



---

**Universidad de Valladolid**  
**Campus de Palencia**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR  
DE INGENIERÍAS AGRARIAS**

**Máster en Ingeniería Agronómica**

**Tratamiento de granos de trigo sarraceno  
mediante microondas para la mejora de las  
propiedades funcionales y nutricionales de las  
harinas resultantes**

**Alumno/a: Ainhoa Vicente Fernández**

**Tutor/a: Pedro Caballero Calvo  
Cotutor/a: María Felicidad Ronda Balbás**

**Mayo de 2020**

Copia para el tutor/a

## ÍNDICE

<b>Resumen .....</b>	<b>1</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>2</b>
<b>1. Introducción.....</b>	<b>3</b>
1.1. Trigo sarraceno .....	3
1.2. Estructura del almidón: Bases de la modificación física de harinas y almidones .....	4
1.3. Procesos de modificación física de las harinas y almidones .....	6
1.4. Empleo de nuevas tecnologías para la modificación física de harinas y almidones ....	8
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>10</b>
<b>3. Materiales y métodos .....</b>	<b>11</b>
3.1. Materiales .....	11
3.2. Métodos .....	11
3.2.1. Determinación de la humedad .....	11
3.2.2. Obtención de las muestras tratadas.....	11
3.2.3. Propiedades funcionales de las harinas.....	13
3.2.4. Propiedades de empastado de las harinas.....	15
3.2.5. Comportamiento reológico de los geles .....	15
3.2.6. Color de las harinas.....	16
3.2.7. Difracción de rayos X .....	17
3.2.8. Contenido de compuestos fenólicos .....	17
3.2.9. Análisis estadístico .....	18
<b>4. Resultados y discusión.....</b>	<b>19</b>
4.1. Propiedades funcionales de las harinas .....	19
4.2. Propiedades de empastado de las harinas .....	25
4.3. Comportamiento reológico de los geles .....	29
4.4. Color de las harinas.....	32
4.5. Difracción de rayos X .....	35
4.6. Contenido de compuestos fenólicos .....	37
<b>5. Conclusiones .....</b>	<b>40</b>
<b>Agradecimientos.....</b>	<b>41</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>42</b>

## RESUMEN

En este estudio se plantea el uso de tratamientos hidrotérmicos (HMT) asistidos con microondas para la modificación física de granos de trigo sarraceno, un pseudocereal sin gluten y de elevado valor nutricional. Se elige el tratamiento microondas como una tecnología rápida y eficaz alternativa a los tratamientos físicos HMT convencionales. Se trataron granos de trigo sarraceno a varias humedades iniciales (13%, 20%, 25% y 30%) y en dos sistemas de procesado: en recipiente no hermético o en abierto (donde la muestra evolucionó durante el tratamiento a humedad variable) y en recipiente cerrado (donde la muestra mantuvo una humedad constante durante su procesado). Los resultados obtenidos mostraron un efecto significativo de la humedad inicial del grano tratado, del sistema de tratamiento y de la interacción de ambos factores, sobre las propiedades tecno-funcionales medidas en las harinas obtenidas de la molturación de los granos tratados respecto a las obtenidas de granos nativos, sin tratar. Se incrementó la capacidad de absorción de agua en todas las muestras hasta un 22%. El índice de absorción de agua y el poder de hinchamiento sólo aumentaron a humedades mayores, mientras que disminuyeron a las humedades más bajas. La capacidad emulsionante se redujo con los tratamientos hasta ser casi nula en tratamientos a humedades del 30%. Sin embargo, aumentó la estabilidad de las emulsiones para el tratamiento en sistema cerrado a humedad 13%. Las propiedades de empastado también se vieron modificadas. Se obtuvieron incrementos de la temperatura de empastado de hasta 4°C, y reducciones en las viscosidades de pico (hasta un 55%), final (hasta un 56%) y de la retrogradación (hasta un 58%), efectos que se vieron más intensificados en los tratamientos realizados a mayores humedades del grano y en el sistema cerrado. Sin embargo, se constataron pocas diferencias respecto al control a humedades bajas y sistema abierto. Los ensayos reológicos aplicados a los geles formados a partir de las harinas obtenidas tras el tratamiento, demostraron un significativo, aunque moderado, aumento de la estabilidad y resistencia a esfuerzos de la estructura de gel. No se modificó el patrón de difracción de rayos X aunque sí se observó un aumento en la intensidad de los picos de difracción, indicando un aumento en la cristalinidad del almidón, al mismo tiempo que se observó un incremento en la cristalinidad tipo V, relacionada con la estructura del complejo amilosa-lípido. El color de las harinas varió hacia tonos más rojizos, como consecuencia del tratamiento. Además, se vio disminuido su contenido en compuestos fenólicos. En base a estos resultados se puede concluir que el tratamiento microondas de granos de trigo sarraceno parece ser una alternativa viable y eficaz para modificar las propiedades tecno-funcionales de las harinas de trigo sarraceno y adecuarlas a las necesidades tecnológicas para la producción de alimentos sin gluten.

## ABSTRACT

The use of heat moisture treatments (HMT) assisted by microwave for physical modification of buckwheat grains, a pseudocereal without gluten and with high nutritional value, was carried out in this study. Microwave treatment was chosen as a quick and effective technology alternative to conventional HMT. Buckwheat grains with several initial moisture contents (13%, 20%, 25% y 30%) were treated in two process systems: not hermetic container / opened (variable moisture evolution of the sample) and closed container (constant moisture evolution of the sample). A significant effect in the initial grain moisture, treatment system and its interaction was observed for the techno-functional properties studied in the treated flours (obtained after milling the treated grains) regarding the native ones. The water absorption capacity was increased in all the samples up to 22%. The water absorption index and swelling power decreased with lower moisture treatments and increased with higher ones. The emulsion capacity was reduced with all treatments, being almost non-existing with 30% moisture treatments. Nevertheless, the emulsion stability increased for the 13% moisture and closed system treatment. Pasting properties were also modified. Pasting temperature increased up to 4°C, peak viscosity reduced up to 55%, final viscosity up to 56% and retrogradation up to 58%, intensifying this behaviour for higher moisture treatments and for closed system. However, few differences were seen between control and low moisture treatments and opened system. The rheological test applied to gels formed from flours obtained after treatment, showed a significant increment, though moderate, in the gel structure stability and tolerance to efforts. The X-ray diffraction pattern did not change, though an increase in the intensity of the diffraction peaks was observed, which indicate an increase in the starch crystallinity. At the same time an increase in the V-type crystallinity was observed, which it is related to the amylose-lipid complex structure. Flour colour changed towards more reddish tones as consequence of the treatment. Besides, phenolic content decreased. Based on these results, it can be concluded that buckwheat grains microwave treatment seems to be a viable and effective alternative to modify techno-functional properties of buckwheat flour and adequate them to the needs of non-gluten food production.

## 1. INTRODUCCIÓN

La demanda de productos sin gluten está en continuo aumento, debido al mayor diagnóstico de enfermedades relacionadas con las reacciones adversas tras la ingesta de alimentos como son la intolerancia al gluten o celiacía, la sensibilidad al gluten no celiaca y la alergia al trigo, así como al incremento de personas que optan por seguir dietas sin gluten al considerarlas más saludables por eliminar alérgenos (Sapone et al., 2012; Witczak et al., 2016).

El gluten está presente en trigo, centeno, cebada, avena y sus híbridos, con lo cual se deben buscar materias primas alternativas que sustituyan a estos cereales. El principal problema de la eliminación del gluten está en la industria panadera, puesto que las proteínas del gluten son las principales responsables de la estructura y características viscoelásticas a las masas, contribuyendo también a la apariencia y estructura de la miga de muchos productos horneados (Gallagher et al., 2004).

La sustitución de harina de trigo por otras harinas sin gluten es compleja por la dificultad de encontrar materias primas que logren la funcionalidad estructural necesaria. Actualmente se usan almidones y harinas sin gluten de cereales, pseudocereales y legumbres, junto con hidrocoloides, suplementos nutricionales y aditivos (Witczak et al., 2016). Además de la falta de funcionalidad, según el estudio de Matos y Rosell (2011) los productos sin gluten suelen tener peor calidad nutricional, por los menores niveles de proteínas, vitaminas, minerales y fibra, así como por el mayor índice glucémico y el mayor contenido de grasa. La peor calidad nutricional de los productos sin gluten se ha corroborado en los estudios de Bardella et al. (2000), Hallert et al. (2002), Hopman et al. (2006), Miranda et al. (2014) y Román et al. (2019).

Por este motivo, la inclusión de pseudocereales con elevado valor nutricional en las formulaciones de productos sin gluten, como el trigo sarraceno, puede mejorar la variedad en la dieta y su calidad nutricional (Alvarez-Jubete et al., 2010).

### 1.1. Trigo sarraceno

El trigo sarraceno es un pseudocereal sin gluten que pertenece a la familia de las *Polygonaceae* y al género *Fagopyrum*. Se produce en las regiones áridas y frías, principalmente en el hemisferio norte, siendo Rusia y China los mayores productores. Las especies más cultivadas son el trigo sarraceno común (*Fagopyrum esculentum*) y el trigo sarraceno tartaria (*Fagopyrum tataricum*) (Zhang et al., 2012).

La inclusión del trigo sarraceno en productos sin gluten representa una alternativa de gran interés por ser una fuente de almidón que aporta elevado valor nutricional al ser rico en proteínas, antioxidantes, oligoelementos y fibra. Tiene un contenido en proteína entre el 10-15% (similar al trigo), con una biodisponibilidad del 90% y un perfil aminoacídico completo con todos los aminoácidos esenciales, si bien en algunas variedades la cisteína puede resultar limitante (Bhinder et al., 2020). El contenido en grasa es del 2- 3%, los hidratos de carbono suponen alrededor de un 70%, (siendo éstos mayoritariamente complejos), y la fibra dietética total representa alrededor del 7%. Respecto al resto de la composición, es rico en polifenoles, incluyendo flavonoides como la rutina, orientina, vitexina, quercetina, isovitexina e isoorientina. El contenido en

taninos también es elevado, alrededor del 1,5%. Además, se ha reconocido como un recurso importante de vitaminas B1 (tiamina, 3,3 mg/kg), B2 (riboflavina, 10,6 mg/kg), B3 (niacina, 18,0 mg/kg), B5 (ácido pantoténico, 11.0 mg/kg) y B6 (piridoxina, 1,5 mg/kg) (Bhinder et al., 2020; Giménez-Bastida et al., 2015; Zhang et al., 2012).

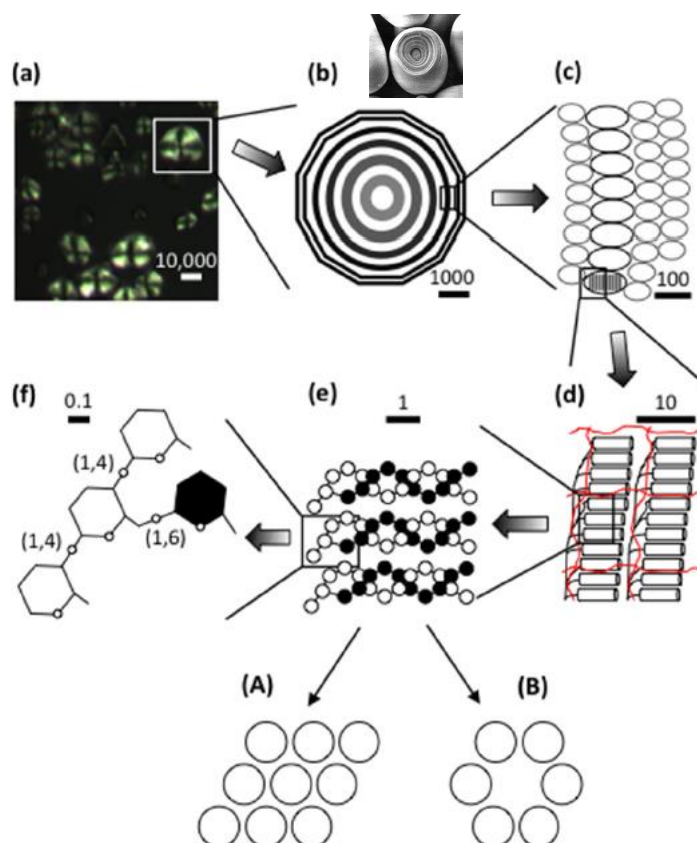
La harina de trigo sarraceno se ha propuesto en los últimos años como una fuente de almidón alternativa en la elaboración de productos sin gluten como pueden ser pan, galletas, pasta, noodles y cerveza. Sin embargo, como se puede concluir de la revisión de Giménez-Bastida et al. (2015), su empleo está asociado a problemas en la calidad del producto final, tanto desde el punto de vista funcional como organoléptico, por lo que es necesaria la realización de más estudios sobre esta materia prima.

## **1.2. Estructura del almidón: Bases de la modificación física de harinas y almidones**

Entre las alternativas para mejorar la funcionalidad de las harinas sin gluten, se encuentran las modificaciones químicas, físicas, enzimáticas y genéticas del almidón. Actualmente se están desarrollando en mayor medida las modificaciones enzimáticas, físicas y genéticas, especialmente en el desarrollo de materias primas para productos alimentarios (Kaur et al., 2012). Las modificaciones físicas presentan la ventaja de que las harinas modificadas por estos métodos siguen teniendo la consideración de ingredientes, por lo que resultan naturales y seguros para el consumidor. Por este motivo, no deben reflejarse en el etiquetado como aditivos ni está limitada su introducción en los productos alimentarios por la legislación (Zavareze y Dias, 2011).

Para comprender las modificaciones que puede sufrir el almidón es importante conocer su estructura. El almidón es un biopolímero semi cristalino que se presenta en forma de gránulos que pueden variar en forma, tamaño, estructura y composición química según el origen botánico. A pesar de estas variaciones, la estructura interna es similar, estando formada por láminas cristalinas y amorfas que se alternan y disponen formando bloques y anillos de crecimiento. Los componentes básicos de los gránulos de almidón son dos poliglucanos, la amilosa y la amilopectina. La estructura molecular de la amilosa es relativamente simple, estando formada por residuos de glucosa conectados por enlaces  $\alpha$ -(1,4) formando cadenas largas con pocas ramificaciones (uniones de tipo  $\alpha$ -(1,6)). La amilopectina tiene la misma estructura básica, pero con cadenas más cortas y muchas ramificaciones (Bertoft, 2017). La amilosa tiene una estructura helicoidal, presentando en el interior átomos de hidrógeno y en el exterior grupos hidroxilos, por lo cual es hidrofóbica y puede formar complejos con ácidos grasos libres, componentes glicéridos de ácidos grasos, yodo y algunos alcoholes. Además, tiene la habilidad de formar una pasta después de la gelatinización de los gránulos de almidón, debido principalmente a la reasociación (retrogradación) de los polímeros de almidón solubilizados después de la gelatinización (Zavareze y Dias, 2011). Las cadenas de amilopectina están dispuestas radialmente dentro del gránulo con sus extremos terminales no reductores orientados hacia la superficie, y estas están dispuestas con áreas cristalinas alternas (como una doble hélice) y áreas amorfas (con regiones de puntos de ramificación) (Zavareze y Dias, 2011). Cuando se observa el gránulo de almidón con luz polarizada en un microscopio óptico, generalmente se ve una "cruz de Malta" que extiende los brazos

desde el llamado hilio (*hilium*), que se cree que es el origen del crecimiento del gránulo. Este patrón de birrefringencia muestra que las moléculas, o una gran parte de las mismas, están dispuestas de manera radial y sugiere un alto grado de orden dentro de los gránulos (Bertoft, 2017). En la Figura 1 se representan algunas de las principales características de la estructura del gránulo de almidón.



**Figura 1.** Estructura interna del gránulo de almidón. (a) Gránulos de almidón de maíz observados bajo luz polarizada mostrando las “cruces de malta”, lo que indica una organización radial dentro del gránulo de almidón. (b) Un hipotético granulo (poliédrico) con anillos de crecimiento que se extienden desde el hilio. (c) Bloques en anillos semicristalinos (negros) y amorfos (grises). (d) Lamelas cristalinas y amorfas formadas por dobles hélices (cilindros) y segmentos ramificados de amilopectina (líneas negras), respectivamente. Las moléculas de amilosa (líneas rojas) se intercalan entre las moléculas de amilopectina. (e) Tres dobles hélices de amilopectina. Cada doble hélice consta de dos cadenas de poliglucosilo, en las que los residuos de glucosilo están simbolizados por círculos blancos y negros, respectivamente. Las dobles hélices forman cristales polimórficos A o B (A y B, respectivamente, en los que los círculos simbolizan las hélices dobles vistas desde el borde). (f) Unidades glucosilo que muestran los enlaces  $\alpha$ -(1,4) y  $\alpha$ -(1,6) en la base de la doble hélice. La barra de escala (en nm) es solo aproximada para dar una impresión de las dimensiones. Obtenido de Bertoft (2017).

