	Tiempo de tratamiento (min)	PT (°C)	PV (mPa·s)	PM (s)	TR (mPa·s)	BR (mPa·s)	FV (mPa·s)	ST (mPa·s)
12	0	71,1 a	708 ab	532 a	120 a	588 a	1190 a	602 a
	1	70,9 aA	728 aA	530 abA	144 bA	585 aA	1184 aA	600 aA
	2	70,9 aB	673 cB	524 bcB	117 aBC	556 bB	1134 bB	578 abB
	4	71,3 aC	644 dC	520 cC	102 cD	542 bcC	1125 bC	583 abC
	6	72,5 bD	535 eD	544 dD	2 d E	535 cD	1109 bD	575 bD
15	0	71,1 a	708 ab	532 a	120 a	588 a	1190 a	602 a
	1	71,5 acE	735 aA	530 aA	140 eA	595 aA	1207 aA	612 aA
	2	71,8 cF	715 aE	532 aE	133 aeE	583 aE	1192 aE	610 aE
	4	72,3 dGH	615 fF	538 aF	43 fF	573 aF	1185 aF	613 aF
	6	72,5 dD	658 gG	554 eD	15 gG	643 dG	1310 cG	667 cG
20	0	71,1 a	708 ab	532 a	120 a	588 a	1190 a	602 a
	1	71,7 efE	755 hA	540 aG	146 hA	610 aA	1222 adA	612 aA
	2	71,3 aeBF	725 ahE	538 aE	127 aBE	598 aEH	1227 adH	630 adH
	4	71,9 fG	673 bH	554 fH	58 iH	615 aI	1269 dI	654 deI
	6	72,7 gD	666 bG	572 gI	15 jG	651 eG	1332 eG	682 eG

Continuación de la Tabla 5								
25	0	71,1 a	708 ab	532 a	120 a	588 a	1190 a	602 a
	1	71,5 hE	735 aiA	536 aAG	143 kA	592 aA	1205 aA	613 aA
	2	71,5 hBF	713 aE	554 hJ	102 IC	611 fH	1252 fH	641 fH
	4	72,7 iH	748 il	580 iK	33 ml	715 gl	1437 gJ	722 gJ
	6	75,3 jI	608 jJ	582 il	9 nJ	599 afJ	1116 hD	517 hK
SE		0,14	10,3	2,4	3,9	6,9	14,2	7,6
Análisis de varianza y significancia (p-valor)								
Tiempo tratamiento (F1)		***	***	***	***	**	***	***
Humedad (F2)		***	***	***	***	***	***	***
(F1) x (F2)		***	***	***	***	***	***	***

PT: temperatura de empastado; PV: viscosidad pico; PM: tiempo en el que se alcanza la viscosidad pico; TR: viscosidad de caída; BR: estabilidad; FV: viscosidad final; ST: retrogradación SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA.

SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para un valor implican diferencias significativas entre medias con un intervalo de confianza del 95%.

Las letras minúsculas hacen referencia a las diferencias entre los resultados de los distintos parámetros reológicos sobre el factor tiempo de tratamiento dentro del mismo grupo de humedad. Las letras mayúsculas hacen referencia a la existencia de diferencias significativas entre los resultados obtenidos sobre el factor humedad a mismo grupo de tiempo de tratamiento. Las muestras correspondientes a 0 min de tratamiento, en todos los casos, se corresponden con la muestra nativa, sin tratar (control) que se ha introducido en todas las series para comparar sus resultados con los obtenidos en las muestras tratadas a diferentes humedades. Análisis de varianza y significancia: ***p < 0,001. **p < 0,01.

A fin de comparar los cambios producidos en la harina de tef tras el tratamiento por microondas en relación con su viscosidad y gelatinización se llevó a cabo el estudio de las curvas de empastado de las muestras obtenidas, definiendo de este modo su comportamiento durante el cocinado y su posterior enfriamiento.

