

Tesis Doctoral

Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda, efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten

Loubes, María Ana

2015-03-27

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Loubes, María Ana. (2015-03-27). Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda, efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Loubes, María Ana. "Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda, efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2015-03-27.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Industrias

Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda, efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten

Tesis presentada para optar por el título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el
área de Química Industrial

Ing. María Ana Loubes

Director de Tesis: Dra. Marcela Patricia Tolaba

Consejero de Estudios: Dra. Marcela Patricia Tolaba

Lugar de Trabajo: Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Buenos Aires, 2015.

Molienda seca y húmeda de arroz en molino planetario. Cinética de la molienda, efecto de las condiciones de molienda en las propiedades funcionales de la harina y del almidón y diseño de mezclas para pastas sin gluten.

Resumen

La molienda es una operación unitaria tradicional para la reducción de tamaño de partícula. El advenimiento de los molinos de alto impacto brinda además la posibilidad de realizar transformaciones termo-mecánicas, para producir cambios estructurales en el material. El objetivo del trabajo fue obtener harinas y almidones de arroz modificados, utilizando un molino planetario de bolas. Se investigó el efecto de la velocidad de rotación y el tiempo de proceso en la cinética de molienda seca y húmeda, para la obtención de harinas. Se optimizó, en términos de rendimiento y pureza, la obtención de almidón por vía húmeda asistida con el molino planetario, empleando combinaciones de tensioactivo-álcali. Se logró reducir el tiempo de proceso y las concentraciones de aditivos, respecto a la molienda no asistida. Las fracciones de molienda, caracterizadas a través de sus propiedades estructurales (difracción de rayos X, almidón dañado), funcionales (propiedades de hidratación, térmicas y de pasta) y morfológicas (granulometría, microscopía electrónica de barrido), presentaron diferentes niveles de gelatinización y cristalinidad, ampliando su uso como ingredientes alimentarios. Se elaboraron fideos frescos laminados a base de harina de arroz obtenida por molienda seca. Se evaluaron diferentes sustitutos de gluten determinándose, mediante un diseño de mezclas, los efectos sinérgicos entre ellos, que permitieron mejorar las propiedades mecánicas de las pastas sin gluten.

Palabras claves: molienda de alto impacto, harina modificada, almidón modificado, molienda húmeda asistida, gelatinización, cristalinidad, pastas frescas.

Dry and wet milling of rice in planetary mill. Kinetics of milling, effect of grinding conditions on functional properties of flour and starch and mix design for gluten-free pasta.

Abstract

Milling is a traditional unit operation to reduce the particle size. The advent of high impact mills also offers the possibility of thermo-mechanical processing to produce structural changes in the material. The objective was to obtain modified rice flour and rice starch using a planetary ball mill. The effect of rotational speed and processing time on the kinetics of wet-milling and dry-milling to obtain rice flour was investigated. The optimization of starch isolation, in terms of fraction yield and purity, was performed by planetary ball mill assisted wet-milling using surfactant-alkali combinations. The processing time and the concentrations of chemical additives were reduced in comparison to unassisted wet-milling. Milling fractions, characterized by its structural properties (X-ray diffraction, damaged starch), functional properties (hydration properties, thermal and paste behaviour) and morphological properties (particle size, scanning electron microscopy), presented different levels of gelatinization and crystallinity expanding its use as food ingredients. Fresh laminated rice noodles were produced using rice flour obtained by dry-milling in a planetary ball mill. Different gluten substitutes were evaluated and the synergistic effects between them were determined by a mix design in order to improve the mechanical properties of gluten-free pasta.

Keywords: high impact milling, modified rice flour, modified rice starch, assisted wet-milling, gelatinization, crystallinity, laminated noodles.

Agradecimientos

A la Dra. Marcela Tolaba, por su presencia incondicional, orientación y sabias sugerencias durante el desarrollo del presente trabajo.

A la Dra. Pilar Buera, por su apoyo siempre presente.

A la Universidad de Buenos Aires, por brindarme la formación académica, la beca y los subsidios otorgados para la realización de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por la beca que me concedió.

A los profesores del Departamento de Industrias, por el esfuerzo y el tiempo invertido en dictar cursos de excelencia.

A Diego Roa, mi compañero de laboratorio, por los debates científicos, filosóficos e incluso espirituales y su ayuda desinteresada.

A la Dra. Edith Farías, por animarme a realizar el doctorado.

A la Dra. Silvia Raffellini, por alentarme y por su cariño constante.

A la Dra. Silvia Flores, por su guía y colaboración en las mediciones de los parámetros mecánicos de las pastas cocidas.

A la Dra. Gabriela Barrera, por su contribución en la determinación de las propiedades de pasta de las harinas y de los almidones.

Al Lic. Luis Dyner, por orientarme en las determinaciones del contenido de almidón dañado y facilitar su laboratorio para la tarea.

Al Dr. Patricio Santagapita, por su aporte para las mediciones de FTIR.

A Viviana y Sandra, secretarias del Departamento de Industrias, por la atención recibida en la resolución de mis consultas.

A la Dra. Nerina Camino, por enseñarme a usar el Malvern, aunque con todo dolor hoy no se encuentra entre nosotros.

A mis compañeros de docencia: Stella, Rosa, Marina, Pablo, Marcela, Eduardo, Loly y Analía, por los momentos compartidos.

A la Dra. Susana Gallardo por su aporte en este trabajo.

A Jennifer y Juan por el tiempo de compañerismo.

Al personal no docente del Departamento de Industrias por su atención y amabilidad.

A mi familia, por sus demostraciones de afecto.

A todos, expreso con profundo aprecio, mi gratitud.

Dedicatoria

A Dios, por guiarme y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte.

A mi mamá, que ha sido el viento detrás de mis alas, por su amor y dedicación inspirados en la fe en Dios.

A la memoria de mi papá, por la huella imborrable de su presencia y el ejemplo que dejó en mí.

Índice

1. Introducción.....	12
1.1. El arroz.....	13
1.1.2. Cultivo.....	13
1.1.3. Origen y difusión.....	14
1.1.4. Sector arrocero argentino.....	14
1.1.5. Morfología y desarrollo de la planta de arroz.....	15
1.1.6. Estructura del grano.....	15
1.1.7. Composición del grano.....	17
1.2. Industrialización.....	22
1.2.1. Arroz cáscara.....	22
1.2.2. Arroz integral y arroz elaborado.....	24
1.2.3. Salvado y germen de arroz.....	25
1.2.4. Arroz parbolizado.....	25
1.2.5. Sémola y harina de arroz.....	25
1.2.5.1. Harina pregelatinizada o precocida.....	26
1.2.5.2. Pastas a base de harina de arroz.....	26
1.2.6. Almidón.....	27
1.3. Métodos de molienda para la obtención de harina.....	28
1.4. Método de molienda para la obtención de almidón.....	30
1.5. Fundamento de la molienda.....	31
1.5.1. Modelos clásicos de molienda.....	33
1.5.1.1. Modelo generalizado de molienda.....	34
1.5.2. Mecanismos de esfuerzo.....	35
1.6. Tipos de molinos.....	36
1.6.1. Molino planetario de bolas.....	38
1.6.1.1. Variables operativas del molino planetario de bolas.....	40
1.6.1.2. Antecedentes del uso de los molinos planetarios de bolas.....	41
2. Objetivos.....	43
2.1. Objetivo general.....	44
2.2. Objetivos específicos.....	44
2.2.1. Referidos a la obtención de harina.....	44

2.2.2. Referidos a la obtención de almidón.....	45
2.2.3. Referidos a la elaboración de pastas.....	45
3. Materiales y métodos.....	46
3.1. Materiales.....	47
3.1.1. Materia prima.....	47
3.1.2. Molino planetario de bolas.....	47
3.1.2.1. Recipientes y elementos de molienda.....	48
3.2. Métodos.....	50
3.2.1. Molienda seca (MS).....	50
3.2.1.1. Diseño experimental de MS.....	50
3.2.1.2. Preparación de las harinas de referencia (MS).....	51
3.2.2. Molienda húmeda (MH).....	52
3.2.2.1. Diseño experimental de MH.....	52
3.2.2.2. Preparación de las harinas de referencia (MH).....	53
3.2.3. Molienda húmeda para la obtención de almidón.....	55
3.2.3.1. Separación de las fracciones de molienda.....	55
3.2.3.2. Diseño experimental.....	56
3.2.3.3. Obtención de almidón por molienda húmeda tradicional.....	58
3.2.3.4. Rendimiento, recuperación y pureza del almidón.....	58
3.2.4. Caracterización de las harinas y de los almidones.....	59
3.2.4.1. Contenido de almidón dañado y de humedad.....	59
3.2.4.2. Distribución de tamaño de partícula.....	59
3.2.4.2.a. Tamizado.....	59
3.2.4.2.b. Difracción láser.....	60
3.2.4.3. Propiedades de hidratación.....	61
3.2.4.4. Propiedades térmicas.....	62
3.2.4.5. Grado de cristalinidad.....	63
3.2.4.5.a. Método para determinar las áreas del difractograma.....	64
3.2.4.6. Microscopía electrónica de barrido (SEM).....	65
3.2.3.7. Espectroscopia por energía dispersiva (EDS).....	65
3.2.4.8. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	66
3.2.4.9. Propiedades de pasta.....	66
3.2.4.10. Propiedades viscoelásticas.....	67
3.2.4.10.a. Barrido de temperatura.....	68
3.2.4.10.b. Barrido de deformación.....	68

3.2.4.10.c. Barrido de frecuencia.....	68
3.2.4.11. Estabilidad de los geles al proceso de congelación y descongelación..	69
3.2.4.12. Análisis estadístico.....	69
3.2.4.13. Método de superficies de respuesta (MSR).....	70
3.2.5. Pastas sin gluten.....	70
3.2.5.1. Selección de los ingredientes funcionales para el diseño de mezcla.....	70
3.2.5.1.a. Materiales.....	70
3.2.5.1.b. Formulación.....	71
3.2.5.1.c. Elaboración de las pastas.....	71
3.2.5.1.d. Cocción.....	73
3.2.5.1.e. Propiedades mecánicas.....	73
3.2.5.1.f. Análisis estadístico.....	74
3.2.5.2. Diseño de mezclas.....	74
3.2.5.2.a. Introducción.....	74
3.2.5.2.b. Diseño de mezclas centroide simplex.....	75
3.2.5.2.c. Propiedades de cocción.....	77
4. Resultados.....	78
4.1. Molienda seca.....	79
4.1.1. Selección de los accesorios de molienda.....	79
4.1.2. Temperatura.....	80
4.1.3. Distribución de tamaño de partícula.....	83
4.1.4. Energía de molienda.....	89
4.1.4.1. Efecto de las condiciones de molienda sobre la energía efectiva.....	94
4.1.4.2. Modelos de molienda.....	95
4.1.4.3. Modelo de molienda considerando la energía disipada.....	97
4.1.5. Contenido de almidón dañado y de humedad.....	101
4.1.6. Propiedades de hidratación.....	105
4.1.6.1. Poder de hinchamiento e índice de solubilidad en agua.....	105
4.1.6.1.a. Efecto de las condiciones de molienda sobre el PH y el ISA.....	109
4.1.6.1.b. Relación entre el PH y el ISA.....	113
4.1.6.2. Índice de absorción de agua.....	114
4.1.7. Propiedades térmicas.....	117
4.1.8. Grado de cristalinidad.....	123
4.1.9. Relación entre la energía disipada y las propiedades de las harinas.....	128
4.1.10. Microscopía electrónica de barrido.....	129

4.1.11. Espectroscopia por energía dispersiva.....	131
4.1.12. Propiedades de pasta.....	132
4.1.12.1. Efecto de las condiciones de molienda seca sobre las propiedades de pasta.....	138
4.2. Molienda húmeda.....	143
4.2.1. Distribución de tamaño de partícula.....	143
4.2.1.1. Efecto de la relación en masa de bolas/arroz.....	143
4.2.1.2. Efecto de la relación en masa de agua/arroz.....	147
4.2.1.3. Cinética de molienda húmeda de arroz en el MPB.....	150
4.2.2. Contenido de almidón dañado.....	152
4.2.3. Propiedades de hidratación.....	154
4.2.3.1. Índice de absorción de agua.....	154
4.2.4. Propiedades térmicas.....	157
4.2.5. Grado de cristalinidad.....	161
4.2.6. Microscopía electrónica de barrido.....	164
4.2.7. Espectroscopia por energía dispersiva.....	167
4.2.8. Propiedades de pasta.....	168
4.3. Comparación entre las propiedades de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca y húmeda.....	174
4.4. Molienda húmeda para la obtención de almidones.....	176
4.4.1. Rendimiento, recuperación y pureza del almidón.....	176
4.4.1.1. Efecto de las condiciones de maceración.....	180
4.4.2. Distribución de tamaño de partícula.....	183
4.4.3. Grado de cristalinidad.....	185
4.4.4. Propiedades de hidratación.....	188
4.4.4.1. Índice de absorción de agua.....	188
4.4.5. Microscopía electrónica de barrido.....	190
4.4.6. Espectroscopia por energía dispersiva.....	191
4.4.7. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.....	191
4.4.8. Propiedades de pasta.....	193
4.4.8.1. Efecto de las condiciones de maceración.....	197
4.4.9. Propiedades viscoelásticas.....	200
4.4.9.1. Barrido de temperatura.....	200
4.4.9.2. Barrido de deformación.....	208
4.4.9.3. Barrido de frecuencia.....	210
4.4.9.3.a. Modelado de los espectros mecánicos dinámicos.....	212

4.4.10. Estabilidad de los geles de almidón al proceso de congelación y descongelación.....	216
4.5. Pastas sin gluten.....	220
4.5.1. Selección de los ingredientes funcionales.....	220
4.5.2. Diseño de mezclas.....	224
4.5.2.1. Propiedades de cocción.....	229
5. Conclusiones.....	234
5.1. Molienda seca.....	235
5.2. Molienda húmeda.....	236
5.3. Molienda húmeda para la obtención de almidones.....	237
5.4. Pastas sin gluten.....	238
5.4.1. Selección de ingredientes funcionales.....	238
5.4.2. Diseño de mezclas.....	238
6. Referencias.....	240

1. Introducción

1.1. El arroz

El arroz (*Oryza sativa* L.) ha constituido a través de la historia, uno de los alimentos esenciales de la dieta humana. Actualmente es el cultivo cerealero más importante del mundo en desarrollo y el alimento básico para más de la mitad de la población del planeta (Rosell *et al.*, 2007). De acuerdo a la FAO, en el año 2014 se consumieron aproximadamente 497 millones de toneladas de arroz pulido (FAO, 2014), satisfaciendo el 20 % de la aportación calórica mundial (FAO, 2004). El arroz, además de consumirse como grano entero, puede ser ampliamente utilizado en la producción de harina y de almidón. El método de molienda y el tipo de molino, determinarán sus características (Nishita y Bean, 1982). La ausencia de gluten, entre las muchas ventajas que ofrecen la harina y el almidón de arroz, los ha convertido en uno de los principales protagonistas, para la elaboración de productos tales como, cereales para desayuno, preparados para lactantes, panificados, alimentos de calorías reducidas y pastas, entre otros, destinados a las personas que padecen sensibilidad al gluten (Lumdubwong y Seib, 2000; Molina-Rosell, 2013).

1.1.2. Cultivo

El arroz pertenece a la familia de las gramíneas como el trigo, la cebada, el centeno y otros cereales. Suele ser considerado una planta herbácea anual semiacuática, del género *Oryza*. Aunque existen más de veinte especies de arroz, sólo se cultivan dos: *Oryza sativa* L. conocido como arroz asiático y *Oryza glaberrima* Steud. conocido como arroz africano. Indica y japónica son las principales subespecies cultivadas de *O. sativa* (Livore, 2006). Debido a su larga historia de cultivo y selección en ambientes diversos, *O. sativa* L. ha desarrollado adaptabilidad y tolerancia en una amplia variedad de regímenes hídricos/edafológicos que van desde el cultivo en campos inundados hasta la producción en laderas de colinas áridas. Actualmente se siembran 160 millones de hectáreas de arroz en más de 100 países de todos los continentes, salvo la Antártida, en una zona que va de los 50° de latitud norte en la China a los 35° de latitud sur en la Argentina y que se eleva desde el nivel del mar hasta una altitud de 3000 m (Acevedo, Castrillo y Belmonte, 2006; Juliano, 1994; GRiSP, 2013).

1.1.3. Origen y difusión

Tanto la variedad asiática como la africana han sufrido su propio camino de domesticación. La especie *Oryza glaberrima* Steud., solamente se desarrolló en el oeste de África. La otra especie, *O. sativa*, es la de mayor importancia económica ya que se cultivada ampliamente en todo el mundo. Generalmente se ha consensuado que la domesticación se produjo de forma independiente en tres regiones: India, China e Indonesia, dando lugar a tres subespecies de arroz: índica, japónica y javánica, respectivamente. La literatura China hace mención de él desde el año 3000 a.C., donde se indica el inicio de la siembra de arroz como una importante ceremonia religiosa reservada al emperador. Este alimento disponible para una minoría selecta, se mantuvo como algo sagrado por varios siglos, siendo símbolo de vida, abundancia y fertilidad en muchos rituales; como la tradición de arrojar arroz a los novios después de la boda, para que fueran bendecidos con hijos (Juliano, 1994; Rosell *et al.*, 2007; Degiovanni, Berrío y Charry, 2010). La importancia del arroz para la cultura asiática subsiste hoy en el idioma, es así como el nombre de dos importantes empresas Japonesas significan “abundante campo de arroz”, *Toyota* y “el principal campo de arroz”, *Honda* (GRiSP, 2013).

En Argentina, los primeros conocimientos sobre este cereal fueron dados en la época de la colonia por el comisionado español Félix de Azara, quien en sus relatos señala que fue introducido por los Jesuitas, desde Brasil durante el siglo XVIII. Hasta el año 1932 el consumo interno era abastecido principalmente por las importaciones, al gravarse estas, se inicia la etapa arrocería argentina extendiéndose el cultivo desde Salta, Tucumán, Jujuy y Misiones, a las provincias de Corrientes, Entre Ríos y Santa Fe (De Battista, y Rivarola, 2006).

De manera que el arroz se difundió de un sitio a otro debido a las migraciones, las campañas conquistadoras, el crecimiento del transporte marítimo y la adopción del mismo por parte de diversas culturas, que lo apreciaron como un valioso alimento. Se puede decir que el arroz es para la cultura oriental el equivalente al trigo en la civilización occidental, aunque hoy en día constituye un alimento básico a escala mundial (Franquet Bernis y Borràs Pàmies, 2004).

1.1.4. Sector arrocería argentino

La producción de arroz en Argentina está concentrada en la región del litoral, principalmente en las provincias de Entre Ríos y Corrientes, que aportan el 32 % y el 50 %

respectivamente del total producido, el 18 % restante se reparte entre Santa Fe, Chaco, Formosa y Misiones. Argentina participa del 1,3 % de las exportaciones mundiales de arroz cáscara, cuyo principal destino es Brasil (43 %) (Blengino, 2014).

1.1.5. Morfología y desarrollo de la planta de arroz

El ciclo de vida de la planta de arroz (figura 1.1) se inicia con la siembra de la semilla y termina con la recolección del fruto o grano en un período que va de 3 a 7 meses.

A la madurez, la planta de arroz alcanza una altura de hasta 1,8 m aproximadamente dependiendo de la variedad y de las condiciones ambientales (Rosell *et al.*, 2007). Tiene un tallo principal y varios macollos (brotes secundarios) que producen su propia raíz. Cada macollo productivo contiene los órganos florales compuestos por una inflorescencia llamada panoja y por la unidad básica de esta, la espiguilla, constituida por tres flores de las cuales una sola se desarrolla y dará origen al grano (Degiovanni *et al.*, 2010).

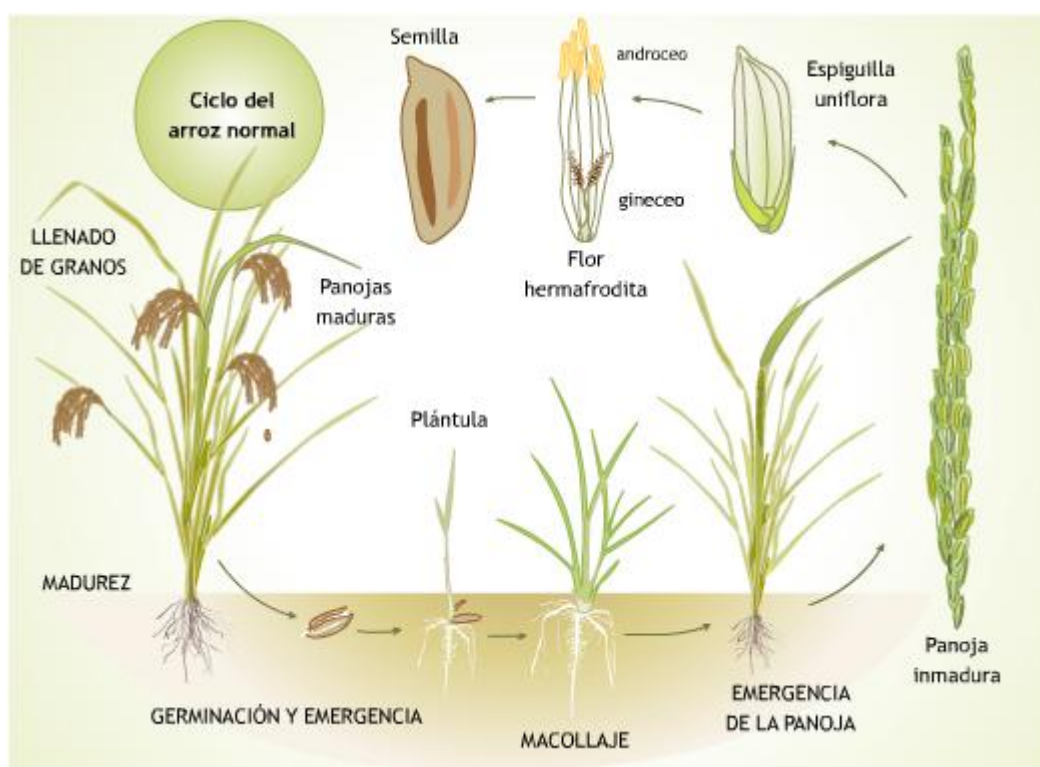


Figura 1.1. Ciclo de desarrollo del arroz. Fuente: Rojas (2005).

1.1.6. Estructura del grano

El arroz cosechado (figura 1.2) conocido mundialmente como arroz cáscara o paddy se compone de una cubierta protectora exterior, la cáscara (fibrosa y no comestible) y el fruto del arroz o cariósido (Rosell *et al.*, 2007).

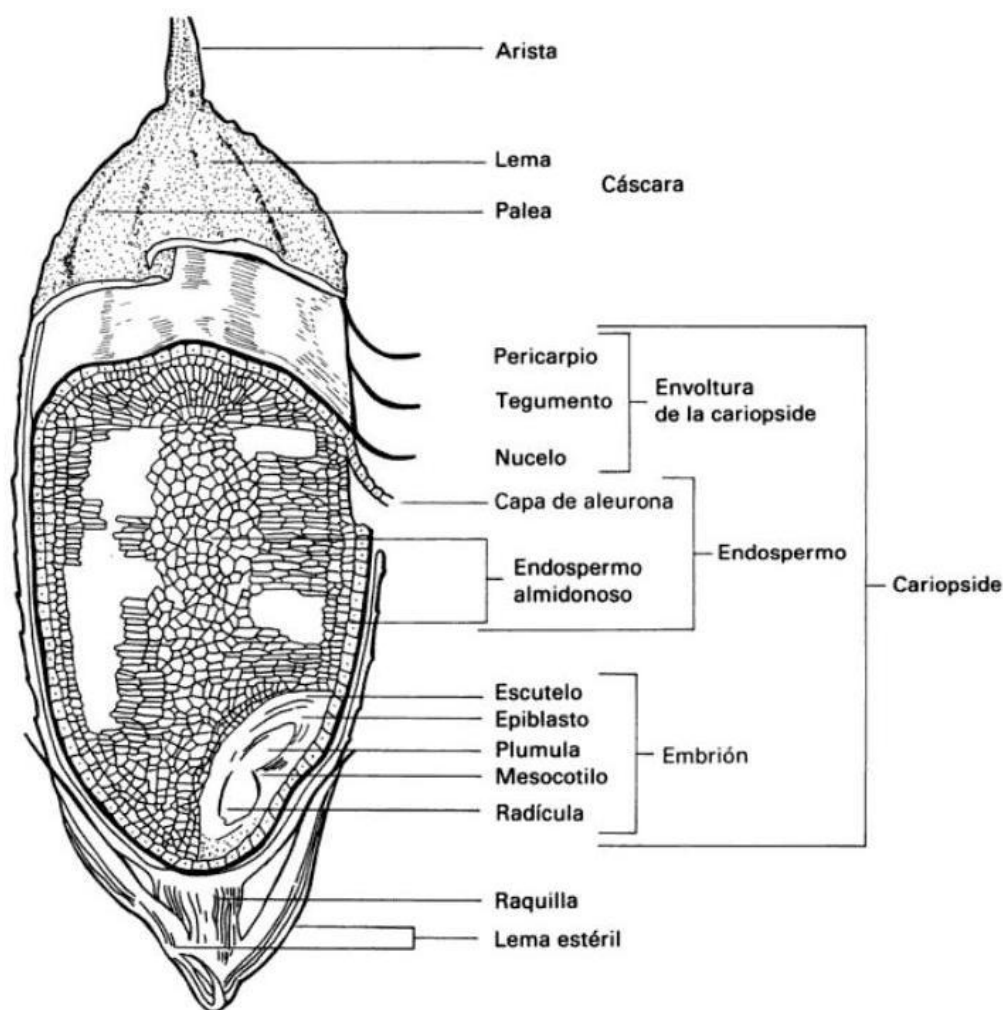


Figura 1.2. Componentes estructurales del grano de arroz (corte longitudinal).

Fuente: Martínez y Cuevas (1989).

La cáscara está compuesta por la lema y la palea y representa aproximadamente el 20 % del peso del grano de arroz. Algunas variedades tienen una arista adherida en la parte superior de la lema. La cariósida está formada por una envoltura (varias capas que son el pericarpio, el tegumento y el nucelo), el endospermo y el embrión o germen. Cuando se elimina la cáscara la cariósida se denomina arroz integral. Aproximadamente el 93 % del arroz integral está constituido por el endospermo, este se compone del endospermo propiamente dicho (almidonoso) y la capa de aleurona que envuelve al endospermo y al embrión. La capa de aleurona junto con el pericarpio, el tegumento y el nucelo constituyen el salvado, representando aproximadamente el 3 % en peso del arroz integral. Cuando se elimina el salvado, en el proceso de pulido (también denominado elaboración), se obtiene arroz blanco o elaborado (Martínez y Cuevas, 1989; Rosell *et al.*, 2007). La composición relativa de los componentes se visualiza en la figura 1.3.

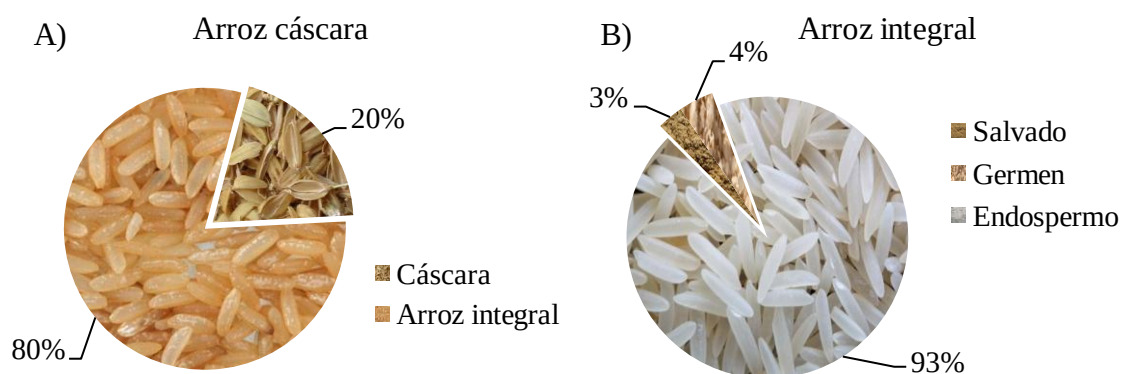


Figura 1.3. Proporción relativa de los diferentes componentes estructurales del grano de arroz A) en el arroz cáscara, B) en el arroz integral.

1.1.7. Composición del grano

El arroz como el resto de los cereales, es rico en hidratos de carbono complejos, es fuente de proteínas y minerales y no contiene colesterol (Rosell *et al.*, 2007). La composición química del grano de arroz (cáscara, integral y blanco), se detalla en la tabla 1.1 junto con algunos subproductos de su industrialización.

Tabla 1.1. Composición de arroz con distinto tipo de elaboración y de sus subproductos.

Componente (%) ^a	Arroz cáscara	Arroz integral	Arroz blanco	Cáscara	Salvado	Germen
Proteína (N × 5,95)	5,8-7,7	7,1-8,3	6,3-7,1	2,0-2,8	11,3-14,9	14,1-20,6
Materia grasa	1,5-2,3	1,6-2,8	0,3-0,5	0,3-0,8	15,0-19,7	16,6-20,5
Fibra cruda	7,2-10,4	0,6-1,0	0,2-0,5	34,5-45,9	7,0-11,4	2,4-3,5
Cenizas	2,9-5,2	1,0-1,5	0,3-0,8	13,2-21,0	6,6-9,9	4,8-8,7
Almidón	53,4	66,4	77,6	1,5	13,8	2,1
Pentosanos	3,7-5,3	1,2-2,1	0,5-1,4	17,7	7,0	4,9
Hemicelulosas	-	-	0,1	2,9	9,5	9,7
Celulosa	-	-	-	31,4-36,3	5,9-9,0	2,7
Azúcares libres	0,5-1,2	0,7-1,3	0,22-0,45	0,6	5,5-6,9	8,0-12

^aValores informados para un contenido de humedad de 14 % en base seca.

Fuente: Champagne *et al.*, 2004.

La composición química media de los granos varía enormemente después del descascarado y pulido, Cuando se elimina la cascarilla se pierden importantes cantidades de fibras y minerales, entre ellos calcio, manganeso y sodio. El salvado es una excelente fuente de

proteínas (11 – 15%) y de lípidos (15 – 20%). Los minerales y vitaminas se encuentran principalmente en el salvado y el germen, por ello su contenido disminuye considerablemente en el arroz blanco (Champagne *et al.*, 2004).

El **almidón** es el principal constituyente del arroz elaborado y está presente en forma de gránulos compuestos, es decir, muchos gránulos se desarrollan simultáneamente dentro del mismo amiloplasto. Los gránulos compuestos llenan el espacio dentro de las células del endospermo y están formados por 20 – 60 gránulos individuales. El gránulo individual de almidón de arroz es uno de los más pequeños dentro de los cereales, su tamaño varía de 3 μm a 5 μm y tiene forma poligonal (Zhongkai *et al.*, 2002; Hoseney, 1994).

El almidón es un polímero de D-glucosa con enlace α -(1–4) y se compone normalmente de una fracción lineal, la amilosa, y de una fracción ramificada, la amilopectina; presentándose las ramificaciones en los enlaces α -(1–6) (figura 1.4). El contenido y la estructura de la amilosa y de la amilopectina, son las características que afectan principalmente las propiedades funcionales del almidón.

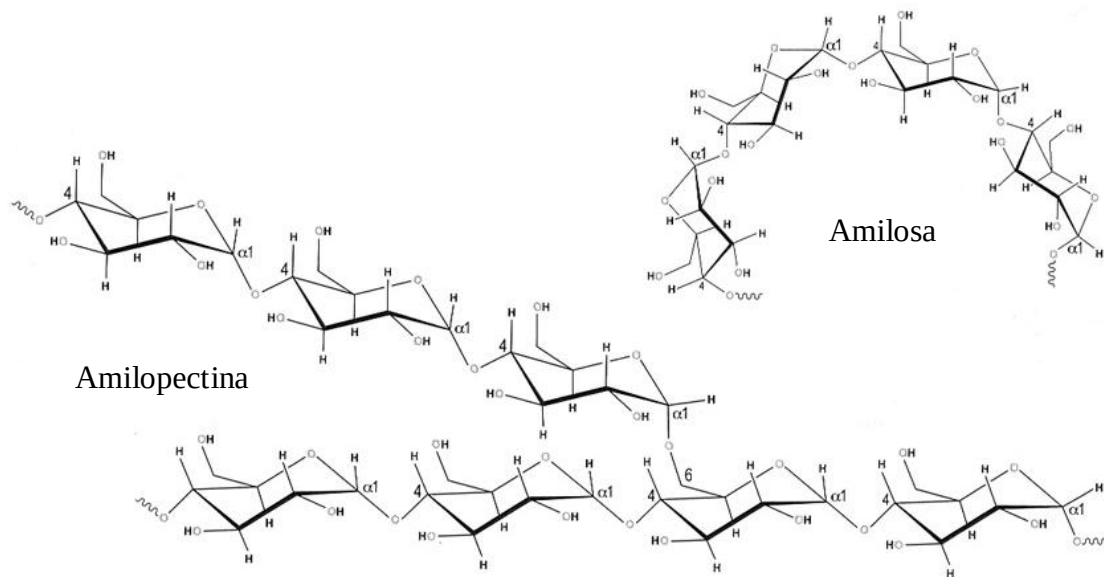


Figura 1.4. Estructura química de la amilosa y de la amilopectina. Fuente: CTCRI (2015).

Según el contenido de amilosa, el arroz puede ser waxy o glutinoso (0 – 2 %), muy bajo en amilosa (3 – 12 %), bajo en amilosa (13 – 20 %), de amilosa intermedia (21 – 24 %) o alto en amilosa (25 – 33 %) (Juliano, 1994). Asimismo por su naturaleza lineal y de gran longitud, la amilosa existe en forma de hélice, lo que le permite formar complejos con ácidos grasos libres, mono y di-glicéridos, alcoholes lineales y yodo (Sandoval Aldana *et al.*, 2005). La amilopectina es la principal responsable de la estructura del gránulo de almidón, el cual consiste de áreas cristalinas (cristales, micelas) y amorfas (no cristalinas),

arregladas en capas concéntricas (figura 1.5). Las capas cristalinas están conformadas por dobles hélices de amilopectina, que están dispuestas de forma paralela, mientras que los puntos de ramificación están en las zonas amorfas. El almidón presenta un grado de cristalinidad entre 20 – 40 % (Jacobs y Delcour, 1998).

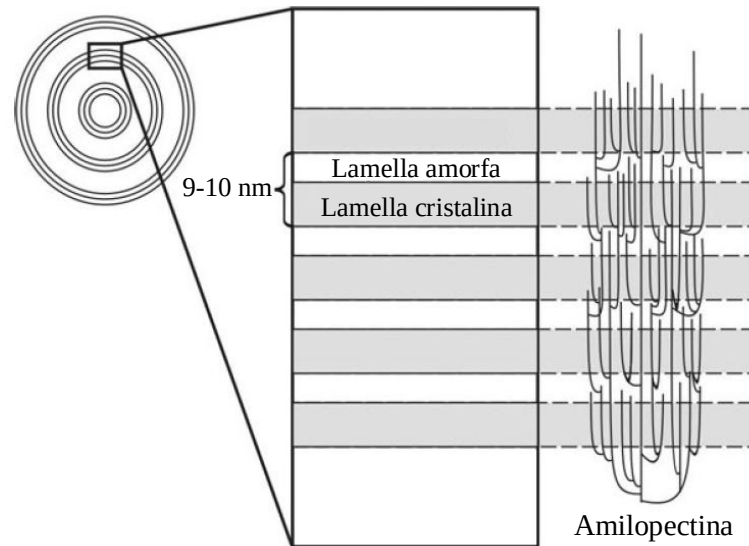


Figura 1.5. Representación esquemática de la estructura del gránulo de almidón.
Fuente: Cardoso (2007).

La difracción con rayos X ha revelado tres tipos de estructuras cristalinas, de acuerdo con la fuente botánica del almidón: tipo A, característico de almidones de cereales, tipo B se encuentra en almidones de tubérculos y tipo C común en las legumbres (Zobel, 1988). La figura 1.6 muestra la estructura cristalina de los almidones tipo A y B, el tipo C es una combinación de ambos (el centro de los gránulos de almidón, las leguminosas presentan el tipo B, y en las regiones más externas el tipo A) (Donald, 2004).

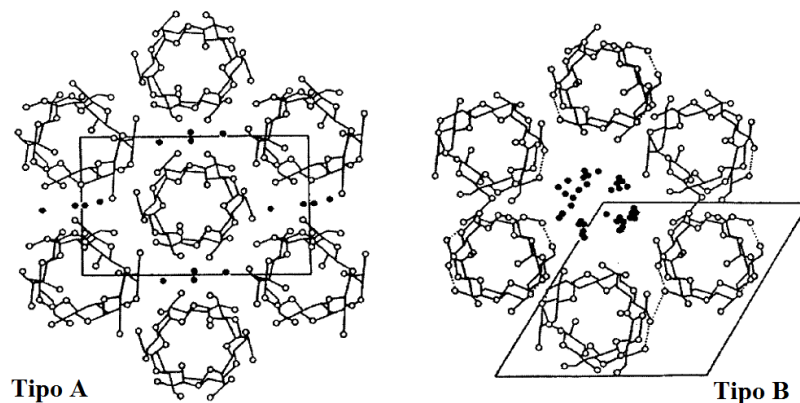


Figura 1.6. Estructura cristalina del almidón, tipo A y B (círculos negros representan moléculas de agua dentro de la estructura, círculos vacíos representan moléculas de glucosa). Fuente: Donald, A. M. (2004).

Cuando el almidón es sometido a un tratamiento hidrotérmico tiene lugar la gelatinización. Inicialmente los gránulos se hinchan de manera reversible, sin embargo cuando se alcanza una cierta temperatura, el hinchamiento llega a ser irreversible y afecta la estructura del gránulo (disociación de las dobles hélices de amilopectina), tal como se ilustra en la figura 1.7 (Bao y Bergman, 2004). Este proceso ocurre en un intervalo de temperatura, asociada con el contenido de amilosa del arroz.

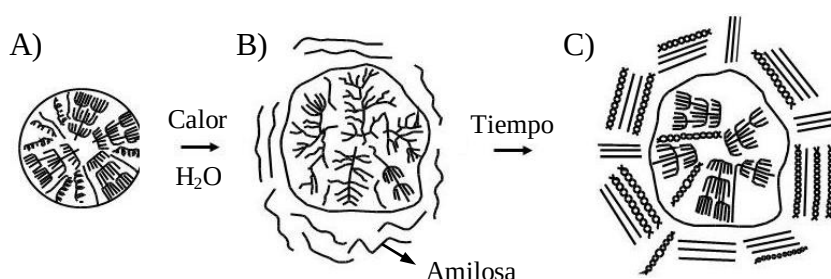


Figura 1.7. Gelatinización y retrogradación del almidón. A) Almidón nativo, B) almidón gelatinizado, C) almidón retrogradado. Fuente: Food-Info (2014).

Según la temperatura de gelatinización, los arroces se pueden clasificar en: baja (63 – 68 °C), intermedia (69 – 73 °C) y alta (74 – 80 °C) (Martínez y Cuevas, 1989). La gelatinización es un proceso endotérmico que va acompañado de la lixiviación de la amilosa y pérdida de la birrefringencia del gránulo. Al final de este fenómeno se genera una pasta, en la que existen cadenas de amilosa de bajo peso molecular altamente hidratadas, que rodean a los restos de los gránulos, también hidratados (Bao y Bergman, 2004). En una etapa subsiguiente puede ocurrir la retrogradación (reversibilidad), debido a la gelación de la amilosa, por formación de segmentos de dobles hélices, y recristalización de cadenas cortas de amilopectina. Este proceso es acompañado por un incremento gradual en la rigidez y la separación de las fases entre el polímero y el solvente (sinéresis). La aparición de cristales influye en la textura, digestibilidad y aceptación de los productos con almidón, por parte de los consumidores (Sandoval Aldana *et al.*, 2005).

Al igual que los tratamientos hidrotérmicos, la molienda puede inducir cambios estructurales en el biopolímero, por ocasionar daños mecánicos en los gránulos de almidón, que afectan su comportamiento térmico. Estos almidones dañados absorben de 2 a 4 veces su peso en agua, además son fácilmente atacados por enzimas específicas (ej.: β -amilasas).

El almidón dañado tiene efectos tanto positivos como negativos, sobre la calidad de algunos productos elaborados a base de almidón o de harina (Dubat, 2004).

Las **proteínas** del arroz son hipoalergénicas y poseen propiedades anticancerígenas, por lo que el arroz es considerado un alimento funcional (Tang *et al.*, 2003).

Las proteínas se distribuyen de manera no uniforme en el grano de arroz integral, hay mayores concentraciones en el salvado y la periferia del endospermo y menores cantidades hacia el centro del grano (Rosell *et al.*, 2007). El contenido de proteína bruta del arroz blanco es del ~7 % (Champagne *et al.*, 2004) y se compone de varias fracciones: 5 % de albúmina (hidrosoluble), 10 % de globulina (soluble en sal), 5 % de prolamina (soluble en alcohol) y 80 % de glutelina (soluble en álcali). El arroz es el único cereal cuya proteína de almacenamiento es principalmente glutelina, mientras que en la mayoría de los otros cereales es prolamina. Las proteínas están presentes comúnmente en forma de dos tipos de cuerpos proteicos (PB-I constituido fundamentalmente por prolaminas y PB-II por glutelinas), con tamaños de 0,5 – 4 μm (figura 1.8) (Juliano, 1994). Si bien en los cereales, la lisina es un aminoácido limitante; el arroz contiene cantidades considerables de este aminoácido esencial (Rosell *et al.*, 2007).

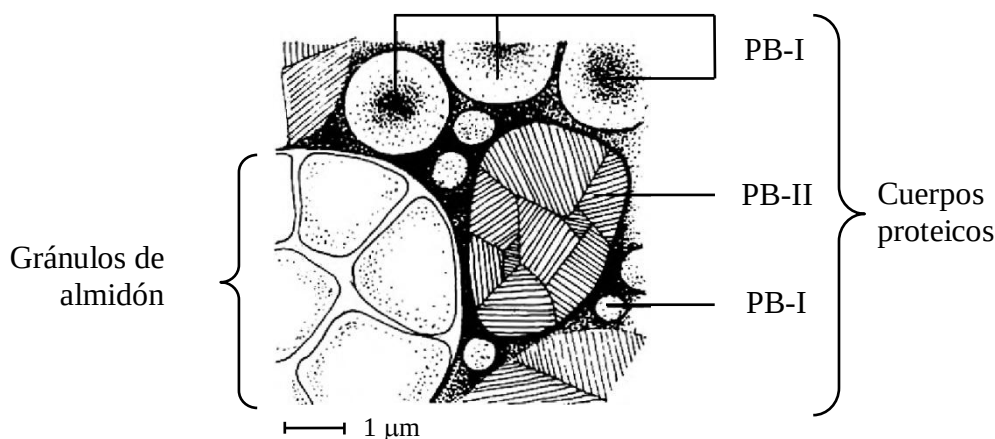


Figura 1.8. Cuerpos proteicos presentes en el endosperma del grano.

Fuente: Juliano (1994).

Los **lípidos** están presentes en el arroz en forma de esferosomas, y gran parte de los del endospermo están asociados a cuerpos proteicos (lípidos no amiláceos) y algunos a gránulos de almidón (lípidos amiláceos). Los lípidos no amiláceos se localizan principalmente en las capas de aleurona y en el germen, los cuales se eliminan durante el pulido. Los lípidos amiláceos son principalmente monoacíclicos (ácidos grasos y

lisofosfátidos) compuestos con amilosa. Estos lípidos pueden entrar al gránulo de almidón durante la maceración y la molienda en húmedo, para la aislación del almidón. El contenido en lípidos amiláceos es mínimo para los gránulos de almidón glutinoso ($\leq 0,2$ %), y es máximo para los arroces de amilosa intermedia (1,0 %), pudiendo ser ligeramente inferior en el arroz de gran contenido de amilosa (Champagne, 1996; Rosell *et al.*, 2007). Los principales ácidos grasos de los lípidos amiláceos son el palmítico y el linoleico, siendo menor la cantidad de ácido oleico (Rosell *et al.*, 2007).

Se ha demostrado, por difracción de rayos X y por calorimetría diferencial de barrido, la formación de complejos helicoidales de amilosa con lípidos, después de gelatinizar el almidón. Estos complejos son más resistentes a los ataques enzimáticos y menos solubles en agua. La velocidad de retrogradación de la amilosa en el almidón de arroz, también se restringe por los lípidos. El almidón de arroz desgrasado, presenta una menor temperatura de gelatinización y viscosidad del gel que forma. La amilopectina muestra poca interacción con los lípidos. Sin embargo, los lípidos pueden afectar indirectamente el comportamiento de amilopectina con relación al agua, a través de la formación de complejos con la amilosa (Champagne, 1996).

Otros constituyentes minoritarios son las **fibras**, los **minerales** y las **vitaminas**, aunque su contenido disminuye considerablemente durante el pulido (Champagne *et al.*, 2004).

1.2. Industrialización

La industrialización del arroz comprende una serie de etapas que pueden visualizarse en el diagrama de flujo de la figura 1.9. Estas etapas involucran la cosecha del arroz cáscara, su limpieza, secado y almacenamiento seguido de procesos de elaboración o parbolizado, para la obtención del grano como producto principal, del grano con distintos tipos de elaboración y de subproductos del grano (cáscara, salvado, almidón, harina, fracciones de molienda) que pueden incorporarse a otros usos y procesos.

1.2.1. Arroz cáscara

La cosecha y trilla del arroz cáscara puede realizarse en forma manual o mecánica. En clima tropical se obtienen generalmente dos cosechas al año, a veces tres como en Vietnam. En China se llega a realizar hasta cuatro ciclos por año. En Argentina se obtiene una sola cosecha al año con un rendimiento superior, durante los meses de febrero a mayo.

El sector arrocero argentino cuenta con un elevado nivel tecnológico y grado de mecanización de los procesos de producción (Benavidez, 2006; Rosell *et al.*, 2007).

La limpieza se realiza en forma mecánica con cedazo vibratorio o rotatorio y corrientes de aire para separar las partículas más livianas. A diferencia de lo que sucede con otros granos, el arroz se cosecha en general, con tenores elevados de humedad (19-24%) por lo que se utiliza el secado en etapas (3-5) alternando secado y atemperado con el propósito de evitar la fragilización y el quebrado del arroz hasta alcanzar un contenido de humedad inferior al 14 %. El arroz cáscara seco se almacena en silos (Wimberly, 1983).

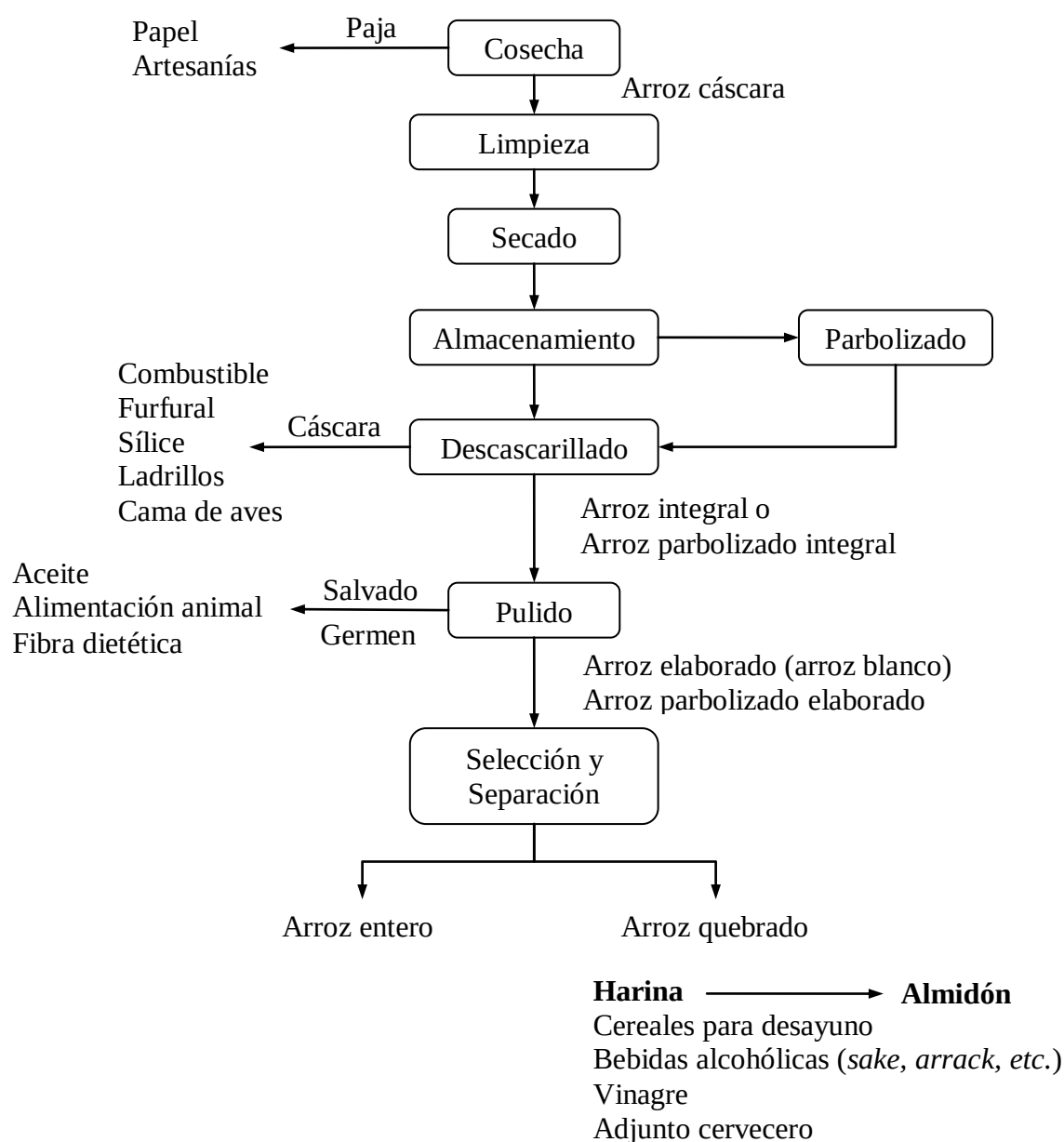


Figura 1.9. Industrialización del arroz.