Esta distribución y estructura del almidón dentro del gránulo es la principal responsable de las propiedades funcionales de los almidones y de las harinas, en particular de las harinas sin gluten donde las proteínas no juegan un papel relevante, como lo hace el gluten en la harina de trigo. Dicha estructura es la que pretenden modificar los tratamientos de modificación física.

### 1.3. Procesos de modificación física de las harinas y almidones

Los tratamientos hidrotérmicos (HMT – *Heat-Moisture Treatment*) constituyen una modalidad de modificación física de las harinas que se está estudiando para lograr mayor funcionalidad en productos sin gluten (Gómez y Martínez, 2016). Los HMT son métodos de modificación física que se pueden usar para modificar la estructura de almidón y sus propiedades funcionales sin destruir la estructura granular (Gunaratne, 2018). En los HMT la harina está expuesta durante un periodo de tiempo variable (desde 15 minutos a 16 horas) a una temperatura alta (superior a la de gelatinización del almidón), pero sin suficiente agua disponible (humedad entre 10-30%) como para que se produzca la gelatinización (Gunaratne, 2018; Zavareze y Dias, 2011). El tratamiento HMT se fundamenta en controlar la movilidad molecular a altas temperaturas mediante la limitación del contenido en agua. Durante los HMT se modifican las propiedades físico-químicas del almidón porque se altera la estructura cristalina y se disocia la estructura de doble hélice en la región amorfa, conduciendo después a un reordenamiento estructural en las cadenas de almidón dentro de los dominios cristalino y amorfo del gránulo de almidón, aumentando además la susceptibilidad al ataque de la  $\alpha$ -amilasa (Gunaratne y Hoover, 2002). Los cambios en la estructura del almidón debido a los HMT pueden ser muy variados, dependiendo principalmente del origen botánico de la muestra, que influye en el contenido en amilosa y amilopectina y la longitud de las cadenas de amilopectina (Gunaratne y Hoover, 2002). También influyen parámetros del proceso, siendo los principales la temperatura, la duración del tratamiento y el contenido en humedad de la harina. También va a afectar la fuente y sistema de calentamiento y el proceso de enfriamiento (Gunaratne, 2018).

Tras un tratamiento HMT se ven cambios en el patrón de rayos X, la cristalinidad, la solubilidad, el poder de hinchamiento, las propiedades de empastado, la textura de los geles, la morfología de los granos, la gelatinización, la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática y la digestibilidad del almidón (Zavareze y Dias, 2011). Los tratamientos HMT no han mostrado cambios de patrón de rayos X para almidones de cereales, manteniéndose el tipo A. Sin embargo, sí se han descrito incrementos en la intensidad de los picos, atribuyéndolo al desplazamiento de las cadenas de doble hélice dentro de los cristales de almidón dando una matriz cristalina más ordenada. En algunos casos también se han descrito disminuciones atribuidas a una reducción de la cristalinidad o incremento de las regiones amorfas del gránulo (Zavareze y Dias, 2011). La presencia o no de cambios en la morfología del gránulo de almidón depende de la temperatura, el contenido de humedad y el tipo de almidón. Algunos autores han mostrado que no se producen cambios en maíz, trigo, patata, lenteja, mientras que otros han mostrado pérdida de la integridad, gelatinización parcial y superficie irregular de los gránulos de almidón de arroz (Gunaratne, 2018). En cuanto a las propiedades de empastado, los HMT aumentan la temperatura de empastado, reduciendo la viscosidad de pico y la final y aumentando la estabilidad de la pasta (Sun et al, 2014). Los cambios en las propiedades de empastado son debidos a las asociaciones entre las cadenas de almidón en las regiones amorfas del gránulo y a los cambios en la cristalinidad; incrementándose las variaciones a mayores humedades de tratamiento (Zavareze y Dias, 2011). También se obtienen geles de mayor dureza por un incremento de los



entrecruzamientos entre cadenas de almidón en las regiones de amilosa, reforzándose la matriz de la fase continua del gel (Gunaratne, 2018). Con tratamientos HMT se observan disminuciones del poder de hinchamiento del almidón y de su solubilidad, debido a las mayores interacciones entre las moléculas de amilosa y amilopectina y entre los grupos funcionales del almidón, formándose uniones intramoleculares más fuertes y complejos amilosa-lípido, así como cambios en la ordenación de las regiones cristalinas (Zavareze y Dias, 2011).

Los tratamientos HMT han sido estudiados y aplicados para la mejora de las propiedades y el valor nutricional de harinas y almidones de cereales y pseudocereales para su aplicación a productos sin gluten. Sun et al (2014) aplicaron tratamientos HMT a almidón y harinas de sorgo de humedades 20 y 25% durante 10h a 100°C. Mostraron características deseables para productos alimenticios a base de sorgo como mayor estabilidad, una menor retrogradación y mayor dureza de los geles formados. Liu et al. (2015) aplicaron tratamientos HMT al almidón de trigo sarraceno a diferentes humedades (20, 25, 30 y 35%) durante 16h a 110°C. Obtuvieron almidones con mayores beneficios para la salud en cuanto a la prevención de enfermedades crónicas (como diabetes o cáncer de colon) debido a la menor velocidad de hidrólisis del almidón medida *in vitro*, con menor cantidad de almidón rápidamente digerible, y mayores cantidades de almidón lentamente digerible y almidón resistente. Xiao et al. (2017) aplicaron tratamientos HMT a almidones y harinas de trigo sarraceno a varias humedades (20, 25, 30 y 35%) durante 24h a 110°C, mejorando su digestibilidad *in vitro* y propiedades físico-químicas. Las harinas fueron más difíciles de gelatinizar y más estables al calentamiento y cizallamiento, y obtuvieron geles con menor dureza, propiedades deseables para productos como fideos, sopas o masas hervidas. Estos autores también confirmaron la reducción en el almidón rápidamente digerible y el aumento del lentamente digerible y el resistente, lo que da aplicaciones potenciales para producir noodles y pan con menor índice glucémico, lo que ayuda a prevenir enfermedades crónicas. Fathi et al. (2016) trataron harina de mijo al 20 y 30% de humedad durante 3h a 100 y 120°C, que usaron en distintas proporciones para la elaboración de bizcochos sin gluten. Obtuvieron masas batidas con menor densidad relativa y mayor consistencia. Los bizcochos con harina tratada presentaron mayor volumen y menor dureza. En la evaluación sensorial las formulaciones con un elevado porcentaje de harina tratada a condiciones de temperatura más altas no fueron bien valoradas. Pero los bizcochos con un 75% de harina tratada al 30% de humedad y 100°C obtuvieron una elevada aceptación sensorial y un mejor volumen, color y textura. Kim et al (2017) realizaron tratamientos HMT a harina integral de arroz al 20% de humedad a 100-110°C durante 1-2h y lo usaron para elaborar bizcochos. Obtuvieron bizcochos con menor dureza, elasticidad y cohesión. Presentaron mayor proporción de almidón resistente y menor de almidón rápidamente digestible. Aunque la aceptabilidad en la valoración sensorial fue menor que el bizcocho de harina sin tratar.

#### **1.4. Empleo de nuevas tecnologías para la modificación física de harinas y almidones**

Las modificaciones físicas se pueden realizar mediante tecnologías tradicionales, pero hay una tendencia hacia el uso de tecnologías emergentes e innovadoras. Algunas de las tecnologías innovadoras que se están estudiando para la mejora de la calidad productos de panadería sin gluten a base de harinas de pseudocereales son las altas presiones hidrostáticas (Liu et al., 2016; Vallons et al., 2011), los ultrasonidos (Zhu y Li, 2019), y los tratamientos microondas (Sun et al., 2018).

El tratamiento microondas (MWT) constituye una alternativa de gran interés frente a los tratamientos HMT convencionales debido a la considerable reducción del tiempo que conlleva. Las microondas son ondas electromagnéticas de frecuencias entre 1 y 300 GHz que las moléculas polares e ionizables (principalmente agua y sales minerales) absorben de manera eficiente. La absorción de energía se realiza a nivel molecular, lo que produce un rápido incremento de la temperatura de toda la muestra. Este incremento de temperatura es debido a la fricción que se genera por los continuos cambios de dirección de las partículas polares e ionizables para alinearse con el campo eléctrico (fenómenos de rotación dipolar y conducción iónica). Por lo tanto, la eficiencia del tratamiento dependerá enormemente de las propiedades dieléctricas de la muestra (Colman et al., 2014; Villanueva et al., 2018a).

Hay varios estudios que han utilizado harinas de distintos cereales y pseudocereales para evaluar su comportamiento tras un MWT. En harina de arroz, Villanueva et al. (2018a) valoraron humedades iniciales del 20 y 30% a distintos tiempos de tratamiento (2,4,6 y 8 min). Observaron cambios en la estructura de las partículas, así como en la ratio entre las regiones cristalinas y amorfas, un incremento de la cristalinidad, el aumento en la temperatura de gelatinización y menores viscosidades finales. En harina de maíz, Román et al. (2015) aplicaron MWT de 400 W durante 0,5, 1, 2 y 4 minutos. Observaron también un incremento de la cristalinidad, así como la formación del complejo de amilosa-lípido, que afecta a las propiedades funcionales de la harina, como son las propiedades de empastado y térmicas, observando también aumentos en la temperatura de gelatinización. Sun et al. (2018) compararon diversos tratamientos aplicados a la harina de trigo sarraceno para lograr su pregelatinización, entre ellos la aplicación de radiación microondas a 150W durante 4 minutos. Tras el tratamiento, los autores observaron que se había producido la pregelatinización del almidón y un aumento del poder espumante y de la capacidad de hidratación respecto a la de la harina control (nativa). No vieron cambios en la estructura primaria de las proteínas. En base a estos resultados, valoraron estas harinas tratadas con una alta calidad funcional para la elaboración de noodles sin gluten.

Todos los trabajos citados anteriormente se basan en la aplicación del tratamiento microondas sobre harinas. Como alternativa, la aplicación de MWT sobre granos enteros constituye una estrategia novedosa y de gran interés con el objeto de lograr una modulación del tratamiento y posibilitar que éste sea más homogéneo.

La aplicación de tratamientos sobre granos enteros para lograr una mejora de la funcionalidad de las harinas, ha sido propuesta en la patente EEUU Nº. 3620764 (Watkins,1968) ya expirada. En dicho documento se proponía la aplicación de

tratamientos microondas de diversas intensidades y duraciones sobre granos de trigo por debajo del 20% de humedad, observando una mejora del volumen de las masas realizadas con las harinas procedentes de esos tratamientos. En la misma línea de tratamientos microondas a granos de trigo para mejorar las propiedades funcionales de las harinas se han desarrollado los estudios de Lamacchia et al. (2016) y Qu et al. (2017). En matrices sin gluten destaca el estudio de Sharanagat et al. (2019), en el cual se tratan 150g de granos de sorgo mediante microondas a distintas potencias (300, 400 y 600W) y tiempos (5,10 y 15 min). En él se observó una mejora en las propiedades funcionales, de empastado y un incremento del contenido de antioxidantes, lo cual permite que las harinas puedan ser usadas para el desarrollo de productos de panadería sin gluten funcionales y saludables.

Los escasos estudios destinados a la aplicación de radiación de microondas sobre granos para conseguir la modulación y mejora de las propiedades de las harinas se han centrado sobre todo en el trigo. Sin embargo, hasta ahora nunca se ha aplicado a granos de trigo sarraceno. El grupo de investigación en el que se ha realizado este TFM tiene una dilatada experiencia en tratamientos de harinas sin gluten por microondas, pero es el primer trabajo de aplicación a granos que realiza. Por lo tanto, el trabajo propuesto resulta novedoso y necesario para establecer las condiciones más idóneas del tratamiento en grano, como una alternativa razonable y posiblemente ventajosa frente al tratamiento de la harina, y para profundizar en el estudio de la influencia de estos tratamientos en las propiedades físicas y nutricionales de las harinas sin gluten resultantes.

## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es evaluar el impacto de los tratamientos microondas aplicados sobre granos de trigo sarraceno en las propiedades funcionales y nutricionales de las harinas resultantes.

Este objetivo principal se puede dividir en varios objetivos específicos:

- Evaluar la influencia de la humedad inicial de tratamiento de los granos en las propiedades finales de las harinas.
- Evaluar la influencia del sistema de tratamiento (cerrado / humedad constante y abierto / humedad variable) en las propiedades finales de las harinas.
- Evaluar el impacto de los distintos tratamientos en la modificación de las propiedades funcionales de las harinas resultantes.
- Evaluar el impacto de los distintos tratamientos en la modificación de las propiedades nutricionales de las harinas resultantes.

Para lograr estos objetivos, los granos de trigo sarraceno se sometieron a diversos tratamientos microondas modificando la humedad inicial y permitiendo o no que se perdiera la humedad durante el tratamiento (sistema a humedad constante y sistema a humedad variable). De estos tratamientos se molturaron los granos y obtuvieron harinas, las cuales se analizaron para evaluar las variaciones en las propiedades funcionales y nutricionales.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Materiales

En este estudio se empleó grano de trigo sarraceno entero con salvado y desprovisto de cascarilla perteneciente a la marca comercial polaca Melvit, que fue adquirido en el mercado nacional de Polonia. Su composición declarada (datos comerciales) fue de 13,4% humedad, 14,9 % proteína y 1,7 % fibra.

Para los ensayos de las propiedades funcionales se utilizó agua destilada obtenida con el equipo Milli RO de Millipore, (Madrid, España) y aceite refinado de germen de maíz Koipe Assua (Deoleo, Córbona, España).

Para los ensayos de contenido en fenoles se utilizaron reactivos de calidad mínima “para análisis”, concretamente ácido clorhídrico concentrado al 37% (HCl conc.), metanol (CH<sub>3</sub>OH), carbonato de sodio saturado (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) y ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), todos ellos de la marca Panreac (Barcelona, España); también se empleó reactivo de Folin-Ciocalteu (C<sub>10</sub>H<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>S) de Merck (Madrid, España) y ácido gálico (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>) de Sigma-Aldrich (Madrid, España).

#### 3.2. Métodos

##### 3.2.1. Determinación de la humedad

El método para determinar la humedad en el caso de las harinas fue el oficial AACC 44-19 (AACC, 2010a). Consiste en introducir 2 g de muestra en una cápsula de acero inoxidable previamente secada y atemperada. Esta muestra se seca en una estufa de secado por convección durante 1 hora a 130°C. Posteriormente se atempera 30 minutos y se calcula la humedad como la pérdida de peso en relación al peso inicial.

En el caso de la humedad de grano, se realizó una modificación del método oficial (AACC, 2010a). Esta modificación consistió en moler el grano de manera manual en mortero de cristal evitando el calentamiento de la muestra, y en aumentar el tiempo de secado a 2h debido al mayor tamaño de las partículas obtenidas con la molienda propuesta. Se comprobó que en este tiempo se obtenía peso constante de la muestra desecada.

##### 3.2.2. Obtención de las muestras tratadas

###### Preparación y acondicionamiento del grano

A partir del grano nativo de humedad 13% se preparó grano humedecido al 20, 25 y 30% (p/p). Para realizar estas humectaciones se utilizó agua destilada obtenida del equipo Milli RO de Millipore (Madrid, España). Se calculó, para cada tratamiento, la cantidad de agua necesaria para obtener los niveles de humedad deseados a partir del grano nativo. La mezcla se realizó en botes de polietileno que se mantuvieron en un sistema rotatorio durante 1h para lograr el reparto homogéneo de agua; después se almacenaron en refrigeración (4±2 °C) para equilibrar la humedad entre un mínimo de 12h y un máximo de 24 h hasta su uso.

### Tratamiento microondas

Los tratamientos se realizaron en un microondas modificado modelo R342INW (SHARP, Sakai, Japan), a potencia 900W y frecuencia 2450 MHz.

Hubo dos tipos de sistemas montados en el microondas para realizar los tratamientos:

- **Sistema a humedad variable (A):** formado por un recipiente cilíndrico de polietileno de 2L cerrado con un film plástico con pequeños agujeros realizados con una aguja para permitir la salida de la humedad durante el tratamiento.
- **Sistema a humedad constante (C):** formado por un recipiente cilíndrico de PTFE (politetrafluoroetileno o teflón) de 1L con una tapa que proporciona cierre hermético.

Ambos sistemas se mantuvieron en giro continuo mediante un equipo externo que proporcionaba una velocidad de 60-70 rpm, permitiendo así un reparto homogéneo de la radiación electromagnética.

Para ambos sistemas, se introdujeron  $50,00 \pm 0,05$  g de grano humedecido (13, 20, 25 o 30% p/p) y atemperado (aproximadamente a 25°C). Se realizó un tratamiento con una duración total de 56 minutos, en el cual se intercalaron ciclos de encendido y apagado de 10 s de exposición y 60 s de reposo, lo que supuso un tiempo de tratamiento efectivo de 8 minutos. En un ensayo preliminar se evaluó también la utilización de tiempos de 4 minutos efectivos de tratamiento. Sin embargo, tras un primer análisis de resultados se desechó esta opción al obtenerse interacciones de menor significancia estadística con el parámetro tiempo de tratamiento que con los otros dos estudiados (tipo de sistema y humedad inicial del grano), simplificando con ello el desarrollo del estudio.