Como puede verse en la Tabla 5, tanto el tiempo de tratamiento como la humedad de la harina durante el tratamiento ejercieron un efecto significativo sobre sus propiedades de empastado. También fue significativa la interacción doble, tiempo x humedad; esto indica que el efecto del tiempo de tratamiento sobre los perfiles viscosimétricos, dependió de la humedad de la harina. En líneas generales las harinas tratadas con tratamientos microondas largos presentaron una **temperatura de empastado** superior, mientras que las sometidas a tratamientos cortos no presentaron diferencias significativas. Este hecho puede ser explicado por los cambios en la cristalinidad que sufre el almidón durante el tratamiento microondas, que se tornan más acusados cuanto mayor es la duración del mismo. También pueden influir el establecimiento de asociaciones entre las cadenas de la región amorfa de los gránulos de almidón (Villanueva et al., 2018).

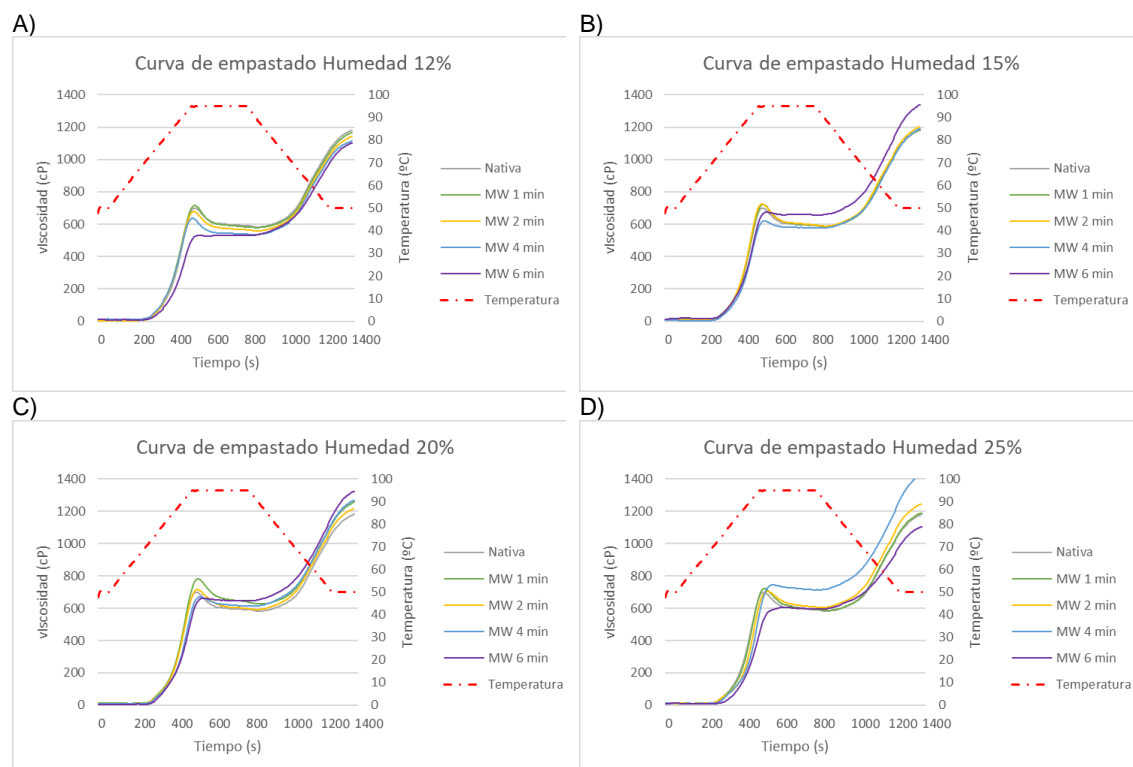


Figura 4. Curvas de empastado de las muestras de harina de tef tras ser sometidas a tratamientos microondas de distinta duración, cada una a diferentes humedades iniciales A) Harina tratada a una humedad del 12%, B) Harina tratada a una humedad del 15%, C) Harina tratada a una humedad del 20%, D) Harina tratada a una humedad del 25%. Todas ellas se comparan con un control sin tratamiento. El perfil de la temperatura se representa en el eje secundario.