1.2.2. Arroz integral y arroz elaborado

El arroz integral (arroz cargo o arroz pardo) se obtiene removiendo la cáscara del grano por presión mecánica en una descascaradora de rodillos de caucho que giran en sentido contrario y a diferentes velocidades (figura 1.10). La cáscara es arrastrada por una corriente de aire hasta un ciclón para separarla del grano descascarado. En una segunda etapa se obtiene el arroz elaborado o arroz blanco por pulido abrasivo del arroz integral, separándose el germen y el salvado como subproductos. Finalmente se eliminan los granos quebrados del lote de granos enteros (Mahapatra y Lan, 2007).

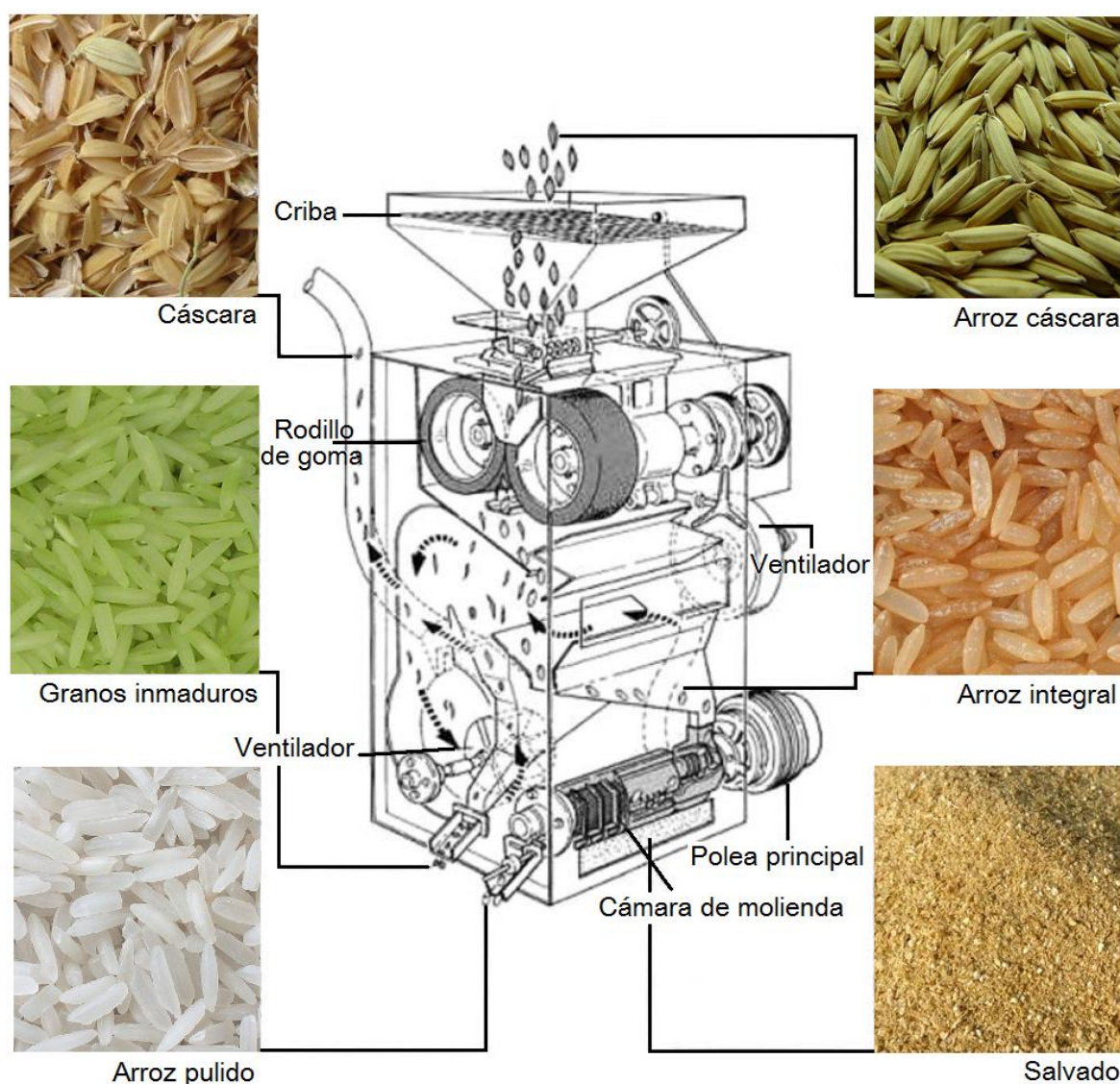


Figura 1.10. Pulidora de arroz combinada con descascaradora.

Fuente: Mahapatra y Lan (2007).

1.2.3. Salvado y germen de arroz

Esta fracción que se obtiene en la fase del pulido del arroz es rica en fibras, proteínas y aceites, que puede destinarse a la alimentación animal o a la extracción de aceite y en menor escala como fuente de fibra dietética en cereales para desayuno y productos panificados, debido a su propiedad hipocolesterolémica (Juliano, 1994).

1.2.4. Arroz Parbolizado

El arroz parbolizado se obtiene mediante un tratamiento hidrotérmico, que se aplica al arroz cáscara, el cual involucra tres etapas: remojo, cocción o vaporizado y secado.

El propósito es producir modificaciones químicas, físicas y organolépticas en el cereal, con ventajas económicas, nutricionales y culinarias. El endospermo permanece más firme que el del grano original, este comportamiento se ve influenciado por el grado de gelatinización del almidón y la desintegración de cuerpos proteicos, durante el proceso de parbolizado (Gariboldi, 1984; Sahay y Singh, 2009).

1.2.5. Sémola y harina de arroz

La sémola (parecida al semolín procedente del trigo) y diversos tipos de harina de arroz se obtienen normalmente, a partir de la molienda de los granos partidos o quebrados provenientes de la elaboración del arroz pulido (González, Torres y De Greef, 2006). También se producen harinas de arroz integral en menor escala, debido a que tienen una durabilidad muy corta por la presencia de lipasas y lipooxigenasas que liberan y oxidan ácidos grasos, confiriendo rancidez y sabor amargo (Rosell *et al.*, 2007). Los métodos de molienda y los molinos utilizados se desarrollarán en las secciones 1.3. y 1.6.

La harina de arroz se utiliza en una amplia gama de productos alimenticios, especialmente aquellos destinados a las personas que padecen intolerancia al gluten (celiaquía) y deben consumir alimentos denominados *sin TACC*, esto es, sin trigo, avena, cebada o centeno (González *et al.*, 2006). Además, la creciente demanda de alimentos saludables, otorga a la harina de arroz especiales aptitudes para hacer rebozados y tempuras, ya que las preparaciones absorben menor cantidad de aceite al cocinarlas, resultando en productos crujientes y suaves (Shih y Daigle, 2002; Rosell *et al.*, 2007).

1.2.5.1. Harina pregelatinizada o precocida

La harina nativa puede modificarse por métodos físicos y convertirse en harina pregelatinizada. Tradicionalmente se obtenía moliendo granos de arroz tostados o inflados, procedentes del arroz natural o arroz parbolizado (Lai, 2001).

En la actualidad se emplean tratamientos hidrotérmicos que industrialmente se pueden realizar de varias formas, como por ejemplo: moliendo el arroz en agua durante varias horas y secando la pasta por atomización o con rodillos calefaccionados; otra alternativa más versátil es la extrusión, tratamiento que conjuga la aplicación de calor y esfuerzo mecánico a una mezcla de harina y agua. Durante la cocción se producen modificaciones estructurales del almidón, contenido en las células del endospermo o en las partículas de harina. Así, el grado de cocción está relacionado con el grado de rotura o alteración de la integridad del gránulo de almidón y se manifiesta a través de algunas propiedades típicas, como las de hidratación (absorción de agua, solubilidad en agua o viscosidad de las dispersiones), o de aquellas ligadas con la presencia de estructuras cristalinas, tales como complejos de amilosa, amilopectina y/o amilosa retrogradadas (González *et al.*, 2006). Las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las harinas de arroz pregelatinizadas, difieren principalmente por la variedad del arroz y por el método de proceso, y afectan a las aplicaciones futuras de las mismas, siendo ampliamente usada en muchos tipos de alimentos (bizcochos de arroz, alimentos infantiles, leche de arroz instantánea, salsas, productos cárnicos, sopas, encapsulamiento de aromas esenciales), como ingrediente mayoritario por su capacidad espesante sin empleo de calor (Lai, 2001).

1.2.5.2. Pastas a base de harina de arroz

Como es sabido, la harina de arroz es uno de los cereales más adecuado para preparar alimentos libres de gluten, por sus características organolépticas y su hipoalergenicidad (Molina-Rosell, 2013; Osella, de la Torre y Sánchez, 2014). Recientemente se han publicado estudios científicos dirigidos a evaluar la optimización de formulaciones, el uso de ingredientes y las técnicas que permitan desarrollar alimentos libres de gluten con mejor calidad tecnológica y sensorial, sobre todo en productos panificados (Cappa, Lucisano y Mariotti, 2013; Velázquez *et al.*, 2012; Gallagher, Gormley y Arendt, 2004; Sánchez *et al.*, 2008; Lazaridou *et al.*, 2007; Rosell *et al.*, 2007). Sin embargo, se han informado pocas investigaciones que contemplen el desarrollo de pastas, más aún pastas frescas a base de

arroz, con las características deseadas por los consumidores occidentales, que son diferentes a la de los consumidores orientales.

Las pastas elaboradas con harina de arroz (o almidón de arroz) constituyen una comida popular en Asia, aunque tradicionalmente el proceso de producción es diferente, una suspensión de harina obtenida por molienda húmeda se somete al calentamiento con vapor, transformándose luego del enfriamiento en una lámina gelatinizada, similar a la elaboración de *papel* de arroz comestible (Yeh, 2004; Cham y Suwannaporn, 2010). En occidente, este tipo de pastas de arroz no goza de la misma aceptación y los consumidores prefieren fideos que emulen a los obtenidos por laminación o por extrusión de harina de trigo (Molina-Rosell, 2013).

La sustitución de la harina de trigo por harina de arroz, en el proceso de elaboración de pastas, hace necesario crear una matriz lo suficientemente uniforme y cohesiva, capaz de soportar el proceso de cocción y que otorgue atributos de calidad a la pasta cocida (buena absorción de agua, baja pérdida de sólidos durante la cocción, reducida pegajosidad, extensibilidad, entre otros) (Mariotti *et al.*, 2011; Huang, Knight y Goad, 2001). Por ello, para conferir propiedades viscoelásticas a la masa, en ausencia de gluten, se han utilizado emulsionantes, gomas e hidrocoloides (Heo *et al.*, 2013; Susanna y Prabhasankar, 2013; Sozer, 2009), transglutaminasa (Kim *et al.*, 2014) y varios tratamientos tales como la gelatinización de las materias primas (Sozer, 2009). También se ha informado que el tratamiento hidrotérmico de las harinas incrementa la capacidad ligante de las partículas, mejorando la calidad de los fideos (Lorlowhakarn y Naivikul, 2006; Hormdok y Noomhorm, 2007; Cham y Suwannaporn, 2010), en este sentido las modificaciones termomecánicas provocadas en la molienda de alto impacto, podrían servir al mismo propósito, aunque sin embargo no han sido estudiadas.

1.2.6. Almidón

El almidón es el principal componente del arroz y se obtiene a partir del método que se detalla en la sección 1.4. Se utiliza para diversas aplicaciones alimentarias, ofreciendo la ventaja de proporcionar un bajo índice glucémico, beneficioso para las personas diabéticas y para los atletas. Además, como una alternativa al empleo de grasas, por su carácter microgranular, en productos hipocalóricos (Bello Gutiérrez, 2000). También se usa en la industria farmacéutica y cosmética (polvos compactos) (Radley, 1976; Wilkinson y Moore, 1990).

No obstante, el almidón de arroz, al igual que otros almidones de cereales se modifica, para obtener derivados con diferentes propiedades específicas, que permitan controlar el comportamiento reológico de sus pastas, la tendencia a la retrogradación y la estabilidad al proceso de congelación-descongelación, entre otros (Singh, Kaur y McCarthy, 2007).

En trabajos recientes, se ha informado la modificación del almidón mediante el uso de tecnologías físicas alternativas a los procesos convencionales químicos, como la molienda de alta energía (Han, Chang y Kim, 2007; Liu *et al.*, 2011), los campos eléctricos pulsantes (Han *et al.*, 2009), el ultrasonido (Zhu, 2015), las altas presiones (Blaszczak *et al.*, 2007), las microondas (Lewandowicz, Jankowski y Fornal, 2000), la radiación gamma (Bao, Ao y Jane, 2005) y los tratamientos hidrotérmicos (Shih *et al.*, 2007).

1.3. Métodos de molienda para la obtención de harina

La harina de arroz se prepara a partir de tres métodos de molienda: húmeda, semiseca y seca; como se ilustra en la figura 1.11.

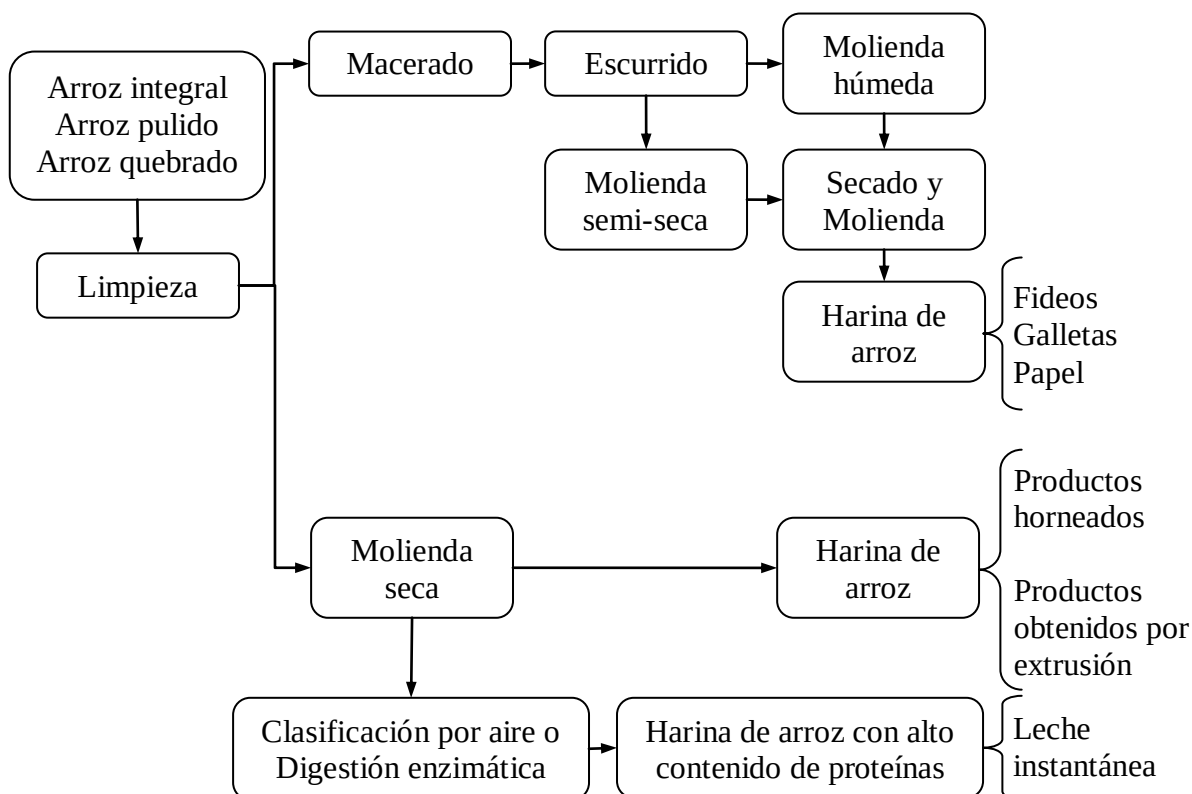


Figura 1.11. Producción de harina de arroz y sus aplicaciones. Fuente: Yeh (2004).

La molienda húmeda consiste en macerar los granos en agua durante un período prolongado de tiempo, para acondicionar su estructura interna, luego se escurren y muelen con agua, generalmente en un molino de piedra o de rodillos. Después de la molienda, se elimina el exceso de agua por secado, y la harina es suavemente remolida. En la molienda semiseca, el arroz se macera en agua, se escurre y muele comúnmente en un molino de agujas, sin adicionar agua. La principal desventaja de estos dos métodos es el consumo de agua, que a su vez crea una gran cantidad de aguas residuales con componentes solubles del arroz, por lo tanto es necesario su tratamiento. En la molienda seca el arroz, con una humedad aproximada del 10 %, es molido sin procesamiento previo a diferentes tamaños, según el tipo de molino (molino de rodillos, molino de discos, molino de martillos, entre otros) (Yeh, 2004; Chen, Lu y Lii, 1999; Kim, 2013).

En general, la harina de arroz obtenida por molienda húmeda, se utiliza para la elaboración de fideos y productos tradicionales asiáticos como el *mochi* japonés, el *cascaron* filipino y alimentos fermentados como el *idli* de la India. Las aplicaciones de la harina obtenida por molienda semiseca, son similares a las de la molienda húmeda. En cambio, la harina producida por molienda seca, por tener el mismo contenido de proteínas que el grano de origen, es utilizada para la preparación de alimentos infantiles, productos extruidos y panificados (Yeh, 2004).

Recientemente se ha propuesto un método alternativo para la producción de harina de arroz, la molienda criogénica, la cual involucra inicialmente la congelación de los granos en nitrógeno líquido, previo a la molienda en seco (Ngamnikom y Songsermpong, 2011).

Cuando se compara la eficiencia de la molienda seca, húmeda y criogénica, se observa que la molienda húmeda produce el menor contenido de almidón dañado, la menor granulometría y una distribución de tamaño de partícula más homogénea que los otros métodos de molienda. Sin embargo, el consumo específico de energía se hace mayor, debido al posterior secado y molienda adicional. Por otra parte, la molienda criogénica llevada a cabo en un molino de martillos, reduce tanto el tamaño de partícula como el contenido de almidón dañado, en relación con la molienda seca, a causa de las temperaturas extremadamente bajas que alcanza el grano, previo a la molienda (Ngamnikom y Songsermpong, 2011).

El método de molienda y el tipo de molino utilizado, determinan el tamaño de partícula de la harina de arroz y el contenido de almidón dañado (Rosell *et al.*, 2007), los cuales afectan las propiedades fisicoquímicas de harina de arroz y la idoneidad para sus aplicaciones específica (Kim, 2013).

1.4. Método de molienda para la obtención de almidón

En la molienda húmeda de arroz pulido (generalmente el quebrado) para la obtención de almidón, se busca separar los componentes químicos del grano: almidón, proteína y fibra. Esta operación comprende varias etapas: maceración, molienda húmeda y separación de los componentes por centrifugación (Juliano, 1994).

La aislación del almidón de arroz difiere de la correspondiente al maíz, trigo o papa debido a las diferencias en las propiedades de las proteínas. Como la mayor parte de las proteínas del arroz son solubles en álcali, la maceración en medio alcalino constituye el método tradicionalmente utilizado, el cual proporciona buena recuperación y bajo contenido proteico residual de aproximadamente 1 % (Yang, Lai y Lii, 1984). Los granos de arroz quebrados se maceran en solución de hidróxido de sodio (0,3 – 0,5 %), a temperaturas entre 25 – 50 °C. Una temperatura mayor cercana a la gelatinización, puede provocar cambios estructurales en los gránulos (*annealing*), que alteran sus características físico-químicas (Zobel, Young y Rocca, 1988). La fuerte asociación entre la proteína y el almidón en el arroz, dificulta su separación; por lo que la lenta maceración (24 horas a 25 °C) incrementa los problemas microbianos (Juliano, 1994), además se genera gran cantidad de efluente alcalino, cuyo costoso tratamiento ha incidido negativamente en el desarrollo de la industria arrocería (Lumdubwong y Seib, 2000).

Luego el arroz macerado y escurrido se muele en húmedo, con solución alcalina en molinos de bolas, de martillos o de piedra. Después de almacenar la suspensión de 10 horas a 24 horas, se elimina la fibra haciéndola pasar a través de tamices; el almidón se recupera por centrifugación, se lava en agua y se seca (Juliano, 1994).

Las investigaciones sobre molienda húmeda de arroz son relativamente escasas, comenzaron en los 60' (Medcalf y Gilles, 1965; Hogan, 1967) y han resurgido en la última década (Wang y Wang, 2001; Li *et al.*, 2008b; Matsunaga, Takhashii y Kainuma, 2003; Lumdubwong y Seib, 2000).

Diferentes estrategias han sido propuestas para incrementar la eficiencia de la extracción de almidón, las cuales incluyen: maceración con surfactantes (Kung, Chen y Sung, 1987; Wang y Wang, 2004a), enzimas (Lumdubwong y Seib, 2000; Wang y Wang, 2001), y aplicación de ultrasonido de alta intensidad (Wang y Wang, 2004a; Wang y Wang, 2004b). Los surfactantes iónicos como el dodecil sulfato sódico (SDS, tensioactivo aniónico) provocan la desnaturalización de las proteínas, promoviendo cambios en la estructura

terciaria y cuaternaria, al unirse a la proteína formando complejos, lo que facilita la extracción de la misma (Kinugasa *et al.*, 2001; Shirahama *et al.*, 1974).

Con la aplicación de enzimas, que actúan sobre la pared celular y sobre las proteínas, se logra mayor rendimiento y pureza y menor porcentaje de almidón dañado, sin embargo debe tenerse en cuenta que el costo del proceso, a causa de las enzimas, es mucho mayor que el del método alcalino (1,75 *versus* 0,76 U\$/kg almidón) (Lumdubwong y Seib, 2000).

En el caso de la molienda asistida por ultrasonido se logran varios beneficios: apreciable reducción del tiempo de maceración, reducción del uso de agentes químicos y menor costo por tratamiento de efluentes, respecto de las otras alternativas mencionadas. En contraste, es mayor la proporción de almidón dañado y se trata de una tecnología emergente, aún de muy alto costo (Wang y Wang, 2004a; Wang y Wang, 2004b).

Otra estrategia implementada es el uso de harina (obtenida por molienda seca o húmeda), en lugar del grano partido o entero, aunque en general el tiempo de maceración en condiciones alcalinas, es similar o levemente inferior a la del grano, a no ser que se realice con enzimas o tensioactivos (Ashogbon y Akintayo, 2012; Bindar, Efan y Rahmi, 2013; Wang y Wang, 2004a).

La reciente aparición en el mercado de molinos de alta energía, que pueden operar por vía húmeda y son especialmente aptos para producir un elevado grado de disgregación, se presenta como una potencial herramienta para la obtención de almidón. El estudio de la molienda húmeda en un molino planetario de bolas para obtener almidón de arroz, abre interesantes perspectivas, por cuanto podría diversificarse la gama de productos derivados de este cereal, desde almidones nativos hasta pregelatinizados, de acuerdo con las condiciones operativas del proceso.

1.5. Fundamento de la molienda

La reducción de tamaño de partícula, requiere aplicar una fuerza mecánica sobre el material que se va a moler. Los materiales responden al esfuerzo con deformación y el consiguiente desarrollo de tensión (Gennaro, 2003). Según la naturaleza de la fuerza y la resistencia mecánica, el material puede: (a) sufrir una deformación elástica, es decir, deformarse dentro del límite de elasticidad y recobrar su forma original, cuando deja de actuar la fuerza, (b) sobrepasar el límite elástico y sufrir una deformación permanente. Las propiedades elásticas e inelásticas de un alimento, a menudo varían considerablemente con

el contenido de humedad y la distribución de agua en el material, además, estas propiedades son fuertemente anisotrópicas, con diferente resistencia mecánica según la dirección en la que se mida (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2005).

A medida que aumenta el esfuerzo aplicado, las partículas pueden fragmentarse (materiales frágiles) o seguir deformándose (materiales dúctiles) hasta alcanzar el punto de rotura (que es propio de cada material), produciendo nuevas áreas superficiales (Rhodes, 2013).

Para averiguar el consumo de energía en la molienda, se debe tener en cuenta las etapas involucradas: (1) fractura inicial a lo largo de las grietas ya existentes dentro del material, (2) formación de nuevas grietas o fisuras, seguidas de fractura a lo largo de las mismas.

La energía útil para causar la rotura surge como una energía superficial, asociada con el trabajo necesario para deformar el material y crear nueva superficie. Esta última viene dada por:

$$E = \Delta (\sigma A) \quad (1.1)$$

Donde σ es la energía interfacial de la superficie y A es el área de la superficie.

En un molino, las partículas se someten a muchas deformaciones, elásticas o inelásticas, que no superan la tensión de rotura y por lo tanto no causan la fragmentación del material, sin embargo, consumen gran cantidad de energía. De hecho, sólo 0,06 % a 1 % de la energía mecánica total utilizada en la molienda, es efectiva para producir fracturas y crear nuevas superficies. La energía restante se pierde en la deformación viscoelástica de las partículas, el ruido, las vibraciones, la adquisición de energía cinética por las partículas, la fricción entre partículas, la deformación de los elementos de molienda, el rozamiento de las partículas con las paredes de la maquinaria, y también una gran cantidad de energía, se disipa en forma de calor, que a su vez genera daño térmico en el producto. La energía requerida para la fractura, depende del tipo de material a moler (tamaño inicial, dureza, humedad y otros) y la magnitud de la fuerza mecánica aplicada (tipo, duración y otros), los que afectan la eficiencia y el alcance del proceso de reducción de tamaño (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2005; Baláž, 2008).

Si bien el proceso de molienda fue descrito matemáticamente, la teoría de la molienda no ha sido desarrollada tanto, como para que sea posible proporcionar en forma cuantitativa, el rendimiento real de los molinos. De todos modos, se enunciaron tres modelos semiempíricos, que muestran la relación entre el consumo específico de energía y la reducción de tamaño de las partículas (Gennaro, 2003).

1.5.1. Modelos clásicos de molienda

Modelo de Rittinger

Rittiger (1867) propuso, que la energía requerida para la reducción del tamaño de partícula, es directamente proporcional al incremento de la superficie creada, según la siguiente ecuación:

$$E = C_R (S_1 - S_o) \quad (1.2)$$

Donde E es la energía específica o energía por unidad de masa, C_R es una constante propia de un equipo y de un material, S_o y S_1 el área de la superficie inicial y final respectivamente. De acuerdo con Rittinger, la energía necesaria para la fractura, también puede ser expresada en función de los diámetros de partícula (ec. 1.3).

$$E = C_R \left(\frac{1}{D_1} - \frac{1}{D_o} \right) \quad (1.3)$$

Donde E es la energía específica, C_R es una constante, D_o y D_1 son el tamaño de partícula inicial y final respectivamente. Sin embargo, esta ley ignora la energía absorbida por la deformación elástica (supone que las partículas no se deforman antes de romperse), que es varias veces superior, a la requerida para la creación de nueva superficie (Baláž, 2008).

Modelo de Kick

Kick (1883) planteó que la reducción relativa equivalente en tamaño, requiere igual energía (ec. 1.4).

$$E = C_K \left(\ln \frac{D_o}{D_1} \right) \quad (1.4)$$

Donde E es la energía específica, C_K es una constante y D_o/D_1 es la relación de reducción de tamaño de partícula. El principal inconveniente de esta teoría es que se requiere la misma energía, para reducir tanto una partícula de 10 μm a 1 μm , como para reducir otra de 1 m a 10 cm. Esta es una simplificación que no puede aceptarse, especialmente en molienda fina y ultrafina (Baláž, 2008).

Modelo de Bond

Bond (1952) sugirió que la energía requerida para la molienda, es intermedia entre las dadas por las fórmulas de Rittinger y de Kick; y que es proporcional a la longitud de las

nuevas grietas, producidas en el material. Para partículas de la misma forma, la energía necesaria para llevar a cabo la molienda, es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del tamaño promedio de las partículas. El modelo empírico es:

$$E = C_B \left(\frac{1}{\sqrt{D_1}} - \frac{1}{\sqrt{D_o}} \right) = 10W_i \left(\frac{1}{\sqrt{D_1}} - \frac{1}{\sqrt{D_o}} \right) \quad (1.5)$$

Donde E es la energía específica; C_B es una constante igual a $10W_i$, siendo W_i el índice de trabajo, el cual se define como la energía requerida para reducir una unidad de masa de material, de un tamaño de partícula teóricamente infinita, a un tamaño tal que el 80 % pase por un tamiz de 100 μm . W_i se obtiene a partir de ensayos experimentales. D_o y D_1 son el tamaño de partícula inicial y final respectivamente.

Ninguna de estas teorías tienen en cuenta la distribución del tamaño de partícula del material, antes y después de la molienda, ni tampoco las interacciones entre las partículas y la energía consumida por la deformación plástica (Baláž, 2008).

1.5.1.1. Modelo generalizado de molienda

Los tres modelos pueden ser considerados como la integral de la misma ecuación diferencial (Walker *et al.*, 1937), denominada modelo generalizado de molienda.

$$dE = -C \frac{dD}{D^n} \quad (1.6)$$

Con:

$C = C_R$, $n = 2$ para Rittinger; $C = C_K$, $n = 1$ para Kick; $C = C_B$, $n = 1,5$ para Bond.

La ecuación 1.6 establece, que la energía necesaria para una disminución diferencial en tamaño, es proporcional al cambio de tamaño (dD) e inversamente proporcional al tamaño, elevado a una potencia n . Por lo que n , no es constante y depende de las características dimensionales de las partículas.

Según Hukki (1975), el modelo de Kick resultaría adecuado para partículas de tamaño superior a 1 cm, lo que corresponde al ámbito de la trituración gruesa, donde la mayor parte de la energía se utiliza para fracturar las grietas existentes en el material. El modelo de Bond sería aplicable con mayor precisión, en el rango correspondiente a la molienda convencional, para la reducción de tamaño, en el intervalo de 25 mm a 100 μm .

Finalmente el modelo de Rittinger, se aplicaría en el rango de la molienda fina hasta tamaños de partícula de $10\ \mu\text{m}$, si el material no se aglomera, en la que se produce un gran aumento de la superficie. Para molturación más fina el consumo específico de energía, aumentaría más de lo que se puede esperar según el modelo de Rittinger, como se visualiza en la figura 1.12.

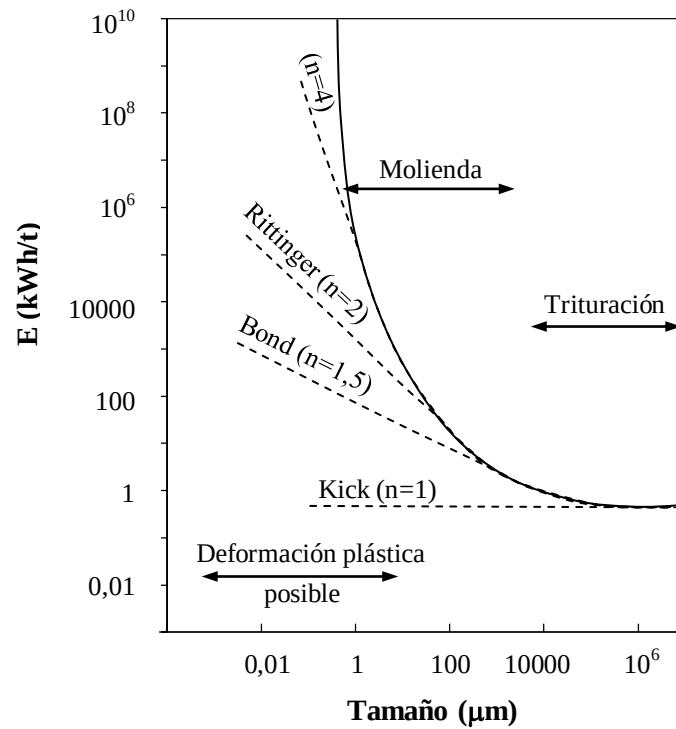


Figura 1.12. Comparación entre las diferentes teorías de la molturación.

Fuente: Hukki (1975).

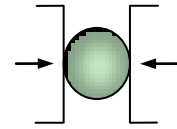
Sin embargo, estos modelos en general, solo han sido útiles para brindar tendencias e información cualitativa sobre el proceso de molienda. Frecuentemente se requieren pruebas de laboratorio, para evaluar el rendimiento de un equipo de molienda en particular.

1.5.2. Mecanismos de esfuerzo

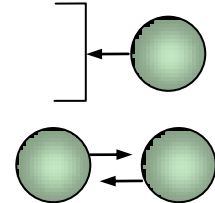
La efectividad de la molienda depende del mecanismo de esfuerzo empleado por el molino, el cual debe seleccionarse sobre la base de las propiedades de fractura del material (densidad, grado de dureza, consistencia, humedad, contenido de grasa) (Retsch GmbH, n.d.). Los mecanismos básicos, a través de los cuales puede producirse la fragmentación de las partículas sólidas, se esquematizan en la figura 1.13.

a) Compresión

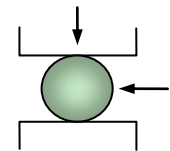
Esfuerzo ejercido sobre una partícula que se encuentra entre dos superficies diametralmente opuestas. La presión es ejercida por los elementos de molienda. Ej.: molino de rodillos, molino horizontal de bolas.

**b) Impacto**

Esfuerzo ejercido por una superficie sólida de un elemento de molienda (ej. bolas) o de otra partícula. El esfuerzo por impacto, es causado principalmente por la aceleración unilateral o recíproca de las partículas. Ej.: molino de martillos, molino planetario.

**c) Fricción**

Esfuerzo ejercido perpendicularmente sobre la partícula, por dos superficies sólidas. La fricción se produce por la presión vertical de una superficie y el movimiento simultáneo horizontal de la otra. Ej.: molino de disco.

**d) Corte**

Esfuerzo entre dos o más superficies dotadas de canto vivo. Siempre hay al menos una superficie fija y una móvil, con arista cortante. Ej.: molino de cuchillas.

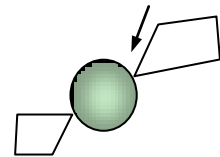


Figura 1.13. Mecanismos de esfuerzo empleado por los molinos. Fuente: Meuser (1993).

Los equipos de molienda aplican por lo general estos mecanismos de forma combinada. Las propiedades del material a utilizar determinan la conveniencia de recurrir a uno u otro mecanismo. Los materiales duros y frágiles se disgregan adecuadamente por compresión, impacto, y fricción; mientras que los dúctiles (ej.: fibrosos) requieren el efecto de corte (Retsch GmbH, n.d.).

1.6. Tipos de molinos

Se pueden distinguir dos clases: de alta energía (o alto impacto) y de baja energía. En los molinos de alta energía los elementos de molienda desarrollan una elevada velocidad, factor que determina la energía cinética involucrada, y logran la reducción del tamaño de partícula en menor tiempo. Entre estos se encuentran los de atrición, vibratorios y

planetarios. En cambio, los molinos convencionales (ej.: molino horizontal de bolas) son considerados de baja energía ya que los elementos de molienda desarrollan una limitada velocidad (Higareda Rodríguez, 2011).

En la molienda de arroz se emplean diferentes molinos (Nishita y Bean, 1982), algunos de los cuales se exponen a continuación.

El **molino de martillos** (figura 1.14.A) consiste en un disco giratorio sobre el cual van unidos los martillos y una malla en la parte inferior de la carcasa. El material se introduce por la parte superior, es lanzado hacia afuera por la fuerza centrífuga y se tritura por impacto, hasta alcanzar un tamaño lo suficientemente pequeño, para pasar a través de la malla.

El **molino de rodillos** (figura 1.14.B) es el equipo principal en la industria, para la molienda húmeda de arroz. Consta de un par de rodillos horizontales de acero, que giran en sentido contrario. Las partículas quedan atrapadas y son comprimidas. En algunos aparatos, los rodillos giran a diferente velocidad generando fricción. La superficie de los rodillos puede ser estriada, para facilitar la fricción y la separación.

El **molino de púas** (figura 1.14.C) es un tipo de molino de disco. El material pasa a través de dos discos: uno fijo y otro giratorio (algunos modelos constan de dos discos móviles), con agujas sujetas e intercaladas que impactan contra el material y al mismo tiempo lo friccionan (Kim, 2013).

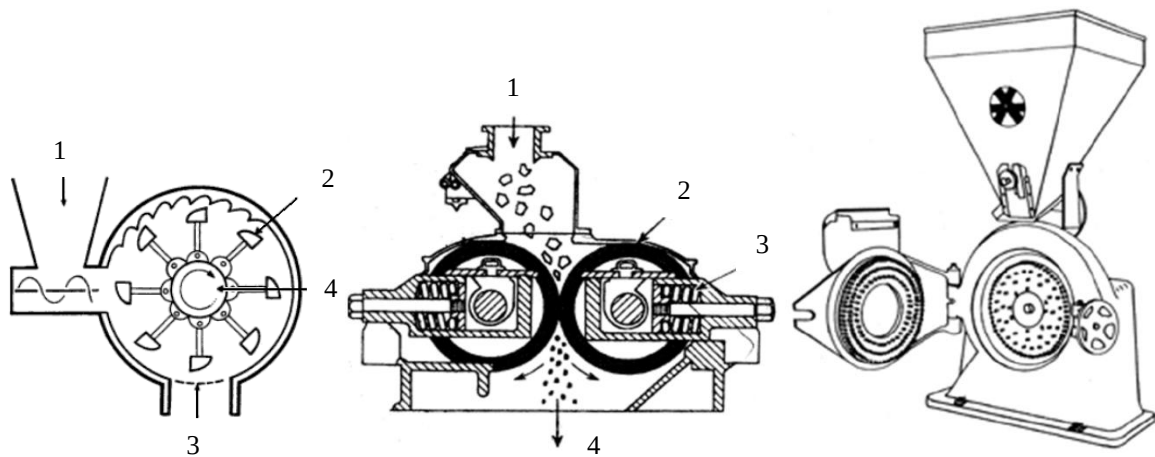


Figura 1.14. A) **Molino de martillos.** 1. alimentación, 2. martillos, 3. malla, 4. disco giratorio. B) **Molinos de rodillos.** 1. alimentación, 2. rodillos, 3. ajuste, 4. descarga. C) **Molino de púas.** Fuente: Kim (2013).

El **molino horizontal de bolas** (figura 1.15.A) está constituido por un cilindro hueco giratorio, que se mueve a poca velocidad, en cuyo interior se halla un cierto número de bolas de acero o cerámica. A medida que el cilindro gira, las bolas se elevan por las

paredes del cilindro y caen sobre el producto a triturar. Las bolas también giran y cambian de posición unas con respecto a las otras, friccionando el producto a moler. Cuando la velocidad de rotación es pequeña, las bolas no se elevan mucho por las paredes del cilindro (figura 15.B1); giran unas sobre otras. A velocidad superior, se elevan más y crece la fuerza de impacto (figura 15.B2). A velocidad alta, las bolas no se separan de la pared, debido a la fuerza centrífuga (figura 15.B3). En estas condiciones, no hay molienda (Berndt, 2004).

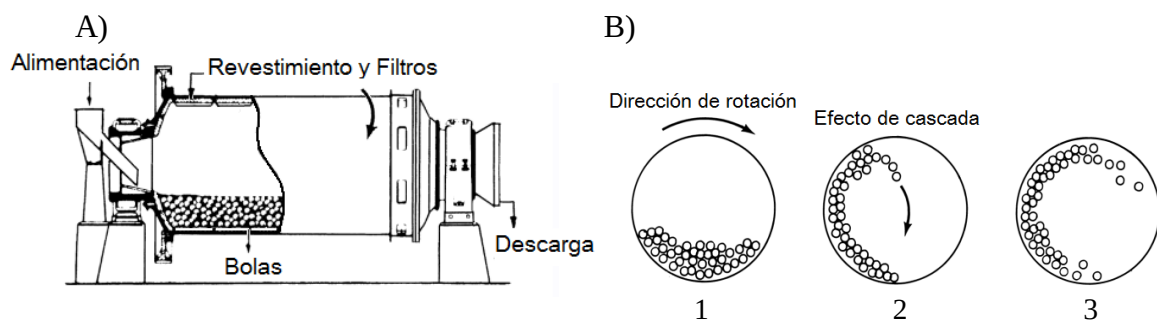


Figura 15. A) Molino horizontal de bolas B) Esquema lateral del molino en rotación. 1. velocidad baja 2. velocidad óptima 3. velocidad alta. Fuente: Berndt (2004).

1.6.1. Molino planetario de bolas

El molino planetario de bolas consta de un recipiente cilíndrico o jarra, donde se introduce el material a moler y los elementos de molienda (que suelen ser bolas del mismo diámetro). Según el modelo del molino, contiene de una a cuatro jarras, las cuales están colocadas de forma excéntrica sobre una rueda común y rotan sobre su propio eje (figura 1.16.A), este movimiento asemeja al de los planetas, por el que debe su nombre, *planetario*. El principio de funcionamiento se esquematiza en la figura 1.16.B. La rueda principal gira en sentido contrario a los recipientes de molienda, con una relación de velocidad de 1:-1; 1:-2 o 1:-3 (a mayor relación de velocidad, mayor es la energía generada). El movimiento de las bolas dentro de la jarra, es modificado por un *efecto Coriolis*, a causa del movimiento giratorio opuesto de la jarra con respecto a la rueda principal. Las bolas tienden a acelerarse con respecto a la jarra y esta diferencia de velocidad entre las bolas y los recipientes, se traduce en una acción combinada de fuerzas de impacto (partícula-partícula y partícula-bola) y fricción, que libera gran cantidad de energía dinámica. La interacción entre dichas fuerzas, es responsable del alto grado de molienda (Retsch GmbH, 2009). La fuerza centrífuga generada por la rotación, también hace que las bolas en parte rueden dentro del recipiente, adheridas a la pared interior, aplasten el material y lo trituren por efecto de compresión y

fricción. Es posible obtener una aceleración gravitacional de 50 – 100 *g*. La densidad de energía en estos molinos es de cien a mil veces mayor, que la utilizada por los equipos de molienda convencional y pueden lograr la activación mecánica del material molturado (Fokina *et al.*, 2004).

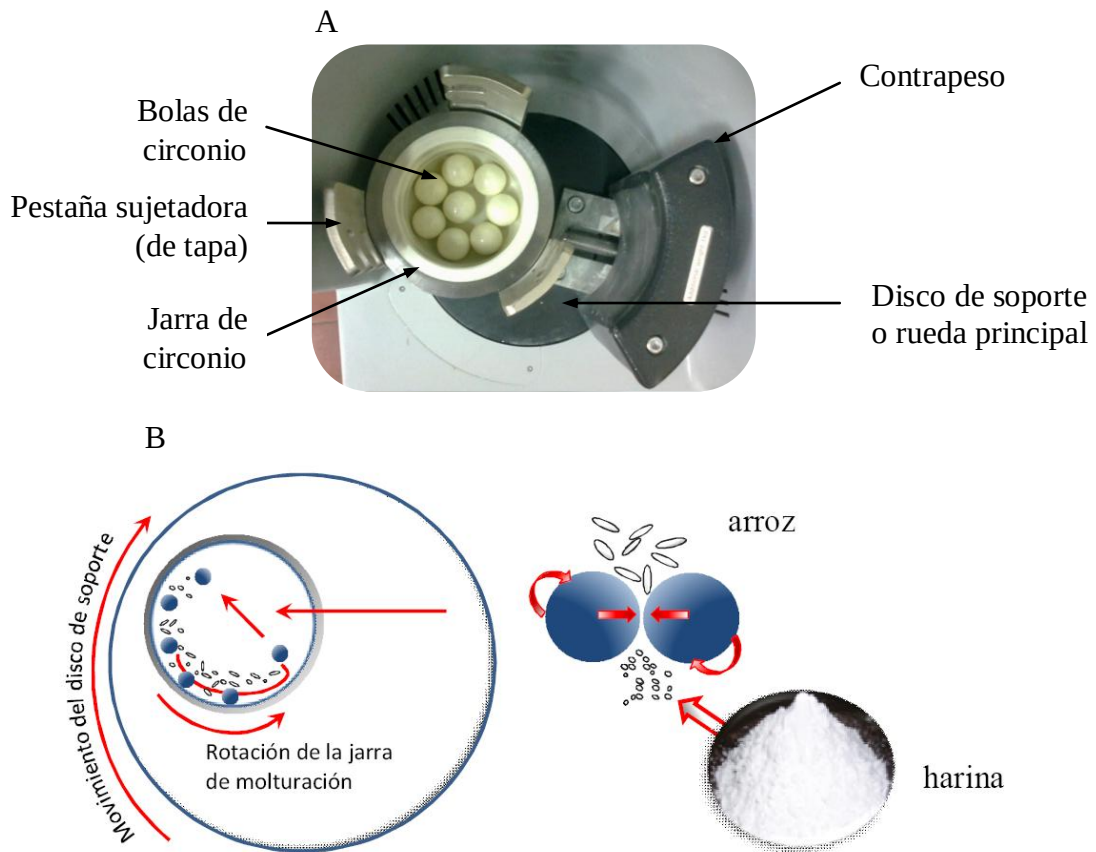


Figura 1.16. Molino planetario de bolas A) PM 100 (Retsch GmbH, Alemania) B) principio de funcionamiento. Fuente: adaptado de Gu y Shen (2009).

Es así como el concepto tradicional de molienda asociado al fenómeno de reducción de tamaño de partícula, es sustituido por el concepto de transformación termomecánica o mecanoquímica, que considera al molino como un reactor, donde se pueden llevar a cabo reacciones de descomposición y que provocan cambios en la estructura cristalina del material. En general, los productos de la molienda presentan una elevada homogeneidad y superficie específica, así como pérdida de la cristalinidad, pudiendo ser amorfos a la difracción de rayos X (Gu y Shen, 2009; Baláz, 2008; Zhang, Zhao y Xiong, 2010).

El molino planetario de bolas permite realizar la molienda por vía húmeda o seca, presentando las siguientes ventajas (Retsch GmbH, 2009; Retsch GmbH, n.d.):

a) molienda húmeda

- No hay emisión de polvos.
- No hay problemas de compactación y por lo tanto la molienda es muy homogénea.
- Se obtienen tamaños de partícula menores, a igual tiempo de molturación.

b) molienda seca

- No es necesario el secado posterior del producto.
- Se disminuye el grado de contaminación del material molturado.
- Se eliminan las posibles reacciones del material con el líquido.
- Hay problemas de homogeneidad ligados a la formación de agregados compactos.

Sin embargo, la fabricación de estos molinos a escala industrial se encuentra con dificultades de diseño. Durante las últimas décadas, el problema de la alimentación continua de un material en un molino planetario, se ha resuelto y ahora existen modelos que operan de modo continuo. La productividad por unidad de volumen de la cámara de trabajo, es mayor (al menos diez veces) que la de los molinos de bolas convencionales (Baláž, 2008). Los molinos planetarios industriales de acción continua disponibles comercialmente, se caracterizan por una aceleración de hasta 20 *g* y por una productividad de hasta cinco toneladas de polvo (fracción de menos de 10 μm) por hora (Technics and Technology of Disintegration Co., 2015).

1.6.1.1. Variables operativas del Molino Planetario de Bolas

Las variables que influyen en el proceso de molienda de alta energía son muy diversas, como se enumera a continuación (Retsch GmbH, 2012a).

1. Tamaño de las bolas.
2. Cantidad de bolas.
3. Velocidad de molienda.
4. Tiempo de molienda.
5. Tiempo de pausa.
6. Relación en masa de bolas/muestra.
7. Relación en masa de agua/muestra (para el proceso de molienda húmeda).
8. Material de la jarra y de las bolas.

A causa de la versatilidad que proporciona la combinación de todas las variables mencionadas, este molino puede adaptarse para la molienda de diversos tipos de materiales. Sin embargo, el elevado número de variables operativas, dificulta la selección de la región experimental y la obtención del punto óptimo de operación, para lograr el grado adecuado de molienda en el material estudiado.