Se realizaron tres tratamientos microondas para cada combinación de variables seleccionada, que se juntaron posteriormente y se molturaron mezclados, logrando así una muestra más representativa.

### Secado de los granos tratados

Tras la aplicación de cada tratamiento, exceptuando el de los granos nativos a humedad 13%, se procedió al secado de las muestras extendiéndolas en bandejas e introduciéndolas en una incubadora a 30°C durante 2 días, obteniendo con ello humedades alrededor del 10%. Posteriormente se introdujeron en tarros de plástico cerrados, manteniéndose a temperatura de refrigeración ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) hasta su molturado.

### Molturado de los granos

El molturado de los granos para la obtención de harina se realizó en un molino de piedra de la marca FIDIBUS MEDIUM. Se molturaron conjuntamente las tres repeticiones de cada tratamiento (aproximadamente 150g de muestra atemperada), con el molino ubicado en la posición más fina y realizando dos pasadas. Posteriormente se tamizaron las harinas por un tamiz de 500 $\mu\text{m}$ , eliminando las fracciones que no pasaban por el tamiz. Las harinas resultantes se introdujeron en tarros de plástico cerrados a temperatura de refrigeración ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) hasta su uso en análisis.

### **3.2.3. Propiedades funcionales de las harinas**

Las propiedades funcionales se analizaron sobre la harina de trigo sarraceno obtenida, realizando cada prueba por triplicado en cada muestra.

#### Capacidad de retención de agua (WHC - Water holding capacity)

Para determinar la capacidad de retención de agua, se añadieron 20 mL de agua destilada en tubos Falcon de 50 mL. A continuación, se pesaron  $2,00 \pm 0,01$  g de muestra en materia seca ( $M_0$ ) (se ajustó el peso en materia fresca según la humedad de la muestra) y se vertieron en el Falcon, esperando a que cayera toda la muestra al fondo. Se dejó en reposo 24 h para que absorbiera agua, tras las cuales se desechó el sobrenadante con una pipeta y se pesó la harina humedecida ( $M_f$ ). La capacidad de retención de agua se calcula como los gramos de agua retenidos por gramo de harina:

$$WHC \left[ \frac{g}{g} \right] = \frac{M_f - M_0}{M_0}$$

#### Capacidad de absorción de agua (WAC – Water absorption capacity)

Para determinar la capacidad de absorción de agua se pesaron  $2,00 \pm 0,01$  g de muestra en materia seca ( $M_0$ ) (se ajustó el peso en materia fresca según la humedad de la muestra) en tubos Falcon de 50 mL (pesados previamente, PR), añadiendo a continuación 20 mL de agua y agitando con vórtex a baja velocidad para que se mezclase. Se dejaron reposar los tubos 10 minutos, tras los cuales se agitaron con vórtex a alta velocidad durante 30 segundos. Posteriormente se centrifugaron durante 25 min a 3000g. Se desechó el sobrenadante y se pesó el tubo con la muestra (PT). Se calculó el WAC como los gramos de agua retenidos por gramo de harina:

$$WAC \left[ \frac{g}{g} \right] = \frac{(PT - PR) - M_0}{M_0}$$

#### Índice de absorción de agua (WAI – Water absorption index), índice de solubilidad de agua (WSI – Water solubility index) y poder de hinchamiento (SP – Swelling power)

Para determinar el WAI, WSI y SP, se pesaron  $2,00 \pm 0,01$  g de muestra en materia seca ( $M_0$ ) (se ajustó el peso en materia fresca según la humedad de la muestra) en tubos Falcon de 50 mL (pesados previamente, PR), se añadió a continuación 20 mL de agua y se agitó con vórtex. Se calentaron las muestras al baño maría durante 15 minutos, tras los cuales se dejaron atemperar. Cuando se alcanzó la temperatura ambiente se centrifugaron durante 10 min a 3000g. El sobrenadante se volcó sobre cápsulas previamente pesadas (PC), y se introdujeron en la estufa 24h a 110°C, tiempo tras el cual se anotó el peso (PSL). Por otro lado, se pesó el tubo Falcon con el sedimento (PS). Los índices se calcularon del siguiente modo:

$$WAI \left[ \frac{g}{g} \right] = \frac{PS - PR}{M_0}$$

$$WSI \left[ \frac{g}{100g} \right] = \frac{PSL - PC}{M_0}$$
$$SP \left[ \frac{g}{g} \right] = \frac{PS - PR}{M_0 - (PSL - PC)}$$

Actividad emulsionante (EA – Emulsifying activity) y estabilidad de la emulsión (ES – Emulsion stability)

Para determinar las propiedades emulsionantes se utilizó el método descrito por Naczk et al. (1985). Este consistió en introducir  $7,00 \pm 0,01$  g de materia seca de cada muestra (PM) en vasos de precipitados de 250 mL y 100 mL de agua destilada, mezclando manualmente con varilla de vidrio hasta que se dispersara. Después se añadieron 100 mL de aceite de maíz y se mezcló durante 1 minuto a 1000 rpm en un homogeneizador Ultra-Turrax, modelo T25 digital de la marca IKA (Staufen, Alemania). A continuación, se pasó la mezcla a 4 tubos Falcon de 50 mL, añadiendo unos 45 mL (VT) a cada uno. Se centrifugó a 1300 g durante 5 minutos y se hizo lectura del volumen de la capa de emulsión ( $VE_1$ ).

Para poder obtener la ES, se calentaron los tubos en un baño de agua a  $80^\circ\text{C}$  durante 30 minutos, tras los cuales se dejaron atemperar otros 30 min. Pasado este tiempo se volvió a centrifugar 5 minutos a 1300g, apuntando después el volumen de emulsión ( $VE_{80}$ ).

La EA y la ES se calcularon del siguiente modo:

$$EA [\%] = \frac{VE_1}{VT} \cdot 100$$
$$ES [\%] = \frac{VE_{80}}{VT} \cdot 100$$

Capacidad de formación de espuma (FC – Foam capacity) y estabilidad de la espuma (FS – Foam stability)

Para determinar la capacidad que tiene la muestra para formar espuma (FC) y la estabilidad de la espuma formada (FS), se utilizó el siguiente método.

Se vertieron en probetas 30 mL de agua destilada calentada previamente en baño termostático a  $30^\circ\text{C}$ . Sobre el agua se vertió cuidadosamente  $1,5 \text{ g} \pm 0,01$  g de materia seca de muestra (PM), dejando que cayera al fondo y apuntando el volumen total inicial ( $VT_1$ ). A continuación, se batió la muestra usando un espumador durante 30 s y se apuntó el volumen total final ( $VF_0$ ) y el volumen de espuma ( $VE_0$ ). Se dejó reposar 60 minutos y se volvió a medir el volumen total ( $VF_{60}$ ) y el volumen de espuma ( $VE_{60}$ ).

LA FC y FS se calcularon como:

$$FC \left[ \frac{ml}{g} \right] = \frac{VE_0}{PM}$$
$$FS [\%] = \frac{VE_{60}}{VE_0} \cdot 100$$



### **3.2.4. Propiedades de empastado de las harinas**

Las propiedades de empastado de las harinas se determinaron usando un reómetro Kinexus Pro+ (Malvern Instruments Ltd, Malven, Reino Unido) equipado con el accesorio para medida de almidón (35 mm diameter 2 blade paddle (M4)) siguiendo el método Standard 276-21.01 (AACC,2010b) pero modificando el tiempo de meseta a 3,5 minutos en lugar de 5 minutos, quedando establecido el procedimiento de la siguiente manera: tras un reposo de 1 min a 50°C, se calentaron las muestras hasta 95°C a ritmo de 12,16°C/min, manteniéndose 3,5 min a 95°C; posteriormente se enfriaron hasta 50°C a ritmo de 8,3°C/min. Una vez alcanzados los 50°C tras el enfriamiento, las muestras se mantuvieron durante 2 minutos a esta temperatura.

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

Las muestras se analizaron por duplicado.

### **3.2.5. Comportamiento reológico de los geles**

Las propiedades reológicas se estudiaron a partir de los geles resultantes de la medida de las propiedades de empastado.

Se realizaron conjuntamente y por duplicado ensayos dinámicos oscilatorios de barrido de esfuerzos y barrido de frecuencias para caracterizar los geles. Estos ensayos se realizaron con un reómetro Kinexus Pro+ (Malvern Instruments Ltd, Malven, Reino Unido), equipado con una geometría de placas paralelas y superficie serrada de 40 mm de diámetro, y con una separación de 1 mm entre las placas.

El gel obtenido de la prueba de empastado se colocó, justo después de obtenerlo, entre las placas, llevando posteriormente éstas a la separación previamente indicada. Se dejó un tiempo de reposo antes de comenzar el test para que el gel bajase a la temperatura de 25°C y se permitiera además la relajación del gel para disipar las tensiones residuales normales características de los materiales viscoelásticos cuando se deforman. La temperatura se controló y mantuvo a 25°C durante los ensayos mediante un módulo Peltier KNX2002 C25P, apoyado por un baño de recirculación KNX2002 de la misma casa comercial que el reómetro.

El ensayo de barrido de esfuerzos se realizó en el rango de 0,1 a 1000 Pa a una frecuencia constante de 1 Hz. El resultado de este ensayo permitió establecer la región viscoelástica lineal (LVR) mediante la localización del esfuerzo máximo ( $\tau_{max}$ ) que es

capaz de soportar la estructura del gel antes de romperse (al producirse un descenso del módulo elástico  $G'$  y el aumento de  $\tan \delta$ ).

A continuación, se realizó el barrido de frecuencias, en el intervalo de 10 Hz hasta 1 Hz, con una deformación constante del 1%. Los módulos elástico ( $G'$ ) y viscoso ( $G''$ ) y la tangente del ángulo de desfase ( $\tan \delta$ ), obtenidos en los barridos de frecuencias, se ajustaron a las ecuaciones potenciales descritas por Ronda et al. (2014):

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

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

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

Los coeficientes  $G'_1$  y  $G''_1$  y  $(\tan \delta)_1$ , representan, respectivamente, los módulos elástico y viscoso, y la tangente de pérdida a la frecuencia de 1 Hz. Los parámetros “a”, “b” y “c” representan constantes experimentales que cuantifican el grado de dependencia de estos módulos y de la tangente de pérdida con la frecuencia angular,  $\omega$  ( $\text{rad}^{-1}$ ).

El módulo complejo ( $G^*$ ) se obtiene a partir de  $G'$  y  $G''$ :

$$G^* = (G'^2 + G''^2)^{\frac{1}{2}}$$

### 3.2.6. Color de las harinas

El color de las harinas se midió mediante el colorímetro PCE-CSM5 (Tobarra, Albacete) y el software CQCS3. Para realizar la medición se usó el espacio de color CIELAB, definido por la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE), con un iluminante patrón D65 y observador  $10^\circ$ . Se midieron los valores de  $L^*$  (luminosidad de 0 (negro) a 100 (blanco)), y las coordenadas cromáticas  $a^*$  (de verde (-) a rojo (+)) y  $b^*$  (de azul (-) a amarillo (+)). Los valores de tono ( $h$ ) y saturación ( $C^*$ ) se obtuvieron a partir de las coordenadas CIELAB mediante las formulas:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}}$$

$$h = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

Además, se calculó la diferencia de color ( $\Delta E^*$ ) de las muestras tratadas respecto al control de la siguiente forma:

$$\Delta E^* = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{\frac{1}{2}}$$

Para tomar las mediciones se colocó la harina en un cilindro con 2 cm de diámetro y 1 cm de espesor, y se realizaron 6 repeticiones por muestra, cambiando la harina entre medición y medición.

### **3.2.7. Difracción de rayos X**

El ensayo de difracción se realizó usando un difractómetro Bruker-D8-Discover-A25 (Bruker AXS, Rheinfelden, Alemania) equipado con tubo de cobre operando a 40kV y 40mA, con radiación Cu-K $\alpha$  ( $\lambda=0,154$  nm). Los difractogramas de las muestras se obtuvieron escaneando en un ángulo  $2\theta$  de  $5^\circ$  a  $40^\circ$ . Los parámetros de proceso establecidos fueron: ritmo de  $1,2^\circ/60s$ , tamaño de paso del escaneo de  $0,02^\circ$ , ancho de corte de divergencia variable de 5 mm y un ancho de corte de dispersión de  $2,92^\circ$ , y un filtro de níquel de 0,02 para excluir la radiación K $\beta$ .

La cristalinidad de las muestras se determinó a partir de los difractogramas basándose en la relación entre el área global de los picos y al área reducida de picos asignada a la parte cristalina de la muestra, expresando el resultado como un porcentaje. Para este proceso se utilizó el software "searchmatch" (búsqueda de coincidencias) de DifracEVA con PDF2-2004 y la base de datos Crystallography Open Database.

### **3.2.8. Contenido de compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos se determinaron según el método de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999), basado en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm.

Para realizar la determinación, en primer lugar, se extrajeron los fenoles de la harina de trigo sarraceno con una solución 1:80:10 (v:v:v) de HCL concentrado : metanol : agua, sugerida por Gao et al. (2002). El proceso consistió en pesar  $0,5g \pm 0,01$  g de harina y añadirlo a un tubo Falcon de 15 ml. Se preparó la solución A, 1:80:10 (v:v:v) de HCL concentrado : metanol : agua de la cual se añadieron 4 ml a cada tubo Falcon. Se homogeneizó la muestra en un vórtex y se colocó en un baño en agitación durante 2h a  $25^\circ C$ . Transcurrido este tiempo, se centrifugaron los tubos a 3500g durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se vertió en otro tubo Falcon y reservó en refrigeración. Se repitió este mismo proceso desde la adición de la solución A sobre el residuo restante en el Falcon, obteniendo un segundo sobrenadante. El volumen total obtenido de muestra se enrasó a 10 ml en un matraz aforado, y se reservó en refrigeración. Las extracciones se realizaron por duplicado.

Para poder medir el contenido en fenoles, se preparó una curva de calibración de ácido gálico con concentraciones de 0,1 a 0,8 g/L. Para la medida se añadió en un tubo de ensayo, en este orden, 1,58 mL de agua destilada, 100  $\mu L$  de reactivo de Folin-Ciocalteu (en dilución 1:10) y 20  $\mu L$  de extracto (o dilución de ácido gálico para la curva de calibración, o de solución A para los blancos). A continuación, se añadieron 300  $\mu L$  de una disolución saturada de  $Na_2CO_3$ , se homogeneizó y se llevó a un baño a  $40^\circ C$  durante 30 minutos para que se desarrollase el color. Por último, se midieron las absorbancias en espectrofotómetro Lambda 25 UV/VIS (Perkin Elmer, Massachusetts, United States) a 765 nm. Se obtuvo la ecuación correspondiente a la curva de calibración y con ello se calculó la concentración de compuestos fenólicos.

### **3.2.9. 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 sistema utilizado (abierto o cerrado) y la humedad inicial de tratamiento (13, 20, 25 o 30%). En este análisis se excluyó la muestra control.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

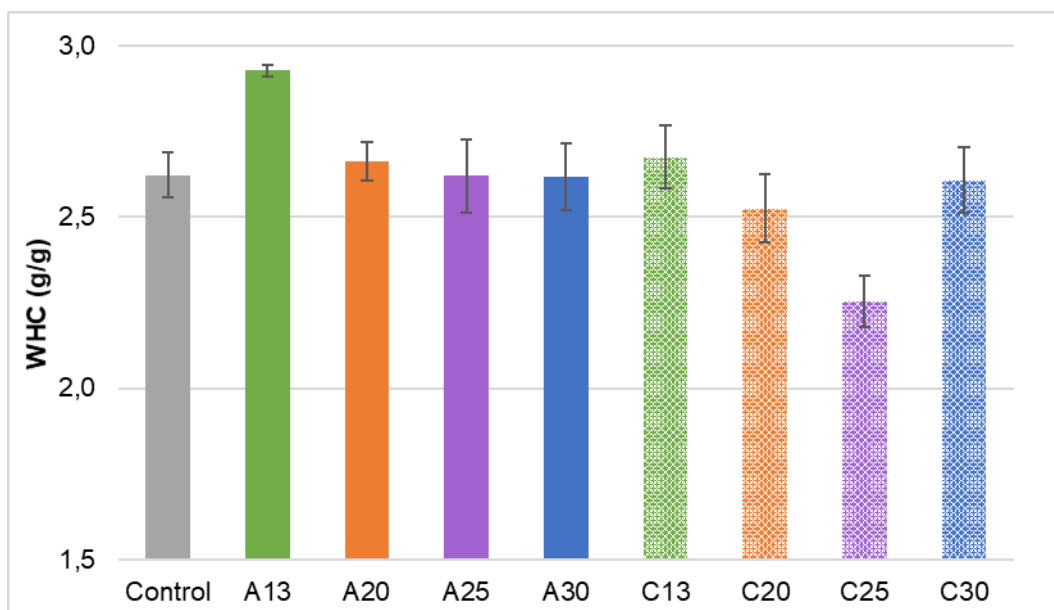
### 4.1. Propiedades funcionales de las harinas

Las propiedades funcionales de las harinas obtenidas tras los tratamientos microondas, así como de la muestra control sin tratar, se recogen en las Figuras 2, 3, 4 y 5 y en la Tabla 1. En la misma tabla se presentan los resultados del ANOVA, que permiten concluir el efecto de los factores de estudio y de su interacción. La humedad inicial de los granos tratados (13, 20, 25 y 30%), ejerció un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre todas las propiedades estudiadas. El sistema de tratamiento aplicado (A o C) también ejerció un efecto significativo sobre las propiedades funcionales, excepto en los parámetros relacionados con la capacidad de hidratación y solubilidad del gel (WAI, SP y WSI). La interacción humedad\*sistema también resultó tener un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre todas las propiedades medidas, a excepción del WSI. Esto significa que el tratamiento en abierto o cerrado (humedad variable o constante) de los granos tiene un efecto diferente en las propiedades funcionales según la humedad de los mismos durante el tratamiento.