La **viscosidad de pico** varió significativamente en los tratamientos más largos presentando un aumento inicial y una posterior disminución del mismo, difiriendo al alza un 5 % y presentando disminuciones cercanas al 15%. Dicho efecto también fue observado en el estudio de Sharanagat et al. (2019) sobre granos de sorgo, en el que en tratamientos a baja potencia la viscosidad de pico se veía incrementada y en tratamientos de mayor potencia se observaba una disminución de ésta. De lo que se deduce que debe de estar relacionado, más que con el tiempo de tratamiento, con la energía microondas efectiva recibida por la harina. Dicha energía efectiva explicaría también la influencia de la humedad en los distintos valores obtenidos. Estas diferencias se pueden observar claramente en la Figura 4.

En las muestras sometidas a tratamientos más largos se observó un incremento en el **tiempo en el que se alcanza la viscosidad de pico**. Esto pudo ser debido a que durante los tratamientos más largos se produjo la ruptura de cadenas de amilosa y las cadenas externas de amilopectina quedando una fracción no dañada que requiere de mayor energía térmica para su completa hidratación dando lugar a una gelatinización ligeramente más retardada (Villanueva et al., 2018). Dicho efecto explicaría del mismo modo la reducción del tiempo en el que se alcanza la viscosidad de pico en la harina con menor humedad tratada en tratamientos cortos, puesto que se produce una ruptura parcial de las cadenas de amilosa y amilopectina, dando como resultado una estructura más débil y por tanto más sensible a la temperatura para lograr su gelatinización.

La **viscosidad de caída** presentó un incremento en las muestras sometidas a tratamientos cortos y en tratamientos largos aparece una marcada disminución hasta valores cercanos al 0. Este hecho está directamente relacionado con los valores obtenidos en la viscosidad de pico, dando como resultado que aquellos más altos presentan una viscosidad de caída superior. Esto podría indicar que los tratamientos microondas ocasiona la ruptura de los gránulos de almidón, siendo mayor con el incremento del tiempo de tratamiento (Zavarace y Guerra, 2011).

La **estabilidad** se vio reducida respecto a la muestra control en la muestra tratada a menor humedad de forma proporcional a la duración del tratamiento. Sin embargo, en las muestras tratadas a humedad intermedia (15 y 20%) se observó un aumento de la estabilidad en aquellas que habían tenido un tratamiento más largo. En la muestra de mayor humedad se observó un aumento en los tratamientos de 2 y 4 min, no obstante, la muestra sometida a 6 min de tratamiento no presentó diferencias significativas. La reducción de los valores obtenidos durante el periodo de estabilidad puede ser debido

a una ruptura parcial de las cadenas de amilopectina, resultando en unos valores de viscosidad menores durante la meseta. El aumento de la viscosidad durante la meseta en las muestras con mayor humedad se justificaría con que, tras un tratamiento térmico como es el microondas, en presencia de un cierto grado de humedad (aunque no suficiente para producir gelatinización) puede haberse desarrollado la cristalización parcial de la amilopectina produciendo luego, en el experimento, un aporte notable en cuanto al incremento de viscosidad temprana de las muestras durante el periodo de estabilidad (Olayinka et al., 2008).

La **viscosidad final**, disminuyó en las muestras de harina tratadas al 12% de humedad durante más de 1 min, de forma contraria a lo sucedido en el resto de las muestras con humedades superiores. En estas últimas se observó un aumento de la viscosidad final. Dicho aumento se observó de forma más temprana a tratamientos más cortos cuanto mayor era el contenido de humedad de la harina tratada. La disminución de viscosidad final en la harina de menor humedad podría ser debida a la hidrólisis de parte de las ramificaciones de las cadenas de amilosa y amilopectina durante el tratamiento microondas (Sharanagat et al., 2019).