1.6.1.2. Antecedentes del uso de los molinos planetarios de bolas

La utilización de los molinos planetarios de alta energía, a escala de laboratorio, ha sido intensamente estudiada para la aleación mecánica, en la que mezclas de polvos de diferentes metales son molidos, originándose la transferencia o difusión del material, para la obtención de fases metaestables. Asimismo se han empleado en la industria metalúrgica para la trituración y homogenización de polvos (molienda mecánica) (Baláž, 2008). En el área de la molienda de minerales Charkhi, Kazemian y Kazemeini (2010) evaluaron diferentes condiciones de molienda húmeda y seca, para la producción de nano-partículas de zeolita, en un MPB. También se ha utilizado para la preparación de muestras en la industria farmacéutica, para estudios referidos a la recuperación de desechos industriales, para producir polvos mecánicamente activados o para obtener materiales amorfos (Tsai, *et al.*, 2008; Retsch GmbH, n.d.; Fukumori *et al.*, 1998; Tsai *et al.*, 2008). Los molinos planetarios de bolas surgen así, como equipos aptos para la realización de síntesis química y molienda ultrafina por vía seca o húmeda.

Actualmente esta tecnología es muy poco utilizada en la industria alimentaria, y existen escasas publicaciones referidas a su aplicación. En general, abarcan la gama existente de molinos de alto impacto y no se restringen exclusivamente al molino planetario (Huang *et al.*, 2008; Martínez-Bustos *et al.*, 2007). Con relación a la modificación de almidones, los molinos planetarios se han empleado para activar los gránulos y lograr la pérdida completa de cristalinidad, empleando tiempos prolongados de molienda (de hasta 100 horas) (Zhang, Zhao y Xiong, 2010; He *et al.*, 2014; Han *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2011). Sin embargo, los efectos alcanzados utilizando tiempos relativamente cortos de molienda, no han sido aún suficientemente explorados. Tampoco al presente existen estudios acerca de los efectos de la molienda húmeda de granos para la obtención de harinas y de almidones, y escasas publicaciones de molienda seca en molino planetario de bolas (Roa *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2011).

Por lo expuesto, resulta interesante investigar el potencial del molino planetario, el cual ofrece la posibilidad de trabajar tanto por vía seca como por vía húmeda y permite además programar los períodos de molienda y pausa, para abordar el desarrollo de protocolos de molienda adecuados, para la obtención de harinas y de almidones modificados.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

El objetivo general del presente trabajo fue evaluar el efecto de la molienda seca y húmeda de arroz pulido, en un molino planetario de bolas, sobre las características fisicoquímicas, funcionales y morfológicas de las harinas y de los almidones obtenidos, y desarrollar formulaciones para pastas libres de gluten.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Referidos a la obtención de harina

- a) Desarrollar los protocolos de molienda de arroz por vía seca (MS) y húmeda (MH), en el molino planetario de bolas (MPB), para la obtención de harinas mediante la selección de:
- el material de la jarra y de las bolas.
 - los intervalos de tiempo de molienda y pausa.
 - la velocidad de rotación.
 - la relaciones en masa de bolas/arroz (R1) y de agua/arroz (R2), para el caso particular de MH.
- b) Determinar el efecto de la velocidad de rotación de la jarra y del tiempo de molienda, sobre la distribución de tamaño de partícula (DTP) de las harinas obtenidas.
- c) Modelar el proceso de molienda en el MPB. Evaluar los modelos convencionales, que describen la relación matemática entre la energía consumida en la molienda y la granulometría de la harina.
- d) Estudiar el efecto de las condiciones de molienda en las propiedades de las harinas evaluadas, en términos de: almidón dañado (AD), propiedades de hidratación, propiedades térmicas (temperaturas y entalpías de gelatinización), grado de cristalinidad (GC), propiedades de pasta, microscopía electrónica de barrido (SEM).

2.2.2. Referidos a la obtención de almidón

- a) Obtener la fracción amilácea del grano de arroz, utilizando diferentes combinaciones de tensioactivo y álcali, mediante molienda húmeda en el MPB, a partir de la condición óptima establecida para la obtención de harina por MH, en el mismo molino.
- b) Estimar el efecto de las condiciones de molienda en los atributos de los almidones evaluados en términos de rendimiento, pureza (contenido proteico), propiedades de pasta y caracterización de geles de almidón.
- c) Analizar las ventajas y desventajas de la molienda en el MPB en relación con el método tradicional.

2.2.3. Referidos a la elaboración de pastas

- a) Evaluar el efecto de varios sustitutos del gluten en las propiedades mecánicas de fideos frescos elaborados a base de harina de arroz, obtenida en el MPB, con el propósito de seleccionar los más convenientes.
- b) Investigar sobre la base de un diseño de mezcla, los posibles efectos sinérgicos de los sustitutos más aptos, optimizando la composición de la mezcla para maximizar la calidad en términos de las propiedades mecánicas y de cocción de la pasta.

3. Materiales y Métodos

3.1. Materiales

3.1.1. Materia prima

Todos los ensayos fueron realizados con arroz blanco comercial de grano largo fino (Molinos Río de la Plata S.A., Buenos Aires, Argentina).

A una alícuota representativa de la muestra se le realizó un análisis de composición centesimal, cuyos resultados pueden observarse en la tabla 3.1. Para una mejor caracterización del grano, se determinó el contenido de amilosa, el cual resultó igual a 23,7 g/ 100 g b.s., según el método de Morrison y Laignelet (1983).

Tabla 3.1. Composición centesimal del grano de arroz comercial.

Análisis	Resultados (g/100 g base seca)	Referencia Bibliográfica
Humedad	11,5	AOAC, 925.10 (2000)
Cenizas	0,4	AOAC, 923.03 (2000)
Proteína (N × 5,95)	7,8	AOAC, 960.52 (2000)
Grasa	0,5	AOAC, 920.39 (2000)
Almidón	79,5	AOAC, 996.11 (2000)
Fibras	0,3	AOAC, 991.43 (2000)

3.1.2. Molino planetario de bolas

La molienda del arroz blanco (pulido) se realizó en un molino planetario de bolas (MPB) de alto impacto (PM100, Retsch GmbH, Alemania), con capacidad para una jarra (figura 3.1). Se ajustó el contrapeso para balancear el centro de gravedad del recipiente de molienda y conseguir estabilidad del sistema rotatorio, evitando la excesiva vibración.

El molino opera en un rango de velocidad de 100 rpm a 650 rpm de la rueda principal y una relación de velocidades entre la rueda principal y el recipiente de molienda de 1:-2, dando el recipiente de molienda dos vueltas en sentido inverso, por cada vuelta de la rueda principal (Retsch GmbH, 2009). También permite prefijar tiempos de molienda y pausa con inversión del sentido de giro. La posibilidad de inversión del sentido de giro, evita el deslizamiento ineficaz de las bolas sobre la superficie interna de la jarra, propiciando en su lugar, el impacto de las bolas contra el material que se quiere disgregar.

A su vez, el MPB posibilita determinar la energía total aportada a la muestra y a las bolas, la cual se calcula como la diferencia entre la energía consumida por el accionamiento de la

máquina, con la jarra llena (muestra + bolas) y con la jarra vacía (energía consumida al ralentí). La energía al ralentí se determina por un período relativamente corto (30 – 45 s) y se considera como punto cero, al igual que cuando se realiza la tara en una balanza. El equipo proporciona el registro del aporte de energía, que sobrepasa el nivel de energía al ralentí, esto es, la energía que se aporta a las bolas y al arroz en la jarra (Retsch GmbH, 2012a).



Figura 3.1. Molino planetario de bolas PM 100 (Retsch GmbH, Alemania).

3.1.2.1. Recipientes y elementos de molienda

El molino planetario de bolas (MPB) está provisto de dos recipientes de molienda o jarras *comfort*, una de estas constituida íntegramente de acero inoxidable y la otra de óxido de circonio, parcialmente estabilizado con itrio y revestido con una cubierta protectora de acero inoxidable, con una capacidad de 500 ml cada una. Las tapas tienen juntas tóricas completamente herméticas, que impiden el escape del polvo o del líquido (Retsch GmbH, 2009). Este diseño permite tanto la molienda seca como la húmeda.

La jarra de acero inoxidable cuenta en su tapa, con un sistema de medición de presión (0 kPa – 500 kPa) y de temperatura (0 °C – 200 °C) PM GrindControl (figura 3.2), que a través de un programa (PM GrindControl, Retsch GmbH, Alemania), habilita la recopilación de los datos en una computadora, los cuales pueden ser registrados a distintas velocidades, siendo el mayor intervalo de 5 segundos y el menor de 5 milisegundos (Retsch GmbH, 2012b). Con este sistema, el proceso de molienda puede ser controlado y optimizado.

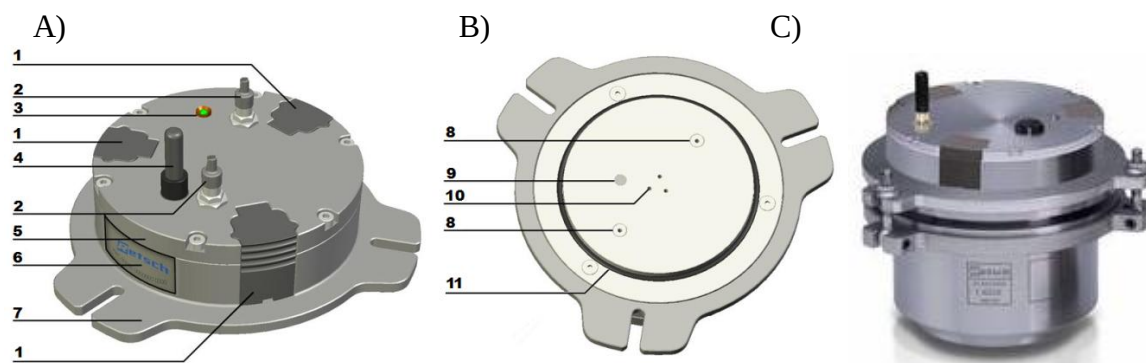


Figura 3.2. Sistema PM GrindControl A) **Lado superior** 1. Batería 2. Válvula 3. Luz indicadora de estado 4. Antena de radio 5. Placa de protección 6. Dirección radio MAC 7. Tapa del recipiente de molienda B) **Lado inferior** 8. Orificio de ventilación 9. Sensor de temperatura 10. Sensor de presión 11. Junta tórica C) **Jarra de acero inoxidable con el dispositivo** (Retsch GmbH, Alemania).

Los elementos de molienda (bolas) disponibles para cada jarra, están constituidos del mismo material que la jarra, este requisito es imprescindible para evitar un desgaste prematuro del recipiente o de los implementos de molienda. En la tabla 3.2 se resumen sus características en función del material y en la figura 3.3 se visualizan.

Tabla 3.2. Características de los elementos de molienda (bolas) disponibles para el MPB, en función del material.

Material	Cantidad de bolas (u)	Diámetro (mm)	Masa por bola (g)
Acero inoxidable	8	30	108,98
	118	10	8,47
Óxido de circonio	8	30	82,26
	1526	5	0,41



Figura 3.3. Accesorios de molienda.

Como consecuencia, la molienda seca de arroz para la obtención de harina se llevó a cabo con las bolas de 30 mm de diámetro, con dos posibles materiales: acero inoxidable y óxido de circonio. Por otro lado, la molienda húmeda de arroz se realizó con las bolas de óxido de circonio de 5 mm de diámetro, único material disponible en el laboratorio donde se realizaron los ensayos.

3.2. Métodos

3.2.1. Molienda seca (MS)

La molienda seca de arroz blanco para la obtención de harina, se realizó en un molino planetario de alto impacto (PM100, Retsch GmbH, Alemania). El material de los accesorios de molienda y la cantidad de bolas empleadas se seleccionaron a partir de los resultados preliminares (sección 4.1.1).

El arroz pulido (200 g) se cargó junto con ocho bolas de óxido de circonio de 30 mm de diámetro en una jarra (500 ml) del mismo material, siendo la relación en masa de bolas/arroz de 3,35 p/p. La velocidad de rotación del molino estuvo comprendida dentro del intervalo de 450 – 650 rpm y se implementó un protocolo que involucró ciclos repetitivos de molienda de 5 minutos (con inversión de giro cada 30 segundos), seguidos de pausa (40 minutos), hasta completar el tiempo de molienda establecido (10 – 40 min).

Además, el molino planetario de bolas permitió, en la configuración de *energía*, determinar la energía total aportada al contenido de la jarra de molienda (energía de molienda + energía perdida en forma de calor) durante el proceso, definida como la diferencia entre la energía consumida por el accionamiento de la máquina con la jarra llena (arroz + bolas) y con la jarra vacía (energía al ralentí).

3.2.1.1. Diseño experimental de MS

En la tabla 3.3 se muestra el diseño factorial aplicado que abarca tres niveles de velocidad de rotación, comprendidos entre 450 – 650 rpm y cuatro niveles de tiempo de molienda, comprendidos entre 10 – 40 minutos. Se incluyen también en la tabla los valores codificados (codificación lineal entre -1 y 1) de ambos factores estudiados, los cuales se utilizaron para obtener los coeficientes del modelo polinómico, mediante el método de superficies de respuesta (MSR).

Tabla 3.3. Diseño experimental utilizado en la molienda seca de arroz en el MPB.

Muestra	Velocidad de rotación		Tiempo de molienda	
	(rpm)	x_1^a	(min)	x_2^a
1	450	-1	10	-1
2	450	-1	20	-0,333
3	450	-1	30	0,333
4	450	-1	40	1
5	550	0	10	-1
6	550	0	20	-0,333
7	550	0	30	0,333
8	550	0	40	1
9	650	1	10	-1
10	650	1	20	-0,333
11	650	1	30	0,333
12	650	1	40	1

^a Valores obtenidos mediante codificación lineal.**3.2.1.2. Preparación de las harinas de referencia (MS)**

La muestra de harina **control** se preparó en un molino de cuchillas (Decalab Fbr, Buenos Aires, Argentina), procesando 25 g de arroz blanco durante 30 segundos.

La muestra de harina **amorfa** fue elaborada en el MPB siguiendo el protocolo de molienda establecido. Los granos de arroz (200 g) se molieron durante 2 horas (5 min de molienda con inversión de giro cada 30 s y pausa de 40 min) a 650 rpm con accesorios de óxido de circonio (jarra y ocho bolas de 30 mm de diámetro). Se verificó la pérdida completa de cristalinidad (estado amorfo) mediante difracción de rayos X.

3.2.2. Molienda húmeda (MH)

La molienda húmeda de arroz blanco para la obtención de harina, se realizó en un molino planetario de alto impacto (PM100, Retsch GmbH, Alemania).

En una jarra de óxido de circonio (500 ml) se colocó el arroz junto con las bolas (5 mm de diámetro) del mismo material que el de la jarra, en una relación en masa de bolas/arroz, **R1**; y se adicionó el agua destilada, en una relación en masa de agua/arroz, **R2**. La masa total cargada en la jarra (bolas, agua y arroz), fue de 806 g y la masa de arroz se determinó a partir de la ecuación 3.1. La velocidad de rotación del molino estuvo comprendida dentro del intervalo 450 – 650 rpm y se implementó un protocolo que involucró ciclos repetitivos de molienda (5 min con inversión de giro cada 30 s) seguidos de pausa (30 min), hasta completar el tiempo de molienda establecido. La pausa se contabilizó exclusivamente como tiempo de maceración *in situ* y su implementación tuvo como objetivo evitar el sobrecalentamiento de la muestra. Las suspensiones de harina de arroz obtenidas en el MPB, fueron congeladas en un freezer convencional a -20 °C y se deshidrataron durante 48 horas en un liofilizador ALPHA 1-4 LD2 (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Alemania), el cual opera en la cámara, a una temperatura de -60 °C y a una presión de 0,04 mbar. El material liofilizado se almacenó en frascos plásticos herméticamente cerrados a temperatura ambiente, hasta su posterior análisis.

$$806 \text{ g} = (R1 \times m_{\text{arroz}}) + (R2 \times m_{\text{arroz}}) + m_{\text{arroz}} \quad (3.1)$$

3.2.2.1. Diseño experimental de MH

Con el propósito de establecer las condiciones de molienda húmeda de arroz en el molino planetario de bolas, se llevaron a cabo diversos ensayos para determinar la relación en masa de bolas/arroz (**R1**) y de agua/arroz (**R2**).

El máximo valor de **R1** se fijó según la disponibilidad de las bolas de óxido de circonio de 5 mm de diámetro (625 g) y el menor valor de **R2** cercano a 1 p/p de acuerdo con lo informado por Charkhi, Kazemian, Kazemeini (2010), quienes obtuvieron los menores tamaños de partícula, al moler en húmedo zeolita¹, en un MPB de igual características que el empleado en el presente trabajo.

En función de lo previamente mencionado, se estableció un diseño experimental que abarcó tres velocidades de rotación de la jarra (450 – 650 rpm), con su correspondiente

¹ Mineral aluminosilicato microporoso que se destaca por su capacidad de hidratarse y deshidratarse

tiempo operativo. Asimismo, se varió R1 entre 4,25 – 5,75 p/p con R2 fija (1,2 p/p) y R2 entre 1,2 – 2,54 p/p con R1 fija (5 p/p), según se detalla en la tabla 3.4.

Tabla 3.4. Diseño experimental utilizado en la molienda húmeda de arroz en el MPB.

Muestra	Velocidad de rotación (rpm)	Tiempo de molienda (min)	R1^a (p/p)	R2^b (p/p)
1	450	35	4,25	1,2
2	450	35	5	1,2
3	450	35	5,75	1,2
4	450	40	4,25	1,2
5	450	40	5	1,2
6	450	40	5,75	1,2
7	550	15	4,25	1,2
8	550	15	5	1,2
9	550	15	5,75	1,2
10	650	10	4,25	1,2
11	650	10	5	1,2
12	650	10	5,75	1,2
13	550	10	5	1,2
14	550	15	5	2,54
15	550	25	5	2,54
16	650	15	5	2,54
17	650	20	5	2,54
18	450	20	5	1,2
19	450	25	5	1,2
20	450	30	5	1,2

^a Relación en masa de bolas/arroz. ^b Relación en masa de agua/arroz.

3.2.2.2. Preparación de las harinas de referencia (MH)

La muestra de harina **control** fue obtenida por molienda húmeda tradicional, siguiendo el criterio de macerar el arroz hasta alcanzar la saturación, propuesto por Chiang y Yeh (2002). El método comprendió: maceración del arroz (200 g) a 35 °C durante 70 minutos y posterior molienda (2 minutos), en una procesadora de cuchillas (Waring blender, Waring Products Division, New Hartford, CT) a velocidad máxima, con una relación en masa de agua/arroz de 2 p/p.

Para elaborar la muestra de harina **gelatinizada**, el arroz (112 g) se cocinó durante una hora a 90 °C en agua destilada, empleando una relación en masa de agua/arroz de 2 p/p. Posteriormente los granos de arroz fueron escurridos y se cargaron en una jarra de óxido de circonio (500 ml), junto con las bolas (5 mm de diámetro) del mismo material, con una relación en masa de bolas/arroz de 5 p/p y se adicionó agua destilada hasta alcanzar una relación en masa de agua/arroz de 1,65 p/p. Cabe aclarar que se usó esta relación, en lugar de 1,2 p/p, para poder realizar la molienda en el MPB, en presencia de agua, debido a que el arroz previamente gelatinizado demostró una mayor capacidad de absorción de agua. La velocidad de rotación del molino se fijó en 550 rpm y se implementó un protocolo que involucró ciclos repetitivos de molienda (5 min con inversión de giro cada 30 s), seguidos de pausa (30 min), hasta completar el tiempo de molienda establecido de 10 minutos. La gelatinización completa del almidón se verificó por calorimetría diferencial de barrido.

Las suspensiones de las harinas de arroz obtenidas (control y gelatinizada) se congelaron en un freezer convencional, a -20 °C y finalmente se liofilizaron y almacenaron en frascos plásticos herméticamente cerrados a temperatura ambiente, hasta su posterior análisis.

3.2.3. Molienda húmeda para la obtención de almidones

La molienda húmeda de arroz blanco, para lo obtención de almidón, se realizó en un molino planetario de alto impacto (PM100, Retsch GmbH, Alemania). Las condiciones de molienda utilizadas (relación en masa de bolas/arroz, relación en masa de solución/arroz, velocidad de rotación y tiempo de molienda) fueron seleccionadas sobre la base de los resultados de los ensayos de molienda húmeda para la obtención de harina (sección 4.2.1.3). El arroz (112 g) se cargó junto con las bolas de óxido de circonio, de 5 mm de diámetro, en una jarra (500 ml) del mismo material, adoptándose una relación en masa de bolas/arroz de 5 p/p. Se agregó una solución combinada de hidróxido de sodio (0-0,075 % p/v, NaOH, Anedra S.A.) y dodecil sulfato sódico (0,3-1,5 % p/v, SDS, J.T. Baker), en una proporción en masa de solución/arroz de 1,2 p/p. Se fijó la velocidad de rotación del molino en 550 rpm y se adoptó un protocolo que involucró ciclos repetitivos de molienda (5 minutos con inversión de giro cada 30 s) seguidos de pausa (30 minutos), hasta completar el tiempo de molienda establecido (15 minutos). La pausa fue contabilizada como tiempo de maceración *in situ*, y su implementación permitió además evitar el sobrecalentamiento de la muestra, la que no superó en ningún caso los 52 °C. Finalmente, se adicionaron 100 ml de solución y se efectuaron 10 segundos adicionales de molienda, para garantizar la homogenización y disminuir la viscosidad de la suspensión, con el objetivo de facilitar la separación de las bolas en un paso posterior.

3.2.3.1. Separación de las fracciones de molienda

El homogenato, obtenido en el MPB, fue procesado según se observa en el esquema de la figura 3.4. En una primera etapa, se separaron las bolas de óxido de circonio con un tamiz ASTM N° 6 (3360 µm de abertura). El filtrado se transfirió a 8 tubos de 50 ml que se centrifugaron en un equipo Rolco 350T (Industrias Rolco, Buenos Aires), a $1400 \times g$ durante 10 minutos. Al finalizar, el sobrenadante de cada tubo fue eliminado.

Empleando una espátula, fue separada la proteína (capa superior amarillenta de aspecto mucilaginoso) del almidón (sedimento inferior de aspecto blanquecino y compacto). La fracción amilácea se resuspendió en solución (SDS-NaOH) y se repitió la centrifugación y separación de la fracción proteica dos veces más, hasta constatar su eliminación. Luego, el almidón fue lavado en agua destilada y neutralizado con ácido clorhídrico (HCl 1N). Finalmente, la fracción amilácea obtenida se congeló y liofilizó. Las muestras liofilizadas

fueron almacenadas en envases herméticamente sellados, a temperatura ambiente, hasta su análisis.

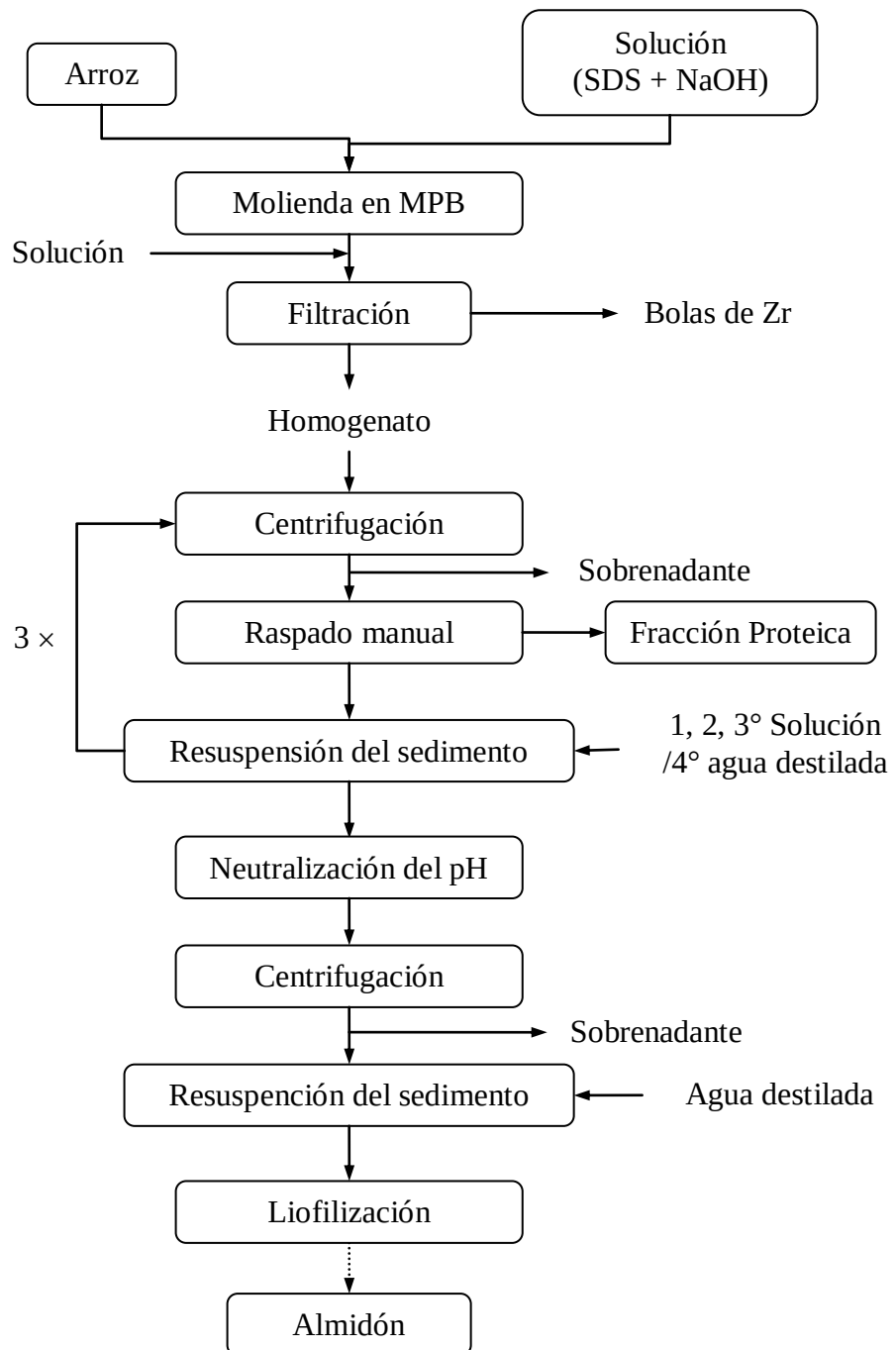


Figura 3.4. Esquema de la obtención de almidón por molienda húmeda en el MPB.

3.2.3.2. Diseño experimental

Los ensayos experimentales se realizaron de acuerdo con el diseño en red de Doehlert (figura 3.5). Se establecieron cinco niveles de concentración para el hidróxido de sodio (0-0,075 % p/v, NaOH) y tres niveles para el dodecil sulfato sódico (0,3-1,5 % p/v, SDS). El

punto central se efectuó por triplicado. En la tabla 3.5 se muestran las condiciones experimentales utilizadas, para los ensayos de molienda húmeda de arroz en el MPB para la obtención de almidón.

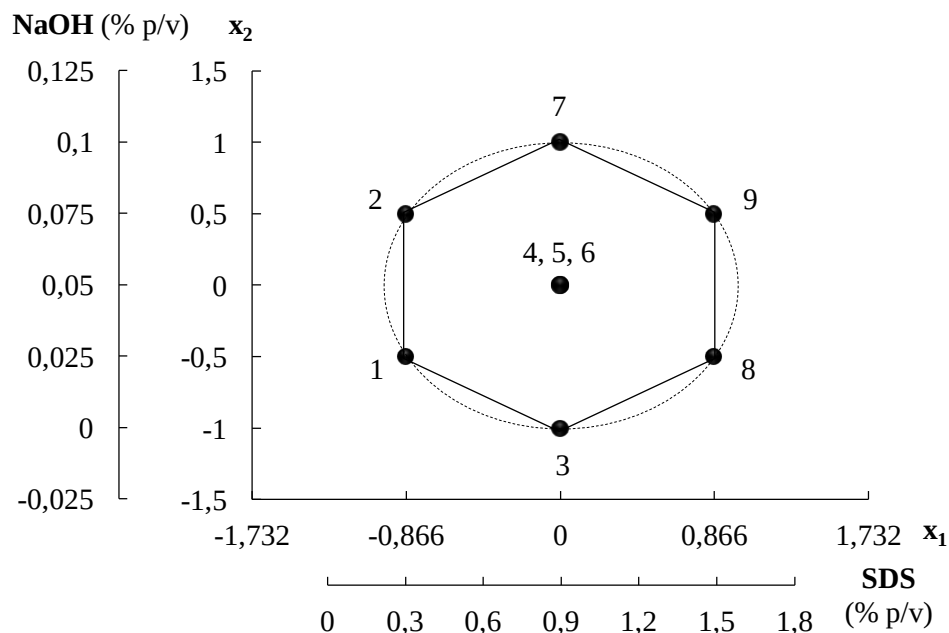


Figura 3.5. Diseño experimental (red de Doehlert) empleado en la obtención de almidón de arroz por molienda húmeda en el MPB.

Tabla 3.5. Condiciones de los ensayos de molienda húmeda de arroz en el MPB para la obtención de almidón.

Muestra	Concentración (% p/v)		SDS	NaOH
	SDS	NaOH	x_1^a	x_2^a
Alm 1	0,3	0,025	-0,866	-0,5
Alm 2	0,3	0,075	-0,866	0,5
Alm 3	0,9	0	0	-1
Alm 4*	0,9	0,05	0	0
Alm 5*	0,9	0,05	0	0
Alm 6*	0,9	0,05	0	0
Alm 7	0,9	0,1	0	1
Alm 8	1,5	0,025	0,866	-0,5
Alm 9	1,5	0,075	0,866	0,5

^a Valores obtenidos mediante codificación lineal. * Punto central del diseño experimental por triplicado.

Además, se realizaron dos moliendas complementarias del diseño experimental como referencia, en el MPB: una molienda en medio alcalino (0,1 % p/v, NaOH) en ausencia de tensioactivo (**CA**) y otra molienda con una solución pura de tensioactivo (1,5 % p/v, SDS; **CT**).

3.2.3.3. Obtención de almidón por molienda húmeda tradicional

La muestra **control (C)** fue obtenida, según el método de molienda húmeda tradicional, de acuerdo con el procedimiento de Chiang y Yeh (2002), el cual consistió en macerar 100 g de arroz pulido con 200 ml de solución de alcalina (0,1 % p/v, NaOH). a 35 °C durante 24 horas. Luego, el agua de maceración fue eliminada y se adicionaron nuevamente 200 ml de álcali (0,1 % p/v, NaOH). A continuación los granos fueron triturados durante 2 minutos en una procesadora de cuchillas (Waring blender, Waring Products Division, New Hartford) a velocidad máxima.

El homogenato se procesó según la sección 3.2.3.1, para separar las fracciones de molienda, al igual que el homogenato obtenido por molienda húmeda en el MPB, con excepción de la filtración, la cual no fue necesaria.

3.2.3.4. Rendimiento, recuperación y pureza del almidón

El rendimiento (**R**) de la fracción amilácea se calculó mediante la siguiente expresión:

$$R (\%) = \frac{\text{masa seca de almidón aislado}}{\text{masa inicial de arroz seco}} \times 100 \quad (3.2)$$

La recuperación del almidón (**RecA**) fue determinada sobre la base del contenido inicial de almidón en el arroz, de acuerdo con:

$$RecA (\%) = \frac{\text{masa seca de almidón aislado}}{\text{masa seca de almidón en el arroz}} \times 100 \quad (3.3)$$

La pureza del almidón se evaluó según su contenido de proteína, el cual se obtuvo al analizar el contenido de nitrógeno con un equipo de digestión Kjeltex (Tecator, Suecia) y aplicar el factor $N \times 5,95$ (AOAC 960.52, 2000). El resultado se expresó como porcentaje en base seca.

3.2.4. Caracterización de las harinas y de los almidones

3.2.4.1. Contenido de almidón dañado y de humedad

El contenido de humedad (**CH**) de las harinas y de los almidones de arroz se determinó mediante el método indirecto 925.10 de la AOAC (2000), el cual se basa en la pérdida de peso de 2 g (base húmeda) de muestra, después del secado a 130 ± 3 °C durante 1 hora.

El contenido de almidón dañado (**AD**) de las harinas obtenidas por molienda seca y por molienda húmeda se determinó utilizando un kit enzimático (Megazyme International Ireland Ltd., Irlanda), según el método 76-30A de la AACC (1995). Los resultados se expresaron como g de almidón dañado/100 g de harina (base seca). Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

3.2.4.2. Distribución de tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partícula (DTP) se determinó por dos métodos: tamizado, para los ensayos de selección del material de los accesorios de molienda (harinas obtenidas por molienda seca) y difracción láser, para la caracterización de las harinas (obtenidas por molienda seca y húmeda) y de los almidones de arroz (obtenidos por molienda húmeda).

3.2.4.2.a. Tamizado

Las harinas de arroz (200 g) obtenidas por molienda seca, con los accesorios de acero inoxidable o de óxido de circonio, se tamizaron durante 20 minutos en un agitador mecánico Zonytest model EJ200 (Rey & Ronzoni, Buenos Aires, Argentina), utilizando una serie de once tamices ASTM (Estándar EE. UU.) con malla N°: 35 (500 μm), 40 (420 μm), 45 (350 μm), 60 (250 μm), 80 (177 μm), 100 (149 μm), 120 (125 μm), 140 (105 μm), 200 (74 μm), 270 (53 μm), 325 (44 μm). La masa de las once fracciones se registró en una balanza analítica de precisión ($\pm 0,5$ g). A partir de estos datos se calculó el porcentaje en masa retenido, en cada uno de los tamices en relación con la masa total (ecuación 3.4) y se obtuvo la distribución de tamaño de partícula y la distribución acumulada. Además, se determinó el índice de dispersión (**ID**) de la DTP según la ecuación 3.5, donde **D50**, **D90** y **D10**, representan los diámetros por los que pasa el 10 %, el 50 % y el 90 % de la muestra, valores que se obtienen a partir de la distribución acumulada de los porcentajes pasantes².

² pasante (%) = 100 % - masa (%)

$$Masa (\%) = \frac{\text{masa retenida en cada tamiz}}{\text{masa total}} \times 100 \quad (3.4)$$

$$ID = \frac{D_{90} - D_{10}}{D_{50}} \quad (3.5)$$

3.2.4.2. b. Difracción láser

El tamaño de partícula de las harinas obtenidas por molienda seca y molienda húmeda y de los almidones, se determinó por dispersión estática de luz, usando un equipo Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido) con una unidad de dispersión Hydro 2000MU, provisto con un láser de He-Ne ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$) (Malvern Instruments Ltd, Reino Unido). El rango de medición del equipo se encuentra entre $0,1 \text{ }\mu\text{m}$ a $1000 \text{ }\mu\text{m}$. La velocidad de la hélice del equipo de dispersión se mantuvo a 1800 rpm, como agente dispersante se usó agua bidestilada, y para el procesamiento de los datos se empleó el índice de refracción de la fase dispersa (1,53) y su parámetro de absorción (0,001).

A partir de cinco lecturas realizadas sobre la muestra, se obtuvo la distribución de tamaño de partícula en volumen y los valores del **Dv10**, **Dv50**, **Dv80** y **Dv90**, expresados en μm , que representan los diámetros de partícula de la distribución acumulativa al 10 %, 50 % (mediana), 80 % y 90 %, respectivamente. La dispersión de la población se estimó mediante el valor de **IDv** (índice de dispersión) calculado según:

$$IDv = \frac{Dv_{90} - Dv_{10}}{Dv_{50}} \quad (3.6)$$

El programa del equipo también proporcionó el área específica de la muestra (**AE**, m^2/g) y el diámetro promedio del volumen equivalente o diámetro *De Brouckere*, **D[4,3]**, definido por la ecuación 3.7, donde n_i es el número de partículas con diámetro D_i .

$$D[4,3] = \frac{\sum_{i=1}^n n_i D_i^4}{\sum_{i=1}^n n_i D_i^3} [\mu\text{m}] \quad (3.7)$$

Se debe señalar que las muestras obtenidas por molienda húmeda (harinas y almidones), se transfirieron directamente al difractómetro láser, para realizar la determinación de la distribución de tamaño, previamente a la liofilización y al almacenamiento de las mismas.

3.2.4.3. Propiedades de hidratación

El poder de hinchamiento (**PH**) y el índice de solubilidad en agua (**ISA**) de las harinas obtenidas por molienda seca, se determinaron por triplicado de acuerdo con la metodología descrita por Vandeputte y colaboradores (2003), con algunas modificaciones. Las muestras de harina (1,0 g b.s.) se colocaron en tubos de centrífuga de 50 ml, previamente tarados y se adicionaron 30 ml de agua destilada a c/u. Los tubos se calentaron durante 30 minutos, en un baño de agua termostatzado con agitación, a cada temperatura ensayada (65 °C, 75 °C, 85 °C y 95 °C). Posteriormente se enfriaron en un baño de hielo y fueron centrifugados a $1500 \times g$ durante 15 minutos. Los sobrenadantes se separaron cuidadosamente en recipientes de aluminio, previamente tarados y se evaporaron en estufa a una temperatura de 50 °C hasta masa constante. La masa del residuo sólido adherida a la pared de cada tubo de centrífuga y el sedimento seco en los recipientes de aluminio, fueron registrados. El índice de solubilidad en agua (ISA, %) y el poder de hinchamiento (PH, g/g b.s.) se calcularon según las siguientes fórmulas:

$$ISA(\%) = \frac{\text{masa de sobrenadante seco}}{\text{masa de sólidos secos}} \times 100 \quad (3.8)$$

$$PH(g/g) = \frac{\text{masa de sedimento}}{\text{masa de sólidos secos} - \text{masa del sobrenadante seco}} \quad (3.9)$$

El índice de absorción de agua (**IAA**) de las harinas obtenidas por molienda seca y por molienda húmeda y de los almidones de arroz, se midió por triplicado sobre la base del método de Chiang y Yeh (2002).

Una porción de 2 g (b.s.) de cada muestra fue suspendida en 30 ml de agua destilada, en un tubo de centrífuga de 50 ml previamente tarado. La suspensión se homogeneizó en un agitador Vortex (modelo AV11 Decalab, Argentina), por 30 segundos y luego se calentó durante 30 minutos, en un baño de agua termostatzado a 30 °C. Finalmente fue centrifugado 10 minutos a $1000 \times g$ y se eliminó el sobrenadante, pesándose el sedimento, para determinar el índice a partir de la masa de harina seca, de acuerdo con la siguiente expresión:

$$IAA(g/g) = \frac{\text{masa del sedimento}}{\text{masa de sólidos secos}} \quad (3.10)$$

3.2.4.4. Propiedades térmicas

Las propiedades térmicas de las harinas obtenidas por molienda seca y por molienda húmeda, se determinaron por duplicado en un calorímetro diferencial de barrido (DSC) Mettler – Toledo DSC modelo 822 (Schwerzenbach, Suiza). El instrumento fue calibrado con indio (punto de fusión 156,6 °C) y zinc (punto de fusión 419,6 °C).

En una cápsula de aluminio de 40 μ l de capacidad (Mettler), se pesó aproximadamente 3 mg de harina de arroz (granulometría: 74 - 177 μ m), se adicionó agua destilada en una proporción de 1:3 (p:v) y se selló, dejándola estabilizar un periodo de 24 horas a temperatura ambiente, antes de realizar el ensayo calorimétrico, con un ciclo de calentamiento de 30 °C a 90 °C, a una velocidad constante de 10 °C/min, usando una cápsula vacía como referencia.

Para cada muestra se obtuvo un termograma (figura 3.6), el cual fue analizado con el programa STARe Software versión 6.1 (Mettler Thermal Analysis), del que se adquirieron los siguientes parámetros:

- Temperatura de inicio de gelatinización (T_o).
- Temperatura de pico o máxima de gelatinización (T_p).
- Temperatura de finalización de gelatinización (T_e).
- Entalpía de gelatinización ΔH (J/g b.s.): integrando el área bajo la curva de la transición endotérmica.

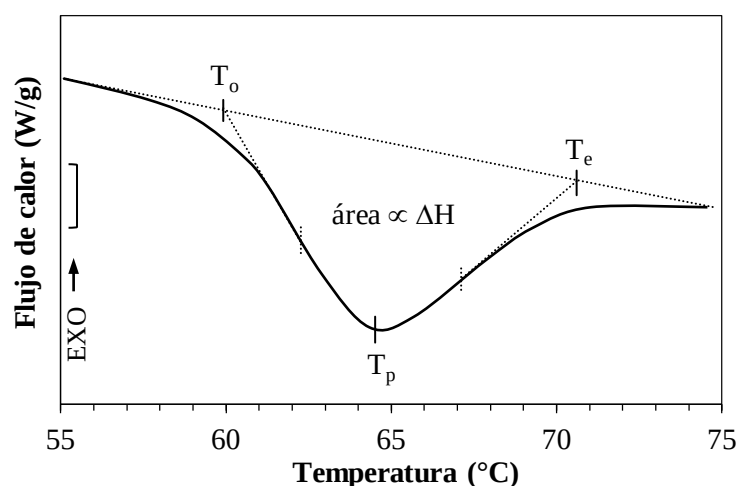


Figura 3.6. Representación esquemática del termograma de almidón obtenido por DSC.

El grado de gelatinización (**GG**, %) se calculó como un porcentaje, a partir de la ec. 3.11, que relaciona la entalpía de gelatinización de la muestra (ΔH) con la del control (ΔH_c), es decir, la harina obtenida sin procesamiento en el molino planetario.

$$GG(\%) = \left(1 - \frac{\Delta H}{\Delta H_c}\right) \times 100 \quad (3.11)$$

El flujo térmico se midió con una precisión de 0,04 μW , el intervalo de 95 % de confianza estimado para la temperatura, fue de 1 $^{\circ}\text{C}$ y para la entalpía de 10 mJ.

3.2.4.5. Grado de cristalinidad

Un espectro de difracción de rayos X de un material semicristalino, como el almidón, se caracteriza por la presencia de picos de difracción y una zona de contribución amorfa, cuanto mayor es esta zona, menor es el grado de cristalinidad de la muestra (figura 3.7).

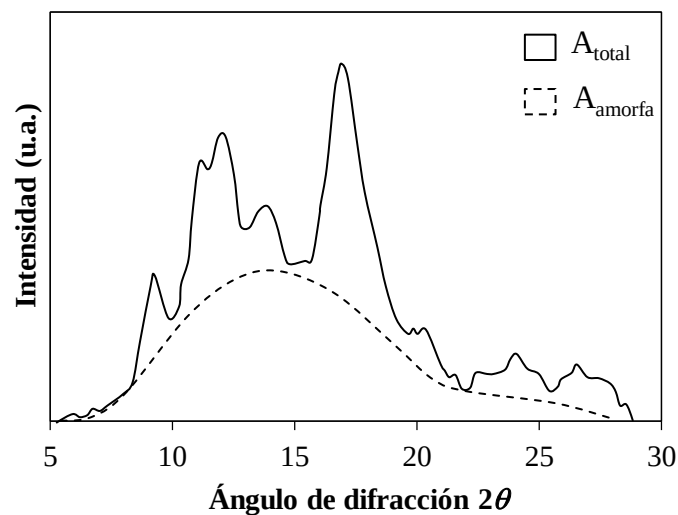


Figura 3.7. Diagrama de difracción de rayos X de almidón de maíz resuelto en picos cristalino y banda amorfa (Frost *et al.*, 2009).

Con el objetivo de estimar el grado de cristalinidad de las harinas y de los almidones de arroz y determinar las pérdidas de cristalinidad que se produjeron durante la molienda, se obtuvieron los patrones de difracción de rayos X, mediante un difractómetro Philips modelo X'Pert MPD (PANalytical B.V., Almelo, Holanda), operando bajo las siguientes condiciones: radiación K_{α} de Cu ($\lambda = 0,154 \text{ nm}$), con un voltaje de 40 kV y una intensidad de 35 mA. Se empleó la técnica de difracción a grandes ángulos, también denominada WAXS³ ($2\theta > 5^{\circ}$, siendo θ el ángulo de Bragg o ángulo de incidencia), explorando un intervalo entre 6 y 32° , con un tamaño de paso de $0,03^{\circ}$ y un tiempo de paso de 2 segundos, lo que representó una velocidad de barrido de $0,9^{\circ}/\text{min}$.

³ Wild Angle X ray Scattering

El grado de cristalinidad (**GC**) se calculó como un porcentaje a partir de la relación, entre las áreas total (A_T) y amorfa (A_a), de los difractogramas de rayos X según la expresión:

$$GC(\%) = \frac{A_T - A_a}{A_T} \times 100 \quad (3.12)$$

Siendo $A_T - A_a$, el área correspondiente a los picos cristalinos.

3.2.4.5. a. Método para determinar las áreas del difractograma

Teniendo en cuenta, que los diagramas de difracción presentan un nivel apreciable de ruido (figura 3.8.A), que dificulta el cálculo del área bajo la curva, fue necesario desarrollar una técnica de suavizado o *smoothing* (figura 3.8.B). Con este fin se empleó el filtro de Savitzky-Golay (SG), aplicando un polinomio de segundo orden y ajustándolo en 15 puntos y se corrigió la línea de base, lo que permitió determinar el área total (A_T).

Para determinar el área amorfa (A_a), en cada difractograma, resultó necesario aplicar un procedimiento iterativo de suavizado (Bruckner, 2000), para eliminar los picos cristalinos (figura 3.8.C).

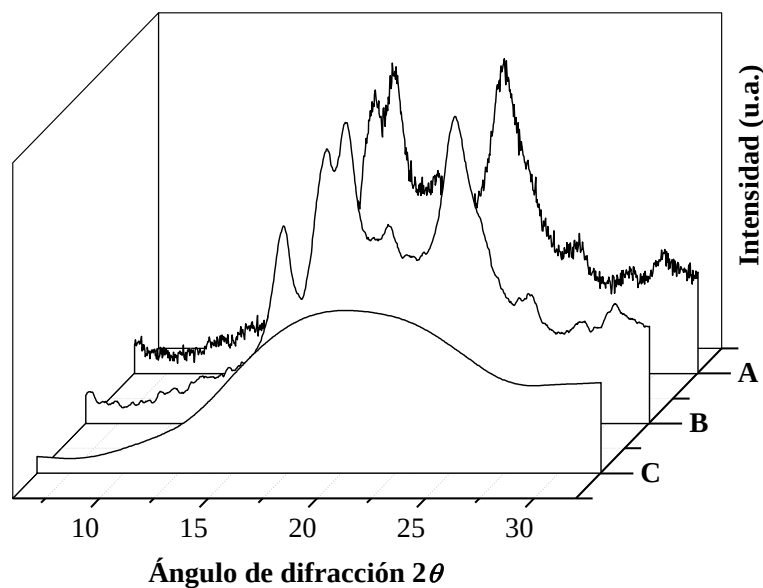


Figura 3.8. Procesamiento del diagrama de difracción de rayos X de la harina de arroz, **A)** difractograma original (con ruido), **B)** suavizado con filtro SG, **C)** luego del proceso iterativo de suavizado.

Para ello se empleó el siguiente método: 1) el filtro de Savitzky-Golay (SG) se aplicó al conjunto de datos; 2) el nuevo patrón suavizado se comparó punto por punto, con el patrón anterior (sin filtrar), manteniendo la más baja de las dos intensidades; 3) finalmente se

inició un nuevo ciclo con el patrón resultante, suavizando el difractograma y comparando con el último conjunto de datos sin alisar, seleccionando la más baja intensidad para comenzar otro ciclo.

Todas las muestras, se obtuvieron realizando un máximo de 40 ciclos, aplicando un polinomio de primer orden y ajustando el polinomio en al menos 40 puntos y a lo sumo en 80 puntos. Previa a la determinación del área se corrigió la línea de base.

Para el procesamiento de los datos, se emplearon los programas OriginPro versión 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, EE. UU.) y Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, EE. UU.).

3.2.4.6. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microestructura de las harinas y de los almidones de arroz, fue observada con un microscopio electrónico de barrido (SEM), con cañón por emisión de campo Zeiss modelo Supra 40 (Carl Zeiss; Oberkochen, Alemania), que permite obtener imágenes digitales de alta resolución. Las muestras se colocaron sobre una cinta conductora de carbono de doble adhesión, la cual se fijó previamente a un soporte circular de aluminio del microscopio y se recubrieron con una fina capa de oro (metalización), usando un equipo de *sputtering* (pulverización catódica), de acuerdo con las técnicas establecidas por el Centro de Microscopías Avanzadas, de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires. Para la captura de las imágenes se empleó un voltaje de aceleración de 3 kV y aumentos de 3000× y 10000×.

3.2.4.7. Espectroscopia por energía dispersiva (EDS)

Con el fin de detectar y/o cuantificar trazas contaminantes en las harinas de arroz, proveniente del material de las bolas y de la jarra, o la presencia de azufre, constituyente del dodecil sulfato de sodio, en los almidones, se analizaron las muestras mediante espectroscopia por energía dispersiva (EDS), con un sistema de microanálisis Oxford Instruments INCA Energy 250, incluyendo un detector de Si(Li) de 10 mm². Este sistema está acoplado al microscopio electrónico de barrido. Los datos de EDS se obtuvieron con los programas INCA Energy y ThinFilmID (TFID) de Oxford Instruments. Los estándares de calibración se midieron a 20 kV, en las mismas condiciones que las muestras bajo investigación. Para evitar la interferencia que puede provocar la metalización de la

muestra, se analizaron sin metalización previa (solamente adheridas mediante cinta conductora al soporte de aluminio).