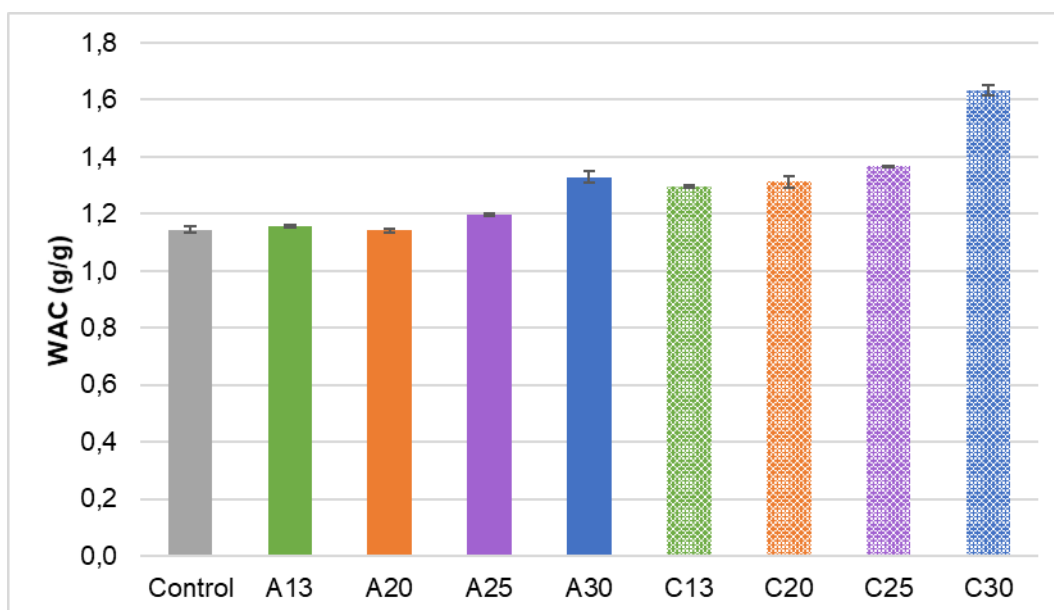
**Tabla 1.** Propiedades funcionales de las muestras de harina obtenidas a partir de granos de trigo sarraceno tratados con radiación microondas.

Sistema	Humedad	WHC (g/g)	WAC (g/g)	WAI (g/g)	WSI (g/100g)	SP (g/g)	EA (%)	ES (%)	FC (ml/g)	FS (%)
Control		2,63 bc	1,15 a	9,04 de	4,64 a	9,48 d	56 e	11 d	0,67 bc	67 ab
A	13%	2,93 d	1,16 a	8,86 cd	5,09 bc	9,33 cd	56 e	6 c	0,67 bc	100 b
	20%	2,67 bc	1,14 a	9,60 g	5,07 bc	10,11 f	44 c	6 c	0,67 bc	100 b
	25%	2,62 bc	1,20 b	9,07 e	4,74 a	9,52 d	44 c	2 b	0,89 c	78 ab
	30%	2,62 bc	1,33 d	7,91 a	4,65 a	8,30 a	6 b	0 a	0,11 a	na
C	13%	2,68 c	1,30 c	9,32 f	5,18 c	9,83 e	46 d	32 e	0,78 c	89 b
	20%	2,53 b	1,32 cd	9,01 de	4,86 ab	9,47 d	6 b	6 c	0,44 b	50 a
	25%	2,26 a	1,37 e	8,46 b	4,80 a	8,89 b	4 b	0 a	0,00 a	na
	30%	2,61 bc	1,64 f	8,70 c	4,77 a	9,14 c	2 a	0 a	0,00 a	na
SE		0,05	0,01	0,06	0,08	0,07	6	4	0,07	12
<b>Análisis de varianza y significancia (p-valores)</b>										
Humedad		<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Sistema		<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,734	0,740	0,729	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>
Humedad *Sistema		<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,095	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,015</b>

Sistema A = Abierto (humedad variable), C= Cerrado (humedad constante). WHC: Capacidad de retención de agua; WAC: capacidad de absorción de agua; WAI: índice de absorción de agua; WSI: índice de solubilidad de agua; PS: poder de hinchamiento; EA: actividad emulsionante; ES: estabilidad de la emulsión; FC: capacidad de formación de espuma; FS: estabilidad de la espuma; na: no aplica al no presentarse espuma. SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para el mismo parámetro implican diferencias significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ). En el análisis de varianza y significancia se resaltan en negrita los p-valores  $< 0,05$ , que indican que los efectos son significativos con un nivel de confianza  $> 95\%$  (para su cálculo no se usan los valores de muestra control).



**Figura 2.** Capacidad de retención de agua (WHC) de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema abierto (A) y sistema cerrado (C) cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento.



**Figura 3.** Capacidad de absorción de agua (WAC) de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema abierto (A) y sistema cerrado (C) cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento.

La **capacidad de retención de agua (WHC)** es la capacidad de la harina para absorber y retener agua en condiciones de reposo y sin realizar una separación forzada de las dos fases para la determinación. No se observó una tendencia clara de este parámetro en función de los factores de estudio. Sólo se observaron diferencias significativas

( $p < 0,05$ ) frente al control para el tratamiento en el sistema abierto (humedad variable) con 13% de humedad inicial (A13), en el cual se observó un aumento del WHC, y para el sistema cerrado (humedad constante) al 25% de humedad inicial (C25) en el cual se redujo.

La **capacidad de absorción de agua** (WAC) es la capacidad de la harina para absorber y retener agua tras una centrifugación que obliga a la separación forzada de las dos fases. El valor del WAC, de forma similar al WHC, depende de la estructura del almidón, el grado de asociación para formar puentes de hidrógeno entre las cadenas de almidón, las fuerzas internas que controlan la estructura del gránulo y la disponibilidad de espacios para la retención del agua (Gani et al., 2017).

Se observó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) del WAC con el tratamiento de los granos (excepto para los tratamientos A13 y A20) siendo el aumento más acusado a mayores humedades iniciales y en el sistema cerrado. El WAC llegó a aumentar hasta un 16% en sistema abierto y hasta un 43% en cerrado para humedades del 30%. Este incremento en el WAC puede ser debido a las altas temperaturas alcanzadas en el tratamiento, que se vieron muy afectadas por el sistema utilizado, siendo mayores en el sistema cerrado (entre 100 y 150°C) al poder alcanzar mayor presión dentro del sistema (el sistema cerrado no permite expulsar el agua que evapora del grano, lo que lleva a mayores presiones internas). En el sistema abierto se alcanzaron menores temperaturas debido que la presión durante el tratamiento es la atmosférica y el agua puede evaporarse a menor temperatura; en estos casos se obtuvieron temperaturas entre 80 y 100 °C, sin una tendencia clara en su relación con la humedad inicial.

Villanueva et al. (2018b) observaron también incrementos en el WAC de hasta un 117% al realizar tratamientos microondas a 900W durante 32 minutos en ciclos 20s ON / 40s OFF a almidones de arroz y patata humedecidos previamente al 30%. La mayor capacidad para absorber agua la asociaron principalmente al aumento de almidón dañado debido a las altas temperaturas alcanzadas durante el tratamiento y al colapso de la estructura interna del gránulo.

Sharanagat et al. (2019) observaron incrementos del WAC en granos de sorgo (humedad 11,56%) tratados con microondas a distintas potencias (300, 450 y 600W) y tiempos (5, 10 y 15 minutos) respecto a los granos sin tratar, aunque no detectaron un efecto significativo dependiente de las condiciones de tratamiento (potencia y tiempo). Estos autores asociaron estos incrementos al desarrollo de una estructura porosa y al almidón dañado formado durante el tratamiento.

El incremento de la WAC observado en las harinas de trigo sarraceno tratado por microondas se podría deber a que estos tratamientos pueden incrementar la afinidad de las harinas por el agua, debido al desarrollo de una estructura porosa y a los daños causados en el almidón y, quizás, a una gelatinización parcial del mismo durante el tratamiento microondas (Jogihalli y Sharanagat, 2017; Sharanagat et al., 2019; Villanueva et al., 2018b).

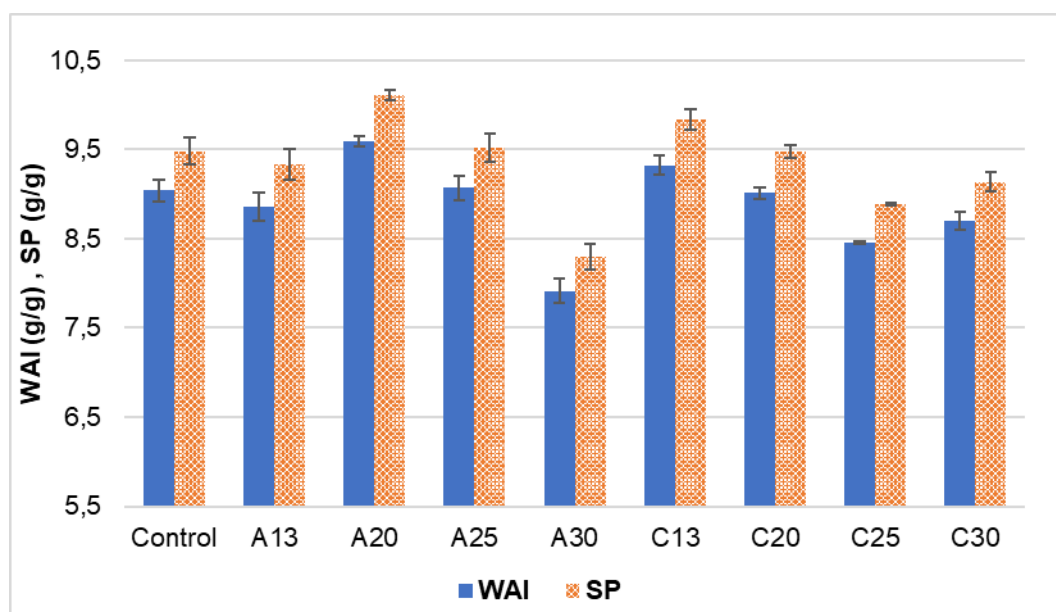


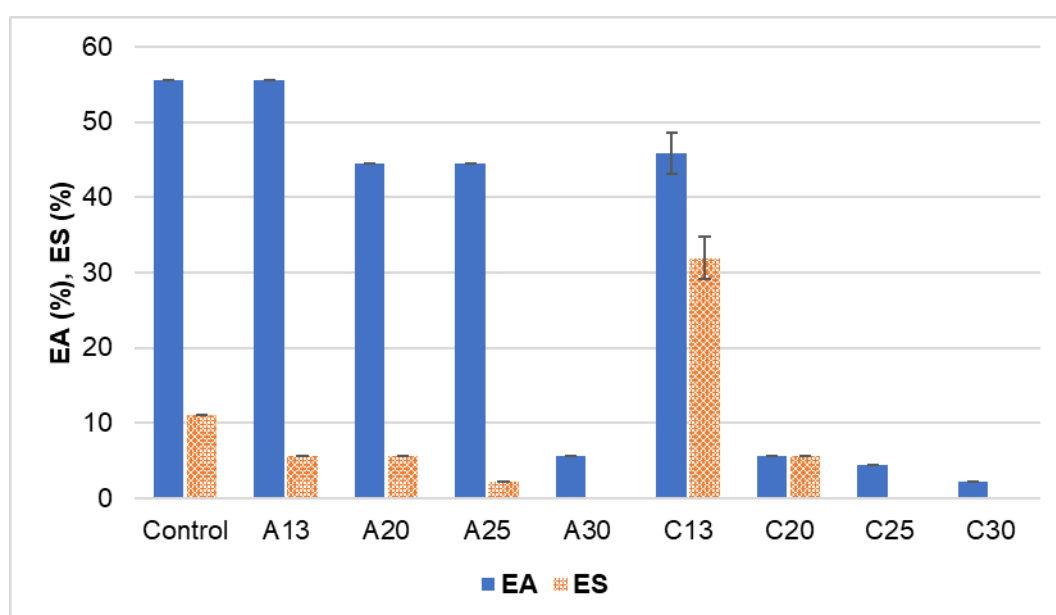
Figura 4. Índice de absorción de agua (WAI) y poder de hinchamiento (SP) de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema abierto (A) y sistema cerrado (C) cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento.

El **índice de absorción de agua (WAI)** da idea de la capacidad de absorción de agua de una harina durante su gelatinización. El WAI depende de la presencia y disponibilidad de grupos hidrofílicos y también de la capacidad de formación de geles. El **índice de solubilidad de agua (WSI)** está relacionado con la cantidad de sólidos que se ponen en disolución durante la gelatinización del almidón. Se suele usar como un indicador de la degradación de las moléculas de almidón y de la dextrinización (Jogihalli y Sharanagat, 2017). También es un parámetro de medición del grado de conversión del almidón durante el tratamiento térmico, que refleja la cantidad de polisacárido soluble liberado del gránulo de almidón (Jogihalli y Sharanagat, 2017). El **poder de hinchamiento (SP)** es indicador del grado de interacción entre las cadenas de almidón dentro de los dominios amorfo y cristalino del gránulo de almidón. El WAI y el SP están influenciados por el contenido de amilosa, el peso molecular de las moléculas de amilosa y amilopectina, los grupos fosfato, los patrones de viscosidad, y las fuerzas de unión entre las moléculas de amilosa y amilopectina (Gani et al., 2017).

La humedad del grano al inicio del tratamiento fue el factor de mayor influencia sobre el WAI, WSI y SP de las harinas, mientras que el uso de uno u otro sistema no influyó significativamente ( $p > 0,05$ ) sobre estos parámetros. La interacción humedad\*sistema sí fue significativa para el WAI y SP. Para las muestras analizadas, se vio una relación en la evolución del WAI, WSI y SP en los diferentes tratamientos realizados. Los tratamientos realizados a mayores humedades (A30, C25 y C30) provocaron una disminución del WAI y SP (12, 6 y 3% respectivamente, para ambos parámetros) mientras que el WSI se mantuvo constante a esas humedades. Para los tratamientos a menores humedades (A20 y C13) se vio un ligero aumento en los tres parámetros; mientras que en el resto de tratamientos no hubo diferencias significativas. La



disminución del WAI y SP para tratamientos microondas con humedad del 30%, fue previamente observado por Villanueva et al. (2018b) para muestras de harina arroz, atribuyendo esta bajada al incremento de la cristalinidad y las interacciones entre las moléculas de amilosa y amilopectina que fortalecían los enlaces intermoleculares, la formación de complejos amilosa-lípidos y la reordenación de la región cristalina que ocurrían como consecuencia del tratamiento HMT. Resultados diferentes obtuvieron Jogihalli y Sharanagat (2017) tratando garbanzos enteros, previamente humedecidos, con microondas a diversas potencias y tiempos, reportando un aumento del WAI y una disminución del WSI que fue superior cuanto mayor fue el tiempo de tratamiento. Parece que el efecto del tratamiento sobre estos parámetros está condicionado por la humedad del tratamiento como demuestran los resultados opuestos obtenidos en nuestro estudio en función de la humedad.



**Figura 5.** Actividad emulsionante (EA) y estabilidad de la emulsión (ES) de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema abierto (A) y sistema cerrado (C) cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento.