Finalmente, en relación con la **retrogradación** temprana los cambios observados fueron fruto de los valores obtenidos en cuanto a la viscosidad final, dando lugar a las mismas diferencias que se observaban en dicho parámetro.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio han permitido constatar que la radiación microondas ejerce una reducción significativa en la actividad lipásica de la harina de tef.

La humedad inicial de la harina y la duración del tratamiento han ejercido un efecto significativo sobre los resultados obtenidos, siendo relacionados mediante la obtención de la ecuación cinética de orden uno, que regula el grado de inactivación lipásica.

Se ha comprobado un impacto significativo de los tratamientos de microondas sobre el contenido de ácidos grasos de la harina tratada, también dependiente de la humedad inicial de la harina y del tiempo de tratamiento. Se ha observado un descenso de ácidos grasos respecto a la harina control, que ha sido más acusado en los tratamientos cortos y se ha ido suavizando en los tratamientos más largos hasta igualarse con el contenido de la harina nativa en los tratamientos más largos.

Se ha comprobado que los tratamientos, además de disminuir la actividad lipásica y estabilizar las harinas para evitar la degradación de sus grasas y aumentar su vida útil también tienen un impacto secundario sobre sus propiedades de empastado.

En cuanto a las propiedades de empastado, los resultados obtenidos presentaron siempre mayor diferencia en función del tiempo de tratamiento. La humedad inicial de la harina previa al tratamiento igualmente ha ejercido un efecto significativo, pero no ha seguido la misma tendencia que la duración del tratamiento, al igual que tampoco se ha podido establecer un patrón claro de la influencia de la misma sobre la totalidad de los valores obtenidos en el análisis. El incremento de la estabilidad y la disminución de la retrogradación producidos por los geles de las harinas modificadas mediante microondas se debe de tener en cuenta a la hora de elegir el tratamiento microondas más adecuado para la inactivación lipásica, puesto que al mismo tiempo se pueden obtener un producto con funcionalidades tecnológicas interesantes y por tanto con un valor añadido.

Por estos motivos, la selección de las condiciones de tratamiento debería realizarse en función de las particularidades de cada caso, teniendo en cuenta que el tratamiento con microondas no solo produce una reducción de la actividad lipásica, si no que también produce cambios en otros aspectos tan importantes como pueden ser el contenido en ácidos grasos libres y las propiedades tecnológicas de la harina.

En resumen, el tratamiento por radiación microondas es una técnica eficaz en la

reducción de la actividad lipásica que, para llevarse a la práctica, las variables de humedad y tiempo de tratamiento deben de estudiarse en función de si se desea obtener un producto con distintas propiedades a la harina original como valor añadido, o si por el contrario se desea conservar lo máximo posible las características iniciales. No obstante, para conocer el efecto de los presentes tratamientos sobre el almacenamiento de la harina es necesario realizar en un futuro más estudios.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer este trabajo en primer lugar a mis tutores: la Dra. Felicidad Ronda Balbás, la Dra. Grazielle Náthia Neves y el Dr. Workineh Abebe Zeleke, por los conocimientos transmitidos y su ayuda en el presente Trabajo de Fin de Máster.

A mis compañeros del Máster, quienes han estado presentes codo con codo durante esta etapa y me han brindado una gran ayuda, especialmente Raquel S. De todos ellos me llevo un grato recuerdo y buenas amistades.

A mi hermana Clara, a Belén y a mi familia, que me dan todo el apoyo moral necesario esté donde esté y me hacen la vida más fácil en cualquier lugar.

Sobre todo, a mis padres Mercedes y José Manuel, quienes con su sacrificio me han podido proporcionar una educación, una formación y un oficio que son mi mayor orgullo, y sin los cuales no podría haber llegado hasta aquí.

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 (FEDER) y del proyecto financiado por la Junta de Castilla y León/FEDER (VA195P20).