3.2.4.8. Espectroscopia infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR)

Se empleó la técnica de reflectancia total atenuada (ATR), para obtener los espectros de FTIR de los almidones de arroz liofilizados (muestra C y CT) y del dodecil sulfato sódico (SDS). Las mediciones fueron realizadas en un espectrofotómetro modelo Spectrum 400 (PerkinElmer Inc., Shelton, EE. UU.), con detector DTGS y un accesorio ATR modelo MIRacle (PIKE Technologies, Inc., Madison WI, EE. UU.), de simple reflexión, con cristal de diamante/ZnSe y un ángulo de incidencia de 45°. Antes de la medición, un espectro del fondo se registró en el aire (sin muestra). Los resultados obtenidos de cada muestra son el promedio de 64 escaneos, con una resolución de 4 cm⁻¹ a 25 °C entre 650 y 4000 cm⁻¹, por triplicado. El análisis espectral fue realizado usando el programa Spectrum versión 6.3.5 (PerkinElmer Inc., Shelton, EE. UU.).

3.2.4.9. Propiedades de pasta

Las propiedades de pasta de las harinas y de los almidones de arroz, se determinaron por duplicado, usando un analizador rápido de viscosidad RVA-4 (viscoamilógrafo Rapid Visco Analyser, Newport, Warriewood, Australia), de acuerdo con el método 61-02 de la AACC (1995). La muestra (3,5 g) se depositó en una cápsula de aluminio, que posee el equipo, junto con 25 ml de agua destilada y se la sometió a una agitación rápida (960 rpm) durante 10 segundos a 50 °C, para lograr su completa dispersión. Posteriormente, la velocidad se estabilizó en 160 rpm y la temperatura se mantuvo durante un minuto a 50° C, seguidamente se incrementó hasta 95 °C a una velocidad de 10 °C/min, se mantuvo 1,8 minutos a 95 °C, se redujo a 50 °C a una velocidad de 12 °C/min y finalmente se mantuvo a esa temperatura 1,4 minutos. Durante el ensayo se registró la viscosidad de la suspensión en cP, a partir de la cual se obtuvo el viscoamilograma (figura 3.9), de donde se extraen los siguientes parámetros:

- Pico de viscosidad (**PV**): máxima viscosidad registrada en el ciclo de calentamiento.
- Tiempo de pico de viscosidad (**tP**): tiempo en el que se alcanza el pico de viscosidad.
- Temperatura de pasta (**TP**): temperatura a la que se inicia el incremento de la viscosidad.
- Viscosidad media (**VM**): viscosidad mínima antes que comience la recuperación.

- Viscosidad de rompimiento (**BD**, *breakdown*): diferencia entre el pico de viscosidad y la viscosidad media (PV – VM).
- Viscosidad final (**VF**): viscosidad registrada al final del proceso.
- Viscosidad de recuperación (**SB**, *setback*): diferencia entre la viscosidad final y la viscosidad media (VF – VM).

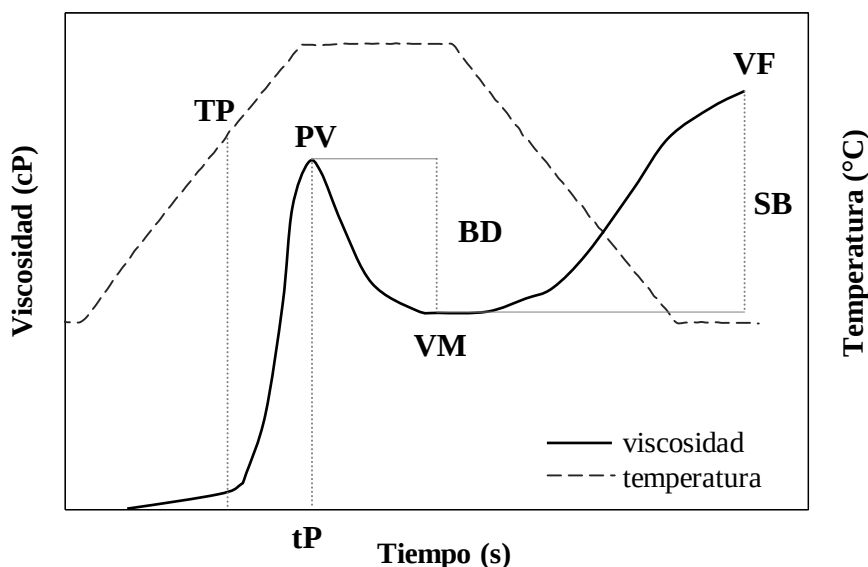


Figura 3.9. Representación esquemática del viscoamilograma del almidón, obtenido en un analizador rápido de viscosidad (RVA) y parámetros característicos (TP: Temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad, PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: viscosidad de rompimiento, SB: viscosidad de recuperación).

3.2.4.10. Propiedades viscoelásticas

Las propiedades viscoelásticas de los almidones se determinaron bajo deformación oscilatoria de pequeña amplitud, en un reómetro Paar Physica MCR 300 (Anton Paar, Austria) de esfuerzo controlado, provisto de un sistema de platos paralelos (3 cm de diámetro) separados por una distancia de 1 mm, entre los cuales se colocó 1,4 ml de la suspensión de almidón de arroz (8 % p/p b.s.), para llenar completamente el espacio entre ellos. La temperatura del plato inferior fue controlada por un sistema Peltier y un baño termostatzado (Viscotherm VT2, Paar Physica).

Con el objeto de evitar la deshidratación de la muestra y la adherencia de la misma al sistema de platos, se sellaron los bordes con aceite de silicona (290 – 310 mPa.s, viscosidad; Biopack, Argentina). Esta metodología de sellado ha sido empleada exitosamente por otros investigadores (Rosalina y Bhattacharya, 2002). Como medida

adicional para prevenir la evaporación del agua, se utilizó un aro de acrílico transparente con tapas, como se observa en la figura 3.10.



Figura 3.10. Reómetro oscilatorio dinámico Phaar Physica MCR 300 y aro con tapas.

3.2.4.10. a. Barrido de temperatura

Mediante el barrido de temperatura, a frecuencia (1 Hz) y deformación (0,1 %) constantes, se determinó el comportamiento viscoelástico de las suspensiones de almidón, en el rango de viscoelasticidad lineal. Se empleó un programa de temperatura que consistió en un calentamiento isotérmico (50 °C; 1 min) seguido de una rampa de calentamiento a velocidad constante (50 – 90 °C; 12 °C/min), luego, una etapa de calentamiento isotérmico (90 °C; 2,5 min) seguido de una rampa de enfriamiento a velocidad constante (90 – 50 °C; 12 °C/min) y finalmente, una etapa de enfriamiento isotérmico (50 °C; 1 min).

3.2.4.10. b. Barrido de deformación

Las muestras previamente gelatinizadas, *in situ* durante el barrido de temperatura, fueron calentadas isotérmicamente a 70 °C por 2 minutos.

Posteriormente se efectuó el barrido de deformación (0,01 – 10 %), a frecuencia (1 Hz) y temperatura (70 °C) constantes, para establecer el rango de viscoelasticidad lineal (RVL).

3.2.4.10. c. Barrido de frecuencia

Se realizó a 70 °C sobre muestras sometidas previamente al barrido de temperatura, con una amplitud de deformación fija determinada en el barrido de deformación, variándose la frecuencia entre 1 y 10 Hz. El espectro mecánico, que se obtiene, brinda información

acerca de la estructura del sistema, la cual resulta útil para comprobar si la muestra tiene capacidad para gelificar o bien para formar pasta.

En los tres barridos fueron registrados los parámetros reológicos: módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta = G''/G'$). Los ensayos se llevaron a cabo por duplicado informándose el promedio obtenido.

3.2.4.11. Estabilidad de los geles al proceso de congelación y descongelación

Se prepararon 20 g de suspensión de almidón en agua destilada (5 % p/p b.s.), en tubos de centrífuga de 50 ml. Las suspensiones se homogenizaron en un agitador vórtex (modelo AV11 Decalab, Argentina) durante 10 segundos y se gelatinizaron en un baño de agua termostatzado con agitación continua, a 95 °C durante 20 minutos. Las muestras se congelaron en un freezer convencional a -20 °C por siete días y luego se descongelaron a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por cinco horas. Al finalizar este período, el agua exudada fue determinada gravimétricamente, agitando 15 segundos los tubos en un mezclador de vórtice y luego centrifugándolos a $2250 \times g$ por 10 minutos.

El porcentaje de sinéresis después del ciclo de congelación-descongelación, fue calculado como la razón entre la masa del líquido separada del gel, luego de la centrifugación y la masa del gel antes de la centrifugación, según la ec. 3.13. Los datos informados corresponden al promedio de tres mediciones.

$$\text{Sinéresis (\%)} = \frac{\text{masa del sobrenadante}}{\text{masa del gel}} \times 100 \quad (3.13)$$

3.2.4.12. Análisis estadístico

Las diferencias significativas entre los parámetros de las muestras, fueron determinadas por análisis de varianza simple (ANOVA), utilizando el programa estadístico Statgraphics Centurion versión XVI (Statistical graphics Corporation, EE. UU.), comparando las medias por el test de mínima diferencia significativa de Fisher (LSD), con un nivel de confianza del 95 %.

Además, se aplicó el análisis de correlación de Pearson, para establecer posibles relaciones (lineales) entre las diferentes propiedades evaluadas. Cuando la relación es perfectamente lineal, dicho coeficiente vale 1 (o -1) y cuando su valor es próximo a cero, o bien no existe relación entre las variables analizadas, o dicha relación no es lineal.

3.2.4.13. Método de superficies de respuesta (MSR)

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta (MSR) para analizar el efecto de los factores (velocidad y tiempo), sobre las características de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca, en el molino planetario de bolas. Cada una de las respuestas estudiadas (Z_K , $K = 1, \dots, p$) se modeló en función de las condiciones de molienda, en términos de las variables codificadas (x_1 : velocidad de rotación de la jarra, x_2 : tiempo de molienda), usando un polinomio de segundo grado (Khuri y Cornell, 1987):

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i x_i + \sum_{i=1}^n a_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{\substack{j=2 \\ i < j}}^n a_{ij} x_i x_j \quad (3.14)$$

Donde a_0 , a_i y a_{ii} representan los coeficientes correspondientes a los términos constante, lineal y cuadrático respectivamente, en tanto que el coeficiente a_{ij} representa el efecto de interacción entre los factores estudiados (x_i y x_j). El análisis estadístico, se llevó a cabo mediante el programa estadístico Statgraphics Centurion versión XVI (Statistical graphics Corporation, EE. UU.).

El mismo método se aplicó para analizar el efecto de la concentración del tensioactivo (x_1 : SDS) y del álcali (x_2 : NaOH), sobre las características de los almidones de arroz aislados en el molino planetario de bolas, en función de las condiciones de maceración codificadas.

3.2.5. Pastas sin gluten

3.2.5.1. Selección de los ingredientes funcionales para el diseño de mezclas

3.2.5.1. a. Materiales

Para la elaboración de los fideos frescos libres de gluten se utilizó la harina de arroz obtenida por molienda seca en el molino planetario de bolas (PM100, Retsch GmbH, Alemania), con accesorios de óxido de zirconio, a una velocidad de rotación de la jarra de 550 rpm durante 20 minutos de molienda, según sección 3.2.1.

La goma xántica, la goma guar y el almidón de mandioca, fueron adquiridos en un comercio local (Doña Clara, Buenos Aires, Argentina), la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) fue suministrada por Sigma-Aldrich (St. Louis, Misuri, EE. UU.) y la goma espina corona donada por la empresa Nature Gum (Chaco, Argentina). Además, se empleó

almidón de maíz (Maizena, Unilever, Argentina), agua destilada y para la preparación de la muestra control, sémola de trigo candeal mezcla (Carrefour, Argentina).

3.2.5.1. b. Formulación

Se prepararon siete mezclas de harina de arroz con agua y el ingrediente funcional. Como control se elaboró una pasta a base de sémola de trigo candeal y agua. Los ingredientes evaluados fueron: almidones gelatinizados de mandioca y de maíz, harina de arroz gelatinizada y mezclas de harina de arroz gelatinizada con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) o diferentes gomas: xántica, guar, espina corona; como se detalla a continuación en la tabla 3.6.

Tabla 3.6. Composición porcentual de las formulaciones para la elaboración de fideos frescos.

Ingredientes (%)	Formulaciones							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Harina de arroz¹	47,37	46,45	50,00	46,45	50,00	46,45	46,45	-
Harina de arroz¹ G²	5,26	5,16	-	5,16	-	5,16	5,16	-
Goma xántica	-	1,94	-	-	-	-	-	-
Almidón de mandioca G²	-	-	5,00	-	-	-	-	-
HPMC³	-	-	-	1,94	-	-	-	-
Almidón de maíz G²	-	-	-	-	5,00	-	-	-
Goma guar	-	-	-	-	-	1,94	-	-
Goma espina corona	-	-	-	-	-	-	1,94	-
Sémola de trigo candela	-	-	-	-	-	-	-	60,24
agua	47,37	46,45	45,00	46,45	45,00	46,45	46,45	39,76
Total	100	100	100	100	100	100	100	100

¹ Preparada en el MPB, ² Gelatinizado, ³ Hidroxipropilmetilcelulosa.

3.2.5.1. c. Elaboración de las pastas

Previo a la preparación de la masa se obtuvo la fracción gelatinizada de harina de arroz, almidón de mandioca o almidón de maíz, en el total de agua destilada, calentando con agitación en un baño de agua termostatzado, a 90 °C durante 30 minutos. Se verificó la completa gelatinización del almidón por calorimetría diferencial de barrido.

Sobre los ingredientes secos tamizados y mezclados (harina de arroz, harina de arroz y gomas o harina de arroz y HPMC), se incorporó la fracción gelatinizada y se amasó manualmente durante 5 minutos. La masa así formada (80 g), fue envuelta con papel film, conformando un bollo al que se dejó descansar, 30 minutos a 25 °C, para facilitar una hidratación uniforme. Luego del reposo, se laminó en una fabricadora de pastas (Shule, China), de 14 cm de ancho de lámina con apertura regulable de los rodillos, que permite diferentes espesores (del nivel N° 7, máximo: 2,5 mm; al nivel N° 1, mínimo: 0,3 mm). La masa se pasó por la laminadora en el nivel N° 7, se plegó por la mitad y se volvió a pasar por el nivel N° 7, repitiendo esta operación un total de tres veces. Para finalizar el laminado, se pasó dos veces por el nivel N° 6, sin hacer ningún doblez previo. Los fideos de arroz se cortaron manualmente en tiras de 2 cm de ancho por 5 cm de largo y posteriormente fueron almacenados en recipientes herméticamente cerrados a 4 °C hasta su uso, para evitar la pérdida de humedad. El proceso de elaboración de la pasta se representa en la figura 3.11.

Los fideos frescos de sémola de trigo candeal F8 (control), se elaboraron mezclando la sémola con el agua y amasando manualmente durante 5 minutos. La masa se procesó siguiendo el mismo procedimiento adoptado para las pastas de arroz.

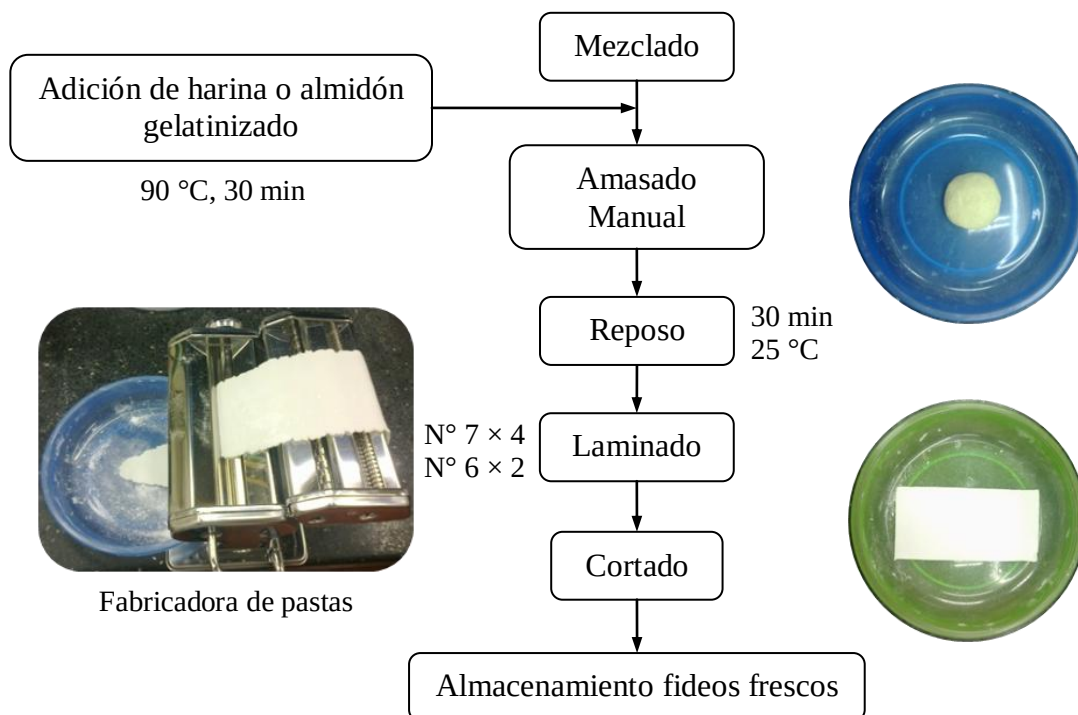


Figura 3.11. Esquema de la elaboración de pastas frescas a base de harina de arroz.

3.2.5.1. d. Cocción

El tiempo óptimo de cocción se determinó de acuerdo con el método 16-50 de la AACC (1995). La muestra se colocó en agua destilada a ebullición. Cada 30 segundos se tomaron sucesivas porciones, las que se observaron haciendo una ligera presión entre dos portaobjetos. La desaparición del centro blanco, al realizarse la presión, se definió como el tiempo óptimo de cocción.

3.2.5.1. e. Propiedades mecánicas

La caracterización mecánica de las pastas cocidas, se realizó mediante ensayos de tracción uniaxial, usando una máquina universal de textura (Instron 3345, EE. UU.), equipada con una celda de carga de 100 N. La pasta cocida (tiras de 2 cm × 5 cm × 0,165 cm) se sujetó entre dos mordazas (Instron cat 2710-105, EE. UU.), como se observa en la figura 3.12, con una separación inicial entre ambas de 30 mm. Cada muestra de fideo se estiró a una velocidad de 10 mm/min, y se registró la fuerza aplicada (F) *versus* la deformación total (ΔL).

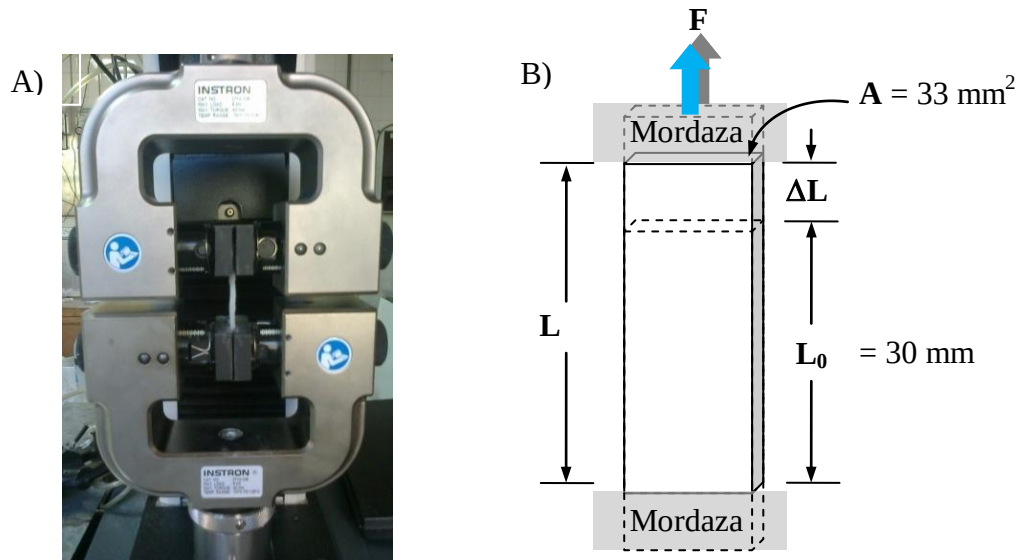


Figura 3.12. A) Pinzas soporte (mordazas) para la realización del ensayo de tracción B) Ilustración esquemática de una muestra sometida a tracción. Las líneas discontinuas representan el fideo antes de la deformación; las líneas sólidas después de la deformación.

A partir de estos datos se obtuvieron las curvas de esfuerzo (σ) *versus* deformación relativa (ϵ), calculándose estas dos variables mediante las siguientes ecuaciones:

$$\sigma \text{ (kPa)} = \frac{F}{A} \quad (3.15)$$

$$\epsilon \text{ (%) } = \frac{\Delta L}{L_0} \times 100 \quad (3.16)$$

Siendo F , la fuerza perpendicular al área; A , el área transversal de la muestra (33 mm^2); ΔL , la deformación total y L_0 , la longitud inicial de la muestra (30 mm).

A partir de la curva $\sigma - \epsilon$ se determinó el esfuerzo y la deformación en el punto de rotura (σ_r , ϵ_r) y se calculó el módulo elástico o módulo de Young (MY , kPa), evaluando la pendiente de la curva ajustada a un modelo lineal (figura 3.13), en la región elástica. Los resultados que se presentan corresponden al promedio de al menos seis ensayos.

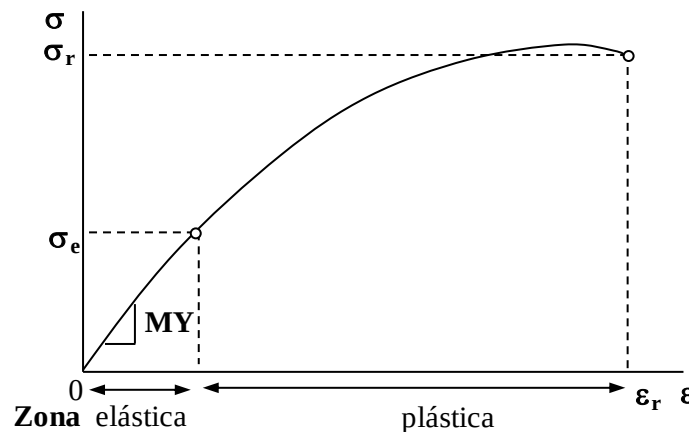


Figura 3.13. Curva de esfuerzo (σ) versus deformación relativa (ϵ).

3.2.5.1. f. Análisis estadístico

A fin de seleccionar los mejores sustitutos del gluten para efectuar un diseño de mezclas, se realizó una estadística descriptiva de los parámetros mecánicos (σ_r , ϵ_r , MY), con los programas SPSS versión 11.5.1 (Statistical Package for the Social Sciences, EE. UU.) y GraphPad Prism versión 6 (GraphPad Software Inc., EE. UU.). Se obtuvo el diagrama de caja de cada formulación ensayada y se evaluó la homogeneidad de la varianza (homocedasticidad) mediante el test de Levene.

Para determinar la existencia de diferencias significativas entre las formulaciones, cuando no se verificó la homogeneidad de la varianza, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y las comparaciones múltiples de Dunn ($p < 0,05$). Por el contrario, cuando se verificaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se aplicó un análisis de la varianza paramétrico unidireccional (ANOVA), utilizando la prueba de Scheffé ($p < 0,05$).

3.2.5.2. Diseño de mezclas

3.2.5.2. a. Introducción

En la industria existen productos elaborados a base de mezclas de dos o más ingredientes, en los cuales las características de calidad dependen de las proporciones de los

componentes en su formulación. Es importante identificar la mezcla óptima, y una región alrededor de ésta, que maximice la calidad de los productos (López-Torres *et al.*, 2002). Puesto que las proporciones deben sumar una cantidad fija, generalmente un 100 %, los factores no se pueden variar independientemente (StatPoint, Inc., 2006).

En un experimento con mezclas, las proporciones x_i de cada uno de los q componentes deben satisfacer las siguientes restricciones:

$$x_i \geq 0 \ (i = 1, 2, \dots, q), \sum_{i=1}^q x_i = x_1 + x_2 + \dots + x_q = 1 \quad (3.17)$$

Estas restricciones definen la geometría de la región experimental, como un simplex de dimensión $q-1$. Por ejemplo, para $q = 3$ componentes, el espacio simplex es un triángulo equilátero. Al igual que en el análisis de superficies de respuesta, el objetivo en el problema de mezclas, es encontrar un modelo que permita pronosticar el valor de la variable dependiente (Y), en función de sus componentes; esto se puede realizar ajustando los modelos de experimentos de mezclas propuestos por Scheffé (1958).

Modelo lineal

$$Y = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i \quad (3.18)$$

Modelo cuadrático

$$Y = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i < j}^q \sum_{j}^q \beta_{ij} x_i x_j \quad (3.19)$$

Modelo cúbico

$$Y = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i < j}^q \sum_{j}^q \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i < j < k}^q \sum_{j}^q \sum_{k}^q \beta_{ijk} x_i x_j x_k \quad (3.20)$$

Donde el parámetro β_i representa el efecto del i -ésimo componente puro, β_{ij} el efecto de la interacción entre los componentes i y j , y β_{ijk} el efecto de la interacción triple entre los componentes i , j y k . Los diseños experimentales asociados a estos modelos pueden ser de tres tipos: látice simplex, centroide simplex y axiales (López-Torres *et al.*, 2002).

3.2.5.2. b. Diseño de mezclas centroide simplex

Se empleó el diseño centroide simplex, para analizar el posible efecto sinérgico entre los sustitutos del gluten estudiados. Este diseño incluye observaciones de mezclas ternarias, en

donde dos de los componentes aparecen en igual proporción (Hu, 1999). En la figura 3.14 se representa los siete puntos del diseño centroide simplex para tres componentes, cuyas proporciones son denotadas por x_1 , x_2 y x_3 .

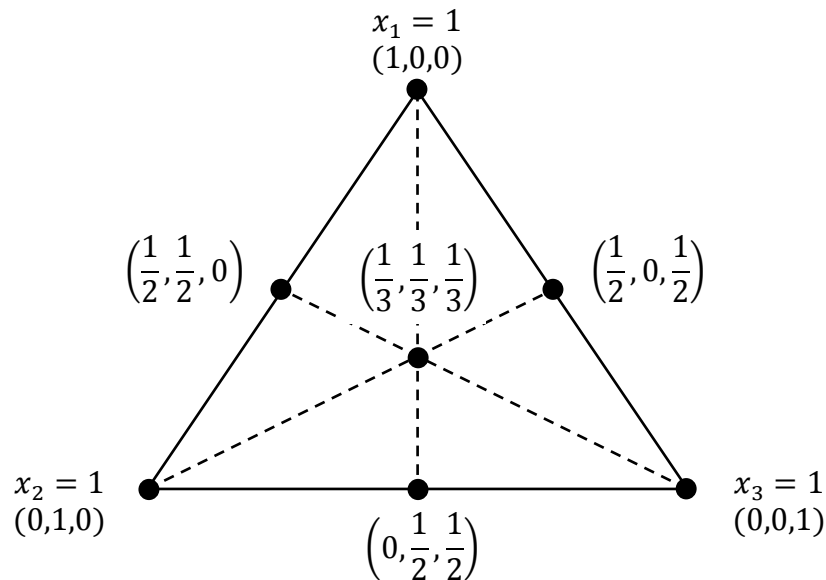


Figura 3.14. Diseño centroide simplex para experimento de mezclas con tres componentes.

En vista de que el diseño de mezclas adoptado se limita a tres componentes (sustitutos del gluten), se fijó la suma de los demás ingredientes secos (sin el agua), para elaborar la pasta. El agua funciona como plastificante y debe agregarse en cantidad necesaria para lograra un óptimo laminado de la masa, ya que depende de la capacidad de absorción de los ingrediente. Por lo tanto, se decidió no incluir el agua en el diseño y realizarlo sobre la base de la mezcla de los tres sustitutos del gluten.

Así pues, los contenidos de harina de arroz y de harina de arroz gelatinizada se mantuvieron constantes (86,7 % y 4,8 %, respectivamente), mientras que la suma de los componentes restantes de la masa, combinados en diferentes proporciones, fue de 8,5 %.

Se plantearon las ecuaciones (ec. 3.17) para cada uno de los vértices del diseño de mezclas, representado en la figura 3.14, usando 8,5 en lugar de uno. Con el fin de conformar un sistema de tres ecuaciones, con tres incógnitas, fue necesario establecer las siguientes restricciones: x_2 (min) = 0 %, x_3 (max) = 3,7 %, x_2 (max) = 3,7 %.

En la tabla 3.7 se muestra la composición de cada mezcla, según el diseño experimental seleccionado.

Tabla 3.7. Diseño de mezclas para la evaluación del efecto sinérgico de tres componentes seleccionados (x_1 , x_2 y x_3) en pastas sin gluten, a base de harina de arroz.

Mezclas	Ingredientes (%)					Total	g agua/g de ingredientes secos
	x_1	x_2	x_3	HA	HAG		
M1	4,80 (0)	- (0)	3,70 (1)	86,70	4,80	100	0,86
M2	4,80 (0)	1,85 (½)	1,85 (½)	86,70	4,80	100	0,86
M3	8,50 (1)	- (0)	- (0)	86,70	4,80	100	1,20
M4	6,65 (½)	1,85 (½)	- (0)	86,70	4,80	100	1,03
M5*	6,03 (⅓)	1,23 (⅓)	1,23 (⅓)	86,70	4,80	100	0,97
M6	6,65 (½)	- (0)	1,85 (½)	86,70	4,80	100	1,03
M7	4,80 (0)	3,70 (1)	- (0)	86,70	4,80	100	0,86

HA: harina de arroz, HAG: harina de arroz gelatinizada.

* Punto central del diseño experimental por triplicado.

Se empleó el programa Statgraphics Centurion versión XVI (Statistical graphics Corporation, EE. UU.), para obtener el diseño y realizar el análisis estadístico.

3.2.5.2. c. Propiedades de cocción

El residuo de cocción (RC) de la pasta laminada se evaluó según el método 16-50 de la AACC (1995). Sobre cuatro gramos de muestra colocados en 150 ml de agua destilada a ebullición, hasta su tiempo óptimo de cocción. El agua de cocción se evaporó en estufa a 100 °C, hasta masa constante y los sólidos fueron expresados como % p/p de muestra, según la siguiente expresión:

$$RC (\%) = \frac{\text{masa de sólidos secos}}{\text{masa de la muestra cruda}} \times 100 \quad (3.21)$$

La absorción de agua (AA) se determinó de acuerdo con Tudorică, Kuri y Brennan (2002). Cinco gramos de muestra se cocinaron hasta su tiempo óptimo de cocción, en 200 ml de agua destilada a ebullición, se enjuagaron con 50 ml de agua destilada, se escurrieron durante 20 segundos y se colocaron en un envase de cierre hermético hasta alcanzar la temperatura ambiente. A partir de la masa de la pasta escurrida, se calculó la absorción de agua como:

$$AA(\%) = \frac{(\text{masa de la muestra cocida} - \text{masa de la muestra cruda})}{\text{masa de la muestra cruda}} \times 100 \quad (3.22)$$

4. Resultados

La exposición de los resultados más relevantes obtenidos durante el desarrollo de esta tesis doctoral, se ha estructurado en cuatro secciones claramente diferenciadas.

La primera abordará de manera exhaustiva la molienda seca (MS) de arroz en el molino planetario de bolas (MPB), para la obtención de harinas y la caracterización de éstas mediante diversas técnicas. Se discutirán además modelos de molienda.

Seguidamente, sección 4.2, se estudiará la molienda húmeda (MH) de arroz en el MPB para la obtención de harinas, haciendo hincapié en la relación en masa de bolas/arroz (R1) y de agua/arroz (R2) óptimas, para llevar a cabo este proceso.

Luego se desarrollará la molienda húmeda de arroz en el MPB para la obtención de almidón, con diferentes condiciones de maceración *in situ* (combinación de tensioactivo y álcali), sección 4.4.

Finalmente, en la sección 4.5, se evaluarán las propiedades texturales y de cocción de las pastas frescas elaboradas, a partir de harina de arroz obtenida por MS en el MPB y diferentes aditivos.

4.1. Molienda seca

4.1.1. Selección de los accesorios de molienda

Se realizaron ensayos de molienda seca de arroz en el MPB, a una velocidad de rotación de la jarra de 550 rpm durante 20 minutos, siguiendo el protocolo de molienda propuesto (ver sección 3.2.1), con el propósito de seleccionar el material de la jarra y de las bolas a utilizar. Para ello se evaluaron los accesorios de acero inoxidable y los de óxido de circonio, empleándose ocho bolas de 30 mm de diámetro con su correspondiente jarra. La implementación de una menor cantidad de bolas (hasta siete), no proporcionó una granulometría fina, encontrándose fragmentos de arroz al finalizar el tiempo de molienda.

El efecto de los accesorios analizados sobre la distribución del tamaño de partícula, determinada por tamizado de las harinas obtenidas, se detalla en la figura 4.1. Para una cantidad de arroz constante (200 g), la mediana de la distribución en masa (D50) de la muestra elaborada con los materiales de acero inoxidable, fue de 196 μm y el índice de dispersión (ID) de la población, fue de 0,66; en cambio la muestra procesada con los accesorios de óxido de circonio, presentaron un D50 de 159 μm y un ID de 0,93. Es decir, los accesorios de acero inoxidable proporcionaron una harina de mayor granulometría y menor heterogeneidad, en comparación con los accesorios de óxido de circonio.

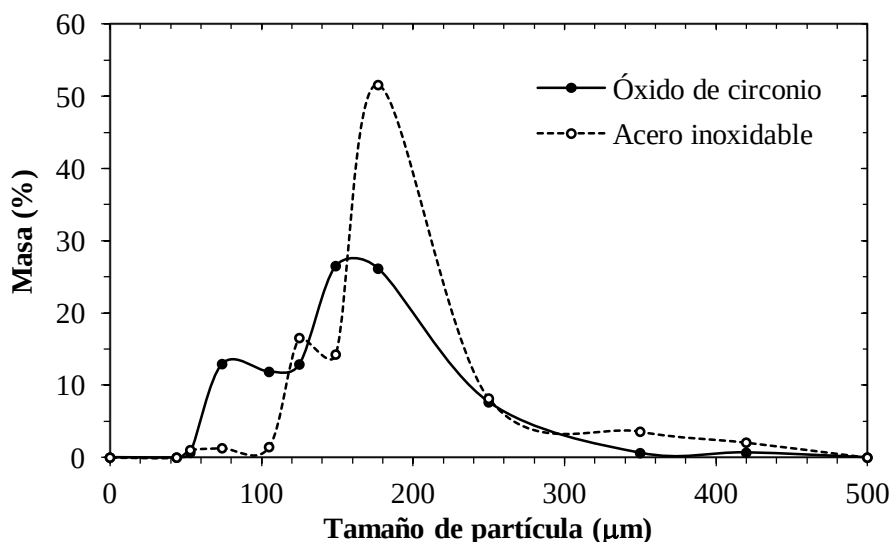


Figura 4.1. Distribución de tamaño de partícula en masa (por tamizado), según los accesorios de molienda empleados.

Por otro lado, se analizaron visualmente las harinas elaboradas con ambos accesorios, detectándose la contaminación de la harina obtenida con los elementos de acero inoxidable, tal como se observa en la figura 4.2. Dicha contaminación puede atribuirse al efecto abrasivo del molino, debido a la menor dureza del acero (484 – 544 HV⁴) en relación con el óxido de circonio (1200 HV).



Figura 4.2. Harinas de arroz obtenidas en el MPB con accesorios de diferente material.

Como consecuencia se seleccionó la jarra y las bolas de óxido de circonio para los ensayos de molienda.

4.1.2. Temperatura

Se utilizó la celda PM GrindControl (Retsch GmbH, Alemania) para monitorear la temperatura desarrollada en el molino planetario de bolas, con el objeto de evitar el

⁴ Dureza Vickers

sobrecalentamiento de las muestras. El protocolo involucró períodos de 5 minutos de molienda, con inversión de giro cada 30 segundos para prevenir el deslizamiento ineficaz de las bolas, seguido de 40 minutos de pausa.

En la figura 4.3 se esquematiza la evolución de la temperatura en el interior de la jarra, en función del tiempo de molienda, a diferentes velocidades de rotación. Los resultados evidenciaron que la temperatura dependió de ambos factores (tiempo y velocidad), incrementándose después de cada ciclo, producto de la disipación de la energía mecánica, la que se transformó en calor.

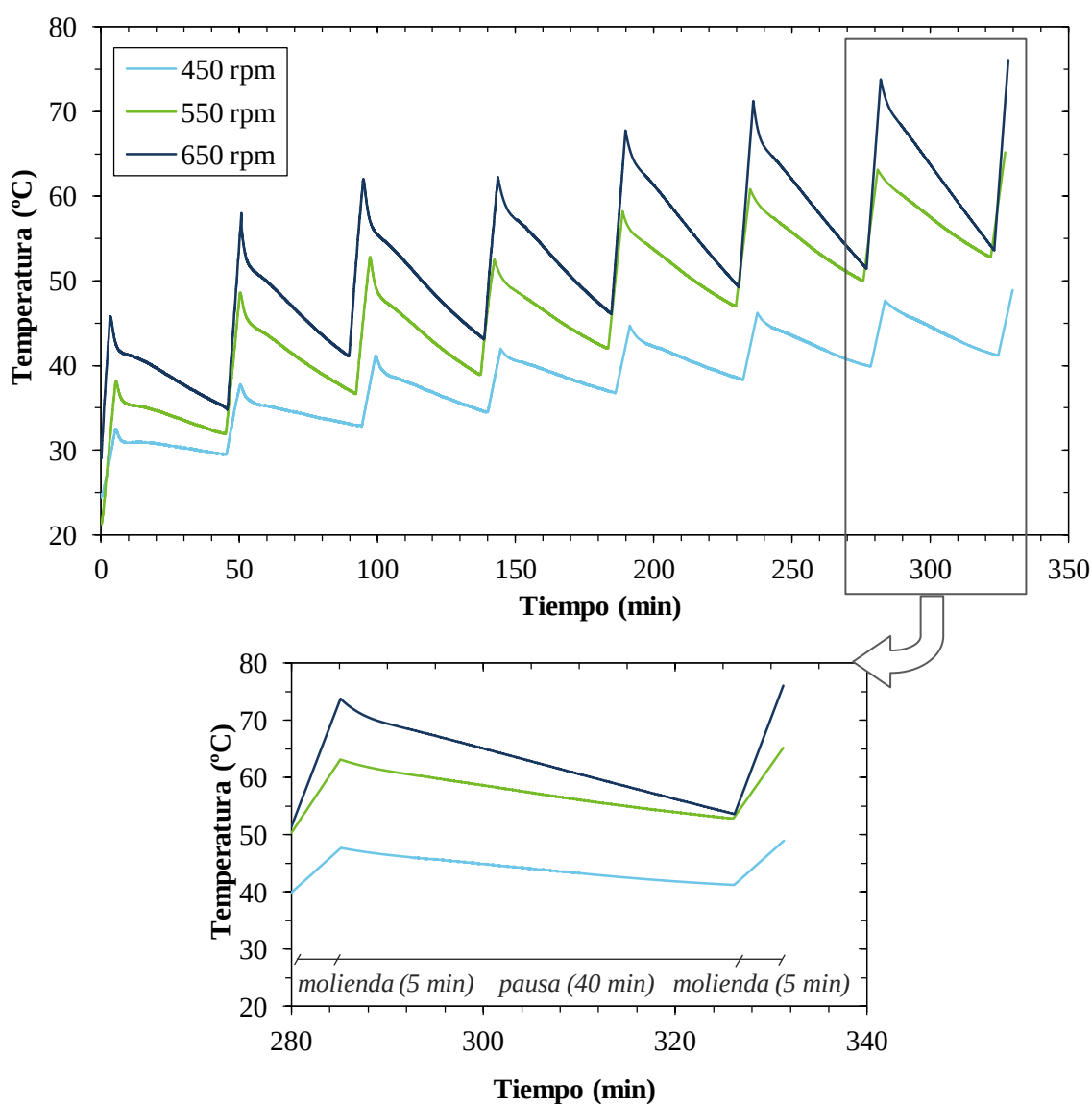


Figura 4.3. Evolución de la temperatura en el interior de la jarra durante la molienda seca de arroz, en el MPB.

Los valores más altos de temperatura se manifestaron a los 40 minutos de molienda, alcanzando 48,9 °C, 65,2 °C y 76,1 °C, para 450, 550 y 650 rpm respectivamente. Sólo a 650 rpm se superó la temperatura de gelatinización ($T_o - T_e = 68,5 - 79,1$ °C) de la harina control (nativa) obtenida en un molino de cuchillas, por lo tanto, es de suponer que los mayores cambios estructurales y fisicoquímicos de la harina ocurran en estas condiciones de molienda seca, en el MPB.

Después del primer ciclo (5 min de molienda y 40 min de pausa), la temperatura se elevó de modo considerable a las tres velocidades, por ejemplo, a 550 rpm pasó de 21,5 °C a 32 °C, en cambio, en el segundo ciclo de molienda seguido de pausa, la elevación fue menor, a 550 rpm pasó de 32 °C a 36,6 °C. Esta diferencia se debe a que en la primera etapa, inicialmente los granos de arroz están enteros y el tamaño de partícula es mayor, que el tamaño inicial de la segunda etapa o ciclo.

Otros investigadores informaron resultados similares durante la molienda seca de arroz, cuyas temperaturas máximas fueron de 46,5 °C, en un molino de martillos, o 43,6 °C, en un molino de agujas. No obstante, cuando emplearon otros métodos, como la molienda húmeda o la criogénica, las temperaturas máximas fueron de 39,5 °C y de 25,2 °C, respectivamente. Además, la mayor fragilidad de los granos no permitió diferenciar un salto térmico importante, entre ciclos consecutivos de molienda (Ngamnikom y Songsermpong, 2011).

Es sabido, que la molienda de alta energía produce un aumento prominente de la temperatura, en el interior de los recipientes de molienda, debido a las colisiones tangenciales y frontales de las bolas, y a la fricción (Baláž, 2008). Takacs y McHenry (2006) analizaron la evolución de la temperatura en un molino planetario, empleando una jarra de 10 cm de diámetro y 100 bolas de 12,7 mm de diámetro, con un polvo inerte como medio (SiO_2) y encontraron, que al cabo de 40 minutos continuados de molienda (sin pausa), la temperatura en el interior de la jarra era de ~ 220 °C.

Es importante mencionar, que en el presente trabajo, la implementación de las pausas permitió controlar la temperatura dentro de un rango razonable.

Por otra parte, se debe considerar que la temperatura no es uniforme dentro de la jarra, existen *puntos calientes* debido a las colisiones de las bolas. Durante el proceso de molienda, parte del polvo molido se adhiere a la pared de la jarra, otra permanece unida a las bolas, y la restante puede moverse libremente. Es un sistema heterogéneo donde coexisten diferentes temperaturas (Suryanarayana, 2001).

Por esta razón, las harinas, o una fracción de estas, obtenidas por molienda seca en el molino planetario, podrían haber experimentado temperaturas superiores a las registradas.

4.1.3. Distribución de tamaño de partícula

El tamaño de partícula de las harinas de arroz se determinó por dispersión estática de luz (también conocida como difracción láser). Esta técnica mide la intensidad de luz dispersada en diferentes ángulos promediada en el tiempo (intensidad estática), siendo el tamaño de partícula inversamente proporcional al ángulo.

Se obtiene así, una distribución de tamaño de partícula (DTP) en volumen, que puede ser descripta cuantitativamente a través de la mediana (Dv_{50}), diámetro de partícula que divide a la población en dos partes iguales; la moda, valor más común de la frecuencia de distribución y el más alto de la curva; y finalmente, el índice de dispersión (IDv), cuyo valor bajo es indicativo de una DTP más homogénea.

La distribución en volumen de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el molino planetario de bolas, en función del tiempo de molienda, se muestra en las figuras 4.4, 4.5 y 4.6 junto con la de las harinas de referencia, y en la tabla 4.1 se dan los parámetros característicos asociados.

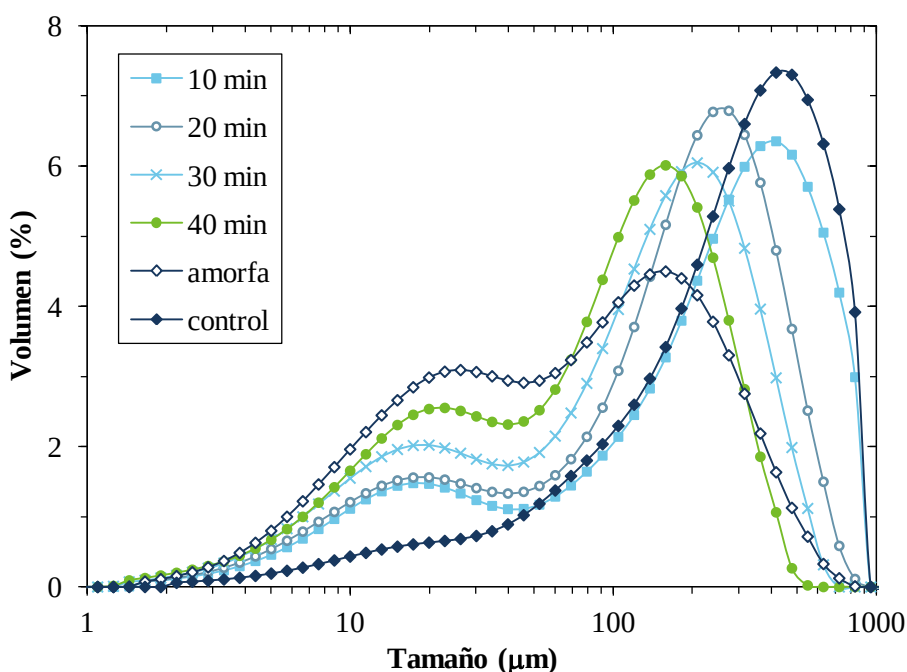


Figura 4.4. Distribución de tamaño de partícula en volumen. Cinética de la molienda seca de arroz en el MPB a 450 rpm y harinas de referencia.

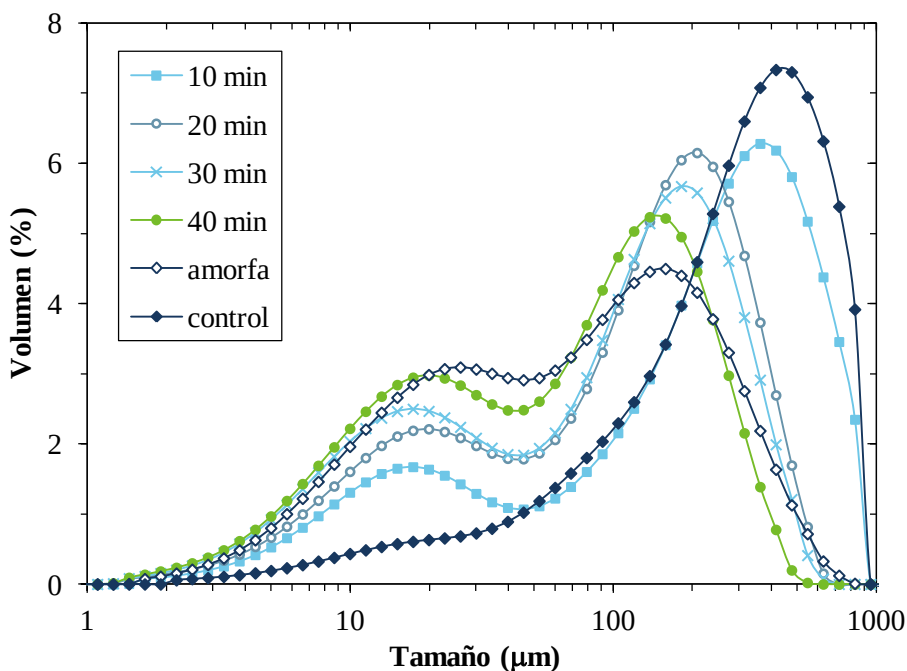


Figura 4.5. Distribución de tamaño de partícula en volumen. Cinética de la molienda seca de arroz en el MPB a 550 rpm y harinas de referencia.

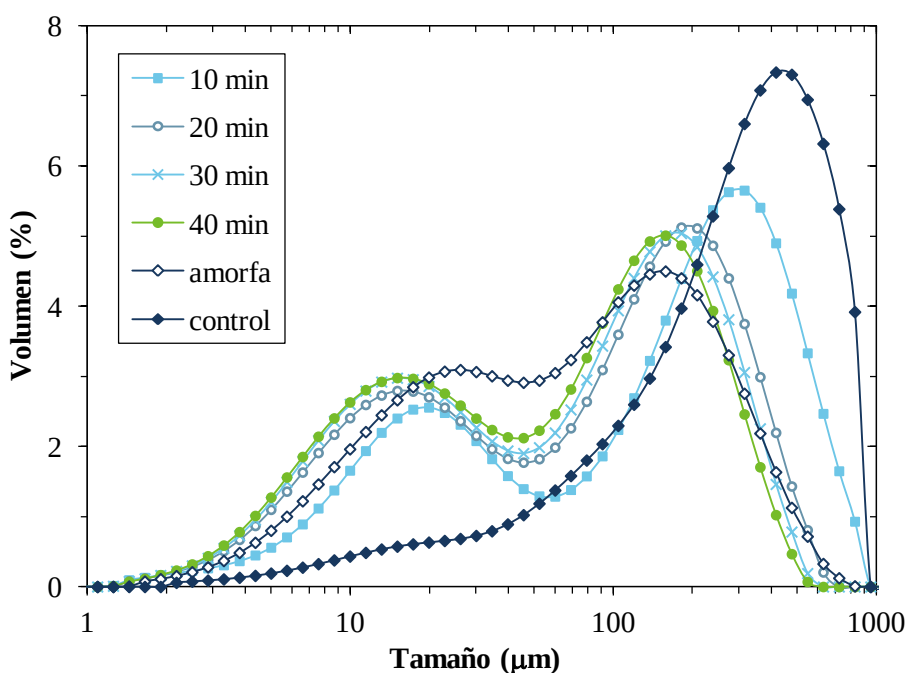


Figura 4.6. Distribución de tamaño de partícula en volumen. Cinética de la molienda seca de arroz en el MPB a 650 rpm y harinas de referencia.