La **actividad emulsionante** (EA) indica la máxima cantidad de aceite que es capaz de emulsionar la proteína de la harina, mientras que la **estabilidad de la emulsión** (ES) indica la capacidad de las proteínas para mantener la película formada en la interfaz aceite-agua ante la aplicación de un estrés, en nuestro caso, de un tratamiento térmico seguido de una centrifugación. La capacidad de las proteínas de la harina para la formación de una emulsión estable bajo un grado variable de estrés es un criterio importante para su aplicación en diversos alimentos, como postres congelados y pasteles (Bhinder et al., 2020). En general, la actividad emulsionante de las proteínas se ve afectada por su masa molar, hidrofobicidad, estabilidad de la estructura, carga y factores fisicoquímicos como el pH, la fuerza iónica y la temperatura. La solubilidad

también juega un papel importante, ya que las proteínas altamente insolubles no son buenos emulsionantes y pueden generar coalescencia (Thang y Ma, 2009).

El incremento de la humedad inicial de tratamiento provocó una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) de la actividad emulsionante, hasta llegar a perder prácticamente por completo esta capacidad para humedades del 30%. Además, este descenso fue más acusado en el sistema cerrado. Esto puede explicarse por el hecho de que en el recipiente cerrado el grano conservó su humedad inicial durante todo el tratamiento. La estabilidad de la emulsión presentó reducciones significativas ( $p < 0,05$ ) respecto al control para todos los tratamientos excepto para C13 que aumentó un 188%. A pesar de la ligera disminución experimentada en la actividad emulsionante de la harina obtenida tras el tratamiento C13, ésta manifestó una elevada capacidad para la obtención de emulsiones estables, que resultó ser muy superior a la mostrada por la harina nativa de trigo sarraceno.

El mayor efecto en las variaciones de las propiedades emulsionantes de las harinas tratadas viene dado por el efecto del tratamiento térmico sobre la estructura y propiedades de las mismas. Los tratamientos más intensos pudieron desnaturalizar las proteínas anulando su funcionalidad emulsionante, mientras que tratamientos suaves pueden desplegarlas acrecentando su poder emulsionante.

Khan et al. (2011) estudiaron las propiedades emulsionantes de las proteínas del salvado de arroz estabilizado con varios métodos, entre ellos tratamiento microondas a humedad 21% durante 3 min. Después se separaron las proteínas para realizar los análisis. Se observó un incremento de la actividad emulsionante y de la estabilidad de la emulsión del 6 y 8%, respectivamente. Asociaron la mayor actividad emulsionante a el despliegue parcial de la estructura de la proteína, que expone las unidades hidrofóbicas y facilita la interacción de las proteínas con solventes no polares y la resistencia a la floculación de las gotas de aceite, aumentando con ello la estabilidad general de la emulsión.

Runyon et al. (2015) evaluaron el efecto de un tratamiento térmico (vapor a 102°C durante 50 min más secado a 110 – 120 °C durante 50 min) en las proteínas solubles de la avena. Observaron reducciones en el porcentaje de proteína soluble, el ratio de proteínas monoméricas a proteínas agregadas y proteínas hexámeras de globulina. Concluyeron que la reducción en el contenido de proteína soluble podía resultar de la menor solubilidad de las proteínas debido a la desnaturalización durante el tratamiento térmico. Por lo tanto, el tratamiento térmico podría afectar la funcionalidad de las proteínas de avena solubles y sus usos en diversas aplicaciones. Por ejemplo, un aumento en los dominios de las fracciones de globulina poco solubles, es decir, un aumento de los residuos de aminoácidos hidrófobos en la avena tratada térmicamente, podría ser una explicación de las pobres propiedades emulsionantes de esta matriz alimentaria.

Thang y Ma (2009) estudiaron el efecto de tratamientos térmicos (a 95°C a distintos tiempos: 15, 30, 60 y 120 min) sobre la proteína de judías. Observaron un incremento gradual de la EA y ES llegando al máximo en el tratamiento de 30 min y después disminuyendo gradualmente a mayores tiempos. Atribuyeron la mejora de las propiedades emulsionantes con el tratamiento térmico al incremento de la superficie hidrofóbica y la flexibilidad debido a la desnaturalización térmica. Pero a mayores

tiempos de tratamiento asociaron las peores propiedades emulsionantes a la disminución de la solubilidad de las proteínas y su agregación inducida por el calor, así como a la disminución de la flexibilidad como resultado del reordenamiento estructural de las proteínas desplegadas.

Las transformaciones experimentadas por la fracción proteica de las harinas de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos enteros tratados con microondas podrían ser la causa de los resultados obtenidos en este estudio. De esta manera, la reducción experimentada en la EA y la ES podría estar asociada a la disminución en la solubilidad de las proteínas, acompañada por un aumento en su estado de agregación y una pérdida de su flexibilidad que sería de mayor intensidad conforme mayor es la humedad de grano previamente al tratamiento y en sistemas cerrados, debido a las mayores temperaturas y presión alcanzadas.

La **capacidad de formación de espuma** (FC) depende de la capacidad de las proteínas para crear una película alrededor de las burbujas de aire, la cual es cohesiva en una suspensión durante el batido. La **estabilidad de la espuma** (FS) está influenciada por la capacidad de esta película cohesiva para mantener la suspensión de burbujas de aire, resistir el drenaje del líquido y evitar la coalescencia de las burbujas. Estas propiedades son importantes porque ayudan a determinar la relación harina / proteína adecuada en sistemas de alimentos aireados como son los productos horneados, mousses y helados (Bhinder et al., 2020).

Las harinas de trigo sarraceno estudiadas mostraron una baja capacidad de formación de espuma, aunque una vez formada, ésta presentó elevada estabilidad. Se observó una disminución de FC con tratamientos realizados a mayores humedades iniciales, siendo ésta más acusada para el sistema cerrado.

Jogihalli y Sharanagat (2017) reportaron también la disminución de la capacidad espumante para garbanzos enteros, previamente humedecidos, tratados con microondas a diversas potencias y tiempos. La capacidad espumante de las muestras fue menor a mayor tiempo de tratamiento; además también se vio reducida la estabilidad de la espuma de manera significativa para todos los tratamientos.

La baja FC de las harinas tratadas puede atribuirse a una reducción en los aminoácidos apolares, a un cambio en su polaridad o desnaturalización, y a la disociación de la proteína constituyente (Sharanagat et al., 2019). Estas modificaciones pudieron haber resultado más intensas en los tratamientos realizados en sistemas cerrados y a elevada humedad, probablemente debido al mayor incremento de la temperatura durante el tratamiento MWT.

## 4.2. Propiedades de empastado de las harinas

Las curvas de empastado sirven para constatar los fenómenos moleculares que ocurren en los gránulos de almidón durante un ciclo de calentamiento y enfriamiento, de tal manera que permitan comparar el comportamiento que van a tener las harinas durante el cocinado y su posterior enfriamiento (Villanueva et al., 2018a). En este ensayo el

almidón de la harina, en exceso de agua y con calor, se va hidratando en las regiones amorfas del grano, aumentando el estrés entre las regiones amorfas y cristalinas. El hinchamiento de los gránulos de almidón provoca un incremento elevado de la viscosidad cuando se alcanza la temperatura de gelatinización, y se forma una pasta. La viscosidad sigue aumentando hasta que el gránulo se rompe debido a la tensión elevada entre las regiones amorfas y cristalinas. La amilosa se difunde fuera del grano solubilizándose y formando una fase continua, mientras que la amilopectina queda en el gránulo formando la fase dispersa. En este punto se produce una disminución de la viscosidad. Posteriormente, durante el enfriamiento, se produce la retrogradación, fenómeno en el que se unen las moléculas de amilosa mediante puentes de hidrógeno, precipitando y formando un gel. Esto supone un incremento de la viscosidad.

Las curvas de empastado de las harinas de trigo sarraceno obtenidas tras los diferentes tratamientos microondas, así como de la muestra control, se representan en la Figura 6. Los parámetros de empastado quedan definidos en la Tabla 2. Las curvas viscométricas obtenidas mostraron la evolución típica de la viscosidad durante un ciclo de calentamiento/enfriamiento programado para harinas de trigo sarraceno según el método establecido, pero con las diferencias que se comentan a continuación.

**Tabla 2.** Propiedades de empastado de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas.

Sistema	Humedad	PT (°C)	PV (mPa·s)	PM (s)	TR (mPa·s)	BR (mPa·s)	FV (mPa·s)	ST (mPa·s)
<b>Control</b>		74,5 bc	3007 e	707 a	3001 e	7 a	5723 ef	2722 cd
<b>A</b>	<b>13%</b>	74,1 b	3192 g	713 a	3190 g	2 a	5815 f	2625 c
	<b>20%</b>	74,1 b	3085 ef	714 a	3079 ef	6 a	5823 f	2744 cd
	<b>25%</b>	74,7 c	2981 e	717 a	2981 e	0 a	5571 de	2586 c
	<b>30%</b>	75,5 d	2645 c	716 a	2642 c	3 a	4878 c	2234 b
<b>C</b>	<b>13%</b>	73,4 a	3165 fg	716 a	3165 fg	0 a	6020 g	2855 d
	<b>20%</b>	74,7 c	2835 d	714 a	2834 d	2 a	5444 d	2610 c
	<b>25%</b>	76,5 e	2505 b	716 a	2505 b	0 a	4662 b	2157 b
	<b>30%</b>	78,4 f	1358 a	716 a	1358 a	0 a	2494 a	1137 a
<b>SE</b>		0,2	35	4	35	3	50	51

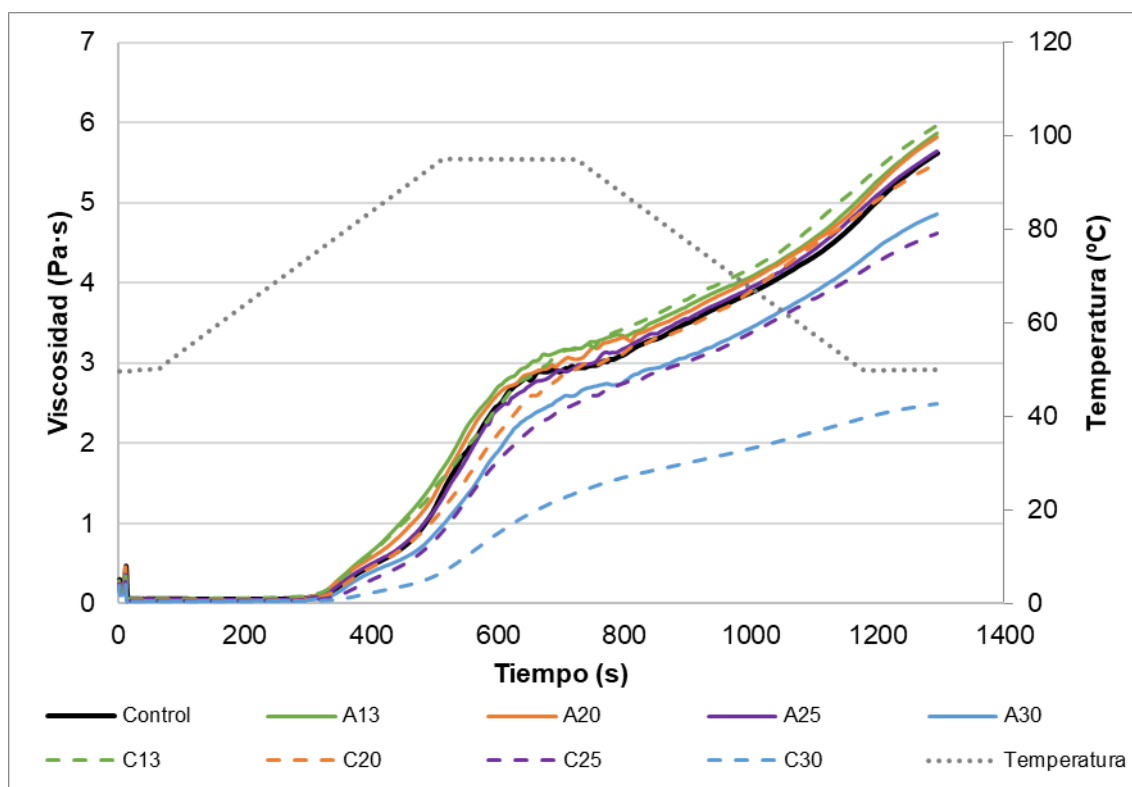
  

Análisis de varianza y significancia (p-valores)							
<b>Humedad</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,704	<b>0,000</b>	0,508	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Sistema</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,738	<b>0,000</b>	0,180	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Humedad* Sistema</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,818	<b>0,000</b>	0,821	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>

Sistema A = Abierto (humedad variable), C= Cerrado (humedad constante). 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. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para el mismo parámetro implican diferencias significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ). En el análisis de varianza y significancia se resaltan en negrita los p-valores  $< 0,05$ , que indican que los efectos son significativos con un nivel de confianza  $> 95\%$  (para su cálculo no se usan los valores de muestra control).

En general, en las harinas obtenidas de los granos tratados por microondas se observó un incremento de la temperatura de empastado, y una reducción de las viscosidades de pico y final, y de la retrogradación, respecto a la harina control. Este comportamiento fue más acusado al realizar tratamientos microondas a mayores humedades y en el sistema cerrado (a humedad constante). Estas modificaciones se pueden explicar debido a que durante el tratamiento hidrotérmico se producen cambios en la cristalinidad del gránulo de almidón, así como asociaciones entre las cadenas en la región amorfa del mismo (Villanueva et al., 2018a; Zavareze y Dias, 2011).

La **temperatura de empastado** se vio modificada con respecto al control en varios tratamientos de manera significativa ( $p < 0,05$ ). Esta variable fue dependiente tanto del sistema empleado para el tratamiento como de la humedad inicial del grano. Para el sistema cerrado a humedad 13% (C13) la temperatura de empastado se redujo en 1°C, mientras que para los tratamientos más intensos (a mayor humedad) (A30, C25 y C30) se incrementó 1, 2 y 4 °C, respectivamente. Liu et al. (2015) también observaron aumentos de la temperatura de gelatinización al realizar tratamientos HMT a humedades altas sobre almidón de trigo sarraceno. Estos autores indicaron que el tratamiento HMT mejoraba la termoestabilidad de esta matriz y limitaba la gelatinización del almidón en estos sistemas.



**Figura 6.** Curvas de empastado de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema Abierto (A) y sistema cerrado (C), cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento. El perfil de temperatura se representa en el segundo eje.

El valor de la **viscosidad de pico** varió significativamente ( $p < 0,05$ ) entre tratamientos. En ambos sistemas destacaron los tratamientos realizados con humedades del 13%, en los cuales se incrementó esta variable en un 6% para abierto y 5% para cerrado; a humedades mayores la viscosidad de pico fue disminuyendo progresivamente hasta llegar a ser inferior al control; así, la viscosidad de pico disminuyó respecto al control en el siguiente orden: Control > C20 (-6%) > A30 (-12%) > C25 (-17%) > C30 (-55%). Un comportamiento similar se pudo observar también en el estudio de Sharanagat et al. (2019) en granos de sorgo a humedad nativa (11,5%). Para tratamientos a baja potencia (300W) estos autores observaron un incremento en la viscosidad pico, mientras que para tratamientos a mayores potencias (450 y 600 W) observaron una disminución de esta viscosidad, que además fue proporcional al tiempo de tratamiento empleado.

Como se puede observar en la Figura 6, las curvas viscométricas de la harina de trigo sarraceno no presentan la forma típica en harinas de cereal, con un pico claro y una caída de viscosidad en la meseta de temperatura a 95°C. En estas harinas, las curvas presentan un cambio de pendiente en la zona de la meseta, pero no se observa una caída, resultando nulo o prácticamente despreciable el parámetro el *breakdown* (BR). Por ello, la viscosidad de pico que se asigna a estas muestras coincide con la máxima viscosidad que se obtiene para todas las muestras al final de la fase de calentamiento, antes de la bajada de temperatura. El tiempo y temperatura de pico, coincide, por lo tanto, para todas las muestras. Este comportamiento es característico de muestras de harinas que manifiestan una elevada estabilidad durante el calentamiento y la agitación (Zavareze y Dias, 2011).

La **viscosidad final** para los tratamientos en sistemas abiertos no varió significativamente ( $p < 0,05$ ) con respecto al control, excepto para la humedad del 30%, donde se redujo un 15%. En los sistemas cerrados se vieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) para todas las humedades, teniendo un comportamiento diferenciado entre la harina tratada con una humedad del 13%, en la cual se vio un aumento del 5%, y el resto de las harinas con humedades del 20, 25 y 30%, en las cuales disminuyó un 5, 19 y 56% respectivamente. La disminución de la viscosidad final pudo ser debida a un acortamiento de las cadenas de amilopectina y una reducción en la polimerización de la amilosa y amilopectina durante los tratamientos (Sharanagat et al., 2019).

La **retrogradación** disminuyó para los tratamientos a mayores humedades, con un máximo de un 58% para C30. La disminución de la retrogradación se puede explicar por la generación de nuevas interacciones entre las cadenas de amilosa-amilosa y amilopectina-amilosa como consecuencia de la aplicación de dichas condiciones de tratamiento, y la consiguiente reducción de la lixiviación de la amilosa (Liu et al., 2015). Esta disminución supone una menor sinéresis y una menor retrogradación posterior del almidón (Sharanagat et al., 2019), lo cual puede mejorar el comportamiento de la harina y aumentar sus aplicaciones potenciales (Liu et al., 2015).