BIBLIOGRAFÍA

- American Association of Cereal Chemists (AACC) (2009). Method 02-02.02. Approved methods of the AACC, 10th ed. The Association, St. Paul, MN.
- American Association of Cereal Chemists (AACC) (2010a). Method 44–19. Approved methods of the AACC, 10th ed. The Association, St. Paul, MN.
- American Association of Cereal Chemists (AACC) (2010b). Method 76-21.01. Approved methods of the AACC, 10th ed. The Association, St. Paul, MN.
- Adebowale, O. J., Taylor, J. R., & de Kock, H. L. (2020). Stabilization of wholegrain sorghum flour and consequent potential improvement of food product sensory quality by microwave treatment of the kernels. *LWT*, 132, 109827.
- Assefa, K., Yu, J. K., Zeid, M., Belay, G., Tefera, H., & Sorrells, M. E. (2011). Breeding tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) trotter]: conventional and molecular approaches. *Plant breeding*, 130(1), 1-9.
- Arranz, E., Fernández-Bañares, F., Rosell, C. M., Rodrigo, L., & Peña, A. S. (2015). Advances in the understanding of gluten related pathology and the evolution of gluten-free foods. *OmniaScience*.
- Barretto, R., Buenavista, R. M., Rivera, J. L., Wang, S., Prasad, P. V., & Siliveru, K. (2021). Teff (*Eragrostis tef*) processing, utilization and future opportunities: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(7), 3125-3137.
- Bultosa, G. (2007). Physicochemical characteristics of grain and flour in 13 tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] grain varieties. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(12), 2042-2051.
- Bultosa, G. and Taylor, J.R.N. (2004). Teff. In: Wrigley, C., Corke, H. and Walker, C.E. (eds.), *Encyclopedia of Grain Science*, Volume 3. Elsevier Ltd. UK. Oxford, pp 281-290
- Campo, E., del Arco, L., Urtasun, L., Oria, R., & Ferrer-Mairal, A. (2016). Impact of sourdough on sensory properties and consumers' preference of gluten-free breads enriched with teff flour. *Journal of Cereal Science*, 67, 75-82.
- Colman, T. A. D., Demiate, I. M., & Schnitzler, E. (2014). The effect of microwave radiation on some thermal, rheological and structural properties of cassava starch. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 115(3), 2245-2252.
- El Khoury, D., Balfour-Ducharme, S., & Joye, I. J. (2018). A review on the gluten-free diet: Technological and nutritional challenges. *Nutrients*, 10(10), 1410.
- Fric, P., Gabrovská, D., & Nevorál, J. (2011). Celiac disease, gluten-free diet, and oats. *Nutrition Reviews*, 69(2), 107-115.

- García Martínez, E. M., Fernández Segovia, I., & Fuentes López, A. (2014). Determinación del enranciamiento hidrolítico de un aceite de oliva mediante el Grado de Acidez.
- Gebremariam, M. M., Zarnkow, M., & Becker, 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*, 51(11), 2881-2895.
- Hager, A. S., Lauck, F., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2012). Development of gluten-free fresh egg pasta based on oat and teff flour. *European Food Research and Technology*, 235(5), 861-871.
- Hallert, C., Grant, C., Grehn, S., Grännö, C., Hultén, S., Midhagen, G., Ström, M., Svensson, H., Valdimarsson, T. (2002). Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 16, 1333-1339.
- Hassan, A. B., Pawelzik, E., & von Hoersten, D. (2021). Effect of microwave heating on the physicochemical characteristics, colour and pasting properties of corn (*Zea mays L.*) grain. *LWT*, 138, 110703.
- Inglett, G. E., Chen, D., & Liu, S. X. (2016). Physical properties of gluten free sugar cookies containing teff and functional oat products. *J Food Res*, 5(3), 72.
- Irakli, M., Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2020). Comparative evaluation of the nutritional, antinutritional, functional, and bioactivity attributes of rice bran stabilized by different heat treatments. *Foods*, 10(1), 57.
- Kenney, E. S., Butler, C., Moore, C., Bhaduri, S., Ghatak, R., & Navder, K. P. (2011). The effect of substituting teff flour in gluten-free sugar cookies and peanut butter cookies. *Journal of the American Dietetic Association*, 9(111), A63.
- Kermasha, S., Bisakowski, B., Ramaswamy, H., & Voort, F. V. D. (1993). Comparison of microwave, conventional and combination heat treatments on wheat germ lipase activity. *International journal of food science & technology*, 28(6), 617-623.
- Ketema, S (1997). Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops-12. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 50 pp
- Liu, H., Guo, X., Li, W., Wang, X., Lv, M., Peng, Q., Wang, M. (2015). Changes in physicochemical properties and in vitro digestibility of common buckwheat starch by heat-moisture treatment and annealing. *Carbohydrate Polymers*, 132, 237–244.
- Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M. A., Churruga, 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, 182-187.