La distribución de la muestra control fue monomodal, extendiéndose entre 52 μm y 712 μm, con un máximo en 417 μm, en cambio, las harinas preparadas en el molino planetario de bolas presentaron una DTP bimodal, incluso la harina amorfa. Al aumentar el tiempo de

molienda se observó que la fracción de la población de menor tamaño, comprendida entre 8 – 40 μm , se incrementó a expensas de la segunda población, establecida entre 40 – 669 μm , lo que implicó la disminución de los valores del Dv50. Esta dependencia de la reducción de tamaño con el tiempo fue más notoria a 450 rpm, no obstante, a 650 rpm el descenso del tamaño fue más importante en los primeros 20 minutos de molienda. Al cabo de este tiempo la velocidad con que aumentó la fracción de las partículas finas disminuyó a medida que avanzó la molienda, encontrándose muy poca diferencia entre 20, 30 y 40 minutos.

Tabla 4.1. Parámetros característicos de la distribución de tamaño de partícula de las harinas de arroz obtenidos por difracción láser en función de las condiciones de molienda.

Muestra (rpm-min)	Dv10¹ (μm)	Dv50¹ (μm)	Dv80¹ (μm)	Dv90¹ (μm)
450-10	17,06 $\pm$ 0,30 ^h	262,80 $\pm$ 3,63 ⁱ	525,84 $\pm$ 5,50 ^h	669,18 $\pm$ 6,12 ^j
450-20	15,54 $\pm$ 0,14 ^g	187,71 $\pm$ 1,51 ^g	355,44 $\pm$ 2,61 ^e	455,32 $\pm$ 2,97 ^g
450-30	12,59 $\pm$ 0,15 ^f	135,05 $\pm$ 2,29 ^e	280,56 $\pm$ 2,90 ^d	367,25 $\pm$ 3,11 ^f
450-40	12,13 $\pm$ 0,10 ^{e,f}	99,07 $\pm$ 1,21 ^c	208,61 $\pm$ 1,01 ^b	273,89 $\pm$ 0,95 ^b
550-10	15,01 $\pm$ 0,19 ^g	244,08 $\pm$ 3,06 ^h	492,77 $\pm$ 4,94 ^g	634,27 $\pm$ 5,56 ⁱ
550-20	12,44 $\pm$ 0,12 ^f	131,11 $\pm$ 1,62 ^e	270,81 $\pm$ 2,74 ^d	352,70 $\pm$ 3,12 ^e
550-30	10,17 $\pm$ 0,06 ^{c,d}	107,87 $\pm$ 1,38 ^d	241,44 $\pm$ 2,04 ^c	320,51 $\pm$ 2,26 ^d
550-40	9,70 $\pm$ 0,07 ^{b,c}	75,37 $\pm$ 1,80 ^{a,b}	185,72 $\pm$ 1,91 ^a	250,68 $\pm$ 1,94 ^a
650-10	12,77 $\pm$ 0,23 ^f	174,78 $\pm$ 3,74 ^f	391,56 $\pm$ 7,28 ^f	519,20 $\pm$ 8,47 ^h
650-20	9,11 $\pm$ 0,06 ^{a,b,c}	96,26 $\pm$ 1,86 ^c	244,58 $\pm$ 3,06 ^c	331,77 $\pm$ 3,46 ^d
650-30	8,65 $\pm$ 0,07 ^{a,b}	80,87 $\pm$ 1,83 ^b	214,17 $\pm$ 4,20 ^b	290,58 $\pm$ 4,99 ^c
650-40	8,41 $\pm$ 0,03 ^a	72,51 $\pm$ 1,22 ^a	194,48 $\pm$ 1,39 ^a	264,90 $\pm$ 1,44 ^b
amorfa	11,12 $\pm$ 0,02 ^{d,e}	76,45 $\pm$ 0,86 ^{a,b}	209,83 $\pm$ 5,09 ^b	301,00 $\pm$ 6,50 ^c
control	52,06 $\pm$ 1,32 ⁱ	322,23 $\pm$ 1,75 ^j	579,53 $\pm$ 2,41 ⁱ	712,78 $\pm$ 2,63 ^k

¹ Dv50 representa el diámetro de partícula correspondiente al volumen acumulado al 50%, la mediana, Dv10, Dv80 y Dv90 representan los diámetros de partícula correspondientes al volumen acumulado al 10%, 80% y 90% respectivamente. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

Por otra parte, la harina amorfa procesada dos horas en el MPB a máxima velocidad (650 rpm), mostró un incremento significativo de los diámetros característicos en comparación con la harina modificada a 650 rpm – 40 min.

Este efecto también fue observado por otros investigadores, al moler almidón de maíz en un molino planetario a 500 rpm durante varias horas (Liu *et al.*, 2011; He *et al.*, 2014) y podría atribuirse a la activación mecánica del almidón que está en equilibrio dinámico con la reducción del tamaño de partícula (Pourghahramani y Forssberg, 2006). Inicialmente la compresión, el impacto y la fricción, fracturan las partículas creando nueva superficie cada vez que se producen colisiones, predominando este proceso por encima de la activación, pero cuando el tiempo de molienda se prolonga, las partículas deformadas que son blandas y dúctiles se aglomeran (o funden) en gránulos amorfos más grandes, al ser aplastadas por las bolas debido a la gran cantidad de energía introducida. En consecuencia suele aumentar el tamaño de partícula con predominio de la activación mecánica (figura 4.7). Este proceso continúa hasta que se alcanza un equilibrio dinámico entre la rotura y la aglomeración (Boldyrev, Pavlov, y Goldberg, 1996).

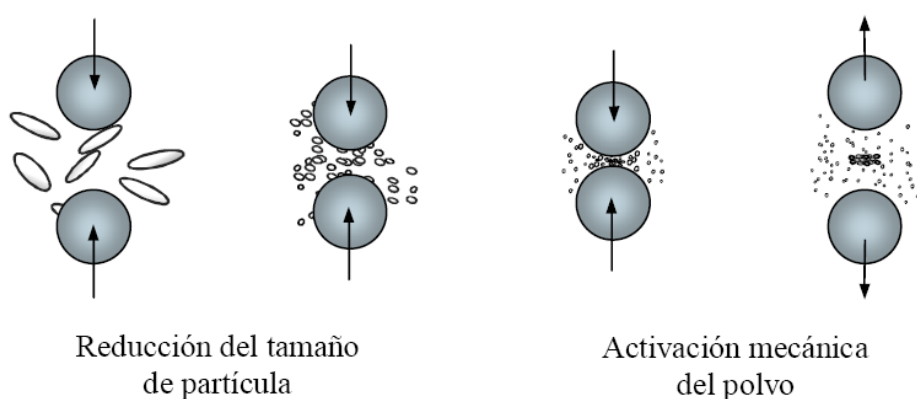


Figura 4.7. Esquema del efecto de la molienda de alta energía sobre el tamaño de partícula.

El incremento de tamaño causado por la activación mecánica puede visualizarse particularmente por el desplazamiento hacia la derecha de la moda correspondiente a la fracción fina de la muestra amorfa (figura 4.6).

Por otro lado, el IDv de las harinas obtenidas en el MPB resultó superior al del control ($2,05 \pm 0,01$), e inferior al de la harina amorfa ($3,79 \pm 0,05$), además el aumento del tiempo y de la velocidad de rotación generaron harinas más heterogéneas (figura 4.8).

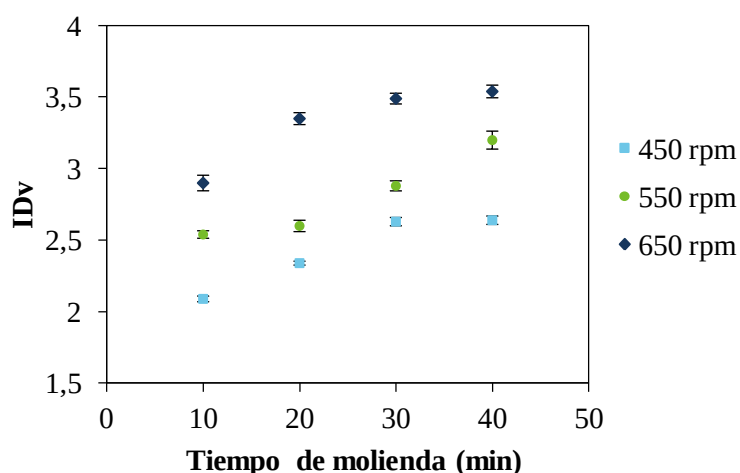


Figura 4.8. Índice de dispersión de la distribución de tamaño de partícula (IDv) de las harinas obtenidas por molienda seca en el MPB en función del tiempo de molienda.

Se aplicó el método de superficie de respuesta para analizar el efecto de las condiciones de molienda, sobre los parámetros Dv50 y IDv de la distribución de tamaño de partícula de las harinas, obtenidas por molienda seca en el MPB, a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$) (tabla 4.2).

Tabla 4.2. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre la mediana en volumen (Dv50) y el índice de dispersión de la población (IDv) de las harinas de arroz en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2).

Coeficientes		Dv50 (μm)	IDv
Constante	a_0	119,20	2,84
Lineal	a_1	-32,53*	0,45*
	a_2	-69,78*	0,31*
Cuadrático	a_{11}	---	0,07NS
	a_{22}	35,57*	-0,07NS
Interacción	a_{12}	16,62*	---
Correlación	r^2	0,9743	0,9695

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

Las respuestas estudiadas fueron explicadas convenientemente empleando un polinomio de segundo grado (ec. 3.14), hallándose un ajuste satisfactorio ($R^2 \geq 0,97$) de los datos. Se encontró que los valores de Dv50 fueron afectados significativamente por la velocidad de rotación del molino (linealmente), el tiempo de molienda (cuadráticamente) y la

interacción entre ambos, que reflejó, que en tiempos prolongados de molienda la velocidad influyó más en la disminución del Dv50 que en tiempos reducidos. El IDv también fue afectado por los dos factores (linealmente) aunque no se detectó interacción. Es decir, un incremento en el tiempo de molienda condujo a menores valores de Dv50 y simultáneamente aumentó la heterogeneidad de la harina, como consecuencia del tipo de distribución bimodal obtenida (figura 4.9).

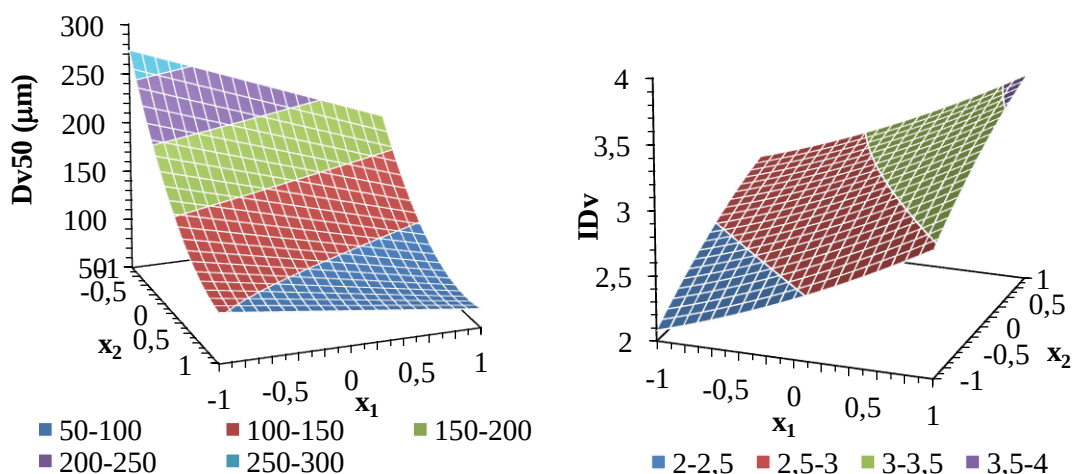


Figura 4.9. Superficies de respuesta de la mediana en volumen (Dv50) y del índice de dispersión de la población (IDv) en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

En relación al área superficial específica relativa ($AER = AE/AE_{control}$), mostrada en la figura 4.10, conseguida a partir del área superficial específica de partícula (AE) informada por el equipo de difracción láser, que considera a las partículas como esféricas, se evidenció que la reducción del tamaño amplió el AE y que todas las muestras presentaron un valor mayor al control. Los valores del AE fueron de 0,066 m²/g y 0,211 m²/g para el control y para la harina amorfa respectivamente. El grado de modificación alcanzado en las harinas de arroz, obtenidas por molienda seca en el MPB, resultó moderado, si se lo compara con el AE del almidón nanoparticulado ($AE = 1,64$ m²/g) informado por Szymońska Targosz-Korecka y Krok (2009), sin embargo, debe tenerse en cuenta que estos autores informaron el área específica estimada con base en la isoterma de adsorción ajustada mediante la ecuación de BET (Brunauer, Emmett y Teller, 1938).

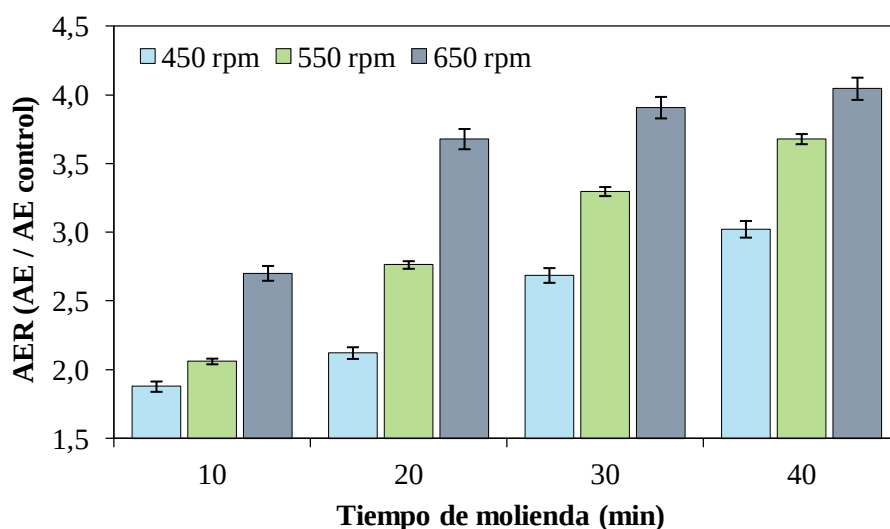


Figura 4.10. Área superficial específica relativa (AER) de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB en función del tiempo de molienda.

4.1.4. Energía de molienda

La molienda es un proceso intensivo de energía y extremadamente ineficiente (Baláz, 2008). Se requiere energía mecánica para la reducción del tamaño de las partículas y para vencer la fricción entre las partes móviles del molino. Casi la totalidad de la energía consumida en el proceso de molienda se pierde en forma de calor y sólo el 0,06 % al 1% de la energía de entrada, se utiliza para la creación de nuevas superficies (Krishna Murthy y Manohar, 2013).

A medida que se han ido desarrollando nuevas tecnologías, en la industria farmacéutica, cosmética, química, alimentaria, entre otras, se requieren más partículas finas, lo que ha aumentado el consumo total de energía, ya que la reducción hasta tamaños finos y ultrafinos energéticamente es mucho más costosa, que la simple trituración, hasta partículas relativamente gruesas (McCabe, Smith y Harriott, 1991).

Por ello, con el objetivo de establecer la energía involucrada en el método de molienda propuesto, se determinó la energía total suministrada por el molino planetario de bolas, al contenido de la jarra de molienda (ver sección 3.2.1), expresado como energía específica de molienda (E , kJ/g), de acuerdo con la ecuación 4.1.

$$E \text{ (kJ/g)} = \frac{\text{energía total aportada a la jarra (kJ)}}{\text{masa de arroz (g)}} \quad (4.1)$$

En la tabla 4.3 se muestran los valores de E en función de las condiciones de molienda (entre 450 – 650 rpm y 10 – 40 min) junto con otros parámetros característicos.

Tabla 4.3. Relación de reducción de tamaño de partícula ($R_r = D_o/D_1$), energía específica de molienda (E), energía efectiva de molienda (Ee) y potencia entregada (P), en función de la velocidad de rotación de la jarra y del tiempo de molienda.

Velocidad (rpm)	Tiempo (min)	¹ $R_r = D_o/D_1$ ($\mu\text{m}/\mu\text{m}$)	E (kJ/g)	Ee (kJ/kg)	P (kW/kg)
450 rpm	10	5,44	0,33	61,1	0,55
	15	6,74	0,50	73,9	0,55
	20	8,05	0,66	82,4	0,55
	25	9,49	0,77	80,6	0,51
	30	10,19	0,89	87,2	0,49
	35	11,97	1,05	87,8	0,50
	40	13,71	1,22	88,6	0,51
550	10	5,80	0,61	105,6	1,02
	15	8,52	0,92	108,0	1,02
	20	10,56	1,25	118,0	1,04
	25	11,07	1,58	142,9	1,06
	30	11,85	1,91	161,3	1,06
	35	13,39	2,23	166,8	1,06
	40	15,40	2,55	165,3	1,06
650	10	7,30	1,02	139,9	1,70
	15	9,76	1,56	159,8	1,73
	20	11,69	2,11	180,6	1,76
	25	12,40	2,66	214,1	1,77
	30	13,35	3,20	239,5	1,78
	35	13,78	3,74	271,1	1,78
	40	14,71	4,28	290,9	1,78

¹ D_o : 2860 μm ; D_1 : diámetros de partícula correspondientes al volumen acumulado al 80 % (Dv80).

Para una mejor visualización en la figura 4.11 se muestra que, la energía involucrada en la molienda seca de arroz para la obtención de harina, se incrementó con el tiempo de molienda a una velocidad de rotación fija, encontrándose una relación lineal con un ajuste satisfactorio de los datos ($R^2 > 0,99$). Además, para un tiempo de molienda constante, el aumento de la velocidad se tradujo en un mayor nivel de energía, como era lo esperado.

Sin embargo, la velocidad intermedia (550 rpm) no proporcionó exactamente el promedio de energía específica, aportada por 650 rpm y 450 rpm, sino un valor entre un 7 % y un 11 % inferior a la media.

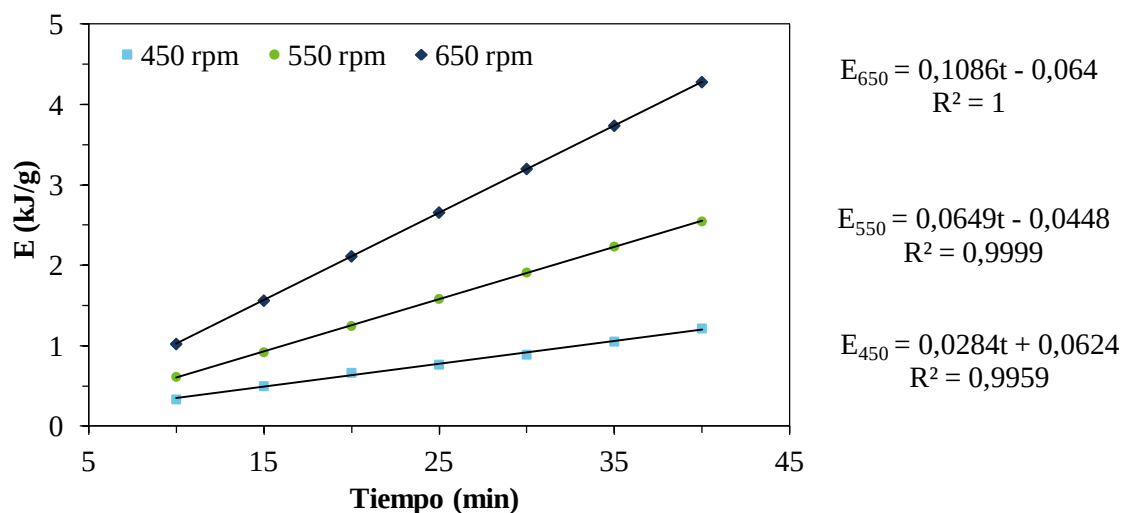


Figura 4.11. Relación entre el tiempo de molienda y la energía específica de molienda (E), en función de la velocidad de rotación de la jarra.

Estos valores de E (330 – 4280 kJ/kg) son muy superiores a los informados por otros autores, por ejemplo, la molienda de trigo duro consumió 72,3 – 146,7 kJ/kg, en un molino de martillos (Dziki, 2008). Debe considerarse que los requerimientos de energía no sólo dependen del tipo de molino, sino también de las propiedades físicas del grano, de ahí que, se debe tener en cuenta la dureza del mismo. En el estudio mencionado, el índice de dureza del trigo fue de 71 (de acuerdo con SKCS 4100⁵), en contraste, el arroz presenta, en el mismo sistema, un índice de dureza de ~ 80 (Bautista, Siebenmorgen y Burgos, 2007).

Sharma y colaboradores (2008) expusieron valores de energía específica de molienda húmeda de arroz, en un molino de piedra, de 107,3 kJ/kg a 267,8 kJ/kg, para un tiempo de proceso de 4 minutos a 10 minutos, respectivamente. Estos valores también fueron inferiores a los del presente trabajo, aunque hay que contemplar, que Sharma y colaboradores (2008) maceraron el arroz previo a la molienda, durante 4 horas, alcanzado el grano una humedad del 37,4 %, lo que redujo su dureza y por consiguiente la energía necesaria para molerlo.

No obstante, no se conocen trabajos publicados que determinen la energía de molienda del arroz, en un molino de alto impacto, lo cual dificulta las comparaciones bibliográficas. En

⁵ Single Kernel Characterization System, “Sistema de caracterización de grano único”

lugar de energía de molienda, es usual encontrar las condiciones en términos de tiempo de molienda y velocidad de rotación. El uso de la energía específica de molienda facilitaría las comparaciones, pues es una forma de independizarse de las condiciones de molienda.

La proporcionalidad de la energía específica con el tiempo de molienda ($E \propto t$), pudo además visualizarse en los valores casi constantes de la potencia por unidad de masa (P , kW/kg), entregada por el molino planetario (figura 4.12), la que se determinó como el cociente entre la energía por unidad de masa (en kJ/kg) y el tiempo expresado en segundos. Cabe aclarar, que no se trata de la potencia consumida por el motor del molino, sino de la que se entrega al contenido de la jarra. Por ello se hizo la determinación previa de la energía al ralentí, de acuerdo con el procedimiento indicado en el manual del equipo (sección 3.2.1).

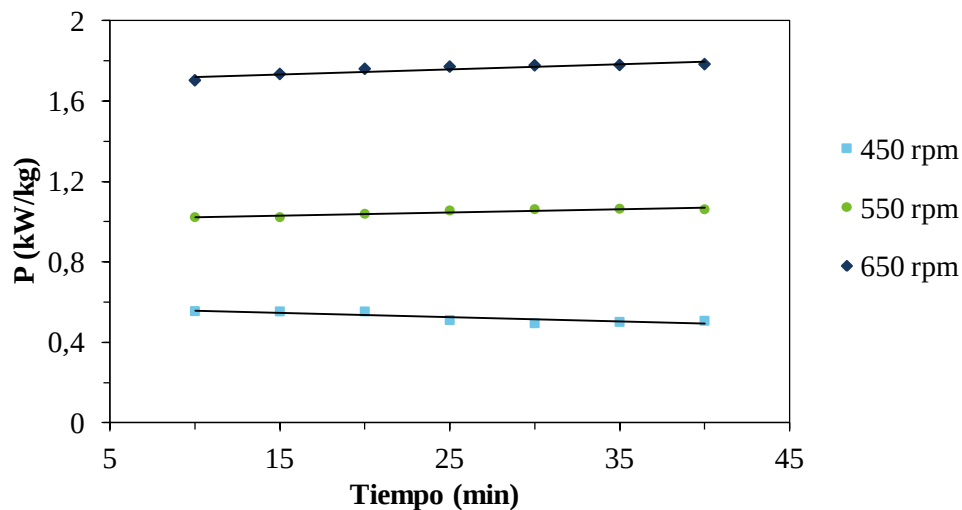


Figura 4.12. Relación entre el tiempo de molienda y la potencia entregada (P), en función de la velocidad de rotación de la jarra.

Asimismo, en la figura 4.13 se muestra la relación entre la energía específica de molienda (E) y la relación de reducción de tamaño (Rr) calculada como:

$$Rr = \frac{D_o (\mu m)}{D_1 (\mu m)} \quad (4.2)$$

Donde D_o es el tamaño de partícula inicial y D_1 el final, mientras que Rr es la relación de reducción de tamaño. Para la determinación de Rr , se adoptó D_o como el diámetro de la esfera de volumen equivalente al grano entero de arroz pulido, fijado en 2860 μm (Bello,

2009) y D_1 se estableció a partir de los diámetros de partícula correspondientes al volumen acumulado al 80 % (Dv80), determinados en la sección 4.1.3.

La pendiente de la relación E versus Rr es la energía efectiva de molienda (E_e , kJ/kg), definida como la energía por unidad de masa, para reducir el tamaño de partícula, que se expresa como:

$$E_e \text{ (kJ/kg)} = \frac{E \text{ (kJ/g)}}{Rr} \times 1000 \text{ (g/kg)} \quad (4.3)$$

En la figura 4.13 se observa, que la energía específica de molienda (E) se incrementó de manera exponencial a 650 rpm y a 550 rpm ($R^2 > 0,96$), al aumentar la relación de reducción de tamaño, en cambio, a 450 rpm se incrementó linealmente ($R^2 = 0,99$), por ejemplo, cuando Rr pasó de 10 a 13, a 450 rpm fue necesario 0,32 kJ/g más, en cambio a 650 rpm, fue necesario 1,34 kJ/g adicionales.

Es decir, que a la menor velocidad (450 rpm) la energía efectiva de molienda aumentó levemente, sin embargo, para velocidades mayores la energía creció notablemente, conforme avanzó la molienda.

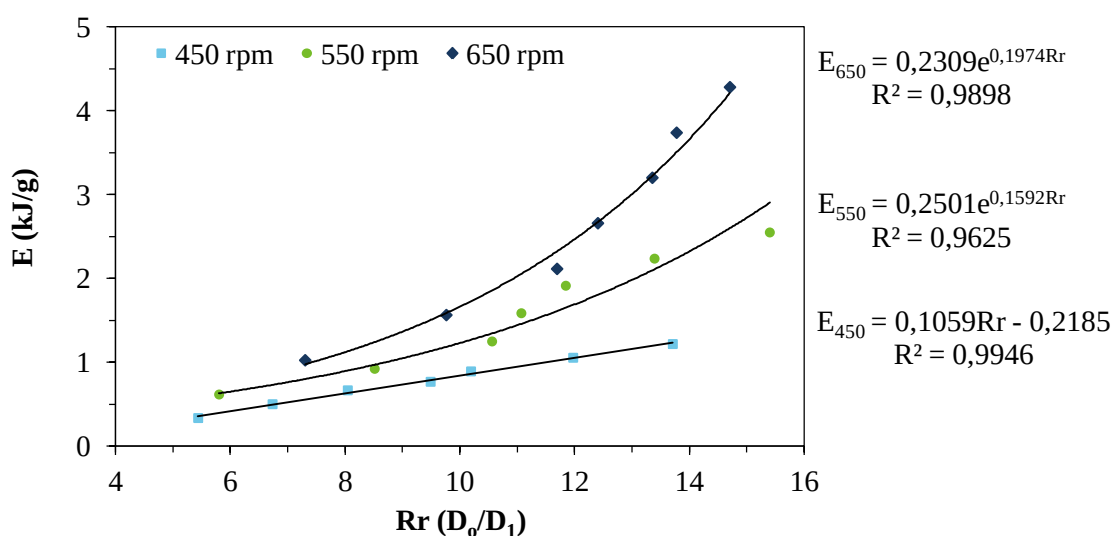


Figura 4.13. Relación entre la energía específica de molienda (E) y la relación de reducción de tamaño (Rr), en función de la velocidad de rotación de la jarra.

Shashidhar y colaboradores (2013) hallaron una relación lineal entre E y Rr , para la molienda de semillas de cilantro, en un molino de martillos. Por otra parte, Mohd Rozalli, Chin, y Yusof (2015) encontraron una relación exponencial entre E y Rr , para la molienda de maní, en una procesadora de ultra-alta velocidad (20.000 rpm).

A su vez en este trabajo, a 450 rpm – 40 min, se logró una reducción de tamaño ($R_r = 13,71$) similar a la obtenida a 550 rpm – 35 min y a 650 rpm – 35 min (tabla 4.3), pero en estas dos últimas condiciones, la energía específica suministrada al contenido de la jarra de molienda, fue superior a la de 450 rpm en un 83 % y 207 %, respectivamente.

Los resultados manifiestan, que la molienda en el MPB a elevadas velocidades, requiere alta energía para lograr un pequeño cambio en la reducción del tamaño de partícula. En otras palabras, una gran parte de la energía suministrada a elevada velocidad de rotación se disipa, alterando la temperatura del sistema, como pudo comprobarse durante el desarrollo del protocolo de molienda. Cabe esperar entonces, que la energía disipada, pueda vincularse con cambios en las propiedades funcionales de la harina.

4.1.4.1. Efecto de las condiciones de molienda sobre la energía efectiva

Finalmente, se analizó el efecto de las condiciones de molienda sobre los valores de energía efectiva, mediante MSR a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$), obteniéndose un ajuste satisfactorio de los datos experimentales ($R^2 = 0,99$) al modelo matemático empleado (ec. 3.4). En la tabla 4.4 se exhiben los coeficientes del ajuste y en la figura 4.14 la superficie de respuesta predicha para la Ee.

Tabla 4.4. Efecto de las condiciones de molienda seca, en el MPB, sobre la energía efectiva de molienda (Ee), en términos de la velocidad de rotación y del tiempo de molienda (sin codificar).

Coeficientes		Ee (kJ/kg)
Constante	a_0	267,54
Lineal	a_1	-0,84*
	a_2	-9,33*
Cuadrático	a_{11}	$8,7 \cdot 10^{-4}$ *
	a_{22}	---
Interacción	a_{12}	0,02*
Correlación	R^2	0,9914

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

La energía efectiva aumentó, al incrementar tanto la velocidad como el tiempo de molienda en el MPB, no obstante, debido a que la interacción entre ambos factores resultó

significativa, el efecto positivo de la velocidad, fue más destacado a tiempos prolongados de molienda. En otro sentido, se debe destacar la utilidad del polinomio obtenido, ya que permite predecir el valor de la energía efectiva de molienda, en función de la velocidad de rotación (rpm) y el tiempo de molienda (min), sin necesidad de codificar los factores mencionados.

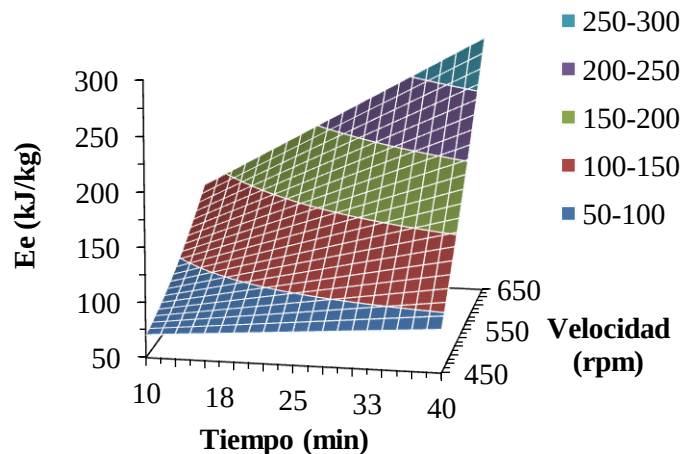


Figura 4.14. Superficie de respuesta de la energía efectiva de molienda (E_e), en función de la velocidad de rotación (rpm) y del tiempo de molienda (min).

4.1.4.2. Modelos de molienda

Estos modelos se basan en la relación presentada anteriormente (figura 4.13), entre la energía de molienda y el tamaño de partícula. Según del rango de tamaño de partícula alcanzado durante la molienda, es posible seleccionar entre tres modelos *clásicos* representados por las ecuaciones de Kick, Bond y Rittinger. La aplicación de los modelos de molienda, implica seleccionar en primer lugar el diámetro a utilizar. En la práctica industrial es común el uso del D80, que representa el tamaño perteneciente al 80 % en masa pasante, determinado por tamizado de la muestra, para caracterizar la distribución. Sin embargo, este enfoque puede evitar un conocimiento profundo del comportamiento de la molienda (Chen *et al.*, 2004).

Por lo tanto, se investigó la aptitud de los diámetros característicos (D_{v50} , D_{v80} y D_{v90}), de la distribución de tamaño de partícula en volumen (obtenidos por difracción láser en la sección 4.1.3), para proporcionar un ajuste satisfactorio de la relación energía-tamaño. Con el propósito de investigar la relación entre la energía de molienda y la reducción de tamaño de partícula, y establecer si alguno de los modelos *clásicos*, predicen de modo adecuado la molienda de arroz en el molino planetario, se llevó a cabo el ajuste de la energía específica

de molienda (E), en función de los diferentes diámetros, utilizando la ecuación generalizada (ec. 1.6), que en su forma integrada presenta la siguiente expresión:

$$E = \frac{c}{1-n} (D_o^{1-n} - Dv_x^{1-n}) \quad (4.4)$$

Donde n y c son los parámetros del modelo, D_o es el diámetro de la esfera de volumen equivalente al grano entero de arroz pulido, 2860 μm (Bello, 2009) y Dv_x equivale al Dv_{50} , Dv_{80} o Dv_{90} , según el caso.

Los resultados del análisis de regresión se exponen en la tabla 4.5. Los mejores ajustes se obtuvieron con la mediana de la distribución de tamaño de partícula (Dv_{50}). Al mismo tiempo, con el incremento de la velocidad de rotación, se observó una disminución del ajuste (menores valores del coeficiente de determinación, R^2). Los valores de n estuvieron comprendidos entre 1,94 (450 rpm) y 2,18 (650 rpm), cuando se utilizó el criterio de la mediana. Estos valores fueron cercanos a 2, el cual corresponde al modelo de Rittinger y se aplica a la molienda fina.

Tabla 4.5. Parámetros del ajuste a la ecuación generalizada de molienda (ec. 4.4) en función de los diferentes diámetros característicos.

Velocidad (rpm)	Parámetros	Dv50	Dv80	Dv90
450	n	1,94	1,73	1,62
	c	84,10	45,68	28,48
	R^2	0,9584	0,9199	0,9008
550	n	2,10	1,86	1,72
	c	328,55	194,60	102,96
	R^2	0,9331	0,8474	0,8030
650	n	2,18	1,66	1,54
	c	679,99	83,68	48,08
	R^2	0,827	0,6232	0,5944

n : exponente, c : constante, R^2 : coeficiente de determinación. Dv_{50} , Dv_{80} y Dv_{90} representan los diámetros de partícula correspondientes al volumen acumulado al 50%, 80% y 90% respectivamente.

En la figura 4.15 se esquematizan los valores experimentales y los predichos, a partir de la ecuación generalizada, para el Dv_{50} a las tres velocidades de rotación de la jarra. El modelo generalizado proporcionó un ajuste satisfactorio para la menor velocidad de

rotación (450 rpm); pero, debido al incremento de la energía disipada, este modelo resultó inadecuado a mayores velocidades de rotación.

Por otra parte, es interesante destacar la correspondencia, entre la variación de la bondad de ajuste del modelo generalizado y la variación de la energía efectiva de molienda, la cual fue constante a 450 rpm, mientras que a 550 rpm y 650 rpm, fue ascendiendo al reducirse el tamaño de partícula.

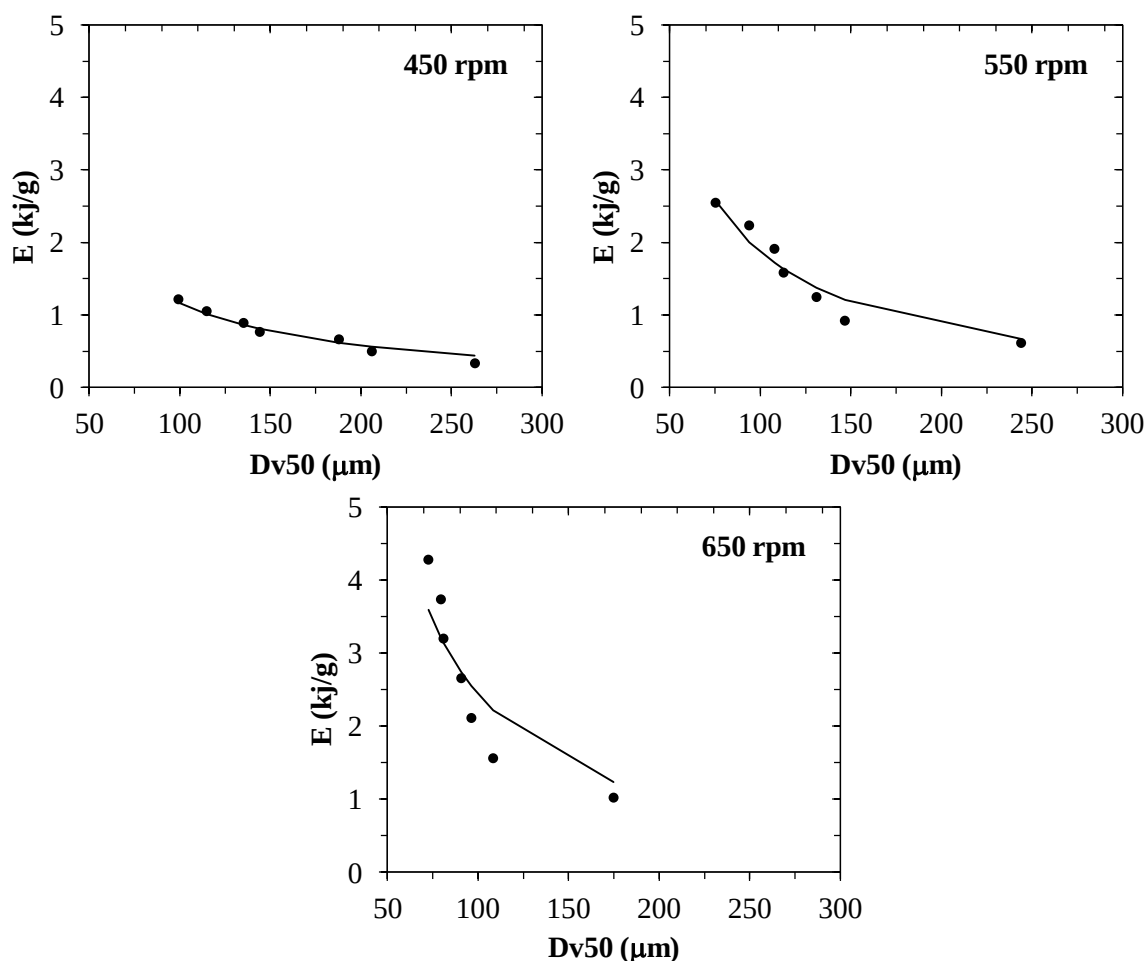


Figura 4.15. Relación entre la mediana de la distribución de tamaño de partícula en volumen ($Dv50$) y la energía específica de molienda (E). Datos experimentales (•) y valores predichos (—) mediante la ecuación 4.4.

4.1.4.3. Modelo de molienda considerando la energía disipada

En primer término se plantearon las siguientes hipótesis para poder estimar la energía disipada durante la molienda:

- a) A 450 rpm la energía disipada es despreciable ($E_d = 0$ kJ/g).

- b) Para una velocidad de rotación mayor a 450 rpm, la energía disipada se calcula como la diferencia entre la energía a esa velocidad y la energía a 450 rpm, correspondiente al mismo valor de Rr (valor fijo de Rr).

Matemáticamente se expresa como:

$$Ed_{450 \text{ rpm}} = [E_{450 \text{ rpm}} - E_{450 \text{ rpm}}] |_{Rr=\text{constante}} = 0 \quad (4.5)$$

$$Ed_{550 \text{ rpm}} = [E_{550 \text{ rpm}} - E_{450 \text{ rpm}}] |_{Rr=\text{constante}} \quad (4.6)$$

$$Ed_{650 \text{ rpm}} = [E_{650 \text{ rpm}} - E_{450 \text{ rpm}}] |_{Rr=\text{constante}} \quad (4.7)$$

Para el cálculo de los valores de $E_{x \text{ rpm}}$ se emplearon las siguientes ecuaciones empíricas, en función de la relación de reducción de tamaño ($Rr = D_o / D_{v80}$), tabulada previamente (ver tabla 4.3):

$$E_{450 \text{ rpm}} = 0,1059 Rr - 0,2185 \quad (4.8)$$

$$E_{550 \text{ rpm}} = 0,2501 e^{0,1592 Rr} \quad (4.9)$$

$$E_{650 \text{ rpm}} = 0,2309 e^{0,1974 Rr} \quad (4.10)$$

Es necesario señalar, que se trata de las mismas ecuaciones presentadas en la figura 4.13, donde pudo apreciarse el buen ajuste, que proporcionaron para la relación E versus Rr a las tres velocidades de rotación.

La tabla 4.6 muestra los valores calculados de Ed (ecs. 4.5 – 4.10) en función de las condiciones de molienda. Para 550 rpm y 650 rpm, el porcentaje de energía disipada se elevó con respecto del valor de E a medida que progresó la molienda, siendo el máximo porcentaje alcanzado de aproximadamente 70 %. Esto revela la importancia que cobra la disipación térmica, al aumentar la velocidad de rotación de la jarra, en el molino planetario de bolas.

En segundo lugar se propuso la siguiente modificación a la ecuación generalizada de molienda, que contempla la existencia de la disipación térmica:

$$E - Ed = \frac{c_1}{1 - n_1} (D_o^{1-n_1} - Dv_{80}^{1-n_1}) \quad (4.11)$$

Donde D_o es 2860 μm (Bello, 2009), c_1 y n_1 son los parámetros del nuevo modelo, en el cual se considera la porción de energía no disipada ($E - Ed$), en lugar de la energía

específica suministrada al contenido de la jarra (E), la que debe ser vinculada con la reducción de tamaño. En la tabla 4.7 se presentan los resultados del análisis de regresión, observándose que ahora el valor de n es 2, tal como lo expuso Rittinger y que el ajuste del modelo propuesto, es muy satisfactorio ($R^2 \sim 0,99$). Asimismo, en la figura 4.16 se visualizan los valores predichos por la ecuación 4.11 y su comparación con los valores experimentales.

Tabla 4.6. Valores calculados de energía disipada (Ed) en función de la energía específica de molienda (E), relación de reducción de tamaño de partícula ($Rr = D_o/D_v80$), velocidad de rotación de la jarra y tiempo de molienda.

Velocidad (rpm)	Tiempo (min)	¹ $Rr=D_o/D_1$ ($\mu\text{m}/\mu\text{m}$)	² E (kJ/g)	³ Ed (kJ/g)	Ed/E (%)
450	10	5,44	0,36	0	0
	15	6,74	0,50	0	0
	20	8,05	0,63	0	0
	25	9,49	0,79	0	0
	30	10,19	0,86	0	0
	35	11,97	1,05	0	0
	40	13,71	1,23	0	0
550	10	5,80	0,63	0,23	37,2
	15	8,52	0,97	0,29	29,6
	20	10,56	1,34	0,44	33,0
	25	11,07	1,46	0,50	34,5
	30	11,85	1,65	0,61	37,2
	35	13,39	2,11	0,91	43,1
	40	15,40	2,90	1,49	51,4
650	10	7,30	0,98	0,42	43,2
	15	9,76	1,59	0,77	48,6
	20	11,69	2,32	1,30	56,1
	25	12,40	2,67	1,58	59,0
	30	13,35	3,22	2,03	62,9
	35	13,78	3,51	2,26	64,6
	40	14,71	4,21	2,87	68,2

¹ D_o : 2860 μm ; D_1 : diámetros de partícula correspondientes al volumen acumulado al 80 % (Dv80).

² Valores predichos de energía específica: $E_{450 \text{ rpm}}$ (ec. 4.8), $E_{550 \text{ rpm}}$ (ec. 4.9), $E_{650 \text{ rpm}}$ (ec. 4.10)

³ Valores predichos de energía disipada: $Ed_{450 \text{ rpm}}$ (ec. 4.5), $Ed_{550 \text{ rpm}}$ (ec. 4.6), $Ed_{650 \text{ rpm}}$ (ec. 4.7)

Tabla 4.7. Parámetros del ajuste de la ecuación de molienda modificada (ec. 4.11) y su comparación con la ecuación generalizada de molienda (ec.4.4) usando el Dv80.

Velocidad (rpm)	Parámetros	Ec. (4.4)	Ec. (4.11)
450	n_1	1,73	2,00
	c_1	45,68	267,98
	R^2	0,9199	0,9854
550	n_1	1,86	2,00
	c_1	194,6	272,91
	R^2	0,8474	0,9899
650	n_1	1,66	2,00
	c_1	83,68	274,65
	R^2	0,6232	0,9900

n_1 : exponente, c_1 : constante, R^2 : coeficiente de determinación.

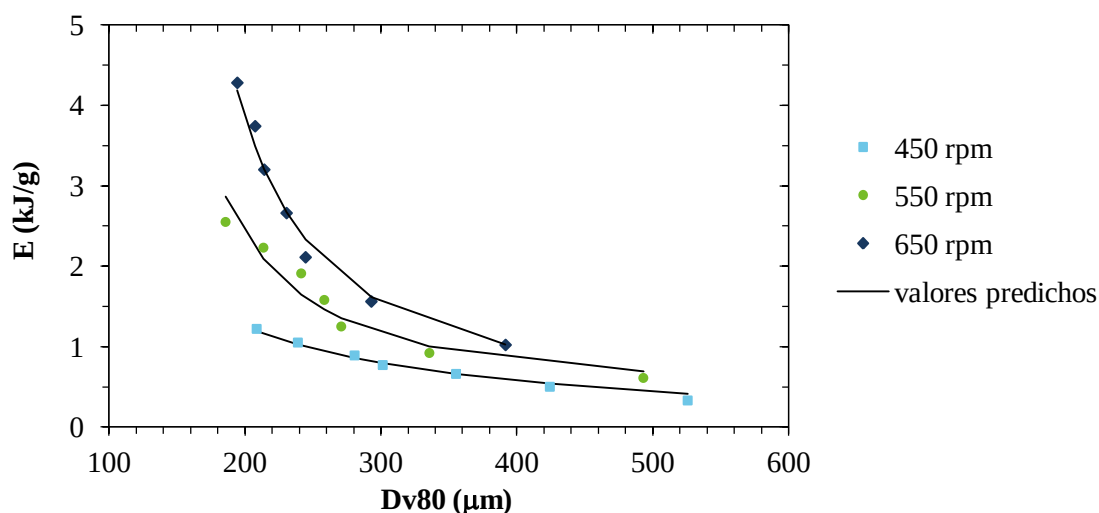


Figura 4.16. Relación entre el diámetro de partícula correspondiente al volumen acumulado al 80 % (Dv80) y la energía específica de molienda (E). Datos experimentales (■, ●, ▲) y valores predichos (—) mediante la ecuación 4.11.

En consecuencia, puede atribuirse la falta de ajuste del modelo generalizado de molienda, al hecho de no haber considerado el término de disipación térmica, que tiene un peso importante en este tipo de molino de alto impacto.

En la sección 4.1.9 se abordará la vinculación entre la energía disipada y las modificaciones funcionales de las harinas.

4.1.5. Contenido de almidón dañado y de humedad

Durante el proceso de molienda de los granos de arroz para la obtención de harina, algunos gránulos de almidón son dañados mecánicamente. La dureza del grano, el tipo de molino y el método de molienda, pueden afectar profundamente el grado del daño y por consiguiente las propiedades fisicoquímicas de las harinas y sus aplicaciones (Chen, Lu y Lii, 1998; Chen, Lii y Lu, 2003).

Las muestras de harina obtenidas en el molino planetario de bolas presentaron un mayor contenido de almidón dañado (AD) con relación al control, como se muestra en la tabla 4.8, por ejemplo, en la condición más severa (650 rpm – 40 min) el contenido de AD alcanzó un valor cinco veces superior al del control, producto de la elevada energía involucrada en la molienda (4,3 kJ/g).

Tabla 4.8. Contenido de almidón dañado (AD) y de humedad (CH) de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en función del diseño experimental y de los valores de referencia.