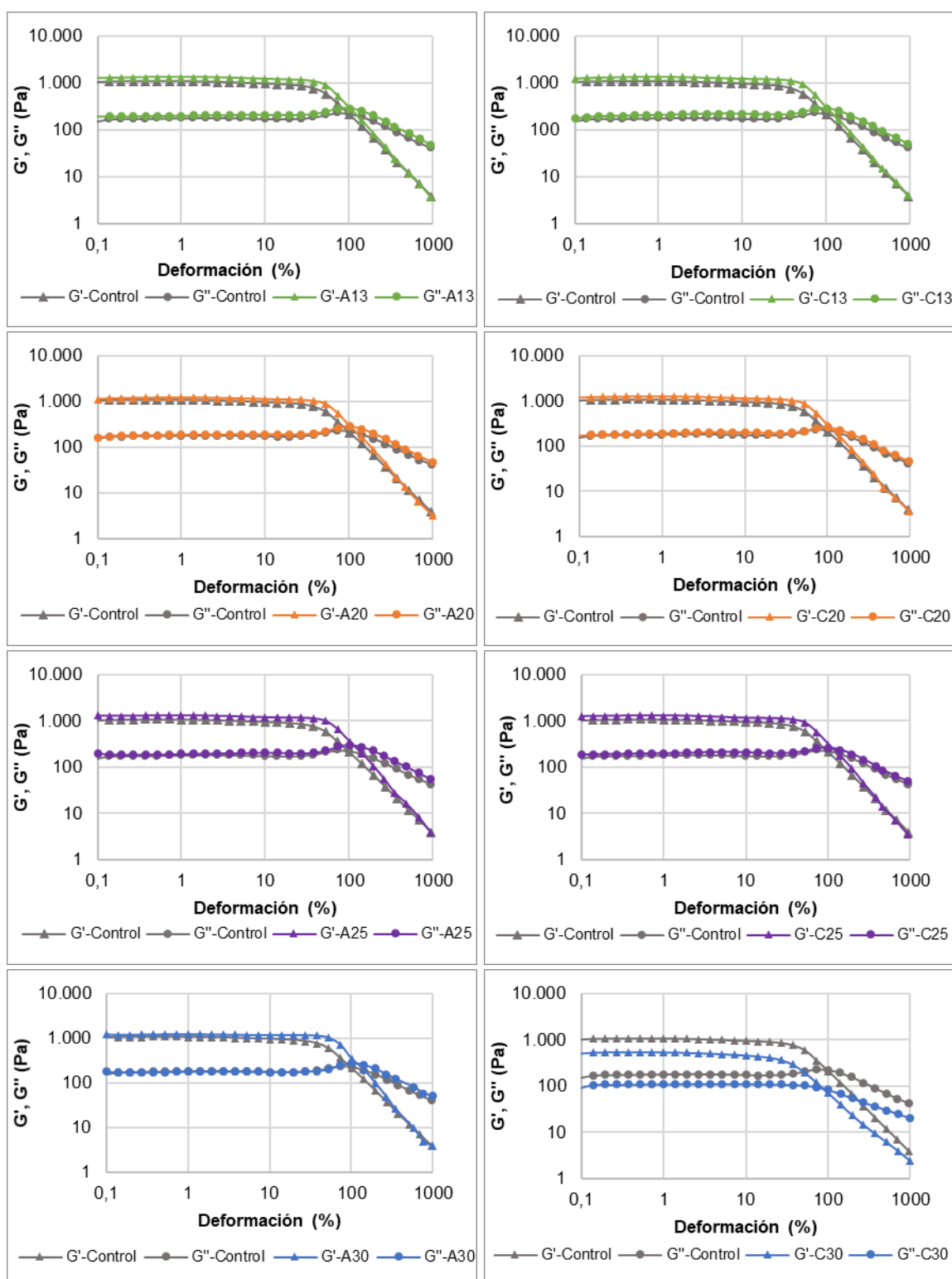
### 4.3. Comportamiento reológico de los geles

Los resultados de la realización de ensayos reológicos fundamentales: barridos de deformación y barrido de frecuencias, de los geles obtenidos a partir de las harinas de trigo sarraceno obtenidas tras los diferentes tratamientos microondas, así como de la muestra control, se recogen en la Tabla 3. En la misma tabla se presentan los resultados del ANOVA. Puede observarse que tanto la humedad inicial de los granos tratados, como el sistema de tratamiento aplicado, como su interacción, ejercieron un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) sobre todos los parámetros reológicos analizados, excepto sobre el parámetro "a". La Figura 7 recoge los barridos de deformación de las muestras obtenidas tras los tratamientos de microondas y se comparan con los de la harina control (sin tratar).

**Tabla 3.** Comportamiento reológico de los geles obtenidos de las muestras de harina de trigo sarraceno producidas a partir de granos tratados con radiación microondas.

Sistema	Humedad	$G_1'$ (Pa)	a	$G_1''$ (Pa)	b	$(\tan \delta)_1$	c	$G_1^*$ (Pa)	Punto de cruce ( $G' = G''$ ) (Pa)	$\tau_{max}$ (Pa)
Control		1019 b	0,075 e	174 b	0,231 c	0,171 d	0,156 a	1034 b	334 b	244 b
A	13%	1216 d	0,057 cd	196 d	0,213 ab	0,161 c	0,156 a	1232 d	414 cd	416 cde
	20%	1116 c	0,054 bcd	178 bc	0,226 c	0,159 bc	0,172 b	1130 c	406 cd	387 c
	25%	1205 d	0,044 ab	184 c	0,214 b	0,153 ab	0,170 ab	1219 d	443 d	414 cd
	30%	1152 c	0,044 ab	174 bc	0,206 ab	0,151 a	0,162 ab	1165 c	436 cd	441 de
C	13%	1249 d	0,048 abc	201 d	0,212 ab	0,161 c	0,164 ab	1265 d	433 cd	448 e
	20%	1141 c	0,045 abc	180 bc	0,214 b	0,158 bc	0,169 ab	1155 c	387 bc	386 c
	25%	1149 c	0,037 a	184 bc	0,205 a	0,160 c	0,169 ab	1163 c	391 cd	401 c
	30%	491 a	0,062 d	103 a	0,254 d	0,209 e	0,192 c	502 a	117 a	85 a
SE		16	0,004	3	0,003	0,002	0,005	16	18	10
<b>Análisis de varianza y significancia (p-valores)</b>										
Humedad		<b>0,000</b>	<b>0,040</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,044</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Sistema		<b>0,000</b>	0,542	<b>0,000</b>	<b>0,012</b>	<b>0,000</b>	<b>0,042</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
Humedad*Sistema		<b>0,000</b>	<b>0,021</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,035</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>

Sistema A = Abierto (humedad variable), C= Cerrado (humedad constante).  $G_1'$ : Coeficiente de ajuste de la curva de evolución de  $G'$  frente a la frecuencia a la ley de la potencia, y que representa el valor del módulo elástico a 1Hz;  $G_1''$ : Coeficiente de ajuste de la curva de evolución de  $G''$  frente a la frecuencia a la ley de la potencia, y que representa el valor del módulo viscoso a una frecuencia de 1Hz;  $(\tan \delta)_1$ : El coeficiente de ajuste que representa la tangente de pérdida a 1Hz; a, b, c: son los exponentes de los ajustes de  $G'$ ,  $G''$  y  $\tan \delta$ , a la ley de la potencia y representan el grado de variación de dichas propiedades viscoelásticas con la frecuencia;  $G_1^*$ = Modulo complejo a una frecuencia de 1Hz; Punto de cruce: Esfuerzo en el punto de cruce, en que  $G' = G''$ ;  $\tau_{max}$ : esfuerzo máximo. SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para el mismo parámetro implican diferencias significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ). En el análisis de varianza y significancia se resaltan en negrita los p-valores  $< 0,05$ , que indican que los efectos son significativos con un nivel de confianza  $> 95\%$ .



**Figura 7.** Ensayo de barrido de deformación de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema Abierto (A) y sistema cerrado (C), cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara cada tratamiento con un control sin tratamiento.  $G'$ : módulo elástico,  $G''$ : módulo viscoso.



Del ensayo de barrido de deformación se estableció la región viscoelástica lineal (LVR), y se localizaron a partir de la máxima deformación los valores correspondientes de esfuerzo máximo ( $\tau_{max}$ ) que soportaban los geles antes de romper su estructura. Fuera de la zona viscoelástica lineal, a esfuerzos superiores a  $\tau_{max}$ , se produjo el descenso de los módulos elástico,  $G'$ , y viscoso,  $G''$ , mientras que la tangente de pérdida,  $\tan \delta$ , aumentó hasta el punto de cruce de las curvas  $G'$  y  $G''$  ( $G' = G''$ , o punto de cruce), donde  $\tan \delta=1$ . Para esfuerzos inferiores al punto de cruce el valor del módulo elástico fue superior al del módulo viscoso, lo cual demuestra un comportamiento predominante elástico en las muestras analizadas (Villanueva et al., 2018b). Para esfuerzos mayores a los del punto de cruce, los valores del módulo viscoso fueron mayores que los del módulo elástico, lo que supone un incremento del comportamiento viscoso con el aumento del esfuerzo. Los valores de  $\tau_{max}$  aumentaron respecto al control para todas las muestras (entre un 59 y un 84%) excepto en la muestra C30, en que se redujo un 65%. El incremento de  $\tau_{max}$  indica que se trata de unos geles que tienen una estructura más resistente. El valor del esfuerzo en el punto de cruce ( $G' = G''$ ), también denominado esfuerzo de flujo (o *yield stress*), también aumentó significativamente su valor respecto al control para todas las muestras excepto para la C20, en que no hubo variación significativa y para la C30 en que disminuyó un 65%.

Del ensayo de barrido de frecuencias, se obtuvieron los coeficientes  $G_1'$  (módulo elástico),  $G_1''$  (módulo viscoso),  $(\tan \delta)_1$  (tangente de pérdida a una frecuencia de 1 Hz) así como los exponentes “a”, “b” y “c”, que cuantifican la variación de estos módulos dinámicos con la frecuencia tras el ajuste de las curvas a un modelo potencial. A partir de  $G_1'$  y  $G_1''$  también se calculó  $G_1^*$  (módulo complejo equivalente a la frecuencia de 1 Hz). El módulo elástico  $G_1'$  se incrementó significativamente respecto al control para todos los tratamientos excepto para C30, que se redujo en un 52%. Además, el parámetro “a”, que indica la dependencia del módulo elástico con la frecuencia angular, disminuyó significativamente para todos los tratamientos respecto al control, lo que indica geles más estables (Villanueva et al., 2019). El módulo viscoso  $G_1''$  se vio afectado en menor medida que el módulo elástico por los tratamientos. Sólo se observaron diferencias significativas frente al control en la muestra C30 (reducción del 7%) y muy ligeras diferencias en las muestras A13, A 25 y C13 (con aumentos del 1 al 3%). Además, el parámetro “b”, que indica la dependencia del módulo viscoso con la frecuencia angular, disminuyó significativamente para todos los tratamientos respecto al control, excepto en la muestra A20 que no mostró diferencias significativas y en C30 que aumentó. La mayor variación en el módulo elástico que en el módulo viscoso tras un tratamiento microondas, fue ya observada por Villanueva et al. (2018b) en almidones de arroz y patata, así como su reflejo en una caída de la tangente de pérdida, que supone un refuerzo del carácter elástico de los geles. El módulo complejo  $G_1^*$  es una medida de la resistencia que opone el gel a la deformación. Se incrementó respecto al control para todos los tratamientos, excepto para C30 que se redujo un 100%.

Como se puede deducir de los resultados anteriores, se apreció un comportamiento reológico muy diferente entre los geles elaborados con las harinas obtenidas tras el

tratamiento C30 y los geles de las harinas obtenidas a partir de la muestra control y del resto de tratamientos. En C30 se observó una elevada disminución del módulo elástico, del módulo viscoso y del módulo complejo, así como del esfuerzo máximo y del esfuerzo de cruce. Esto pudo ser debido a que la muestra C30 experimentó una pregelatinización parcial del almidón durante el tratamiento resultando en una menor rigidez del gel debido al colapso parcial de la estructura de los gránulos de almidón (Zavareze y Dias, 2011). Esto explicaría también su menor perfil viscosimétrico en el ensayo RVA.

En el resto de tratamientos se observó que cuando subió  $G'$  aumentó también  $G^*$ ,  $\tau_{\max}$  y el esfuerzo en el punto de cruce y bajó el exponente "a" y  $\tan \delta$ . Con lo comentado anteriormente sobre estas variaciones se puede confirmar que los geles obtenidos con las harinas de granos tratados (excepto C30) mostraron una consistencia moderadamente mayor dando geles más estables y con mayor componente elástica. Esta mejora de la consistencia se puede atribuir al incremento de los enlaces entre las cadenas de almidón en la zona de la amilosa, lo que permite más uniones en la fase continua del gel incrementando su dureza (Zavareze y Dias, 2011).

#### 4.4. Color de las harinas

La variación en los parámetros de color de las harinas de trigo sarraceno obtenidas tras los diferentes tratamientos microondas, así como el color de la muestra control, se representan en la Tabla 4. En esta tabla también se incluye la diferencia de color ( $\Delta E$ ) de cada muestra tratada respecto a la muestra control y se presentan los resultados del estudio ANOVA, que permiten concluir el efecto de los factores de estudio y de su interacción. La humedad inicial de los granos tratados (13, 20, 25 y 30%) y el sistema de tratamiento aplicado (A o C) ejercieron un efecto significativo ( $p < 0,05$ ), tanto de manera individual como su interacción, sobre todos los parámetros de color estudiados. El diagrama de color  $a^*b^*$ , donde se recogen las coordenadas cromáticas de las harinas estudiadas, queda representado en la Figura 9. Además, en la Figura 8 se presentan imágenes de los granos de trigo sarraceno y de las harinas tratadas y control para mostrar el aspecto de los mismos antes y después del tratamiento.

Los resultados mostraron ligeras modificaciones en la luminosidad ( $L^*$ ) de las harinas, reduciéndose este parámetro (lo que indica un oscurecimiento de la harina) fundamentalmente en las muestras tratadas en sistemas cerrados, y de una forma más acusada cuanto mayor fue la humedad del grano durante el tratamiento. El valor de las coordenadas  $a^*$  y  $b^*$ , siempre positivos, indica que todas las muestras se encontraron en el primer cuadrante del diagrama cromático, correspondiente a los tonos que van del rojo al amarillo. El parámetro  $a^*$  (de verde (-) a rojo (+)), experimentó un aumento en todos los tratamientos respecto al control. En el sistema abierto este incremento aumentó con la humedad de tratamiento, desde un 21%, para la muestra A13, hasta un 34%, para la A30. En el sistema cerrado se observó también esta tendencia, con un incremento máximo del 60% para C30. El parámetro  $b^*$  (de azul (-) a amarillo (+)) no siguió una tendencia clara, incrementándose ligeramente para los tratamientos A13 y A25; y reduciéndose para A30, C20 y C25. El incremento en el color rojo (mayor  $a^*$ ) se había observado previamente para tratamientos microondas a granos de trigo sarraceno

(Sun et al., 2018) y granos de sorgo (Sharanagat et al., 2019). Estos autores lo asociaron a la formación de pigmentos marrones en las reacciones de Maillard y de caramelización, y a la oxidación térmica de los polifenoles. Las mayores diferencias de color fueron observadas en la parte externa de los granos de trigo sarraceno tratados, resultando menos evidentes en las harinas tras la molienda, lo que podría confirmar que estas reacciones se produjeron mayoritariamente en el salvado, que es además la parte del grano con mayor contenido en polifenoles.

**Tabla 4.** Coordenadas del espacio de color CIELAB de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas.

Sistema	Humedad	L*	a*	b*	C*	h	$\Delta E$
<b>Control</b>		77,3 d	2,21 a	8,84 de	9,1 c	76,0 g	
<b>A</b>	<b>13%</b>	77,6 d	2,68 b	9,07 f	9,5 d	73,5 f	1,2 ab
	<b>20%</b>	77,9 d	2,70 b	8,99 ef	9,4 d	73,2 ef	0,9 a
	<b>25%</b>	76,2 c	2,83 c	9,11 f	9,5 d	72,7 e	1,5 bc
	<b>30%</b>	77,5 d	2,96 d	8,44 c	8,9 c	70,7 c	1,2 ab
<b>C</b>	<b>13%</b>	77,9 d	2,95 cd	9,03 ef	9,5 d	71,9 d	1,3 ab
	<b>20%</b>	75,8 c	2,70 b	7,73 a	8,2 a	70,7 c	1,9 c
	<b>25%</b>	73,8 b	3,02 d	7,94 b	8,5 b	69,2 b	3,7 d
	<b>30%</b>	71,8 a	3,53 e	8,73 d	9,4 d	68,0 a	5,6 e
<b>SE</b>		0,4	0,04	0,07	0,1	0,2	0,2

<b>Análisis de varianza y significancia (p-valores)</b>						
<b>Humedad</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Sistema</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
<b>Humedad*Sistema</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>

Sistema A = Abierto (humedad variable), C= Cerrado (humedad constante). L\*, a\*, b\*: coordenadas de color CIELAB; C\*: saturación; h= tono;  $\Delta E$ =diferencia de color respecto al control. SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para el mismo parámetro implican diferencias significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ). En el análisis de varianza y significancia se resaltan en negrita los p-valores  $< 0,05$ , que indican que los efectos son significativos con un nivel de confianza  $> 95\%$  (para su cálculo no se usan los valores de muestra control).