-
- Obilana, A. B. (2003). Overview: importance of millets in Africa. *World (all cultivated millet species)*, 38, 28.
- Olayinka, O. O., Adebawale, K. O., & Olu-Owolabi, B. I. (2008). Effect of heat-moisture treatment on physicochemical properties of White sorghum starch. *Food Hydrocolloids*, 22, 225–230.
- Qu, C., Wang, H., Liu, S., Wang, F., & Liu, C. (2017). Effects of microwave heating of wheat on its functional properties and accelerated storage. *Journal of Food Science and Technology*, 54(11), 3699-3706.
- Ramaswamy, H., & Tang, J. (2008). Microwave and radio frequency heating. *Food Science and Technology International*, 14(5), 423-427.
- Román, L., Martínez, M. M., Rosell, C. M., & Gómez, M. (2015). Effect of microwave treatment on physicochemical properties of maize flour. *Food and Bioprocess Technology*, 8(6), 1330-1335.
- Sharanagat, V. S., Suhag, R., Anand, P., Deswal, G., Kumar, R., Chaudhary, A., Nema, P. K. (2019). Physico-functional, thermo-pasting and antioxidant properties of microwave roasted sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Journal of Cereal Science*, 85, 111–119.
- Stephany, M., Eckert, P., Bader-Mittermaier, S., Schweiggert-Weisz, U., & Carle, R. (2016). Lipoxygenase inactivation kinetics and quality-related enzyme activities of narrow-leafed lupin seeds and flakes. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 36-43.
- Stevenson, D.G., Biswas, A., & Inglett, G.E. (2005) Thermal and Pasting Properties of Microwaved Corn Starch. *Starch Journal*, 58, 347-353.
- Tebben, L., Shen, Y., & Li, Y. (2018). Improvers and functional ingredients in whole wheat bread: A review of their effects on dough properties and bread quality. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 10-24.
- Tovoli, F., Masi, C., Guidetti, E., Negrini, G., Paterini, P., & Bolondi, L. (2015). Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*, 3(3), 275.
- Valenti, S., Corica, D., Ricciardi, L., & Romano, C. (2017). Gluten-related disorders: certainties, questions and doubts. *Annals of Medicine*, 49(7), 569-581.
- Villanueva, M., Abebe, W., Collar, C., & Ronda, F. (2021). Tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] variety determines viscoelastic and thermal properties of gluten-free dough and bread quality. *LWT*, 135, 110065.
- Villanueva, M., Harasym, J., Muñoz, J. M., Ronda, F. (2018). Microwave absorption capacity of rice flour. Impact of the radiation on rice flour microstructure, thermal

- and viscometric properties. *Journal of Food Engineering*, 224, 156–164.
- Wolter, A., Hager, A. S., Zannini, E., Czerny, M., & Arendt, E. K. (2014). Impact of sourdough fermented with *Lactobacillus plantarum* FST 1.7 on baking and sensory properties of gluten-free breads. *European food research and technology*, 239(1), 1-12.
- Zavareze, E. R., Guerra, A. R. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83, 317–328.
- Zhao, S., Xiong, S., Qiu, C., & Xu, Y. (2007). Effect of microwaves on rice quality. *Journal of Stored Products Research*, 43(4), 496-502.
- Zhu, F. (2018). Chemical composition and food uses of teff (*Eragrostis tef*). *Food chemistry*, 239, 402-415.