Muestra	Velocidad (rpm)	Tiempo (min)	AD ² (g/100 g)	CH ² (g/100 g)
	(x_1^1)	(x_2^1)		
1	450 (-1)	10 (-1)	5,94 ± 0,03 ^b	12,23 ± 0,06 ^{h,i}
2	450 (-1)	20 (-0,333)	6,06 ± 0,07 ^b	12,66 ± 0,13 ⁱ
3	450 (-1)	30 (0,333)	6,91 ± 0,14 ^c	12,39 ± 0,18 ^{h,i}
4	450 (-1)	40 (1)	10,00 ± 0,04 ^f	12,39 ± 0,01 ^{h,i}
5	550 (0)	10 (-1)	7,39 ± 0,13 ^{c,d}	11,79 ± 0,26 ^{e,f}
6	550 (0)	20 (-0,333)	8,39 ± 0,12 ^e	11,96 ± 0,14 ^{g,h}
7	550 (0)	30 (0,333)	10,82 ± 0,04 ^g	10,80 ± 0,10 ^d
8	550 (0)	40 (1)	14,44 ± 0,10 ⁱ	10,62 ± 0,03 ^d
9	650 (1)	10 (-1)	7,66 ± 0,31 ^d	11,77 ± 0,19 ^{e,f}
10	650 (1)	20 (-0,333)	11,79 ± 0,16 ^h	10,11 ± 0,15 ^c
11	650 (1)	30 (0,333)	14,84 ± 0,28 ⁱ	8,83 ± 0,27 ^b
12	650 (1)	40 (1)	16,46 ± 0,27 ^j	7,75 ± 0,00 ^a
amorfa			n.d.	11,36 ± 0,07 ^e
control			3,46 ± 0,11 ^a	12,12 ± 0,05 ^{g,h}

¹ Valores obtenidos mediante codificación lineal. ² Base seca. n.d.: no determinado.
Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente (p<0,05).

Este grado de daño inducido en la molienda seca por el MPB es superior al conseguido con otros métodos de molienda y tipos de molinos. Ngamnikom y Songsermpong (2011)

obtuvieron valores de AD de $2,78 \pm 0,12$ g/100 g (b.s.) por molienda húmeda y de $5,88 \pm 0,9$ g/100 g (b.s.) por molienda criogénica, en un molino de martillos. Es evidente que la fragilización de los granos de arroz, ya sea por maceración en agua o por congelación, redujo el tiempo de exposición a la acción mecánica, de ahí que se alcanzaron menores temperaturas (molienda húmeda: 39,5 °C; molienda criogénica: -33,5 °C; en molino de martillos), en comparación con las del presente trabajo en el MPB (48,9 – 76,1 °C). Por otro lado, para la elaboración de harina de arroz por molienda seca, Lu y Lin (2001) utilizando molinos de martillo y de atrición, reportaron valores de AD de 4,86 – 9,19 g/100 g (b.s.), los cuales se encuentran dentro del rango del daño termomecánico hallado en este trabajo.

En otro sentido, el AD tiende a incrementarse con la reducción del tamaño de partícula, debido a la interrupción de la estructura granular (Tran *et al.*, 2011). La molienda induce la despolimerización del almidón, siendo más susceptible la amilopectina que la amilosa (Morrison y Tester, 1994; Tamaki *et al.*, 1998; Tamaki *et al.*, 1997). El almidón de arroz está constituido por gránulos compuestos formados por 20 – 60 gránulos individuales. Estos gránulos compuestos tienen diámetros de hasta 150 μm y los individuales de 2 – 5 μm (Zhongkai *et al.*, 2002; Hosney, 1994). Ambos se rompen, lo que explica el fuerte incremento del daño encontrado en este trabajo, cuando la mediana cae por debajo de 150 μm (ver figura 4.17) y se eleva la fracción en volumen de las partículas menores a 5 μm (ver figura 4.18).

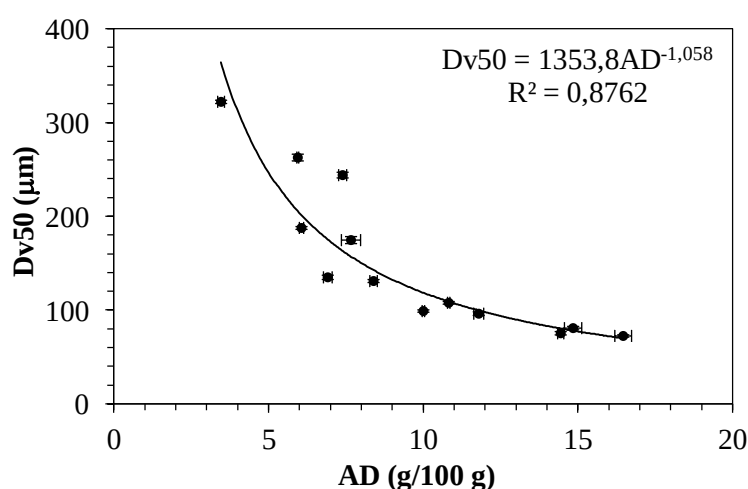


Figura 4.17. Relación entre el contenido de almidón dañado (AD) y la mediana correspondiente a la distribución de tamaño de partícula en volumen (Dv50).

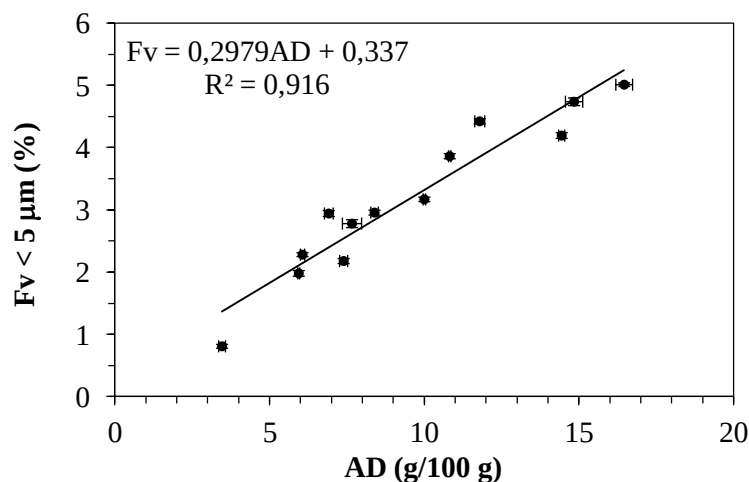


Figura 4.18. Relación entre el contenido de almidón dañado (AD) y la fracción de la distribución de tamaño en volumen < 5 μm (Fv).

La relación lineal señalada en esta última figura, demuestra que la determinación enzimática del contenido de almidón dañado es una medida equivalente de la proporción finamente pulverizada. Hossen y colaboradores (2011) publicaron resultados similares para harinas de arroz elaboradas en un molino de chorro.

Esta observación también es consistente con las correlaciones encontradas en el presente trabajo, a un nivel de significación del 1 % ($p < 0,01$), del almidón dañado con el área superficial específica (AD–AE, $r = 0,95$), con el índice de dispersión de la distribución de tamaño de partícula (AD–IDv, $r = 0,93$) y con la energía específica involucrada en la molienda (AD–E, $r = 0,97$).

En resumen, la molienda de alto impacto produce un daño termomecánico significativo en las harinas, que puede estimarse mediante el contenido de almidón dañado.

A su vez, en la tabla 4.8 se puede visualizar el contenido de humedad (CH) de las harinas, evidenciándose una reducción notoria con la intensificación del proceso, esto se confirmó con la correlación hallada entre el CH y la energía específica de molienda (E) (CH–E, $r = 0,92$; $p < 0,01$); además no se observaron cambios significativos ($p < 0,05$) en el contenido de humedad a 450 rpm en contraste con 650 rpm.

El efecto de las condiciones de molienda sobre el AD y el CH fue estimado mediante MSR a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$). La ecuación propuesta (ec. 3.14) ajustó satisfactoriamente los datos experimentales ($R^2 > 0,96$). El contenido de almidón dañado de las harinas obtenidas por molienda seca en el MPB se vio afectado de forma

significativa y positiva por la velocidad de rotación del molino (lineal), el tiempo de molienda (cuadrática) y la interacción entre ambos factores, que mostró un incremento considerable del AD a tiempos prolongados. Asimismo el contenido de humedad fue afectado de manera significativa pero negativa por la velocidad (cuadrática), el tiempo (lineal) y la interacción entre ellos, con una caída acusada del CH de la muestra (34 %) procesada a 650 rpm durante 40 minutos (tabla 4.9).

Tabla 4.9. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre el contenido de almidón dañado (AD) y de humedad (CH) de las harinas de arroz en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2).

Coeficientes		AD (g/100 g, b.s.)	CH (g/100 g, b.s.)
Constante	a_0	9,735	11,294
Lineal	a_1	2,848*	-1,402*
	a_2	3,251*	-0,890*
Cuadrático	a_{11}	---	-0,281*
	a_{22}	0,635*	---
Interacción	a_{12}	1,293*	-1,015*
Correlación	r^2	0,9623	0,9673

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

En la figura 4.19 se presentan las superficies de respuesta del contenido de almidón dañado y de humedad de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB para una mejor consideración de los efectos.

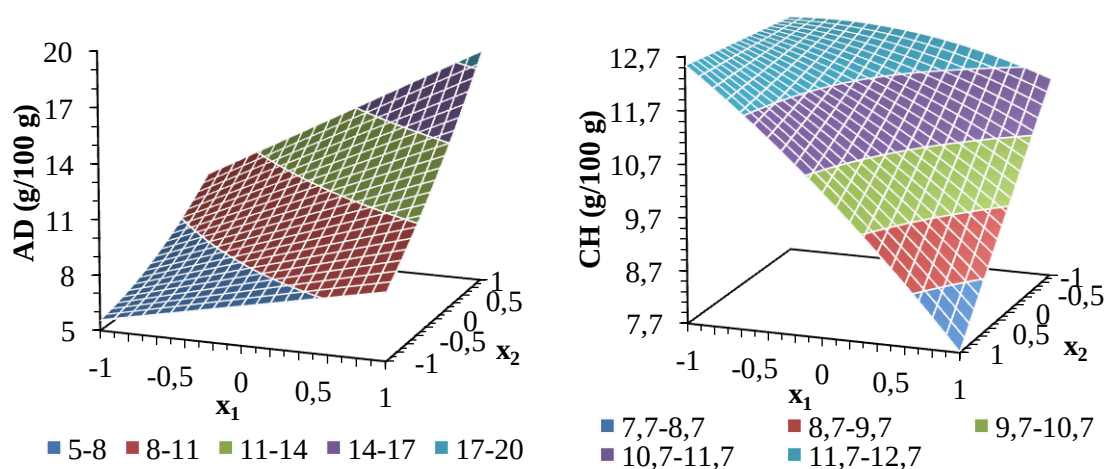


Figura 4.19. Superficies de respuesta del contenido de almidón dañado (AD) de la humedad (CH) en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

4.1.6. Propiedades de hidratación

4.1.6.1. Poder de hinchamiento e índice de solubilidad en agua

El poder de hinchamiento (PH, g/g b.s.) de las harinas es un indicador de la absorción de agua durante el calentamiento, y junto con el índice de solubilidad en agua (ISA, %) proporcionan evidencia de la magnitud de la interacción entre las cadenas de almidón, en los gránulos, dentro de los dominios amorfos y cristalinos. Asimismo, la medida de esta interacción es influenciada por el contenido de amilosa, la estructura de la amilosa y de la amilopectina, el tamaño de partícula y otros factores (Bao y Bergman, 2004). Se ha demostrado también que la presencia de proteínas y de lípidos, en las harinas, puede restringir el hinchamiento y la solubilización de los gránulos, en este último caso debido a la formación de complejos insolubles con la fracción de amilosa (Eliasson y Gudmundsson, 2006).

La determinación de las propiedades de hidratación incluyó un análisis detallado del efecto de las temperaturas seleccionadas para este ensayo, a fin de establecer la más conveniente para caracterizar las harinas modificadas por molienda de alto impacto.

Las figuras 4.20 y 4.21 muestran el efecto de la temperatura sobre los valores experimentales correspondientes al PH y al ISA, de las harinas de arroz obtenidas en el MPB y de las harinas de referencia. Al elevar gradualmente la temperatura se observó el incremento del poder de hinchamiento y del índice de solubilidad en agua, lo cual indica que el aumento de la temperatura mejora la penetración del agua en los gránulos de almidón, debido a una progresiva relajación de las fuerzas de los enlaces intergranulares. Durante el calentamiento de las harinas con exceso de agua, los puentes de hidrógeno que estabilizan la estructura cristalina se rompen, y son reemplazados por nuevos puentes de hidrógeno que se forman entre las moléculas de agua y los grupos hidroxilos expuestos de la amilosa y de la amilopectina, provocando el hinchamiento de los gránulos de almidón y el incremento de su volumen de forma continua, e irreversible a partir de la temperatura de gelatinización (Wani *et al.*, 2012; Hasjim, Li y Dhital, 2012).

Puede apreciarse que a temperatura constante, el PH de las harinas obtenidas en el MPB resultó mayor que el del control, mientras que para el ISA, los valores de las harinas modificadas a 450 rpm y 550 rpm fueron similares al control. En cambio, las harinas obtenidas a 650 rpm presentaron un valor mayor al control (a excepción del ISA determinado a 95 °C).

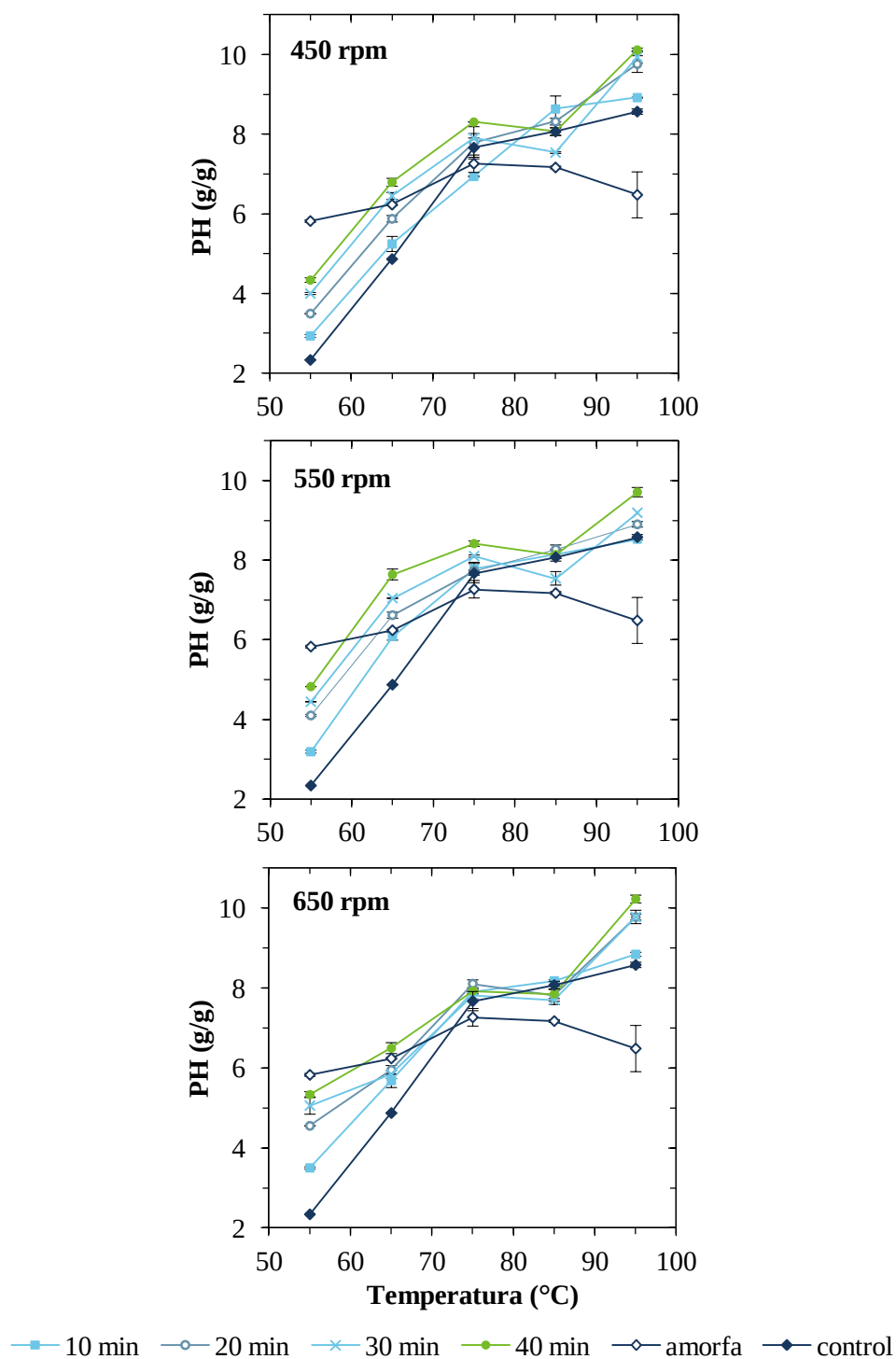


Figura 4.20. Poder de hinchamiento (PH) en función de la temperatura, de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB y de las harinas de referencia.

La harina amorfa, por otra parte, exhibió un PH menos dependiente de la temperatura, y mayor al de las restantes muestras, a 55 °C; en cambio, por encima de 75 °C, el PH fue inferior. El ISA correspondiente presentó valores notablemente superiores (28,2 – 69,9 %)

a los de las harinas modificadas (1,1 – 23,5 %) y a los de la harina control (0,4 – 18,3 %) entre 55 °C y 95 °C.

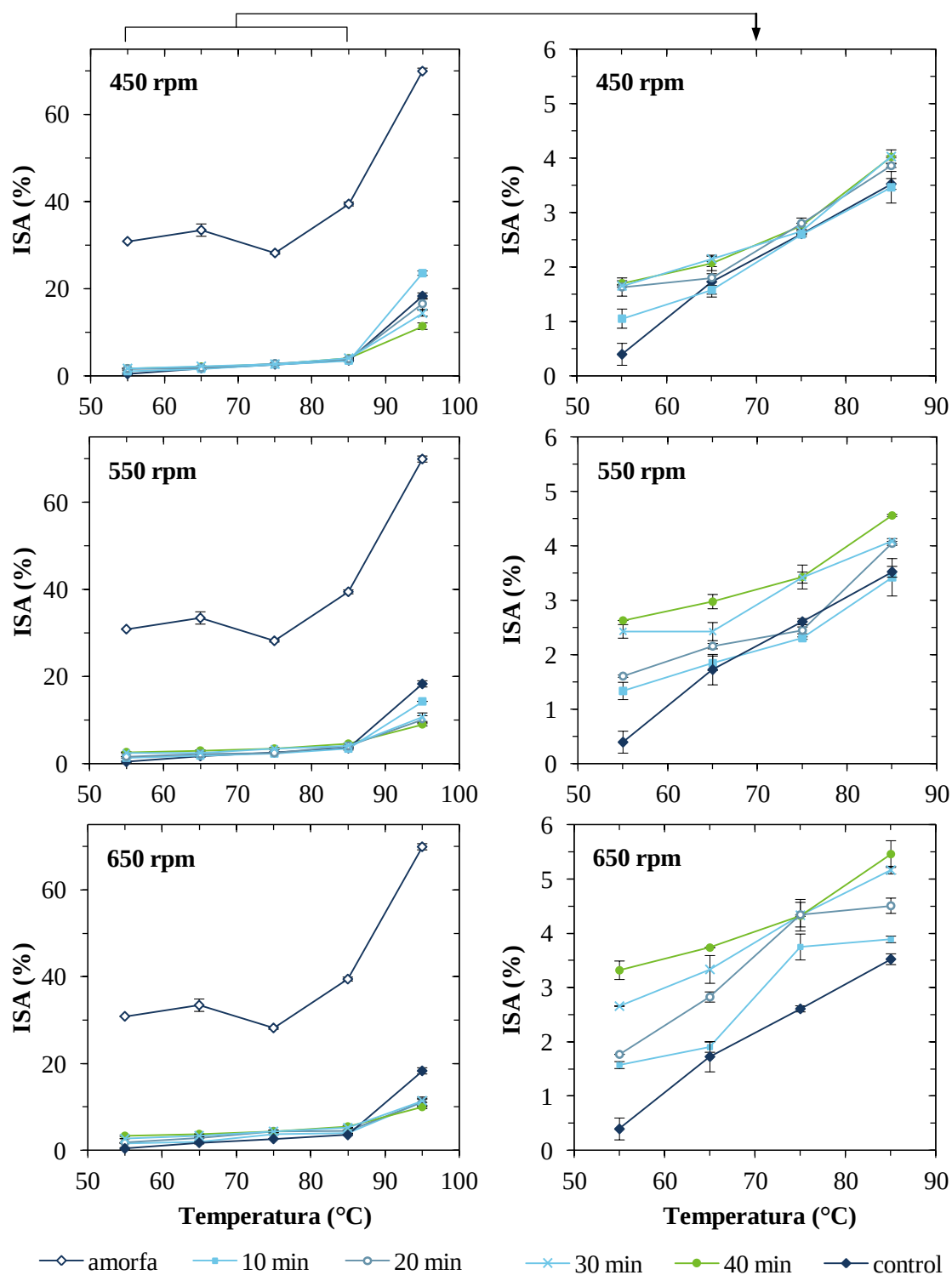


Figura 4.21. Índice de solubilidad en agua (ISA) en función de la temperatura, de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB y de las harinas de referencia.

Otros investigadores observaron el aumento de la solubilidad en agua, a 40 °C, de los almidones amorfos de maíz y de mandioca (42,4 % y 93,9 %, respectivamente), en relación con la de los almidones nativos (0,9 % y 1 %, respectivamente) (Huang *et al.*, 2008). También He y colaboradores (2014) encontraron, al modificar almidón de maíz en un molino planetario de bolas a una velocidad de 500 rpm, que al cabo de dos horas de molienda la muestra reflejaba un ISA a 40 °C del 49 % y al cabo de tres horas un ISA a 40 °C del 70,7 %, y concluyeron que los almidones en estado no cristalino (amorfo) tienen una solubilidad en agua notablemente mayor.

En general, el PH se incrementó con el tiempo de molienda a velocidades fijas de rotación del molino planetario de bolas, apreciándose un cambio considerable en la pendiente entre 75 °C y 85 °C, posiblemente por la gelatinización del almidón. A partir de 85 °C se observó nuevamente el efecto positivo del tiempo sobre los valores del PH. Al respecto, Li y Yeh (2001) encontraron resultados equivalentes para el almidón de arroz con un contenido similar de amilosa. Este patrón de hinchamiento en dos etapas es típico de los almidones con moderado/alto contenido de amilosa, si bien el PH es una propiedad asociada a la amilopectina, se ve restringido por la presencia de una estructura reticular formada por las cadenas de amilosa, que tienden a agruparse en forma paralela reduciendo su afinidad por el agua (Tester y Morrison, 1990).

Simultáneamente el ISA, considerado como una medida aproximada del almidón soluble y relacionado al contenido de amilosa (Wang *et al.*, 2010, Zavareze *et al.*, 2010), también aumentó conforme se incrementó el tiempo de molienda, a velocidad de rotación constante entre 55 – 85 °C, y siendo más notorio a 550 rpm y 650 rpm (figura 4.21). Por encima de 85 °C la solubilidad se elevó rápidamente, debido a que los gránulos hinchados incapaces de retener el líquido, se rompen parcialmente liberando amilosa y amilopectina fuertemente hidratadas, que se dispersan en el seno de la disolución (Valdés Martínez, 2006).

Como ya se mencionó en la sección 4.1.3, la molienda en un molino planetario de bolas provoca la fragmentación de los gránulos de almidón, la cual es acompañada por el incremento del daño termomecánico (Martínez-Bustos *et al.*, 2007). Probablemente el contenido de almidón dañado es el factor que determina las diferencias encontradas, en el poder de hinchamiento y en el índice de solubilidad. Estos gránulos se hidratan más fácilmente en comparación con los gránulos intactos, y su mayor área superficial relativa facilita la lixiviación de las moléculas durante el calentamiento (Hasjim *et al.*, 2012; Chen, Lu y Lii, 1999). Dicha observación es consistente con las correlaciones halladas en el

presente trabajo, entre las propiedades de hidratación y el contenido de almidón dañado (PH 55 °C–AD, $r = 0,93$; ISA 55 °C–AD, $r = 0,92$; ISA 65 °C–AD, $r = 0,97$; ISA 75 °C–AD, $r = 0,77$; ISA 85 °C–AD, $r = 0,92$; $p < 0,01$).

4.1.6.1. a. Efecto de las condiciones de molienda sobre el PH y el ISA

Se aplicó el método de superficie de respuesta (MSR), a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$), para cuantificar el efecto de la velocidad de rotación del molino planetario y del tiempo de molienda, sobre los valores del PH y del ISA. Los resultados de este análisis se visualizan en las tablas 4.10 y 4.11. El modelo polinómico propuesto (ec. 3.14) proporcionó un ajuste satisfactorio para el PH ($R^2 > 0,89$) y para el ISA ($R^2 > 0,87$), con excepción del PH determinado a 75 °C y 85 °C, los cuales no reflejaron el efecto de las condiciones de molienda, a causa de las transiciones que ocurren a esta temperatura, asociadas con la gelatinización del almidón y la formación de una pasta en el sistema estudiado. En concordancia, el coeficiente de determinación (R^2) del PH decreció al aproximarse al intervalo mencionado. Por este motivo, es conveniente seleccionar temperaturas alejadas del rango de transición, para determinar el PH y el ISA, cuando el propósito sea detectar la influencia de las condiciones de molienda, sobre las propiedades de hidratación de las harinas obtenidas en el MPB.

Tabla 4.10. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre el poder de hinchamiento (PH) de las harinas de arroz a diferentes temperaturas en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2).

Coeficiente		PH–55 °C (g/g b.s.)	PH–65 °C (g/g b.s.)	PH–75 °C (g/g b.s.)	PH–85 °C (g/g b.s.)	PH–95 °C (g/g b.s.)
Constante	a_0	4,305*	6,843	8,005	7,825	9,182
Lineal	a_1	0,456*	-0,054NS	0,099NS	-0,129NS	-0,019NS
	a_2	0,799*	0,632*	0,312*	-0,218*	0,588*
Cuadrático	a_{11}	---	-0,801*	-0,168NS	---	0,594*
	a_{22}	-0,287*	---	---	0,345*	-0,189NS
Interacción	a_{12}	0,097*	-0,217*	-0,334*	0,104NS	---
Correlación	r^2	0,9797	0,9305	0,7632	0,5391	0,8937

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

Tabla 4.11. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre el índice de solubilidad en agua (ISA) de las harinas de arroz a diferentes temperaturas en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2).

Coeficiente		ISA–55 °C (%)	ISA–65 °C (%)	ISA–75 °C (%)	ISA–85 °C (%)	ISA–95 °C (%)
Constante	a_0	1,998	2,458	2,985	4,117	10,447
Lineal	a_1	0,411*	0,525*	0,742*	0,457*	-2,781*
	a_2	0,641*	0,575*	0,319*	0,533*	-2,846*
Cuadrático	a_{11}	-0,082NS	---	0,546*	0,271*	2,674*
	a_{22}	---	-0,109NS	-0,158NS	-0,164NS	0,968NS
Interacción	a_{12}	0,312*	0,314*	0,104NS	0,265*	2,677*
Correlación	r^2	0,9183	0,9420	0,8721	0,9156	0,9096

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

La tabla 4.10 muestra que tanto a 55 °C y 65 °C como a 95 °C, la velocidad de rotación y el tiempo de molienda afectaron el PH, en cambio, el efecto de la interacción entre ambos factores fue significativo, solamente para el PH–55 °C y para el PH–65 °C, aunque en el primer caso de forma positiva y en el segundo de forma negativa. También el ISA (tabla 4.11) fue afectado por la velocidad de rotación y el tiempo de molienda; además, se pudo apreciar la interacción significativa (positiva) de las condiciones de molienda con la salvedad del ISA–75 °C, correspondiente a la región de transición.

La figura 4.22 muestra las superficies de respuesta predichas para el PH y el ISA, a 55 °C, 65 °C y 95 °C. A 55 °C existió tanto para el PH como para el ISA, un efecto positivo de la velocidad de rotación y del tiempo de molienda, a 65 °C se observó el mismo tipo de efecto sobre el ISA. Sin embargo, el PH–65 °C exhibió un efecto cuadrático de la velocidad y por ende, un valor máximo que no coincidió con la condición más severa de molienda (650 rpm – 40 min). A 95 °C las superficies del PH y del ISA presentaron cambios con mayor notoriedad, en particular la curvatura de la superficie de PH se invirtió (respecto del PH–65 °C), debido a que comparativamente aumenta mucho más el PH de la harina obtenida a 450 rpm y a 650 rpm. A su vez, la velocidad y el tiempo afectaron de forma negativa el ISA–95 °C, al contrario de lo sucedido a 55 °C y 65 °C. Estos cambios son atribuibles al nivel de gelatinización que se alcanza a 95 °C, y evidencian que aún las harinas gelatinizadas presentan propiedades de hidratación dependientes de las condiciones de molienda.

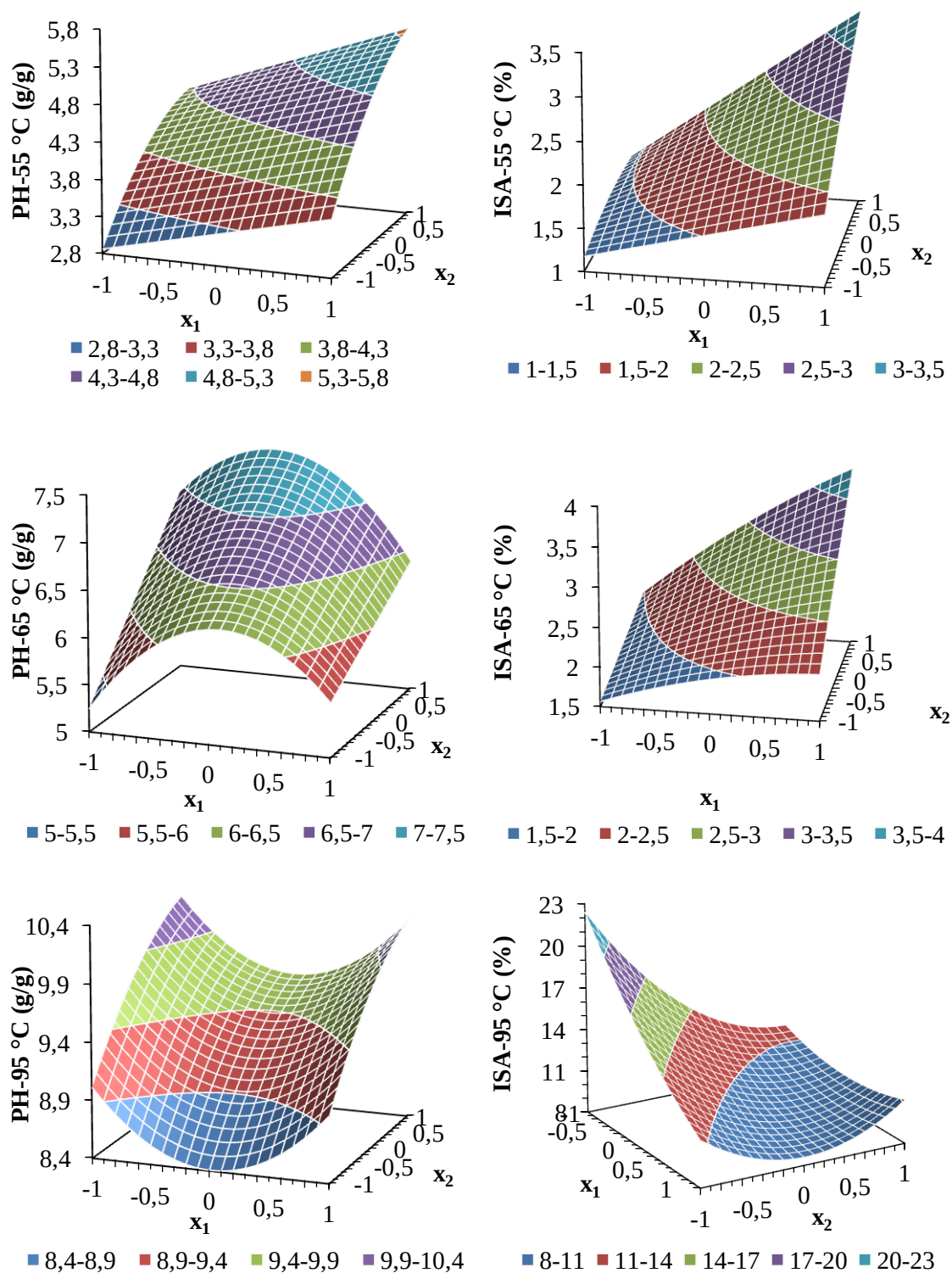


Figura 4.22. Superficies de respuesta del poder de hinchamiento (PH) y del índice de solubilidad en agua (ISA) a 55 °C, 65 °C y 95 °C; en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

Las tablas 4.12 y 4.13 muestran los resultados de la optimización basados en las superficies de respuesta, donde se visualizan los valores máximo y mínimo predichos del PH y del ISA, correspondientes al diseño experimental. A partir de estos resultados se infiere que la sensibilidad para detectar la influencia de las condiciones de molienda se vincula a la temperatura a la cual se realizan los ensayos.

Tabla 4.12. Valores máximos y mínimos predichos del poder de hinchamiento (PH) de las harinas de arroz a diferentes temperaturas en función de las condiciones de molienda seca en el MPB.

Poder de hinchamiento		PH (g/g, b.s.)	Velocidad (rpm)	Tiempo (min)
PH-55 °C	max	5,370	650	40
	min	2,861	450	10
PH-65 °C	max	7,498	533	40
	min	5,246	450	10
PH-75 °C	max	8,400	480	40
	min	7,093	450	10
PH-95 °C	max	10,194	450	40
	min	8,405	552	10

Tabla 4.13. Valores máximos y mínimos predichos del índice de solubilidad en agua (ISA) de las harinas de arroz a diferentes temperaturas en función de las condiciones de molienda seca en el MPB.

Índice de solubilidad en agua		ISA (%)	Velocidad (rpm)	Tiempo (min)
ISA-55 °C	max	3,280	650	40
	min	1,176	450	10
ISA-65 °C	max	3,763	650	40
	min	1,563	450	10
ISA-75 °C	max	4,538	650	40
	min	2,321	491	10
ISA-85 °C	máx	5,479	650	40
	min	3,385	515	10
ISA-95 °C	max	22,392	450	10
	min	8,567	552	40

A 75 °C y 85 °C fue imposible detectar el efecto de las condiciones de molienda, la sensibilidad, en términos de la diferencia relativa entre los valores máximo y mínimo, fue solamente del 15 %. A 95 °C se perdió la distinción de algunos efectos, al determinar el PH; y el ISA evidenció un comportamiento atípico, con el mayor valor de solubilidad para la harina con menor tratamiento (450 rpm – 10 min) y el menor valor para una condición severa de proceso (552 rpm – 40 min). En contraste, 55 °C y 65 °C proporcionaron una detección confiable del efecto de las condiciones de molienda, con una sensibilidad del 47 % y del 30 % respectivamente. Por lo tanto, estas temperaturas pueden ser consideradas como las más convenientes para caracterizar las harinas de arroz obtenidas en MPB.

4.1.6.1. b. Relación entre el PH y el ISA

La figura 4.23 sugiere una relación no lineal entre el ISA y el PH, encontrándose un ajuste ($R^2 = 0,761$; $p < 0,01$) a un modelo de regresión inversa (ec. 4.12). Durante la elevación de la temperatura, entre 55 °C y 85 °C, se observó una dependencia positiva entre estas propiedades funcionales de las harinas de arroz obtenidas en el MPB. La lixiviación de los sólidos no redujo la capacidad de retención de agua de las moléculas de almidón. Cuando la temperatura alcanzó los 95 °C ($ISA \geq 8,61$ %), la función adquirió un comportamiento asintótico. Al superar la temperatura de gelatinización, los gránulos ya no pueden incrementar su volumen, en cambio, la velocidad de dispersión de los componentes se intensifica. Otros investigadores informaron la existencia de una relación positiva entre el índice de solubilidad en agua y el poder de hinchamiento, para almidón de amaranto ($R^2 = 0,63$) y para almidones de diversas fuentes botánicas ($R^2 = 0,80$) (Kong, Bao y Corke, 2009; Li y Yeh, 2001).

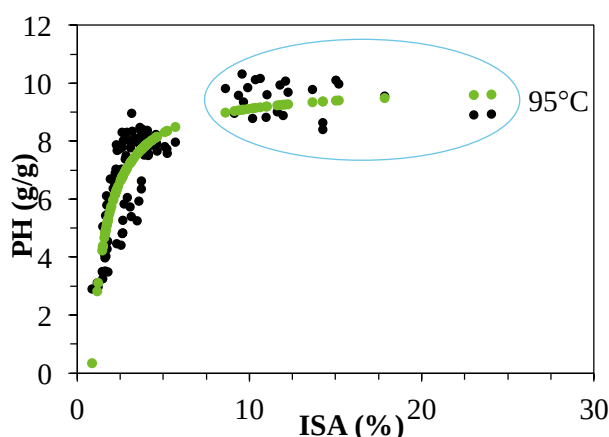


Figura 4.23. Relación entre el índice de solubilidad en agua (ISA) y el poder de hinchamiento (PH) (valor experimental, ●; valor predicho, ●) de las harinas obtenidas por molienda seca en el MPB.

$$PH = 9,9602 - \frac{8,3719}{ISA} \quad (4.12)$$

4.1.6.2. Índice de absorción de agua

La capacidad de absorción de agua de las harinas a temperatura ambiente, influye directamente en el proceso de elaboración de los alimentos, ya que dependiendo de esta propiedad, las harinas pueden proporcionar consistencia, adhesión y viscosidad en productos cárnicos, masa y salsas, entre otros (McWatters, 1983).

Con el propósito de evaluar las propiedades de hidratación en frío, se determinó a 30 °C el índice de absorción en agua (IAA) de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB, como se muestra en la figura 4.24.

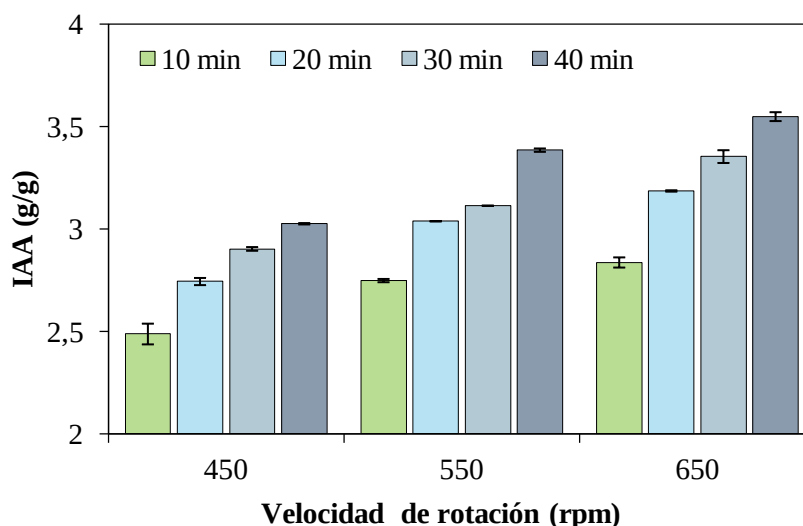


Figura 4.24. Índice de absorción de agua (IAA) de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB.

El IAA de las harinas varió entre $2,49 \pm 0,05$ g/g, b.s. (450 rpm – 10 min) y $3,55 \pm 0,02$ g/g, b.s. (650 rpm – 40 min); estos valores resultaron mayores que el correspondiente al control ($2,33 \pm 0,04$ g/g, b.s.) y considerablemente inferiores al de la harina amorfa ($5,76 \pm 0,01$ g/g, b.s.).

Chiang y Yeh (2002) informaron valores de IAA desde 2,1 g/g (b.s.) a 2,9 g/g (b.s.) para harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda, en un molino de piedra tradicional, como se esperaba, fueron menores a los conseguidos en el presente estudio debido a la protección que ejerce el agua frente al daño termomecánico (Yeh, 2004).

El efecto de las condiciones de molienda (rpm – min) sobre el IAA se resume en la tabla 4.14. El análisis se realizó aplicando el método de superficie de respuesta, a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$), obteniendo un ajuste satisfactorios ($R^2 = 0,98$) a través de la ecuación 3.14.

Tabla 4.14. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre el índice de absorción de agua (IAA) de las harinas de arroz en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2).

Coeficientes		IAA (g/g b.s.)
Constante	a_0	3,10
Lineal	a_1	0,22*
	a_2	0,30*
Cuadrático	a_{11}	0,06*
	a_{22}	0,06*
Interacción	a_{12}	0,04*
Correlación	r^2	0,9822

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo.

La velocidad de rotación del molino, el tiempo de molienda y la interacción entre estos factores, afectaron significativamente el índice de absorción de agua, el cual se incrementó con tiempos prolongados y mayores velocidades (figura 4.25).

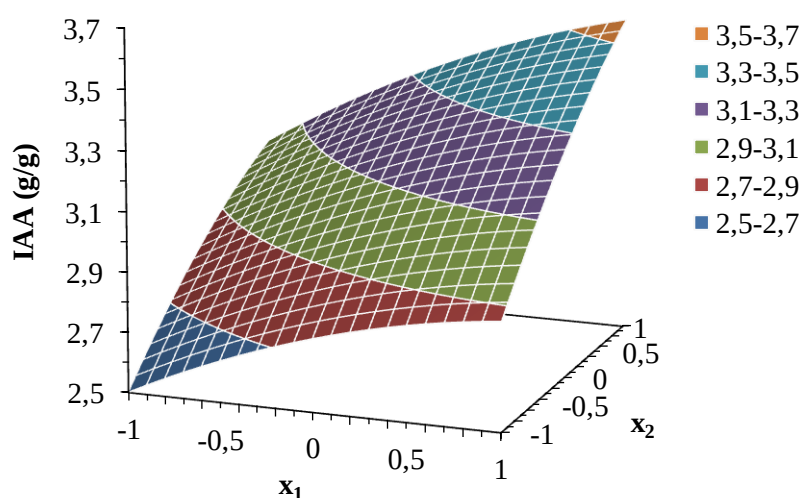


Figura 4.25. Superficies de respuesta del índice de absorción de agua (IAA) en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

El arroz, tras ser sometido a un proceso de molienda de alta energía, presenta mayor capacidad de hidratación en agua, la que podría señalar la degradación de la estructura molecular del almidón, principal constituyente de la harina de arroz (Tran *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2010). Por consiguiente, la absorción de agua puede ser utilizada como un indicativo del grado de modificación de las harinas, por tratamientos termomecánicos.

El índice de absorción de agua fue significativamente ($p < 0,01$) afectado por el tamaño de partícula de la harina, incrementándose con la disminución de la mediana en volumen (IAA–Dv50, $r = -0,94$). Además se obtuvo una correlación significativa ($p < 0,01$) y positiva entre el índice de absorción de agua y el contenido de almidón dañado (IAA–AD, $r = 0,96$). En la figura 4.26, se representa la relación lineal hallada entre el índice de absorción de agua y el contenido de almidón dañado. Farrand (1972) sugirió que los granos de almidón no dañados absorben sólo el 30 % de agua y, en contraste el almidón dañado absorbe una cantidad de agua equivalente a su propio peso, a 30 °C.

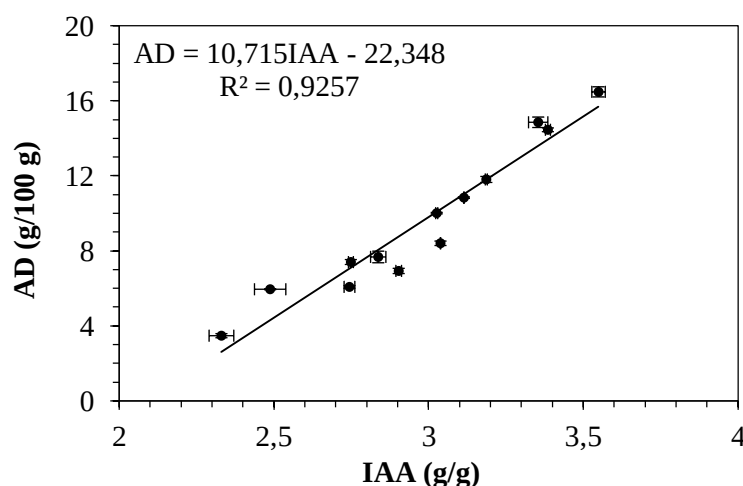


Figura 4.26. Relación entre el índice de absorción de agua (IAA) y el contenido de almidón dañado (AD).

Estos resultados fueron los esperados, considerando que una mayor área superficial específica (AE), vinculada a las partículas finas, está expuesta a las moléculas de agua induciendo su retención (IAA–AE, $r = 0,97$; $p < 0,01$; figura 4.27).

De la Hera, Gomez y Rosell (2013) encontraron una relación similar entre el tamaño de partícula y las propiedades de hidratación de la harina de arroz, aunque no pudieron observar una correlación con el contenido de almidón dañado, dado que no tuvieron cambios notorios en el contenido de AD, a causa de las suaves condiciones de molienda

que implementaron. Por su parte, Chiang y Yeh (2002) hallaron una relación no lineal entre el IAA y el contenido de AD, en harina de arroz obtenida molienda húmeda.

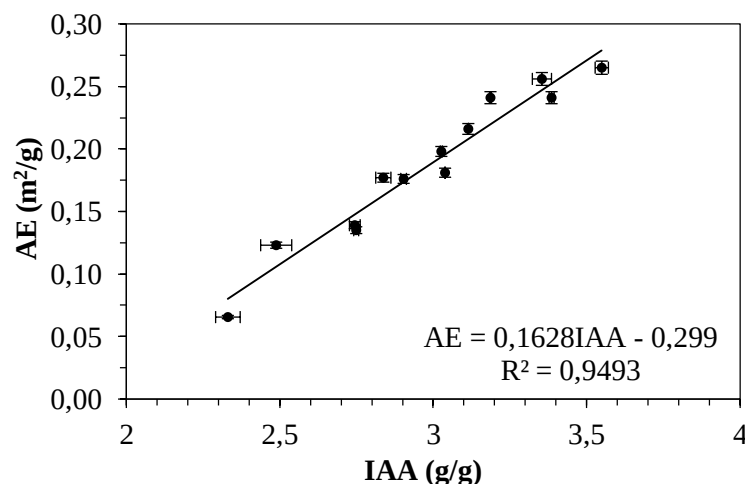


Figura 4.27. Relación entre el índice de absorción de agua (IAA) y área superficial específica de partícula (AE).

4.1.7. Propiedades térmicas

Los alimentos elaborados con harina, sometidos a la acción del calor, experimentan cambios físicos y químicos que dependen de la cantidad de agua presente, la temperatura y la razón de flujo calorífico que se les suministra. Estos cambios influyen de manera considerable en la calidad del producto final, por ejemplo en la fabricación de pan, tortillas y pastas.

La fase inicial del proceso de gelatinización del almidón (componente mayoritario de la harina) y el rango durante el cual se lleva a cabo, es gobernada principalmente por la concentración del almidón en la solución, la relación amilosa/amilopectina, la distribución de las cadenas y la fuente botánica (López *et al.*, 2010).

Con el fin de identificar los cambios en las propiedades térmicas de la harina de arroz, como consecuencia de la molienda de alto impacto, se analizaron los parámetros de la transición de la gelatinización del almidón por calorimetría diferencial de barrido (DSC), determinándose la entalpía (ΔH), las temperaturas (T_o , inicio; T_p , pico; y T_e , finalización) y el grado de gelatinización (GG).

Las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB y la harina control, exhibieron termogramas con una sola transición endotérmica, entre 30 °C y 90 °C, típica del proceso de gelatinización de suspensiones con elevado contenido de agua. En contraste, la harina amorfa no presentó ningún pico en el rango de temperatura estudiado (figura 4.28). De

manera similar, Huang y colaboradores (2008) informaron la desaparición del pico endotérmico correspondiente a esta transición, en almidones de maíz y mandioca procesados al menos dos horas en un molino de bolas.

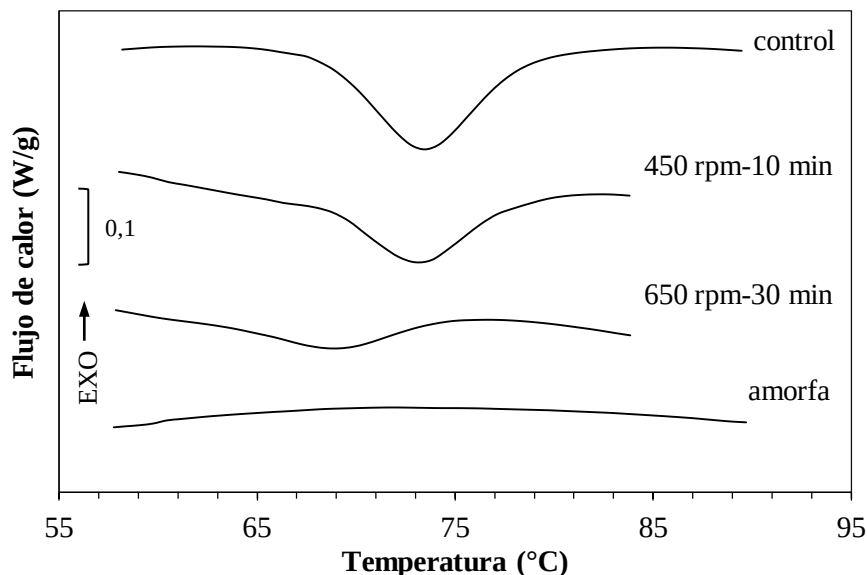


Figura 4.28. Termograma de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB y de las harinas de referencia.