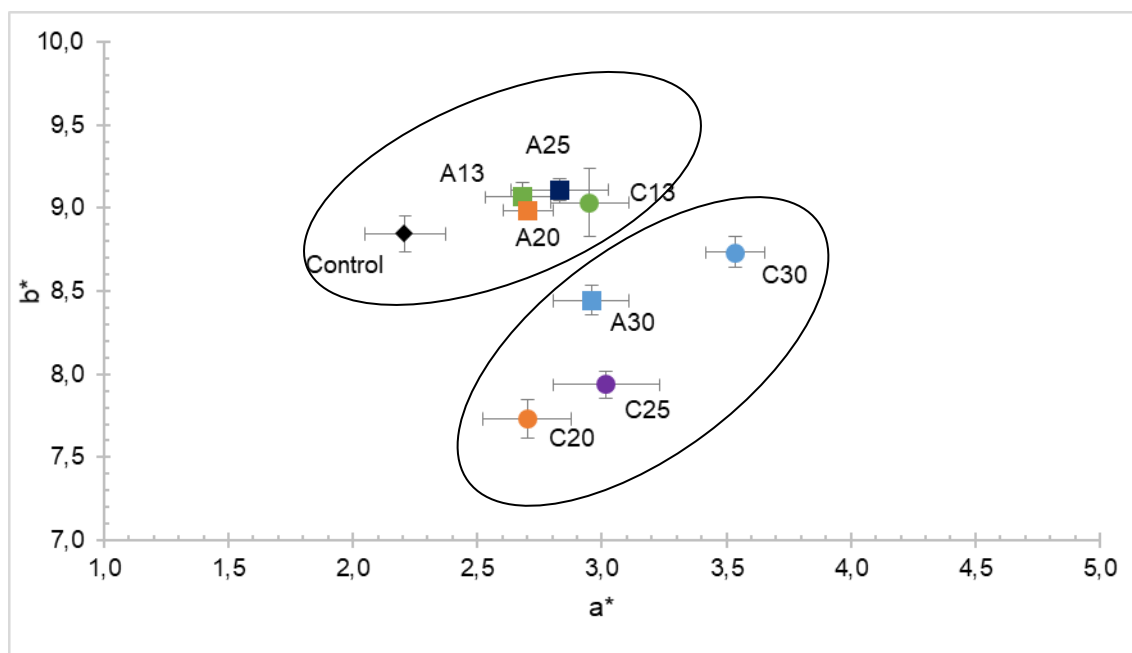
Los valores de tono (h) y saturación (C\*) presentaron también diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con el control. La saturación se vio incrementada en todos los tratamientos excepto para A30 que no se modificó, y para C20 y C25 que disminuyó. El tono disminuyó en todos los tratamientos, siendo más importante esa disminución en ambos sistemas al incrementar la humedad inicial de tratamiento. Esta disminución del tono supone un mayor color rojo, más o menos saturado según el valor C\* correspondiente.

A pesar de que se produjeron cambios significativos ( $p < 0,05$ ) en el color, se valoró si estos eran perceptibles para el ojo humano. Para ello se calculó la diferencia de color ( $\Delta E$ ) entre la harina control y las harinas tratadas. Si este parámetro es mayor de 5 indica una diferencia visual perceptible para el ojo humano. En las muestras tratadas

solo se obtuvo un  $\Delta E$  mayor de 5 para el tratamiento C30, por lo que se confirmó como la única muestra con cambio de color visualmente perceptible tras el tratamiento.



**Figura 8.** Imágenes de los granos (izquierda) y las harinas (derecha) de los diferentes tratamientos realizados con radiación microondas en sistema Abierto (A) y sistema cerrado (C) cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento.



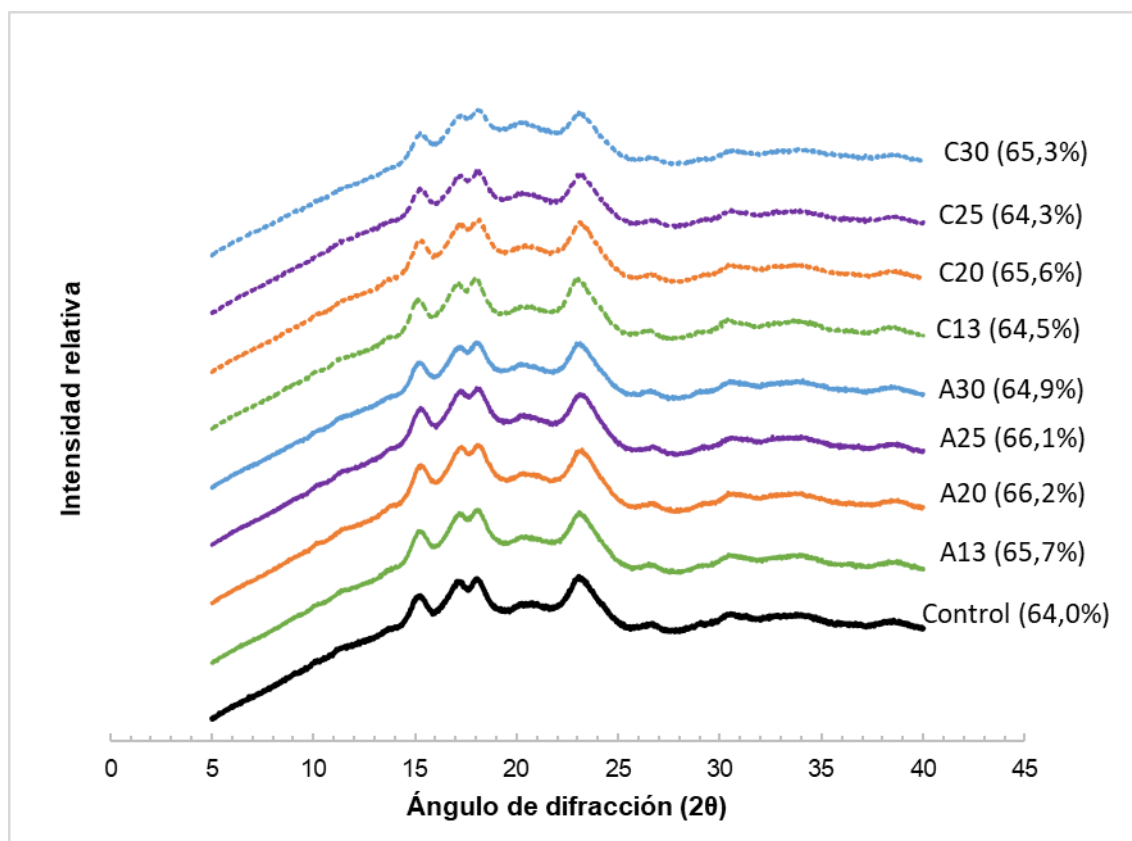
**Figura 9.** Diagrama cromático  $a^*b^*$  del espacio de color CIELAB de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en los sistemas A (Abierto) y C (cerrado) a distintas humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%), así como la muestra control sin tratamiento.

#### 4.5. Difracción de rayos X

Los patrones de difracción de rayos X y la cristalinidad de las harinas de trigo sarraceno obtenidas tras los diferentes tratamientos microondas, así como de la muestra control, se representan en la Figura 10. Además, se incluye un detalle en la Figura 11 de la zona en la que se presentan los picos (entre  $12^\circ$  y  $26^\circ$ ), mostrando su intensidad en el sistema abierto y en el sistema cerrado a las distintas humedades de tratamiento en relación con el control, sin tratamiento.

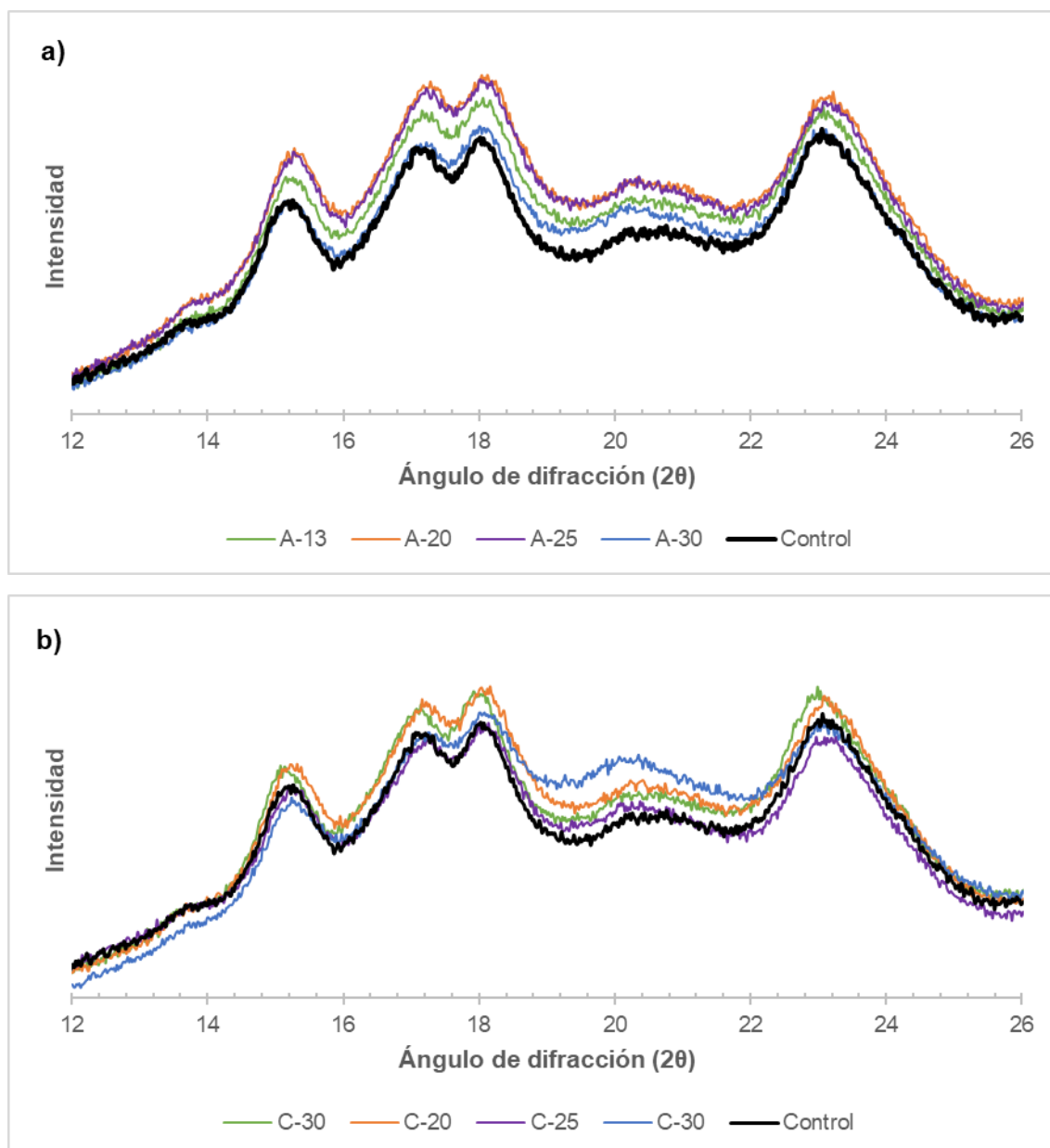
La harina de trigo sarraceno presentó un patrón de difracción tipo A, con picos a  $15^\circ$ ,  $17^\circ$ ,  $18^\circ$  y  $23^\circ$ , que se mantuvieron tras el tratamiento. No obstante, aunque el patrón de difracción no cambiara, sí lo hizo la intensidad de los picos. La intensidad de todos los picos mencionados aumentó excepto para los tratamientos A30, C25 y C30; en los cuales algunos picos no se modificaron y otros presentaron disminución en la intensidad. Esta conservación del patrón de difracción, pero con un aumento en la intensidad de los picos tras la aplicación de tratamientos microondas fue observada previamente en harina de arroz (Villanueva et al., 2018a) y harina de maíz (Román et al., 2015).

En todas las harinas procedentes de granos tratados, se observó un incremento en la reflexión a  $20^\circ$ , que está relacionada con la cristalinidad tipo V. Estos incrementos pueden ser debidos a un incremento del complejo amilosa-lípido, y fueron ya observados por Román et al. (2015) y Villanueva et al. (2018a).



**Figura 10.** Patrones de difracción de rayos X y cristalinidad (entre paréntesis) de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema Abierto (A) y sistema cerrado (C) cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento.

Los tratamientos microondas provocaron un incremento de la cristalinidad de las muestras, aunque no se vio una tendencia clara en relación al sistema ni a la humedad de tratamiento. Los mayores incrementos se produjeron para A20 y A25, con un 3,4% y 3,3%, respectivamente respecto a la muestra control. Las diferencias en la cristalinidad pueden ser debidas al tamaño de los cristales, el número de regiones cristalinas que son influenciadas por el contenido en amilopectina y la longitud de sus cadenas, la orientación de las dobles hélices dentro el área cristalina, y el grado de interacción entre las dobles hélices (Zavareze y Dias, 2011). Sun et al. (2014) observaron cambios en la cristalinidad de harinas y almidones de sorgo tras tratamientos HMT, incrementando la cristalinidad a menores humedades de tratamiento y decreciendo a mayores. Relacionaron el incremento de cristalinidad con modificaciones en las áreas cristalinas debido a la formación de nuevos cristales o la reordenación de las regiones cristalinas del gránulo de almidón. Las disminuciones en cristalinidad las relacionaron con la rotura de los cristales del almidón y/o cambios en la orientación de los cristales debido a una gelatinización parcial y al movimiento de la doble hélice durante el tratamiento HMT. La combinación de los efectos mencionados podrían ser la causa del incremento de la cristalinidad en mayor o menor medida en las muestras de harina de trigo sarraceno tratadas con radiación microondas.



**Figura 11.** Detalle del patrón de difracción de rayos X (entre 12 y 26°) de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en a) sistema Abierto (A) y b) sistema cerrado (C); cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento en ambos casos.

#### 4.6. Contenido de compuestos fenólicos

El contenido en compuestos fenólicos de las harinas de trigo sarraceno obtenidas tras los diferentes tratamientos microondas, así como de la muestra control, se recogen en la Tabla 5 y la Figura 12. Tras la realización del ANOVA de los resultados relativos al contenido de compuestos fenólicos se observó un efecto significativo ( $p < 0,05$ ) tanto del sistema de tratamiento como de la humedad inicial de las muestras, y también de la interacción de ambos factores.

**Tabla 5.** Contenido en compuestos fenólicos de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas.

Sistema	Humedad	Polifenoles (mg eq ác. gálico/100g MS harina)
<b>Control</b>		469 d
<b>A</b>	<b>13%</b>	492 d
	<b>20%</b>	408 c
	<b>25%</b>	400 bc
	<b>30%</b>	415 c
<b>C</b>	<b>13%</b>	403 c
	<b>20%</b>	400 bc
	<b>25%</b>	366 b
	<b>30%</b>	319 a
<b>SE</b>		13
<b>Humedad</b>		<b>0,000</b>
<b>Sistema</b>		<b>0,000</b>
<b>Humedad*Sistema</b>		<b>0,008</b>

Sistema A = Abierto (humedad variable), C= Cerrado (humedad constante). SE: Error estándar agrupado obtenido de ANOVA. Los valores medios con letras minúsculas diferentes para el mismo parámetro implican diferencias significativas entre las medias ( $p < 0,05$ ). En el análisis de varianza y significancia se resaltan en negrita los p-valores  $< 0,05$ , que indican que los efectos son significativos con un nivel de confianza  $> 95\%$  (para su cálculo no se usan los valores de muestra control).

En las muestras tratadas se observó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) de los polifenoles con respecto a la harina control, excepto para aquella obtenida en el tratamiento A13 que no tuvo diferencias significativas.