La tabla 4.15 muestra los parámetros térmicos determinados por DSC de las harinas de arroz. Los valores de entalpía y de temperatura de gelatinización de las harinas obtenidas en el molino planetario, resultaron significativamente ($p < 0,05$) inferiores al control, dado el efecto de la molienda sobre los componentes del arroz.

La disminución de los valores de las temperaturas y de la entalpía de gelatinización, observada después de la molienda en condiciones severas, ha sido asociada a la pérdida de la cristalinidad (orden en la región cristalina) y del contenido de las dobles hélices, debido a la incipiente despolimerización de la amilosa y a la rotura de la amilopectina en los gránulos de almidón (Martínez-Bustos, 2007).

Otros investigadores encontraron una disminución de los parámetros térmicos del almidón de arroz y del almidón de mandioca, al incrementar el tiempo y la velocidad de la molienda de alto impacto (Han, Chang, y Kim, 2007; Huang, *et al.*, 2007). Han y colaboradores (2007) informaron una reducción muy significativa en la entalpía de gelatinización (desde 14 J/g, b.s. hasta 0,13 J/g, b.s.) y en la temperatura de pico (desde 75,14 °C hasta 63,88

°C), después de procesar durante 30 minutos almidón de arroz en un molino planetario a 300 rpm.

Tabla 4.15. Parámetros térmicos de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca.

Muestra (rpm-min)	T _o (°C)	T _p (°C)	T _e (°C)	ΔH (J/g, b.s.)	GG (%)
450-10	67,81 ± 0,3 ^{f,g}	72,99 ± 0,5 ^{e,f}	78,13 ± 0,2 ^f	4,67 ± 0,2 ^f	31,5
450-20	67,95 ± 0,1 ^g	73,62 ± 0,2 ^f	78,7 ± 0,3 ^{g,h}	3,21 ± 0,4 ^{b,d}	52,8
450-30	67,52 ± 0,3 ^f	72,43 ± 0,5 ^e	77,90 ± 0,5 ^{e,f}	3,24 ± 0,2 ^d	52,5
450-40	67,81 ± 0,2 ^{f,g}	71,50 ± 0,1 ^d	76,66 ± 0,2 ^d	2,23 ± 0,4 ^{c,d}	67,3
550-10	65,23 ± 0,1 ^d	72,87 ± 0,1 ^e	77,99 ± 0,1 ^f	3,67 ± 0,1 ^{d,e}	46,2
550-20	64,34 ± 0,7 ^c	71,45 ± 0,3 ^d	76,94 ± 0,1 ^d	2,58 ± 0,3 ^d	62,1
550-30	62,58 ± 0,4 ^{a,b}	70,51 ± 0,4 ^c	75,54 ± 0,4 ^c	1,91 ± 0,2 ^{b,c}	72,0
550-40	63,07 ± 0,1 ^b	69,36 ± 0,3 ^b	74,08 ± 0,8 ^{a,b}	1,48 ± 0,3 ^b	78,3
650-10	66,55 ± 0,4 ^e	72,73 ± 0,4 ^e	77,74 ± 0,2 ^{e,f}	3,06 ± 0,2 ^{b,d}	55,1
650-20	65,1 ± 0,2 ^{c,d}	70,89 ± 0,1 ^c	76,89 ± 0,7 ^{d,e}	0,92 ± 0,1 ^a	86,4
650-30	62,66 ± 0,5 ^{a,b}	68,98 ± 0,5 ^{a,b}	75,39 ± 0,6 ^{b,c}	0,74 ± 0,2 ^a	89,1
650-40	62,06 ± 0,7 ^a	68,57 ± 0,3 ^a	72,83 ± 0,6 ^a	0,71 ± 0,1 ^a	89,6
amorfa	-	-	-	-	100,0
control	68,52 ± 0,5 ^{g,h}	73,80 ± 0,5 ^f	79,07 ± 0,3 ^h	6,82 ± 0,2 ^g	0,0

T_o, T_p, T_e: temperaturas de inicio, pico y finalización de la gelatinización, ΔH: entalpía de gelatinización, GG: grado de gelatinización. -: no detectado. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente (p<0,05).

Se debe notar, que utilizando otros métodos físicos para la modificación de las harinas se encontraron resultados que difieren de los hallados en esta tesis. El procesamiento hidrotérmico de las harinas produce el efecto de *annealing* característico, con atraso de la gelatinización, como ha sido señalado en la bibliografía (Lai, 2001), lo que es contrario al adelanto de la gelatinización observado en este trabajo.

Por otra parte, el proceso de extrusión siempre causa la gelatinización completa del almidón (Hagenimana, Ding, y Fang, 2006; Menegassi, Pilosof y Arêas, 2011), en cambio, la molienda de alto impacto requiere tiempos prolongados en combinación con velocidades de rotación elevadas, para lograr la gelatinización completa.

Para evaluar cuantitativamente el efecto de las condiciones de molienda sobre los parámetros térmicos, se realizó el análisis de superficies de respuesta (MSR), cuyos resultados se resumen en la tabla 4.16.

Tabla 4.16. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre los parámetros térmicos de las harinas de arroz en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2).

Coeficientes		T_o (°C)	T_p (°C)	T_e (°C)	ΔH (J/g, b.s.)
Constante	a_o	63,81	71,05	76,55	2,03
Lineal	a_1	-1,84*	-1,17*	-1,07*	-0,99*
	a_2	-1,23*	-1,58*	-1,73*	-1,09*
Cuadrático	a_{11}	2,13*	0,42NS	0,64*	---
	a_{22}	---	---	-0,74*	0,60*
Interacción	a_{12}	-1,16*	-0,62*	-0,83*	---
Correlación	r^2	0,9512	0,9501	0,9842	0,9484

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---, coeficiente eliminado. Temperaturas de gelatinización: T_o , T_p , T_e , inicio, pico y finalización respectivamente. ΔH : entalpía de gelatinización.

La ecuación 3.14 proporcionó un buen ajuste de los datos experimentales ($R^2 > 0,95$) a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$); y la velocidad y el tiempo de molienda tuvieron un efecto negativo muy significativo sobre las temperaturas y la entalpía de gelatinización. El efecto de la interacción entre los factores fue solamente significativo para las temperaturas de gelatinización. La influencia del tiempo de molienda en la temperatura de pico resultó más notoria a 650 rpm, mientras que el efecto de la velocidad de rotación fue más evidente a los 40 minutos de molienda (figura 4.29).

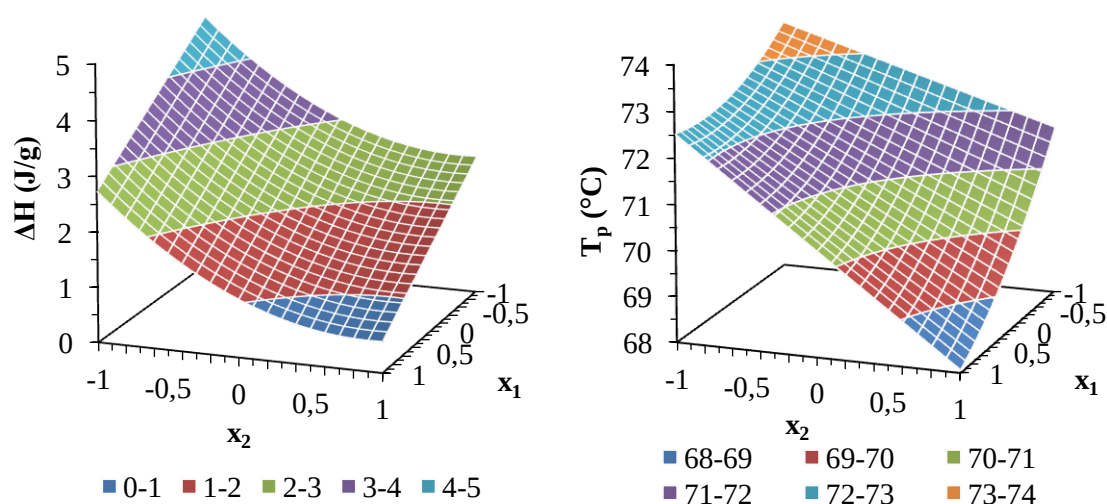


Figura 4.29. Superficies de respuesta de la entalpía (ΔH) de gelatinización y de la temperatura de pico (T_p) de gelatinización en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

Los valores del grado de gelatinización (GG) determinados mediante la ecuación 3.11, variaron entre 31,5 % y 89,6 %, al cambiar las condiciones de molienda desde 450 rpm – 10 min hasta 650 rpm – 40 min. El alto nivel de gelatinización detectado por DSC reflejaría el daño de los gránulos de almidón, cuya estructura cristalina se ve afectada a causa de la energía involucrada durante la molienda, para lograr la reducción del tamaño de partícula de los granos de arroz (Chen, Lii y Lu, 2003; Dhital *et al.*, 2011; Morrison, Tester y Gidley, 1994). A su vez, los gránulos de almidón dañado, que en general se encuentran en la superficie de la partícula de harina, la que entra en contacto con la fuerza de molienda, disminuyen la barrera física para la transferencia de calor y facilitan la penetración/difusión del agua (Marshall, 1992; Tran *et al.*, 2011; Karlsson y Eliasson, 2003). Esta hipótesis es coherente con el adelanto observado en las temperaturas de gelatinización, como consecuencia del procesamiento de arroz en el molino planetario, realizado en el presente trabajo.

En ese sentido y con el propósito de explicar el efecto de las condiciones de molienda sobre las propiedades térmicas de las harinas, se hallaron correlaciones del grado de gelatinización, la entalpía de gelatinización y la temperatura de pico; con la mediana correspondiente a la distribución de tamaño de partícula en volumen y con el contenido de almidón dañado (GG–AD, $r = 0,90$; GG–Dv50, $r = -0,95$; ΔH –AD, $r = -0,90$; ΔH –Dv50, $r = 0,95$; T_p –AD, $r = -0,98$; T_p –Dv50, $r = 0,84$; $p < 0,01$). De igual forma, Hasjima, Li, y Dhital (2013) informaron relaciones similares en harinas de arroz obtenidas en un molino de martillos. En particular la figura 4.30, muestra la relación entre la entalpía y el tamaño de partícula, y la figura 4.31 entre la temperatura de pico y el contenido de almidón dañado. El carácter lineal de las relaciones ilustradas, confirma que las propiedades térmicas analizadas, dependen fundamentalmente del tamaño de partícula y del nivel de daño en la estructura granular y molecular del almidón, biopolímero que juega un rol esencial en la determinación las características funcionales de la harina.

Asimismo, como es sabido, las harinas pregelatinizadas presentan mayor capacidad de absorción de agua (Lai, 2001), lo que las vuelve un ingrediente adecuado para la elaboración de sopas y productos instantáneos. Esta mayor absorción de agua conforme disminuye la entalpía de gelatinización o aumenta el grado de gelatinización, pudo observarse mediante las correlaciones encontradas, entre los parámetros térmicos mencionados y el índice de absorción de agua, determinado en la sección 4.1.6.2 (GG–IAA, $r = 0,94$; ΔH –IAA, $r = -0,94$; $p < 0,01$). El carácter lineal de estas relaciones (p.

ej. figura 4.32), señala la equivalencia y la aptitud de ambas propiedades, para el seguimiento de los cambios asociados a la molienda de alto impacto.

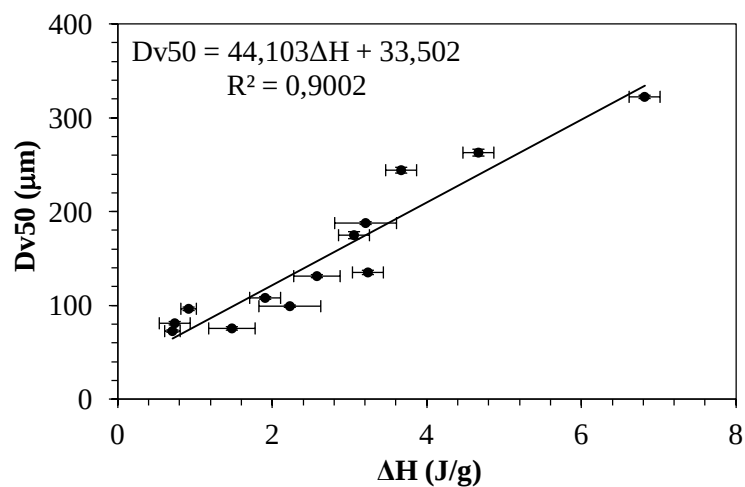


Figura 4.30. Relación entre la entalpía de gelatinización (ΔH) y la mediana correspondiente a la distribución de tamaño de partícula en volumen ($Dv50$).

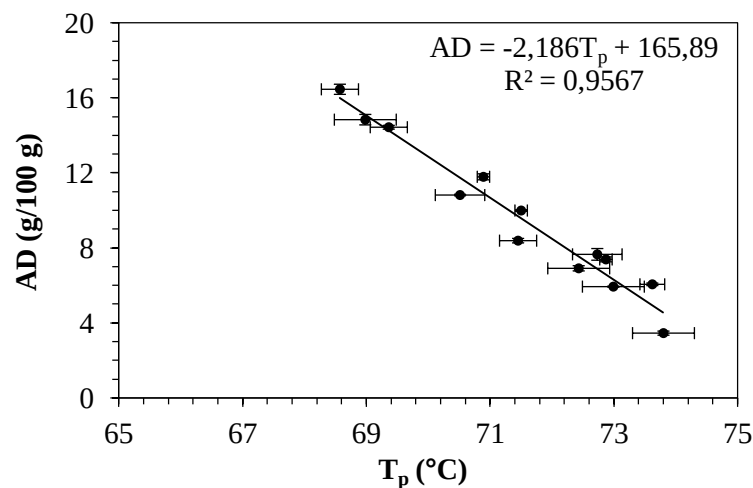


Figura 4.31. Relación entre la temperatura pico de gelatinización (T_p) y el contenido de (AD).

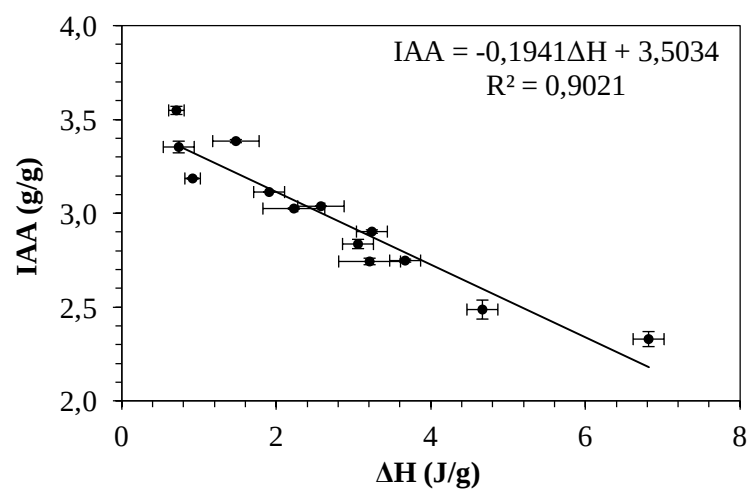


Figura 4.32. Relación entre la entalpía de gelatinización (ΔH) y el índice de absorción de agua (IAA).

4.1.8. Grado de cristalinidad

Los almidones son materiales semicristalinos que tienen la capacidad de difractar los rayos X, permitiendo así obtener información de su estructura (Bello-Pérez *et al.*, 2002). De este modo los difractogramas presentan dos regiones: una amorfa, con mayor proporción de amilosa; y otra cristalina, con mayor proporción de amilopectina (Greenwood, 1976). En general pueden observarse cuatro patrones diferentes dependiendo de la fuente botánica (figura 4.33). El patrón A pertenece al almidón de los cereales (trigo, maíz y arroz), el B es característico del almidón de tubérculos, el C intermedio entre A y B está presente en el almidón de ciertas raíces y semillas, y el V se asocia a un complejo de inclusión (o clatrato) helicoidal de la amilosa cristalina (Zobel, 1988).

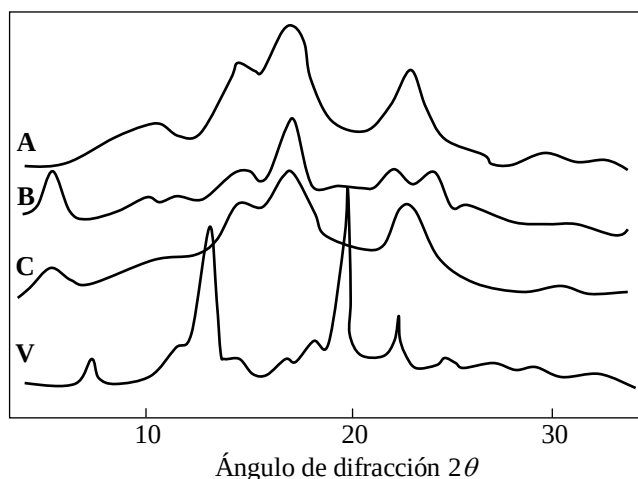


Figura 4.33. Espectros de difracción de rayos X de almidones de diferente origen botánico. Fuente: Rodríguez, San Martín y González de la Cruz (2001).

La figura 4.34 muestra el resultado del análisis de difracción de rayos X de las harinas de referencia y la figura 4.35 de las harinas de los extremos experimentales, obtenidas en el MPB. Los difractogramas exhibieron un patrón tipo A con intensos picos de difracción en 2θ a 15° y 23° , además de un doblete no resuelto a 17° y 18° , que son característicos del almidón de arroz (Shih *et al.*, 2007; Zhang, Zhao y Xiong, 2010). La harina control presentó un grado de cristalinidad (GC) dentro del intervalo informado en bibliografía para el almidón de arroz, que oscila de 29,2 % a 39,3 % (Bao y Bergman, 2004).

Se constató la pérdida completa de cristalinidad de la muestra denominada *amorfa*, si bien presentó un GC de 1,7 %, este se halló dentro del error experimental, que fue de 4,6 % determinado a partir de la réplica de la muestra control.

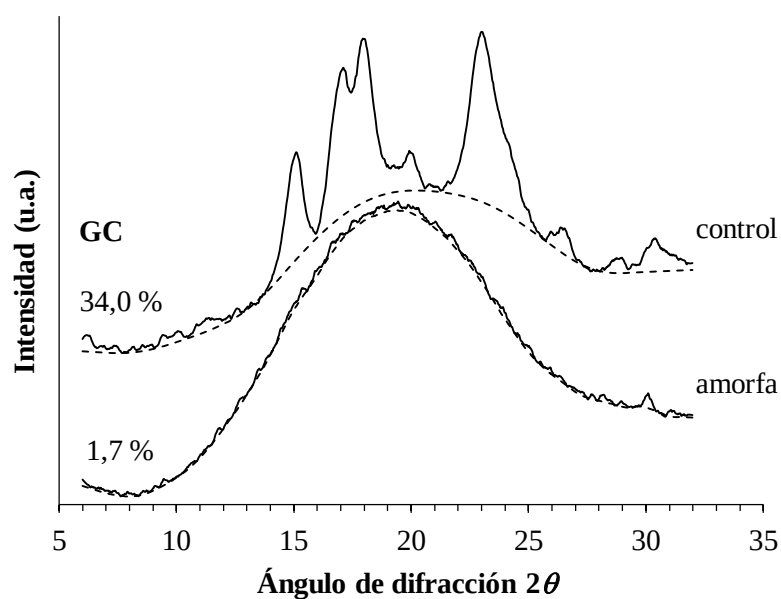


Figura 4.34. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad de las harinas de referencia.

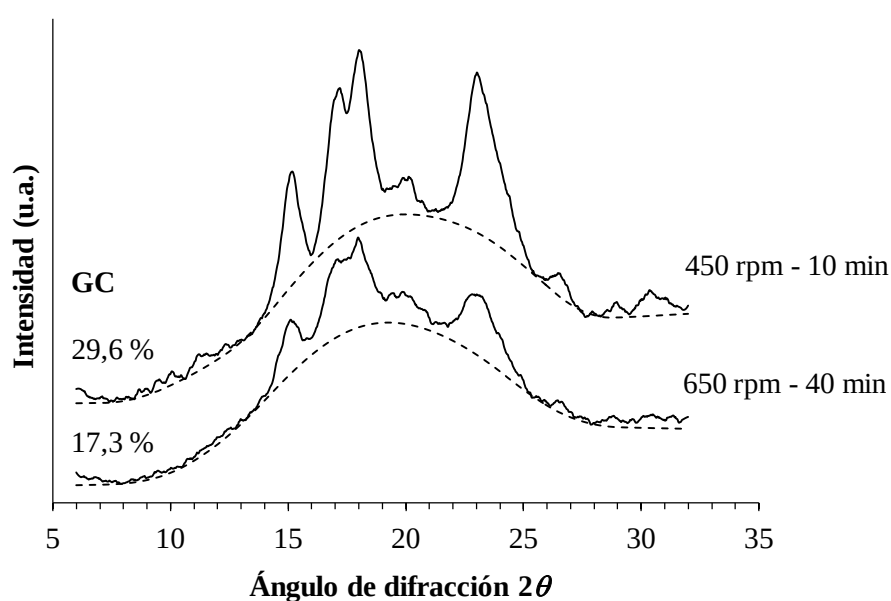


Figura 4.35. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad de las harinas (extremos experimentales) obtenidas por molienda seca en el MPB.

La pérdida de resolución en el pico (ensanchamiento y reducción de la altitud) refleja la pérdida de cristalinidad y el incremento en el componente amorfo de la estructura (Zobel, 1988). Han, Chang y Kim (2007) investigando la modificación física del almidón de arroz en un molino planetario de alto impacto, a 300 rpm durante 30 minutos, encontraron la amorfización completa del material. Probablemente el mayor tamaño de partícula inicial y

las pausas empleadas en el presente trabajo, permitieron que en la condición más severa del diseño experimental (650 rpm – 40 min) se conservara un 50,8 % de cristalinidad, en relación con la muestra control, y fue necesario dos horas para alcanzar la pérdida total de cristalinidad.

Los espectros de difracción de rayos X representados en la figura 4.36, corresponden a las muestras de harina obtenidas por molienda seca en el MPB a 650 rpm, en función del tiempo de molienda. Como se observa, los picos de difracción disminuyeron gradualmente a medida que avanzó la molienda, es decir, que la proporción de la región cristalina decreció a expensas del incremento de la región amorfa. La reducción del GC también se manifestó a 450 rpm (29,6 – 25,0 %) y a 550 rpm (30,0 – 21,4 %), entre 10 – 40 minutos.

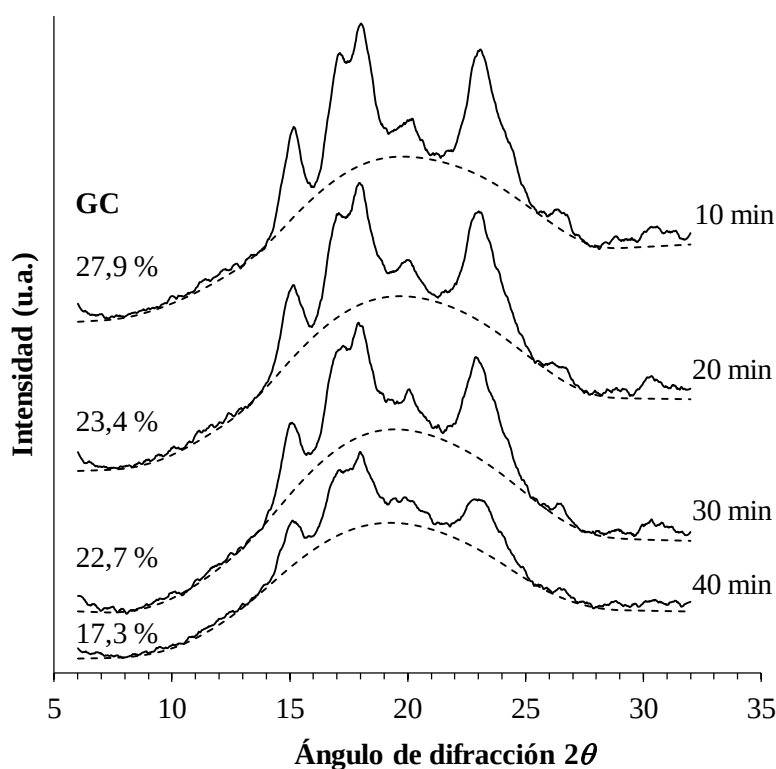


Figura 4.36. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad de las harinas obtenidas por molienda seca en el MPB a 650 rpm.

Esta pérdida progresiva de la cristalinidad de los gránulos de almidón, con el aumento del tiempo de molienda en un molino planetario de bolas, también fue observada por otros investigadores (Liu *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2010). Es posible que la elevada intensidad de las fuerzas que actúan en el proceso de molienda en seco y el aumento de la temperatura, producto de la conducción o disipación de la energía mecánica (Martínez-

Bustos *et al.*, 2007), provoquen el daño físico de la amilopectina, que conduce a la degradación del almidón en fragmentos de bajo peso molecular debido a la interrupción de los enlaces glicosídicos, y a la segmentación de las uniones disulfuro de las proteínas del grano (Prasad, Singh y Anil, 2012).

Las correlación significativas ($p < 0,01$) y negativas halladas entre el grado de cristalinidad relativo ($GCR = GC/GC_{control}$) y la energía específica de molienda ($GCR-E$, $r = -0,95$), así como la determinada entre el grado de cristalinidad y el contenido de almidón dañado ($GC-AD$, $r = -0,96$), parecen confirmar lo expuesto. En la figura 4.37 se representa la dependencia del GCR con la energía específica de molienda, y en la figura 4.38 la relación lineal encontrada entre el GC y el contenido de almidón dañado.

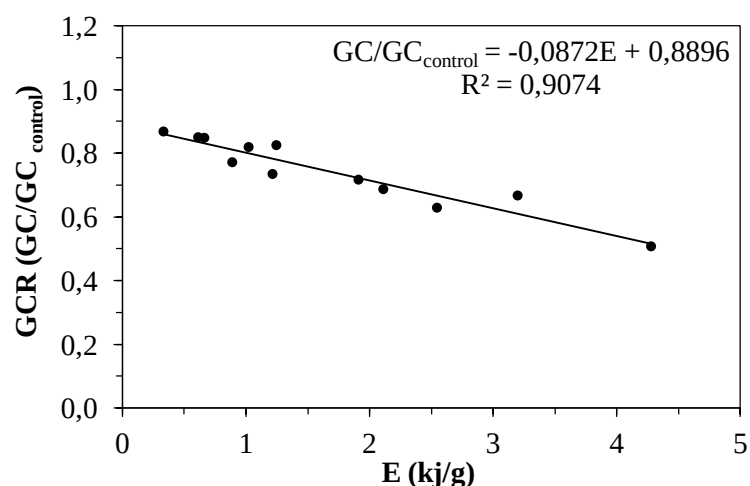


Figura 4.37. Relación entre la energía específica de molienda (E) y el grado de cristalinidad relativo (GCR).

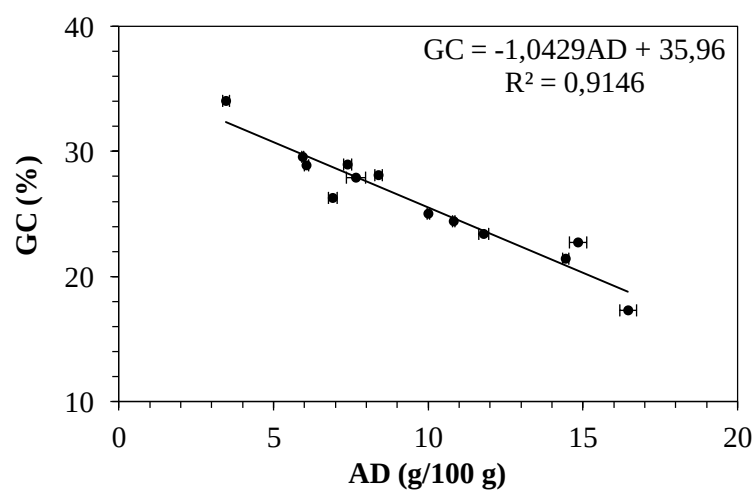


Figura 4.38. Relación entre el contenido de almidón dañado (AD) y el grado de cristalinidad (GC).

De esa forma, la capacidad de los molinos de alto impacto para convertir el almidón a un estado amorfo es mayor que la observada a través de otros tratamientos como el hidrotérmico (Takahashi *et al.*, 2005), la irradiación gamma (Bao, Ao y Jane, 2005), las microondas (Lewandowicz, Jankowski y Fornal, 2000) y el ultrasonido (Zhu, 2015). Cabe señalar que en este trabajo la pérdida del grado de cristalinidad con relación al control fue de 13,2 – 49,2 % de acuerdo a las condiciones de la molienda del diseño experimental.

Además, el grado de modificación de las harinas puede ser detectado como un evento endotérmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC), encontrándose una correlación significativa ($p < 0,01$) y positiva entre el GC y la entalpía de gelatinización del almidón ($GC-\Delta H$, $r = 0,91$).

El efecto de las condiciones de molienda sobre el GC fue estimado mediante MSR a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$). El modelo matemático empleado (ec. 3.14) ajustó satisfactoriamente los datos experimentales ($R^2 = 0,96$). El análisis mostró un efecto lineal y negativo de la velocidad de rotación y del tiempo de molienda sobre el GC (tabla 4.17). Respecto a la interacción se encontró, que es más notoria la pérdida de cristalinidad cuando se incrementa la velocidad de rotación de la jarra, a tiempos prolongados de molienda (figura 4.39).

Tabla 4.17. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre el grado de cristalinidad (GC) de las harinas de arroz en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2)

Coeficientes		GC (%)
Constante	a_0	26,1
Lineal	a_1	-2,3*
	a_2	-3,8*
Cuadrático	a_{11}	-0,6NS
	a_{22}	-0,7NS
Interacción	a_{12}	-1,2*
Correlación	r^2	0,9648

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo.

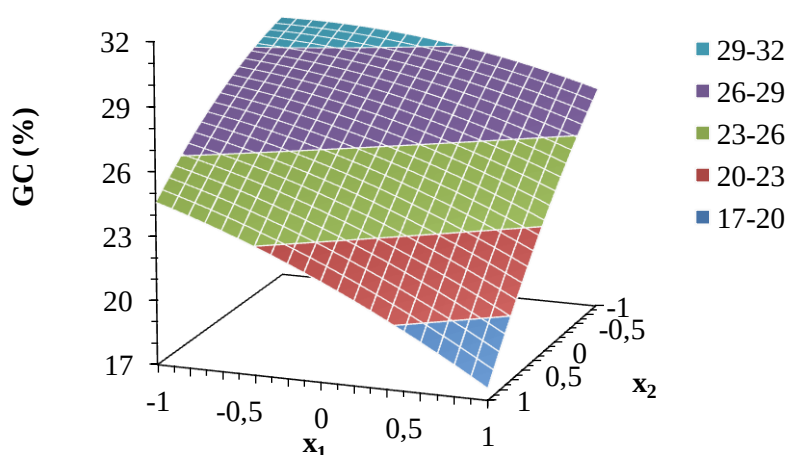


Figura 4.39. Superficies de respuesta del grado de cristalinidad (GC) en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

4.1.9. Relación entre la energía disipada y las propiedades de las harinas

Para evaluar la relación entre la energía disipada, determinada en la sección 4.1.4.3, y las propiedades funcionales características de las harinas modificadas por molienda en el molino planetario, se realizó el análisis de correlación, mediante la matriz de Pearson. Se encontraron las siguientes correlaciones significativas: $Ed-AD$ ($r = 0,93$, $p < 0,01$); $Ed-GC$ ($r = 0,89$, $p < 0,01$); $Ed-GG$ ($r = 0,83$, $p < 0,01$). En el caso particular del contenido de almidón dañado, la relación lineal existente se visualiza en la figura 4.40.

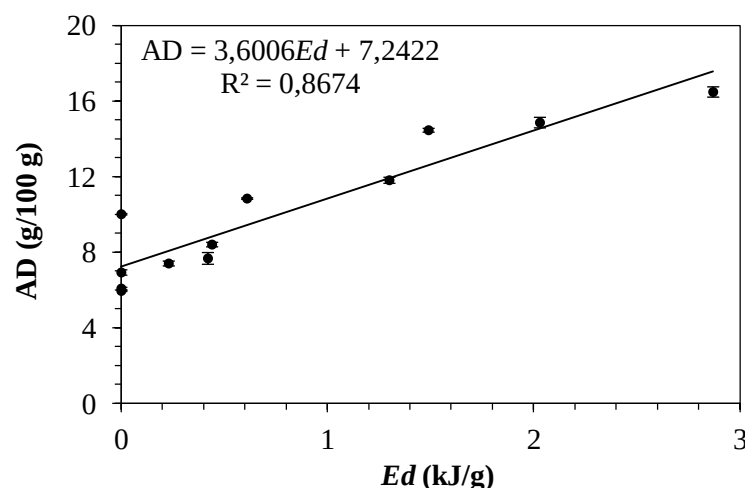


Figura 4.40. Relación entre la energía disipada (Ed) y el contenido de almidón dañado (AD)

Estos resultados corroboran la asociación entre la disipación térmica y las modificaciones observadas en las harinas, las cuales están vinculadas con cambios estructurales en el

almidón, que pudieron detectarse por el incremento del contenido de almidón dañado, la pérdida de cristalinidad y la reducción de la entalpía de gelatinización.

4.1.10. Microscopía electrónica de barrido

En la figura 4.41 se observa la microestructura de las harinas de referencia y de las harinas de los extremos del diseño experimental. La harina control está constituida por gránulos de almidón compuestos poligonales (y por lo tanto con elevada esfericidad), unidos mediante una estructura proteica de forma compacta, al igual que la harina obtenida en el molino planetario a una velocidad de rotación de 450 rpm y 10 minutos de molienda, aunque esta última reveló una mayor cantidad de partículas de menor tamaño. Con la intensificación del proceso de molienda en seco, se visualizaron partículas planas (650 rpm – 40 min), y se encontraron al cabo de dos horas de molienda a 650 rpm (muestra amorfa), partículas aplastadas formando escamas con la fusión de algunos gránulos, lo que confirma el incremento del tamaño de partícula hallado por dispersión estática de luz, con una pérdida notoria de esfericidad y una superficie rugosa con mayor cantidad de fisuras. Otros autores informaron este fenómeno en almidón de arroz (Chen *et al.*, 2003) y de maíz (He *et al.*, 2014), luego de 60 minutos y cinco horas de procesamiento respectivamente, en un molino de alta energía, aunque no detectaron la deformación de los gránulos, seguramente por las condiciones menos enérgicas que emplearon, o por la implementación de un sistema de refrigeración con R22, que redujo las temperaturas alcanzadas durante la molienda. Al contrario, Tran y colaboradores (2011) observaron en harina de arroz obtenida en un molino de martillos el aplanamiento de las partículas, si bien, no divisaron el aumento de tamaño.

Este cambio estructural con el incremento del tiempo de molienda, sugiere que los enlaces glicosídicos se rompieron y crecieron los grupos hidroxilos libres, durante la molienda en el MPB, lo que permitió la formación de nuevos enlaces de hidrógeno entre los fragmentos de gránulos amorfos (Chen *et al.*, 2003).

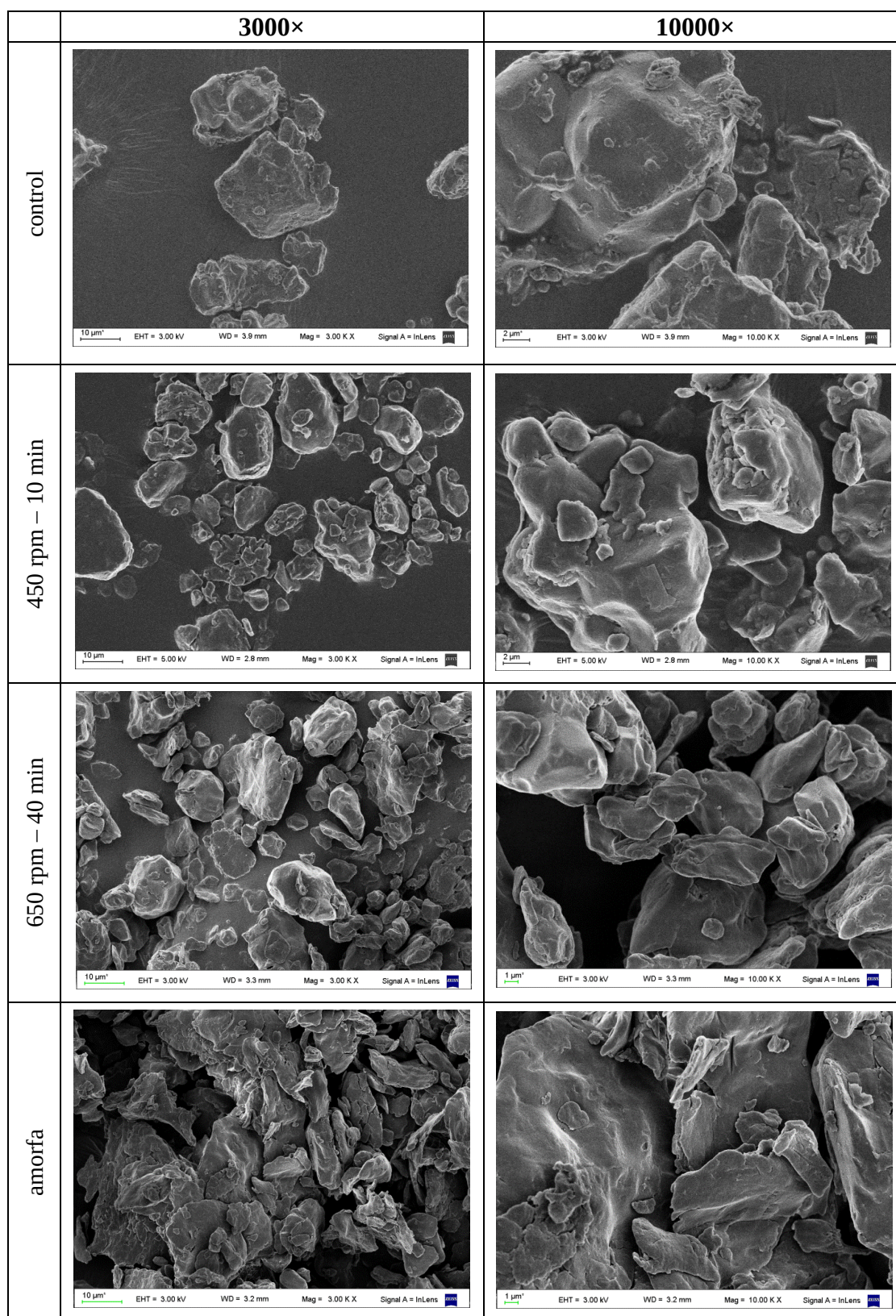


Figura 4.41. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB (puntos extremos del diseño experimental) y de las harinas de referencia (control y amorfa).

4.1.11. Espectroscopia por energía dispersiva

Uno de los principales inconvenientes que tienen los molinos de alto impacto es la posible contaminación de la muestra durante la molienda. Esto puede ocurrir por el desgaste y posterior incorporación a la muestra de pequeñas porciones del material de las bolas y de la pared de la jarra de molienda (Baláž, 2008). En ese sentido, como se mencionó en la sección 4.1.1, se implementaron accesorios de un material más duro que los granos de arroz, como es el óxido de circonio. A fin de constatar la ausencia de este mineral en las harinas, se analizó la muestra obtenida por molienda seca en el MPB en la condición más severa del diseño experimental (650 rpm – 40 min) y la harina amorfa, mediante espectroscopia por energía dispersiva (EDS). Esta técnica es un procedimiento estándar para identificar y cuantificar la composición química de las partículas. La muestra es irradiada con un haz de electrones de un microscopio electrónico de barrido (SEM), generando rayos X que pueden ser detectados por un espectrómetro de dispersión de energía. El espectro de EDS se obtiene tras recoger los fotones emitidos, y es característico de los elementos presentes en el material (Martinez Orellana, 2010).

Los resultados se muestran en la figuras 4.42 y 4.43. El microanálisis por EDS de tipo cualitativo reveló en ambas muestras la presencia de carbono y oxígeno y no se detectó circonio.

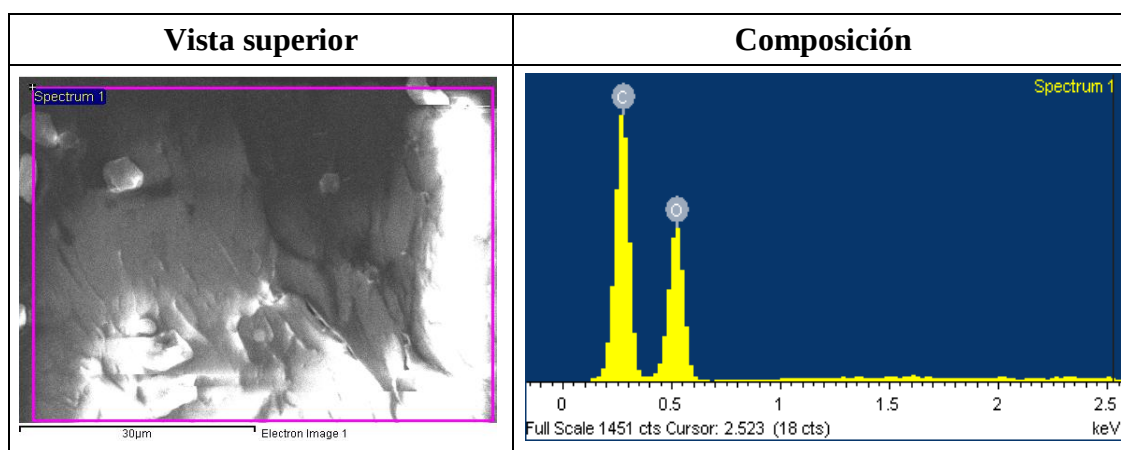


Figura 4.42. Imagen SEM y EDS de la harina de arroz obtenida por molienda seca (650 rpm – 40 min) en el MPB.

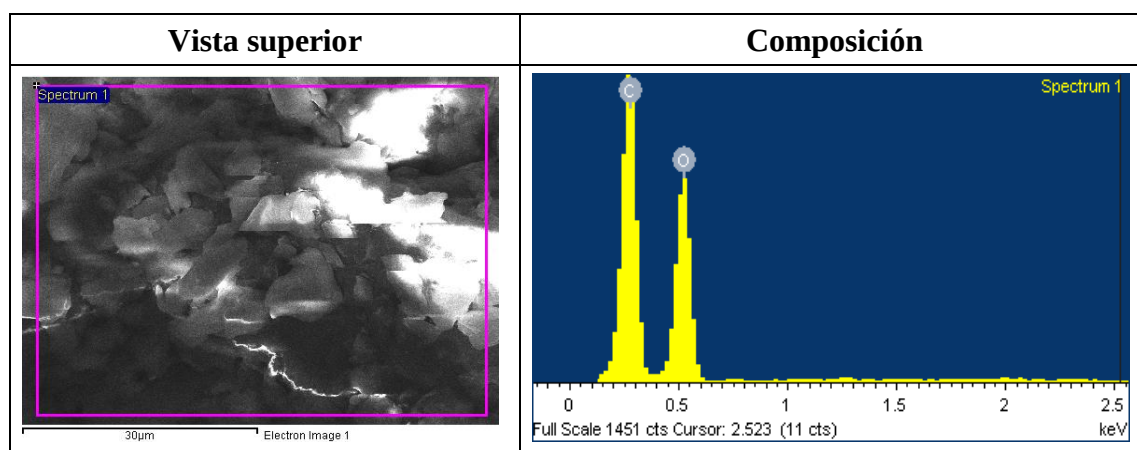


Figura 4.43. Imagen SEM y EDS de la harina de arroz amorfa.

4.1.12. Propiedades de pasta

El analizador rápido de viscosidad (RVA) mide los cambios en la viscosidad aparente de una suspensión o dispersión de harina en agua, durante un ciclo de calentamiento y de enfriamiento, que son interpretados como propiedades de pasta. La curva característica que provee el equipo, refleja los eventos moleculares que ocurren principalmente en los gránulos de almidón, mayor constituyente de la harina de arroz, y por lo tanto, permite investigar las modificaciones inter o intramoleculares que produce la molienda (Hasjim *et al.*, 2013).

En la figura 4.44 se muestra el viscoamilograma de las harinas de los extremos del diseño experimental y de las harinas de referencia; y en la tabla 4.18 los parámetros característicos de la curva de todas las muestras, en función de las condiciones de molienda seca.

Las harinas de arroz obtenidas en el MPB, presentaron al inicio de la corrida una baja viscosidad aparente, al igual que la muestra control, en esta etapa las partículas absorben agua y se hinchan (Roudot, 2004). Tal proceso comienza en las zonas intermicelares amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son tan numerosos ni rígidos como en las áreas cristalinas, una vez que la región amorfa se ha hidratado completamente, la cristalina inicia un proceso semejante, aunque requiere más energía (Valdés Martínez, 2006).

Al incrementar la temperatura se produjo el aumento de la viscosidad, debido a que los gránulos comienzan a apretarse unos contra otros formando una pasta, conociéndose este momento como temperatura de pasta (TP) (Roudot, 2004).

Es preciso señalar que TP, es la temperatura en donde la viscosidad empieza a desarrollarse durante el calentamiento en el RVA, y no refleja la temperatura de gelatinización, tal como se mide por DSC, que representa la conversión de la estructura

semicristalina del almidón a la amorfa, por lo tanto son propiedades diferentes (Hasjim *et al.*, 2013). TP siempre resulta sobrestimada, por lo que es mucho más elevada que la temperatura de gelatinización (Bao, 2008). En el presente trabajo, los valores de TP variaron entre 77 – 87 °C y la temperatura de inicio de la gelatinización (sección 4.1.7) entre 62 – 69 °C, confirmando lo expuesto.

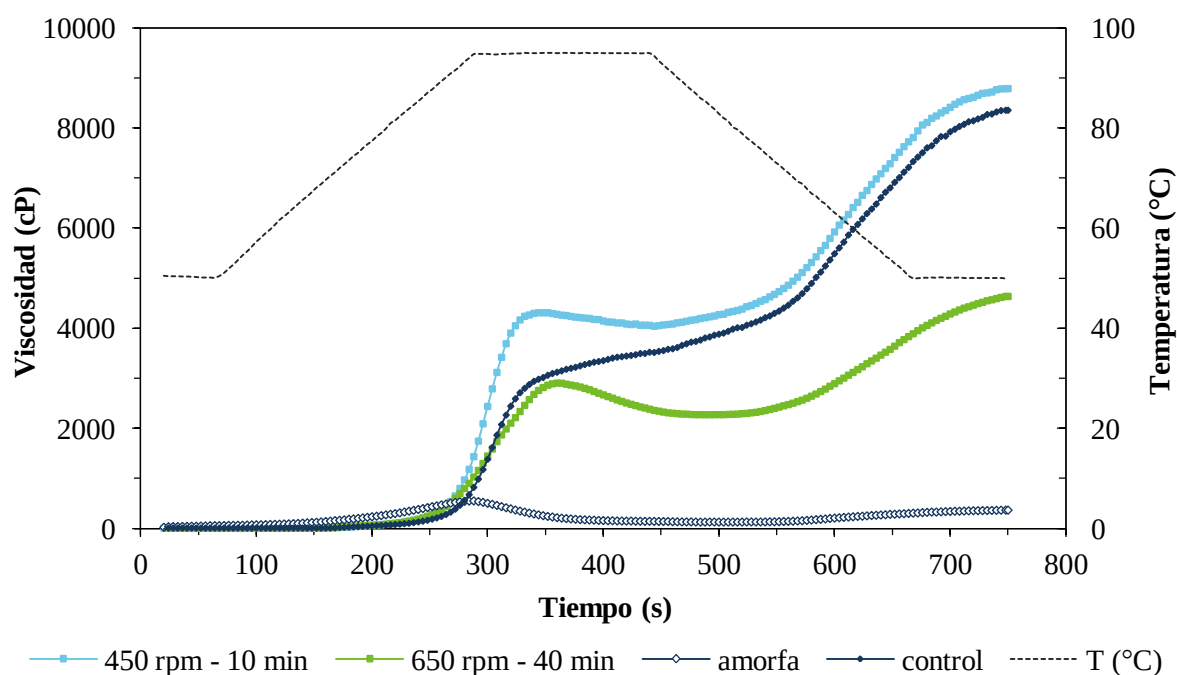


Figura 4.44. Viscoamilograma de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB (puntos extremos del diseño experimental) y de las harinas de referencia (control y amorfa)

Asimismo, las harinas obtenidas en el MPB exhibieron una menor TP, con relación al control. Las muestras con tamaño de partícula más grandes, presentan una mayor barrera a la transferencia de calor y a la difusión o penetración del agua (Marshall, 1992), consecuentemente requieren más tiempo para desarrollar la viscosidad durante el calentamiento, lo que resulta en una mayor TP. Zhang y colaboradores (2010) comentaron la reducción de la temperatura de pasta, de 79 °C a 72 °C, después de procesar almidón de arroz con 6 % de humedad, en un molino planetario, a 450 rpm durante una hora.