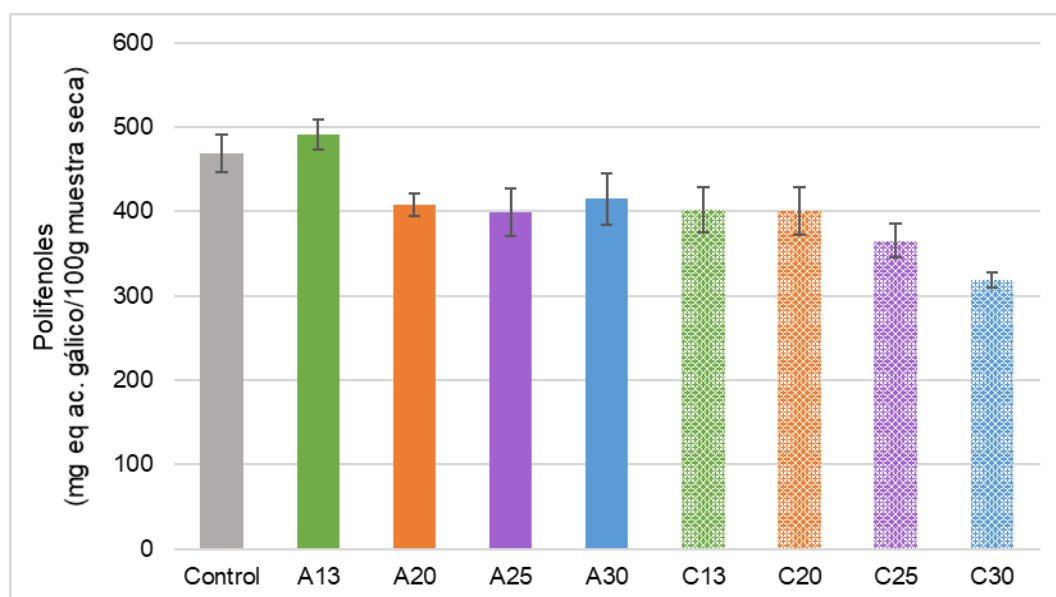
Diversos trabajos científicos realizados con anterioridad han arrojado resultados similares a los obtenidos en el presente estudio. Zhang et al. (2010) trataron harina de trigo sarraceno mediante microondas a 700W durante 10 min y observaron una disminución del contenido en polifenoles; Baba et al. (2016) constataron también una disminución de estos compuestos para harina de cebada tratada con radiación microondas. Estos autores asociaron la disminución del contenido en fenoles a una alteración en su estructura molecular, lo cual puede conducir a una disminución en la capacidad de extracción de estos compuestos debido al mayor grado de polimerización.

Por el contrario, Sharanagat et al. (2019) observaron un incremento en los polifenoles totales en granos de sorgo tratados por microondas y Jogihalli et al. (2017) observaron en garbanzos tratados con microondas un incremento en los compuestos fenólicos, que resultó mayor cuanto mayor fue la potencia microondas usada. Estos autores asociaron este incremento de polifenoles a una mayor extracción de fenoles inducida por la generación de calor durante el tratamiento, lo que produciría rotura de algunos constituyentes celulares liberando compuestos fenólicos ligados; también atribuyeron los resultados a una degradación de los taninos hidrolizables a compuestos fenólicos más pequeños, así como a la generación de reacciones de Maillard que contribuyen al



incremento de este parámetro pues dan compuestos que reaccionan también con el reactivo de Folin.

La diferencia en la evolución del contenido de compuestos fenólicos totales tras el tratamiento microondas parece estar relacionada con la naturaleza de la matriz sometida a tratamiento. El sorgo y garbanzo se caracterizan por tener menor contenido en polifenoles, por lo que la disminución de los mismos como consecuencia del tratamiento podría verse enmascarada por la aparición de los compuestos que se generan tras la reacción de Maillard. Por el contrario, los granos de trigo sarraceno y cebada presentan mayor cantidad de compuestos fenólicos, por lo que la disminución de los mismos tras el tratamiento MWT podría ser cuantitativamente más importante, no pudiendo ser enmascarada por los productos generados por las reacciones de Maillard. Asimismo, la creciente disminución del contenido en compuestos fenólicos conforme aumenta la humedad inicial del grano, también podría estar modulada por los compuestos generados en las reacciones de Maillard, relacionados con cambios en el color de las harinas, lo que podría explicar que la harina sometida al tratamiento A13 mantuviera su contenido en compuestos fenólicos respecto al control.



**Figura 12.** Contenido en polifenoles de las muestras de harina de trigo sarraceno obtenidas a partir de granos tratados con radiación microondas en sistema Abierto (A) y sistema cerrado (C) cada uno a diferentes humedades iniciales (13, 20, 25 y 30%). Se compara con un control sin tratamiento.

## 5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio han permitido constatar que el tratamiento microondas de granos de trigo sarraceno ejerce un efecto significativo en las harinas resultantes, modificando sus propiedades funcionales y nutricionales. La humedad inicial de los granos y el tipo de sistema utilizado en el tratamiento [cerrado (humedad constante) o abierto (humedad variable)] ejercieron un efecto significativo sobre los resultados obtenidos, no siguiendo la misma tendencia en las distintas propiedades estudiadas. Por este motivo, la selección de las condiciones de tratamiento debería realizarse en cada caso particular en función del producto sin gluten que se desee elaborar.

El tratamiento MWT modificó sustancialmente las propiedades de hidratación de las harinas, en especial del WAC, que aumentó en todos los tratamientos; por el contrario, el WAI y SP disminuyeron a mayores humedades de tratamiento. Además, se redujo la capacidad emulsionante y la capacidad de formación de espuma de las mismas, si bien, el tratamiento C13 mejoró sustancialmente la estabilidad de las emulsiones formadas con sólo una pequeña pérdida en capacidad emulsionante respecto a la harina control. Las propiedades de empastado de las harinas también se vieron modificadas con el tratamiento observándose, en general, un incremento de la temperatura de empastado, una reducción de la viscosidad de pico, la viscosidad final y la retrogradación, intensificándose este comportamiento al realizar tratamientos microondas a mayores humedades y en el sistema cerrado.

Los geles formados, a excepción del procedente del tratamiento C30, mostraron un incremento en el esfuerzo máximo soportado dentro de la zona viscoelástica lineal, así como de los módulos viscoso, elástico y de cruce, incrementando con ello moderadamente su consistencia, su estabilidad y su resistencia frente a la aplicación de esfuerzos cortantes durante su deformación.

El tipo de patrón de difracción de rayos X no se vio modificado por el tratamiento microondas, pero sí lo hizo la intensidad de los picos, aumentando en tratamientos a menores humedades, e incrementándose la cristalinidad tipo V, probablemente debido al incremento de complejos amilosa-lípido. La cristalinidad se vio modificada, pero sin que existiera una relación clara con el sistema empleado en el tratamiento o la humedad inicial de los granos.

Las modificaciones de las propiedades de hidratación junto con el incremento de la estabilidad de los geles confieren a las harinas de trigo sarraceno procedentes de granos tratados con microondas una capacidad tecnológica adecuada para su uso en la elaboración de productos horneados sin gluten. Así mismo, su estabilidad frente a la temperatura, y su mayor resistencia frente a esfuerzos y fuerzas de cizalla (excepto para el tratamiento C30) posibilita su uso en la elaboración de matrices gelificadas.

El tratamiento microondas aplicado sobre granos enteros conduce a la modulación de las modificaciones que experimenta el almidón durante los procesos hidrotérmicos, lo que permite obtener harinas con las que se pueden elaborar geles de diferentes consistencias, resistentes a fenómenos de sinéresis y tolerantes a la retrogradación. De esta manera, es posible elaborar con ellas productos alimenticios como salsas, cremas o rellenos de elevada calidad y estabilidad.

La modificación del color de las harinas, caracterizado por una menor luminosidad y un incremento del tono rojizo de las mismas, podría afectar positivamente al color final de los productos horneados elaborados, en especial a los productos de panificación sin gluten, caracterizados normalmente por una miga excesivamente blanca. A pesar de que el uso de las harinas tratadas en la elaboración de productos sin gluten también conlleva numerosas ventajas nutricionales asociadas al interesante perfil nutricional de los granos de trigo sarraceno, su contenido en compuestos fenólicos podría verse reducido como consecuencia del tratamiento.

Los tratamientos microondas de granos de trigo sarraceno resultan una alternativa de gran interés frente a los procedimientos tradicionales de modificación física HMT, no solo por la importante reducción que suponen en el tiempo de tratamiento, sino también porque permiten obtener harinas con propiedades funcionales óptimas para la obtención de productos sin gluten de alto valor nutricional con un menor uso de aditivos. Queda pendiente la realización de estudios complementarios que permitan comprobar la eficiencia de estos tratamientos para garantizar la calidad sensorial de los productos sin gluten.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este TFM se ha realizado con la concesión de una beca de colaboración del Ministerio de Educación y Formación Profesional. Se ha desarrollado en el marco del proyecto AGL2015-63849-C2-2-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y los Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (MINECO/FEDER), de los proyectos de la Junta de Castilla y León/FEDER (Ref: VA072P17 y VA165G18) y del convenio Uva/FUNGUVa-ITACyL 2018 (sector harinero).

## BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 106-113.
- Baba, W. N., Rashid, I., Shah, A., Ahmad, M., Gani, A., Masoodi, F. A., Wani, S. M. (2016). Effect of microwave roasting on antioxidant and anticancerous activities of barley flour. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 15, 12–19.
- Bardella, M. T., Fredella, C., Prampolini, L., Molteni, N., Giunta, A. M., Bianchi, P. A. (2000). Body composition and dietary intakes in adult celiac disease patients consuming a strict gluten-free diet. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 937-939.
- Bertoft, E. (2017). Understanding Starch Structure: Recent Progress. *Agronomy*, 7, 56.
- Bhinder, S., Kaur, A., Singh, B., Yadav, M. P., Singh, N. (2020). Proximate composition, amino acid profile, pasting and process characteristics of flour from different Tartary buckwheat varieties. *Food Research International*, 130.
- 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, 2245–2252.
- Fathi, B., Aalami, M., Kashaninejad, M., Sadeghi Mahoonak, A. (2016). Utilization of Heat-Moisture Treated Proso Millet Flour in Production of Gluten-Free Pound Cake. *Journal of Food Quality*, 39, 611–619.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., Arendt, E. K. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 143-152.
- Gani, A., Ashwar, B. A., Akhter, G., Shah, A., Wani, I. A., Masoodi, F. A. (2017). Physico-chemical, structural, pasting and thermal properties of starches of fourteen Himalayan rice cultivars. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 1101–1107.
- Gao, L., Wang, S., Oomah, B. D., Mazza, G. (2002). Wheat quality: antioxidant activity of wheat millstreams. *Wheat quality elucidation*, 219-233. AACC International, St. Paul, MN.
- Giménez-Bastida, J. A., Piskula, M., Zieliński, H. (2015). Recent advances in development of gluten-free buckwheat products. *Trends in Food Science and Technology*, 44, 58-65.

- Gómez, M., Martínez, M. M. (2016). Changing flour functionality through physical treatments for the production of gluten-free baking goods. *Journal of Cereal Science*, 67, 68-74.
- Gunaratne, A., Hoover, R. (2002). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydrate Polymers*, 49, 425-437.
- Gunaratne, A. (2018). Heat-moisture treatment of starch. En *Physical Modifications of Starch* (pp. 15-36). Springer Singapore.
- 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.
- Hopman, E. G. D., Le Cessie, S., Von Blomberg, B. M. E., Mearin, M. L. (2006). Nutritional management of the gluten-free diet in young people with celiac disease in The Netherlands. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 43, 102-108.
- Jogihalli, P., Singh, L., Sharanagat, V. S. (2017). Effect of microwave roasting parameters on functional and antioxidant properties of chickpea (*Cicer arietinum*). *LWT - Food Science and Technology*, 79, 223-233.
- Kaur, B., Ariffin, F., Bhat, R., Karim, A. A. (2012). Progress in starch modification in the last decade. *Food Hydrocolloids*, 26, 398-404.
- Khan, S. H., Butt, M. S., Sharif, M. K., Sameen, A., Mumtaz, S., Sultan, M. T. (2011). Functional properties of protein isolates extracted from stabilized rice bran by microwave, dry heat, and parboiling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 2416-2420.
- Kim, M. J., Oh, S. G., Chung, H. J. (2017). Impact of heat-moisture treatment applied to brown rice flour on the quality and digestibility characteristics of Korean rice cake. *Food Science and Biotechnology*, 26, 1579-1586.
- Lamacchia, C., Landriscina, L., D'Agnello, P. (2016). Changes in wheat kernel proteins induced by microwave treatment. *Food Chemistry*, 197, 634-640.
- 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.
- Liu, H., Wang, L., Cao, R., Fan, H., Wang, M. (2016). In vitro digestibility and changes in physicochemical and structural properties of common buckwheat starch affected by high hydrostatic pressure. *Carbohydrate Polymers*, 144, 1-8.
- Matos Segura, M. E., Rosell, C. M. (2011). Chemical Composition and Starch Digestibility of Different Gluten-free Breads. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, 224-230.

- 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.
- Naczk, M., Diosady, L. L. Rubin, L. J. (1985). Functional properties of canola meals produced by a two-phase solvent extraction system. *Journal of Food Science*, 50, 1685-1688.
- 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, 3699–3706.
- Roman, L., Belorio, M., Gomez, M. (2019). Gluten-Free Breads: The Gap Between Research and Commercial Reality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 690–702.
- 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, 1330–1335.
- Ronda, F., Villanueva, M., Collar, C. (2014). Influence of acidification on dough viscoelasticity of gluten-free rice starch-based dough matrices enriched with exogenous protein. *LWT - Food Science and Technology*, 59, 12-20.
- Runyon, J. R., Sunilkumar, B. A., Nilsson, L., Rascon, A., Bergenståhl, B. (2015). The effect of heat treatment on the soluble protein content of oats. *Journal of Cereal Science*, 65, 119–124.
- Sapone, A., Bai, J.C., Ciacci, C., Dolinsek, J., Green, P.H.R., Hadjivassiliou, M., Kaukinen, K., Rostami, K., Sanders, D.S., Schumann, M., Ullrich, R., Villalta, D., Volta, U., Catassi, C., Fasano, A. (2012). Spectrum of gluten-related disorders: consensus on new nomenclature and classification. *BMC Med.* 10, 13.
- 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.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventó's, R. M. (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178.
- Sun, Q., Han, Z., Wang, L., Xiong, L. (2014). Physicochemical differences between sorghum starch and sorghum flour modified by heat-moisture treatment. *Food Chemistry*, 145, 756–764.
- Sun, X., Li, W., Hu, Y., Zhou, X., Ji, M., Yu, D., Fujita, K., Tatsumi, E., Luan, G. (2018). Comparison of pregelatinization methods on physicochemical, functional and structural properties of tartary buckwheat flour and noodle quality. *Journal of Cereal Science*, 80, 63–71.

- Tang, C. H., Ma, C. Y. (2009). Heat-induced modifications in the functional and structural properties of vicilin-rich protein isolate from kidney (*Phaseolus vulgaris* L.) bean. *Food Chemistry*, 115, 859–866.
- Vallons, K. J. R., Ryan, L. A. M., Arendt, E. K. (2011). Promoting structure formation by high pressure in gluten-free flours. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1672–1680.
- Villanueva, M., Harasym, J., Muñoz, J. M., Ronda, F. (2018a). 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.
- Villanueva, M., De Lamo, B., Harasym, J., Ronda, F. (2018b). Microwave radiation and protein addition modulate hydration, pasting and gel rheological characteristics of rice and potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 201, 374–381.
- Villanueva, M., Harasym, J., Muñoz, J. M., Ronda, F. (2019). Rice flour physically modified by microwave radiation improves viscoelastic behavior of doughs and its bread-making performance. *Food Hydrocolloids*, 90, 472–481.
- Watkins, H. (1968). EE.UU. Patente N°. 3620764. *Method of controlling the functional characteristics of flour by microwave treatment of grain*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Witczak, M., Ziobro, R., Juszczak, L., Korus, J. (2016). Starch and starch derivatives in gluten-free systems - A review. *Journal of Cereal Science*, 67, 46-57.
- Xiao, Y., Liu, H., Wei, T., Shen, J., Wang, M. (2017). Differences in physicochemical properties and in vitro digestibility between tartary buckwheat flour and starch modified by heat-moisture treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 86, 285–292.
- Zavareze, E. D. R., Dias, A. R. G. (2011). Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, 83, 317-328.
- Zhang, M., Chen, H., Li, J., Pei, Y., Liang, Y. (2010). Antioxidant properties of tartary buckwheat extracts as affected by different thermal processing methods. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 181–185.
- Zhang, Z. L., Zhou, M. L., Tang, Y., Li, F. L., Tang, Y. X., Shao, J. R., Xue, W.T. Wu, Y. M. (2012). Bioactive compounds in functional buckwheat food. *Food Research International*, 49, 389-395.
- Zhu, F., Li, H. (2019). Modification of quinoa flour functionality using ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 52, 305–310.