Tabla 4.18. Propiedades de pasta de las harinas de arroz en función de las condiciones de molienda seca.

Muestra (rpm-min)	PV (cP)	VM (cP)	VF (cP)	BD (cP)	SB (cP)	TP (°C)	tP (min)
450-10	4449 ± 139 ^e	4106 ± 67 ^{i,j}	8920 ± 134 ^{g,h}	344 ± 73 ^b	4814 ± 67 ^{f,g}	85,4 ± 0,0 ^g	5,70 ± 0,03 ^{c,d}
450-20	6037 ± 30 ^h	3966 ± 44 ^{h,i}	8954 ± 32 ^h	2071 ± 14 ^g	4988 ± 12 ^h	79,5 ± 0,4 ^b	5,63 ± 0,03 ^{b,c}
450-30	6352 ± 9 ⁱ	4052 ± 85 ^{h,i,j}	8880 ± 9 ^{g,h}	2301 ± 7 ^h	4828 ± 76 ^{f,g,h}	76,8 ± 0,0 ^a	5,70 ± 0,03 ^{c,d}
450-40	5265 ± 60 ^f	3521 ± 8 ^{e,f}	7977 ± 30 ^e	1744 ± 52 ^f	4456 ± 22 ^e	79,9 ± 0,0 ^{b,c}	5,80 ± 0,00 ^{d,e,f}
550-10	5045 ± 63 ^f	4206 ± 44 ^j	8995 ± 89 ^h	839 ± 19 ^d	4789 ± 45 ^{f,g}	84,2 ± 0,4 ^{e,f,g}	5,57 ± 0,03 ^b
550-20	5969 ± 39 ^{g,h}	3853 ± 34 ^{g,h}	8739 ± 13 ^{f,g,h}	2117 ± 73 ^g	4886 ± 21 ^{f,g,h}	80,5 ± 0,5 ^{b,c}	5,70 ± 0,03 ^{c,d}
550-30	5799 ± 186 ^{g,h}	3679 ± 79 ^{f,g}	8488 ± 180 ^f	2120 ± 107 ^g	4809 ± 101 ^{f,g}	78,7 ± 1,2 ^b	5,73 ± 0,07 ^{c,d,e}
550-40	4071 ± 6 ^d	2740 ± 14 ^c	6457 ± 21 ^c	1331 ± 8 ^e	3717 ± 7 ^c	82,4 ± 0,6 ^{d,e}	5,90 ± 0,03 ^{f,g}
650-10	5704 ± 63 ^g	4251 ± 3 ^j	9005 ± 6 ^h	1453 ± 60 ^e	4754 ± 3 ^f	83,5 ± 0,4 ^{e,f}	5,57 ± 0,03 ^b
650-20	5082 ± 32 ^f	3381 ± 0 ^e	7877 ± 24 ^e	1701 ± 32 ^f	4496 ± 23 ^e	81,5 ± 0,0 ^{c,d}	5,73 ± 0,00 ^{c,d,e}
650-30	4653 ± 31 ^e	2982 ± 0 ^d	6941 ± 96 ^d	1671 ± 31 ^f	3959 ± 95 ^d	80,4 ± 0,6 ^{b,c}	5,83 ± 0,03 ^{e,f}
650-40	2984 ± 79 ^b	2308 ± 35 ^b	4770 ± 135 ^b	676 ± 44 ^c	2469 ± 100 ^b	85,1 ± 0,4 ^{f,g}	5,97 ± 0,03 ^g
amorfa	556 ± 5 ^a	131 ± 2 ^a	373 ± 6 ^a	426 ± 4 ^b	243 ± 5 ^a	-	4,72 ± 0,07 ^a
control	3668 ± 223 ^c	3675 ± 218 ^{f,g}	8619 ± 266 ^{f,g}	-7 ± 6 ^a	4944 ± 48 ^{g,h}	87,4 ± 1,2 ^h	7,00 ± 0,00 ^h

PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: viscosidad de rompimiento, SB: viscosidad de recuperación, TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad. -: no detectado. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente (p<0,05).

A su vez, en el presente estudio, la harina amorfa no evidenció un cambio de pendiente, por lo que no se detectó la TP. Un resultado equivalente fue hallado por Han y colaboradores (2007), quienes trataron almidón de arroz en un molino planetario, a 300 rpm durante 30 minutos. Al cabo de este tiempo continuo de molienda (sin pausa), hallaron la pérdida completa de la cristalinidad, y la determinación de las propiedades de pasta no arrojó una TP.

Posteriormente se visualizó un incremento súbito de la viscosidad aparente, hasta alcanzar un máximo (pico de viscosidad, PV), a un tiempo determinado (tiempo de pico de viscosidad, tP), cuando las partículas ya no pueden hidratarse más.

PV refleja el grado de hinchamiento o la capacidad de retención de agua de la harina, y a menudo se correlaciona con la calidad del producto final, ya que los gránulos hinchados y colapsados se relacionan con la textura del almidón cocido (Manaois, 2009).

Las harinas obtenidas en el MPB, a excepción de la muestra preparada a 650 rpm – 40 min, manifestaron un mayor PV (6352 – 4071 cP), en comparación con el control (3668 $\pm$ 223 cP), y la muestra amorfa reveló un pico exiguo (556 $\pm$ 5 cP), que fue superado ampliamente por los restantes. Al mismo tiempo, la muestra control no presentó un pico definido. Otros autores informaron la falta de un PV acusado, en harinas de arroz obtenidas por criomolienda, lo que fue explicado por la mayor cantidad de proteína nativa e integridad de la estructura de la pared celular, que evitó o retrasó la rotura de los gránulos hinchados (Hasjim *et al.*, 2013).

Aunque si bien las proteínas pueden estabilizar la pasta de almidón y aumentar la viscosidad global, también pueden debilitar el hinchamiento de los gránulos durante el calentamiento (Zhou *et al.*, 2003).

Las diferencias encontradas en este trabajo, podrían atribuirse a las fuerzas que actúan en la molienda de alto impacto, para producir harinas con partículas de menor tamaño, lo que interrumpe la estructura de la proteína y de la pared celular, permitiendo que los gránulos de almidón se hinchen en mayor medida durante el calentamiento y se eleve el PV.

Sin embargo, cuando la energía es excesivamente elevada (muestra amorfa), la molienda causa la destrucción estructural del almidón, con la consiguiente permeabilidad al agua y la pérdida de la estabilidad térmica de las estructuras supramoleculares.

Por otro lado, el tiempo de pico de viscosidad de las harinas elaboradas por molienda seca en el MPB (5,57 – 5,97 min), fue inferior al del control (7 $\pm$ 0 min) y la muestra amorfa presentó el menor valor (4,72 $\pm$ 0,07 min).

Más tarde se registró una disminución en la viscosidad (8 – 37 %) de las harinas obtenidas en el MPB y de la harina amorfa (77 %), hasta llegar a un valor mínimo (viscosidad media, VM) al final del período de calentamiento, esta caída se debe al rompimiento de los gránulos de almidón y a la lixiviación de las cadenas (Gómez Pallarés, León y Rosell, 2007).

Por el contrario, la muestra control aumentó la viscosidad y presentó una VM (3675 ± 218 cP) dentro del rango de las harinas obtenidas en el MPB (2308 – 4251 cP). En cuanto a la muestra amorfa, exhibió un valor en extremo inferior (131 ± 2 cP). Paralelamente se observó la menor viscosidad de rompimiento (BD), determinada como la diferencia entre PV y VM, en la harina control (7 ± 6 cP), en relación con las harinas procesadas en el MPB, las que variaron entre 344 – 2301 cP.

La BD es una medida de la facilidad con que pueden desintegrarse los gránulos hinchados, e indica el grado de organización del almidón (Adebowale y Lawal, 2003). Los mayores valores de BD de las harinas modificadas en el MPB, sugieren una menor resistencia a la cocción y al esfuerzo de corte en relación con el control.

Durante el enfriamiento se manifestó un nuevo incremento de la viscosidad aparente (107 – 135 %) en todas las muestras, hasta alcanzar el final de la prueba (viscosidad final, VF). La elevación de la viscosidad fue medida como la diferencia entre VF y VM, denominada viscosidad de recuperación (SB), la cual es un indicador de la textura del producto final y se vincula a la sinéresis o exudación provocada por los ciclos de congelación-descongelación (Manaois, 2009).

Se encontraron correlaciones significativas y positivas de SB, con la mediana de la DTP en volumen (Dv50), la entalpía de gelatinización (ΔH), y el grado de cristalinidad (GC) (SB–Dv50, $r = 0,96$; SB– ΔH , $r = 0,91$; SB–GC, $r = 0,87$; $p < 0,01$) y una correlación significativa ($p < 0,01$) pero negativa, entre SB y el contenido de almidón dañado (AD) (SB–AD, $r = -0,80$). Los resultados hallados manifiestan, que el crecimiento de la degradación molecular, es el factor dominante de la viscosidad de recuperación de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca.

El aumento de la viscosidad, al enfriar a 50 °C la suspensión gelatinizada, es la consecuencia de la reasociación de las moléculas de almidón para formar una pasta viscosa o un gel, alcanzando así, la viscosidad final (Adebowale y Lawal, 2003).

Las harinas obtenidas en el MPB, exhibieron valores de VF entre 9005 – 4770 cP; en las condiciones menos severas de molienda mostraron valores semejantes o superiores al del

control (8619 ± 266 cP), en contraste, la harina amorfa reveló un valor extremadamente inferior (373 ± 6 cP). Además, todas las muestras, exceptuando la harina amorfa, presentaron una VF mayor al PV, entre 40 – 135 %. Se encontraron correlaciones significativas de VF con el contenido de almidón dañado y el grado de cristalinidad (VF–AD, $r = -0,88$; VF–GC, $r = 0,85$; $p < 0,01$).

Hasjim y colaboradores (2013) reconocieron una correlación negativa entre VF y AD, y una correlación positiva entre VF y Dv50, en harinas de arroz elaborados en un molino de martillos o en un molino criogénico. Los autores sugirieron, que esta relación se debía a la imposibilidad de los gránulos dañados para retener agua, debido a sus menores tamaños en comparación con los gránulos intactos, cuando eran calentados a 95 °C. Por otra parte explicaron, que podrían existir gránulos hinchados después del calentamiento, que contribuirían a la VF de la harina de arroz.

En el presente trabajo se halló una relación no lineal entre VF y Dv50 (figura 4.45), la que se ajustó satisfactoriamente a un modelo cúbico ($R^2 = 0,87$). En el esquema puede observarse, que cuando el tamaño de partícula cae por debajo de 140 μm , la viscosidad final se reduce abruptamente, lo que corrobora la hipótesis de Hasjim y colaboradores (2013).

En suma, las propiedades de pasta de las harinas obtenidas por molienda seca en el molino planetario, evidenciaron diferencias significativas con el control, incluso las harinas elaboradas en condiciones suaves de molienda. A su vez, la harina amorfa mostró escasas propiedades de pasta.

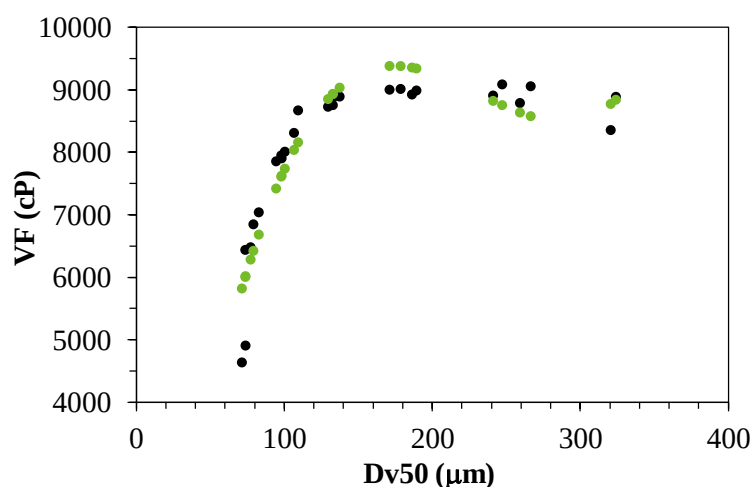


Figura 4.45. Relación entre el la mediana correspondiente a la distribución de tamaño de partícula en volumen (Dv50) y la viscosidad final (VF) (valor experimental, ●; valor predicho, ●) de las harinas obtenidas por molienda seca en el MPB.

4.1.12.1. Efectos de las condiciones de molienda seca sobre las propiedades de pasta

En la figura 4.46 se visualiza el viscoamilograma de las harinas de arroz, obtenidas por molienda seca en el MPB, a 450 rpm y en la figura 4.47, a 650 rpm.

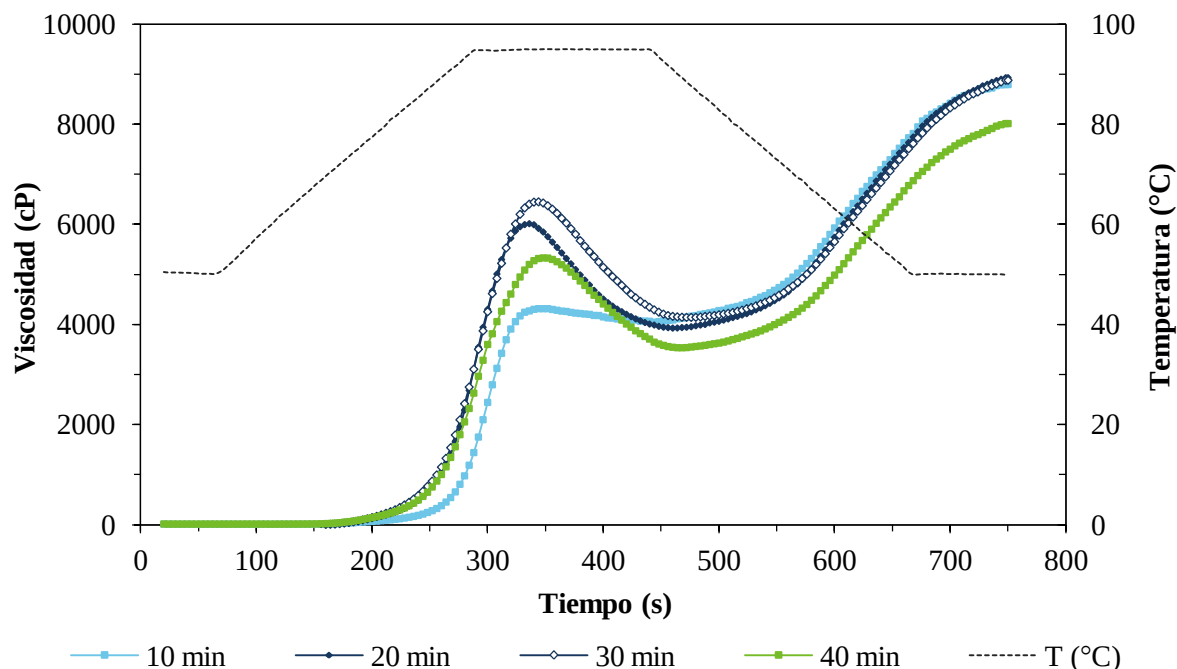


Figura 4.46. Viscoamilograma de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB a 450 rpm, en función del tiempo de molienda.

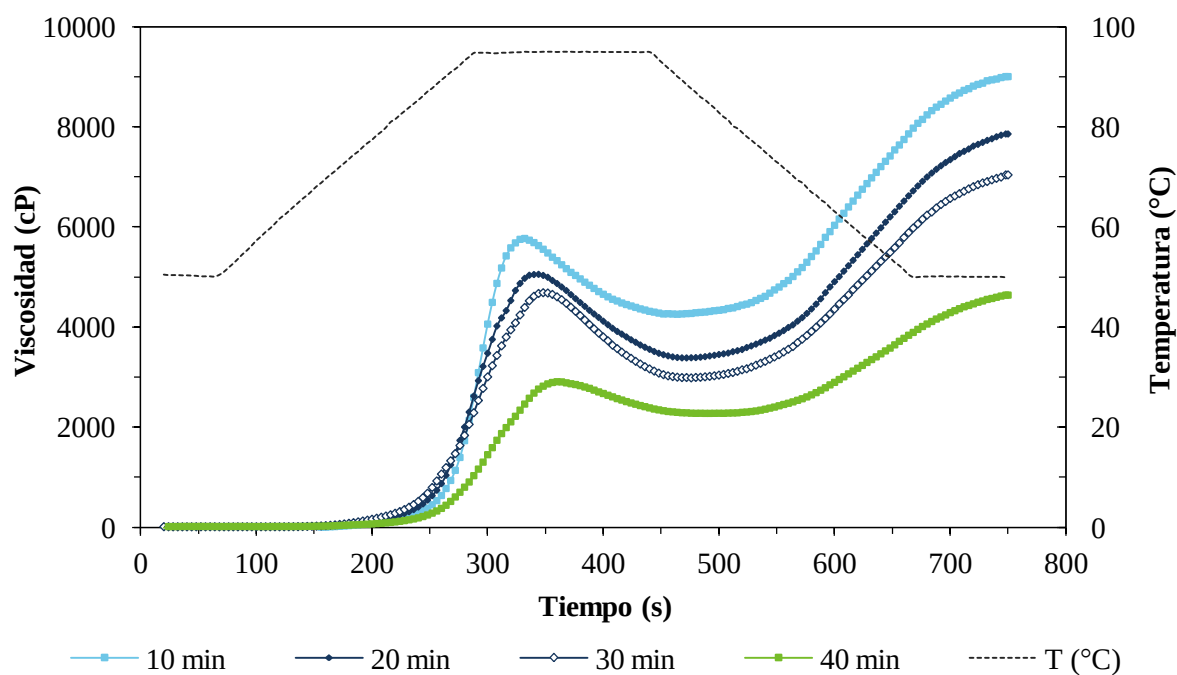


Figura 4.47. Viscoamilograma de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB a 650 rpm, en función del tiempo de molienda.

Puede observarse, que el tiempo de molienda afectó notoriamente las propiedades de pasta. Por ejemplo, el PV se incrementó a 450 rpm, hasta alcanzar los 30 minutos de molienda y luego descendió. En cambio, a 650 rpm disminuyó siempre, siendo más notorio a los 40 minutos de molienda. Por otro lado, la velocidad de rotación de la jarra también influyó en las propiedades de pasta, como se exhibe en la figura 4.48, al aumentar la velocidad, en 30 minutos de molienda, se redujo la viscosidad.

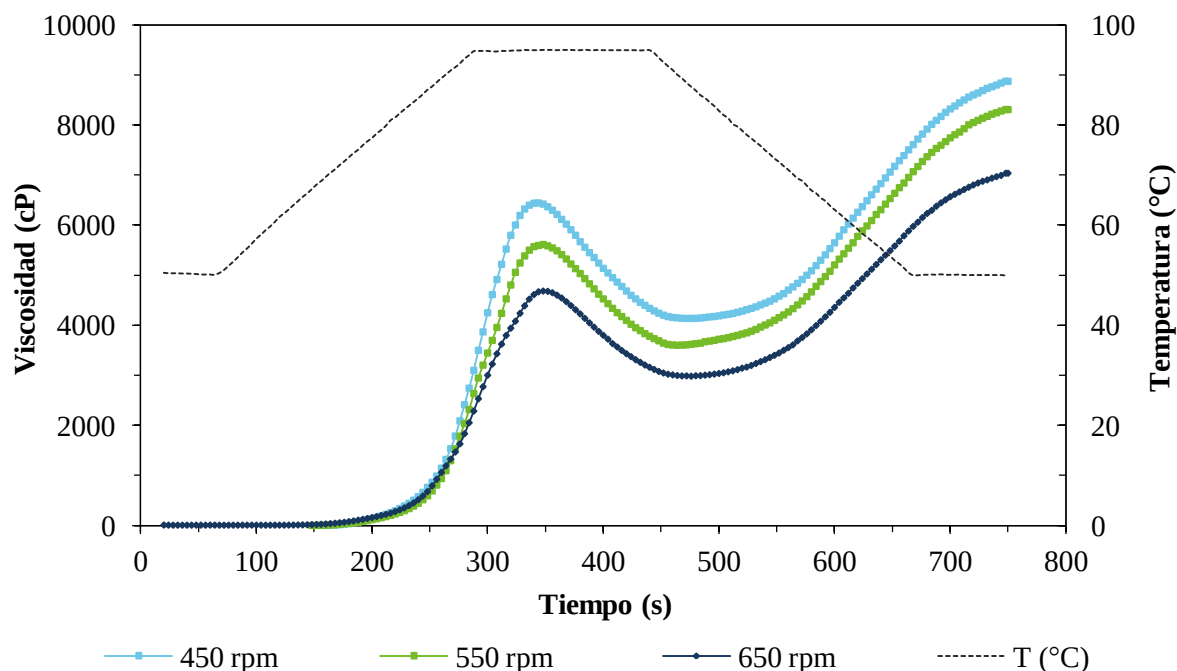


Figura 4.48. Viscoamilograma de las harinas de arroz obtenidas por molienda seca en el MPB. Efecto de la velocidad de rotación a tiempo fijo de molienda (30 min).

Para analizar estos efectos se aplicó el método de superficie de respuesta, a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$). En todos los caso el ajuste fue satisfactorio ($R^2 > 0,86$) y las respuestas estudiadas fueron explicadas adecuadamente por un modelo de segundo orden, los resultados se visualizan en la tabla 4.19.

Todas los parámetros viscoamilográficos (PV, VM, VF, BD, SB, TP y tP) fueron afectados considerablemente por la velocidad de rotación y por el tiempo de molienda, al mismo tiempo se manifestó una interacción significativa y negativa entre ambos factores, para las viscosidades (PV, VM, VF, BD y SB) y una interacción positiva para TP y tP.

La figura 4.49 muestra las superficies de respuesta de las viscosidades, la que permite ver el efecto lineal y negativo de la velocidad de rotación. El tiempo de molienda influenció en forma cuadrática, con la excepción de VM, que fue lineal. La interacción se vio reflejada

en la intensificación de la reducción de la viscosidad con el aumento de la velocidad de rotación, al incrementar el tiempo de molienda.

La temperatura de pasta también fue afectada de forma cuadrática por el tiempo de molienda (figura 4.50) mientras que en tP se visualizaron los efectos lineales de ambos factores estudiados.

La tabla 4.20 muestra los valores máximo y mínimo predichos de las propiedades de pasta, logrados a partir de la optimización basada en las superficies de respuesta.

Los valores máximos predichos de PV y VF correspondieron a la menor velocidad de rotación (450 rpm) y a un tiempo de molienda aproximado de 30 minutos y de 20 minutos respectivamente. Los valores mínimos predichos de viscosidad (PV, VM, VF) pertenecieron a la condición más severa de molienda (650 rpm – 40 min), para la que resultó máximo el tiempo predicho de pico de viscosidad.

Tabla 4.19. Efecto de las condiciones de molienda seca en el MPB sobre las propiedades de pasta de las harinas de arroz en términos de los factores codificados: velocidad de rotación (x_1) y tiempo de molienda (x_2).

Coefficientes	PV (cP)	VM (cP)	VF (cP)	BD (cP)	SB (cP)	TP (°C)	tP (min)
a_0	5781	3668	8560	2184	4860	79,1	5,71
a_1	-460*	-340*	-767*	-120*	-427*	1,1*	0,03*
a_2	-446*	-624*	-1221*	178*	-597*	-1,1*	0,14*
a_{11}	---	---	-254*	-107NS	-206*	---	0,02NS
a_{22}	-1195*	-146NS	-704*	-1049*	-558*	4,3*	0,03NS
a_{12}	-851*	-342*	-806*	-509*	-463*	1,7*	0,07*
r^2	0,9323	0,9458	0,9750	0,9426	0,9637	0,9286	0,8628

* Significativo a $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---, coeficiente eliminado. PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: viscosidad de rompimiento, SB: viscosidad de recuperación, TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad.

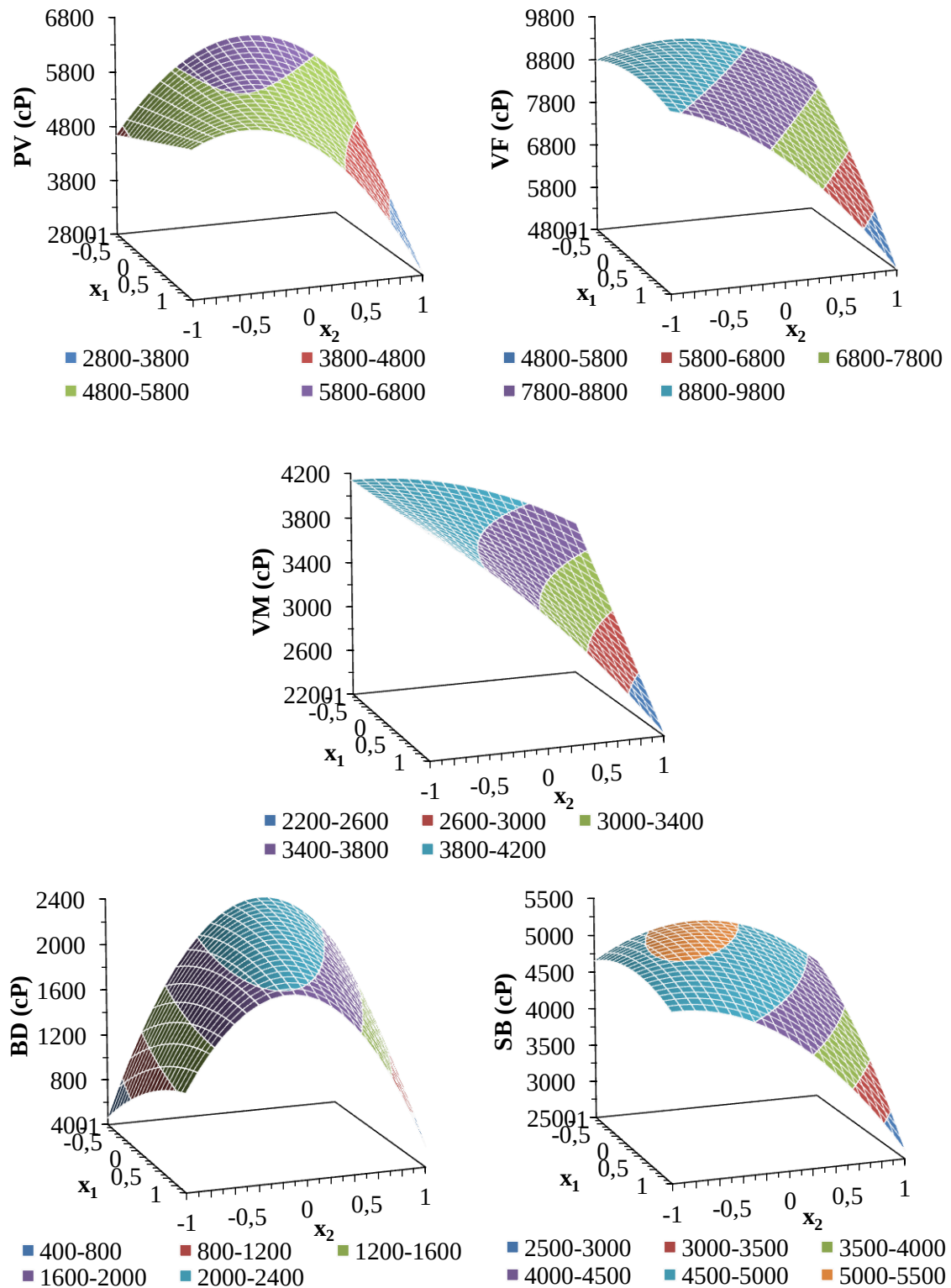


Figura 4.49. Superficies de respuesta de las propiedades de pasta (PV: pico de viscosidad, VF: viscosidad final, VM: viscosidad media, BD: viscosidad de rompimiento, SB: viscosidad de recuperación) en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

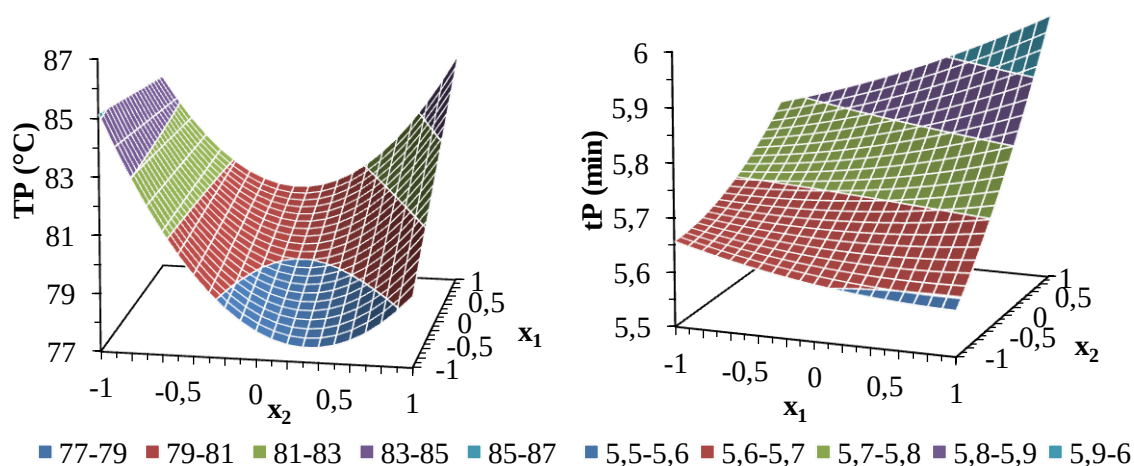


Figura 4.50. Superficies de respuesta de las propiedades de pasta (TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad) en función de la velocidad de rotación (x_1) y del tiempo de molienda (x_2).

Tabla 4.20. Valores máximos y mínimos predichos de las propiedades de pasta de las harinas de arroz en función de las condiciones de molienda seca en el MPB.

Propiedades de pasta		Valor de la propiedad	Velocidad (rpm)	Tiempo (min)
PV (cP)	max	6275	450	28
	min	2829	650	40
VM (cP)	max	4147	650	10
	min	2216	650	40
VF (cP)	max	9135	450	21
	min	4809	650	40
BD (cP)	max	2310	450	30
	min	462	450	10
SB (cP)	max	5093	468	22
	min	2609	650	40
TP (°C)	max	85,2	450	10
	min	77,5	450	30
tP (min)	max	5,99	650	40
	min	5,48	650	10

PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: viscosidad de rompimiento, SB: viscosidad de recuperación, TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad.

4.2. Molienda húmeda

4.2.1. Distribución de tamaño de partícula

Con el objetivo de establecer las condiciones de molienda húmeda de arroz en el molino planetario de bolas, se llevaron a cabo diversos ensayos, a fin de fijar la relación en masa de bolas/arroz (R1) y de agua/arroz (R2), para cada velocidad en el tiempo operativo (ver sección 3.2.2.1). Con este propósito se utilizó como criterio la reducción del tamaño de partícula y lo homogeneidad de la distribución, la que se determinó por dispersión estática de luz.

4.2.1.1. Efecto de la relación en masa de bolas/arroz

Primeramente, se fijó R2 (1,2 p/p) y se varió R1, los resultados del análisis de la distribución en volumen de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda a 450 rpm, 550 rpm y 650 rpm en el MPB, en función de la relación en masa de bolas/arroz, se muestran en las figuras 4.51, 4.52, 4.53 y 4.54, junto con el de la harina control, elaborada en una procesadora de cuchillas.

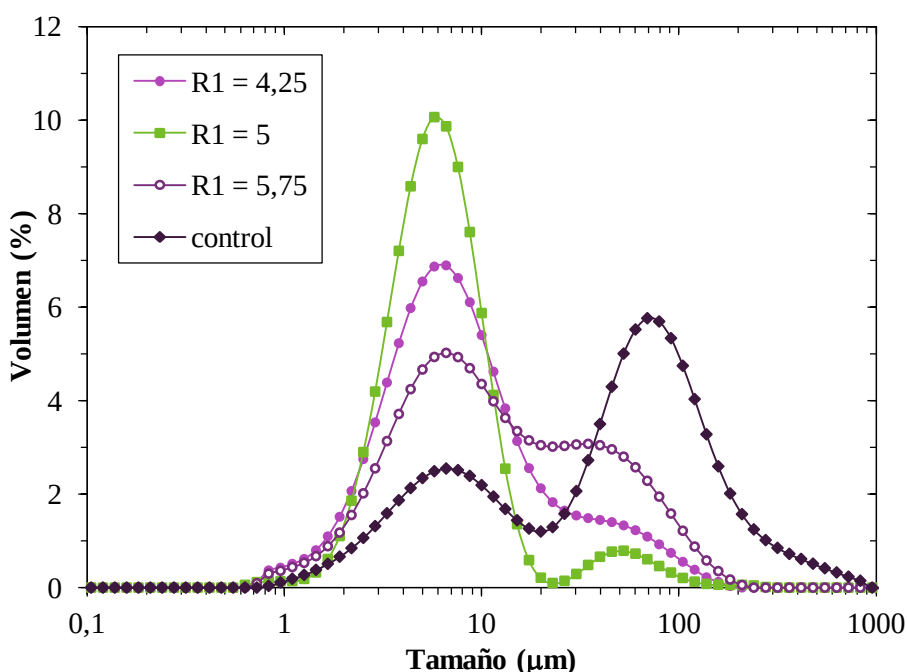


Figura 4.51. Efecto de la relación en masa de bolas/arroz (R1) sobre la distribución de tamaño de partícula de las harinas luego de 35 min de molienda húmeda en el MPB a 450 rpm con una relación en masa de agua/arroz fija (R2: 1,2 p/p) y DTP de la harina control.

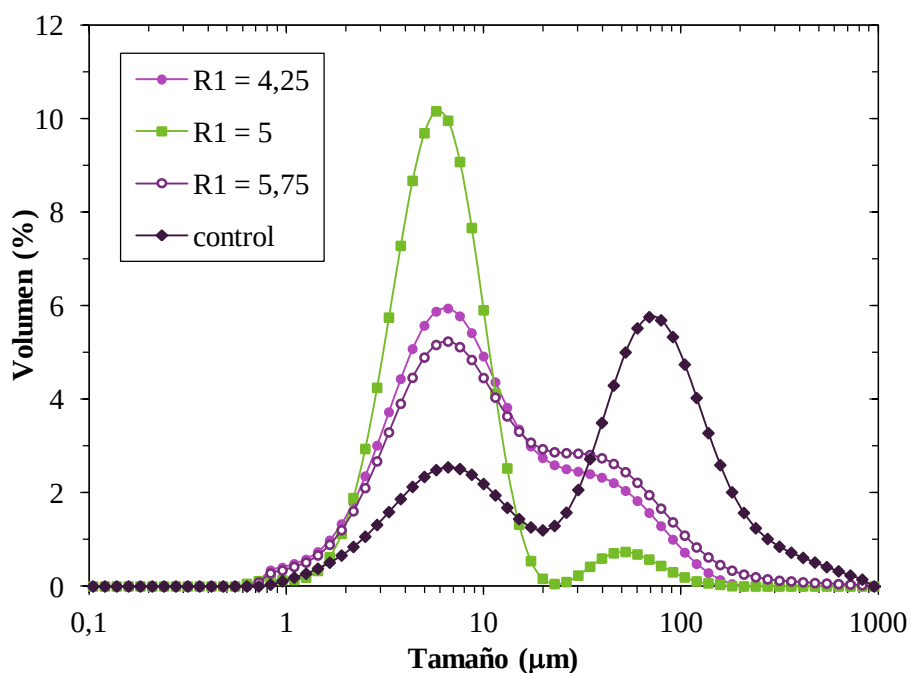


Figura 4.52. Efecto de la relación en masa de bolas/arroz (R1) sobre la distribución de tamaño de partícula de la harina luego de 40 min de molienda húmeda en el MPB a 450 rpm con una relación en masa de agua/arroz fija (R2: 1,2 p/p) y DTP de la harina control.

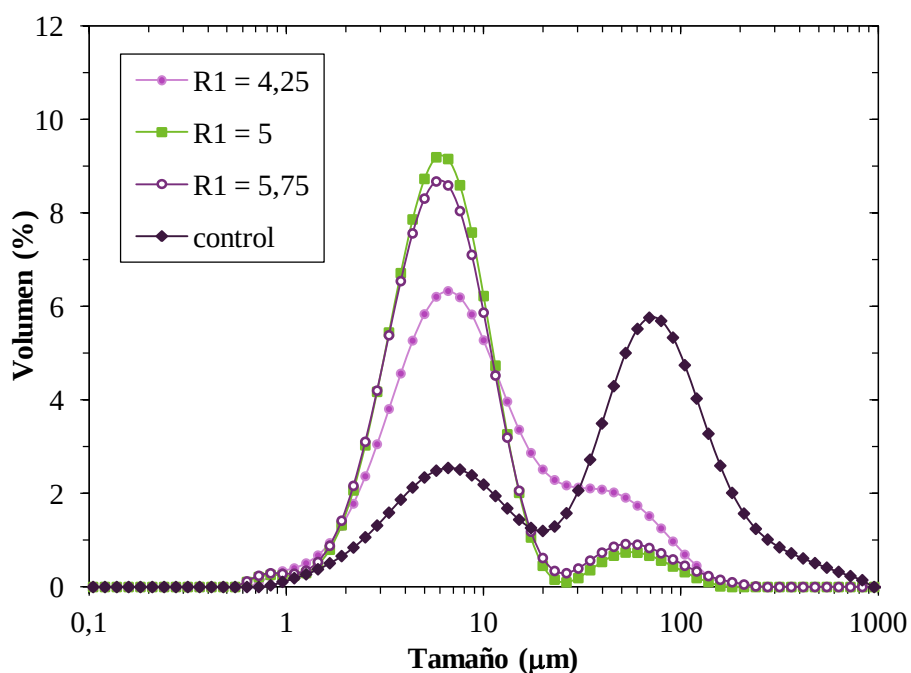


Figura 4.53. Efecto de la relación en masa de bolas/arroz (R1) sobre la distribución de tamaño de partícula de la harina luego de 15 min de molienda húmeda en el MPB a 550 rpm con una relación en masa de agua/arroz fija (R2: 1,2 p/p) y DTP de la harina control.

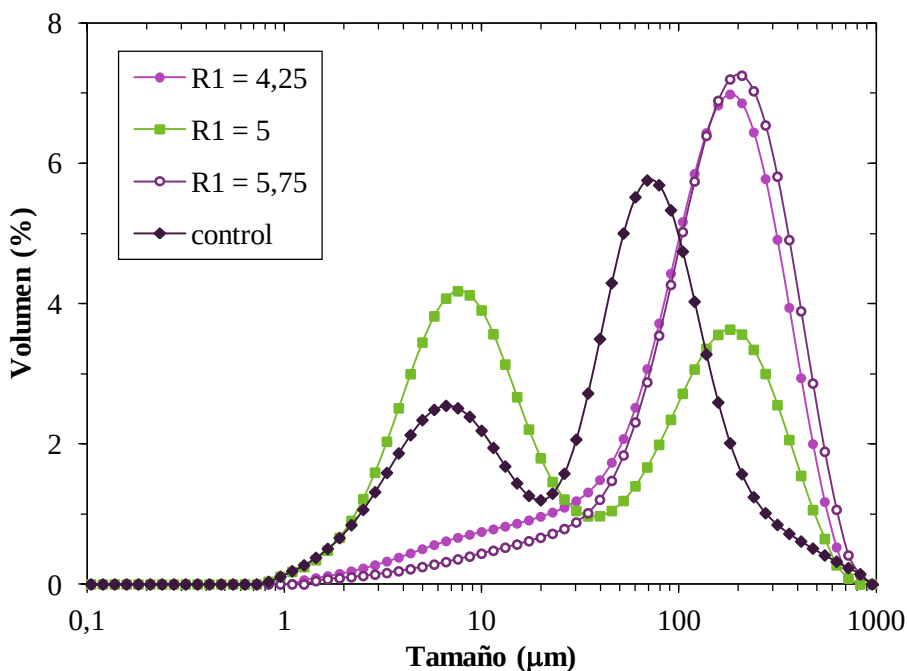


Figura 4.54. Efecto de la relación en masa de bolas/arroz (R_1) sobre la distribución de tamaño de partícula de la harina luego de 10 min de molienda húmeda en el MPB a 650 rpm una con relación en masa de agua/arroz fija (R_2 : 1,2 p/p) y DTP de la harina control.

La distribución de la muestra control fue bimodal, abarcando la primera población el intervalo de 1 – 20 μm y la segunda población de 20 – 832 μm , con máximos en 7 μm y en 69 μm respectivamente; asimismo, la segunda fracción en volumen fue más importante que la primera. Las harinas preparadas en el molino planetario a 450 rpm (figuras 4.51 y 4.52) y a 550 rpm (figura 4.53), también presentaron una distribución de tamaño de partícula (DTP) bimodal, o en su defecto exhibieron un pico y un hombro, aunque en comparación con el control la primera moda ($\sim 6 \mu\text{m}$) fue más significativa que el segundo pico u hombro (30 – 52 μm), y el rango en el cual se extendió la DTP más estrecho (aproximadamente de 1 – 200 μm). A 650 rpm (figura 4.54), sólo con R_1 de 5 p/p se observó una DTP bimodal, sin embargo, ambas poblaciones resultaron equiparables y expusieron máximos en 8 μm y 182 μm . A su vez, R_1 de 4,25 p/p reflejó una DTP monomodal, con un pico en 182 μm y R_1 de 5,75 p/p evidenció un comportamiento similar con una moda en 208 μm .

En consecuencia se obtuvieron harinas de menor granulometría que el control a 450 rpm y 550 rpm, en cambio, a 650 rpm los resultados fueron insatisfactorios, encontrándose fragmentos de granos de arroz.

Tabla 4.21. Parámetros característicos de la distribución de tamaño de partícula de las harinas de arroz obtenidos por difracción láser en función de las condiciones de molienda.

Muestra (rpm-min)	Mac. ¹ (min)	R1 ² (p/p)	R2 ³ (p/p)	Dv50 ⁴ (μm)	Dv90 ⁴ (μm)	IDv ⁵
450-35	180	4,25	1,2	7,64 ± 0,01 ^c	37,86 ± 0,3 ^d	4,58 ± 0,03 ⁱ
450-35	180	5	1,2	6,35 ± 0,05 ^a	13,60 ± 0,09 ^a	1,65 ± 0,01 ^{a,b}
450-35	180	5,75	1,2	11,39 ± 0,08 ^g	65,68 ± 1,31 ^f	5,48 ± 0,07 ^k
450-40	210	4,25	1,2	9,04 ± 0,02 ^e	50,50 ± 0,6 ^e	5,25 ± 0,05 ^j
450-40	210	5	1,2	6,30 ± 0,01 ^a	13,08 ± 0,12 ^a	1,58 ± 0,04 ^a
450-40	210	5,75	1,2	10,73 ± 0,13 ^f	66,92 ± 3,04 ^f	5,94 ± 0,21 ^l
550-15	60	4,25	1,2	8,73 ± 0,02 ^{d,e}	48,53 ± 0,73 ^e	5,21 ± 0,07 ^j
550-15	60	5	1,2	6,50 ± 0,06 ^{a,b}	14,63 ± 0,18 ^a	1,79 ± 0,05 ^{b,c}
550-15	60	5,75	1,2	6,57 ± 0,01 ^{a,b}	17,89 ± 0,23 ^b	2,28 ± 0,03 ^e
650-10	30	4,25	1,2	153,57 ± 4,23 ^l	371,07 ± 11,23 ⁱ	2,28 ± 0,01 ^e
650-10	30	5	1,2	22,45 ± 0,6 ^h	290,77 ± 5,44 ^{h,i}	12,76 ± 0,18 ^{ll}
650-10	30	5,75	1,2	178,43 ± 6,45 ^{ll}	420,26 ± 19,47 ^j	2,12 ± 0,02 ^{d,e}
550-10	30	5	1,2	8,52 ± 0,22 ^d	272,46 ± 54,98 ^h	31,6 ± 5,32 ^m
550-15	60	5	2,54	101,55 ± 0,82 ^j	325,73 ± 5,27 ^{h,i}	3,08 ± 0,03 ^f
550-25	120	5	2,54	119,22 ± 0,59 ^k	376,36 ± 4,55 ⁱ	3,03 ± 0,03 ^f
650-15	60	5	2,54	92,04 ± 1,22 ^j	319,04 ± 15,96 ^{h,i}	3,37 ± 0,12 ^g
650-20	90	5	2,54	157,66 ± 2,94 ^l	584,70 ± 5,64 ^k	3,64 ± 0,04 ^h
450-20	90	5	1,2	7,53 ± 0,03 ^c	274,48 ± 51,3 ^h	36,09 ± 5,44 ^{m,n}
450-25	120	5	1,2	6,45 ± 0,05 ^a	27,30 ± 0,23 ^c	3,80 ± 0,08 ^h
450-30	150	5	1,2	6,12 ± 0,01 ^a	14,92 ± 0,13 ^{a,b}	1,99 ± 0,03 ^{c,d}
gelatinizada	60			7,00 ± 0,06 ^b	14,70 ± 0,19 ^a	1,61 ± 0,05 ^{a,b}
control	70			54,95 ± 0,34 ⁱ	178,26 ± 3,84 ^g	3,16 ± 0,05 ^f

¹ Tiempo de maceración *in situ*. ² Relación en masa de bolas/arroz. ³ Relación en masa de agua/arroz. ⁴ Dv50 representa el diámetro de partícula correspondiente al volumen acumulado al 50%, la mediana, Dv90 representa el diámetro de partícula correspondiente al volumen acumulado al 90%. ⁵ Índice de dispersión de la población. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente (p<0,05).

Respecto a la relación en masa de bolas/arroz, se encontró una mayor homogeneidad, es decir un menor índice de dispersión de la población (IDv) y una menor mediana (Dv50), cuando R1 fue de 5 p/p, independientemente de la velocidad de rotación de la jarra (tabla 4.21). No obstante, para las otras relaciones (R1: 4,25 p/p y 5,75 p/p), se observó que a 450 rpm – 35 min (figura 4.51) resultó mejor 4,25 p/p en comparación con 5,75 p/p, esta última mostró un pico y un hombro en lugar de dos picos definidos. A 450 rpm – 40 min (figura

4.52) las diferencias entre ambas relaciones fueron menos importantes y presentaron un pico y un hombro; pero a 550 rpm (figura 4.53) resultó mejor 5,75 p/p que 4,25 p/p, y al mismo tiempo 5,75 p/p mostró una DTP bimodal muy similar a 5 p/p. Por lo tanto, la relación en masa de bolas/arroz más adecuada, para obtener harina con menor heterogeneidad y granulometría por molienda húmeda en el molino planetario, es **5 p/p**.

4.2.1.2. Efecto de la relación en masa de agua/arroz

La consistencia de la pasta que se formó, no permitió continuar la molienda más allá de los 40 minutos para 450 rpm, 15 minutos para 550 rpm y 10 minutos para 650 rpm. En este punto las bolas se adhieren a la superficie de la pared de la jarra, como se observa en la figura 4.55, y el incremento del tiempo no produce una reducción del tamaño de las partículas. A medida que aumenta la velocidad de rotación de la jarra se acelera la formación de la pasta, y en consecuencia disminuye el tiempo de maceración *in situ* de los granos de arroz, que como ya se mencionó en materiales y métodos, se contabilizó como el tiempo de pausa. En la tabla 4.21 se aprecia que el tiempo de maceración pasa de 210 minutos a 30 minutos, al variar la velocidad de rotación entre 450 rpm – 40 min y 650 rpm – 10 min. Se ha indicado que la maceración, paso esencial en la molienda húmeda, permite el ablandamiento de los granos de arroz y la lixiviación de algunos componentes como las proteínas, lo que facilita el proceso de reducción de tamaño, y es dependiente del tiempo y de la temperatura (Chiang y Yeh, 2002).

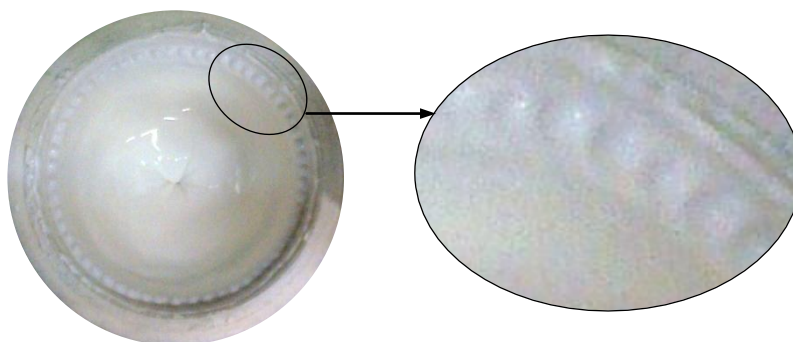


Figura 4.55. Vista superior de la jarra y de las bolas adheridas a la pared.

Con la finalidad de averiguar si es posible reducir el tamaño de partícula de las harinas a 550 rpm y 650 rpm, aumentando el tiempo de molienda, para lo cual es necesario disminuir la viscosidad de la muestra, se modificó la relación en masa de agua/arroz (R2) con R1 fija (5 p/p). Los resultados del análisis de la distribución en volumen, de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda a 550 rpm y 650 rpm en el MPB, en función de la

relación en masa de agua/arroz y del tiempo, se muestran en las figuras 4.56 y 4.57 respectivamente junto con la DTP de la harina control.

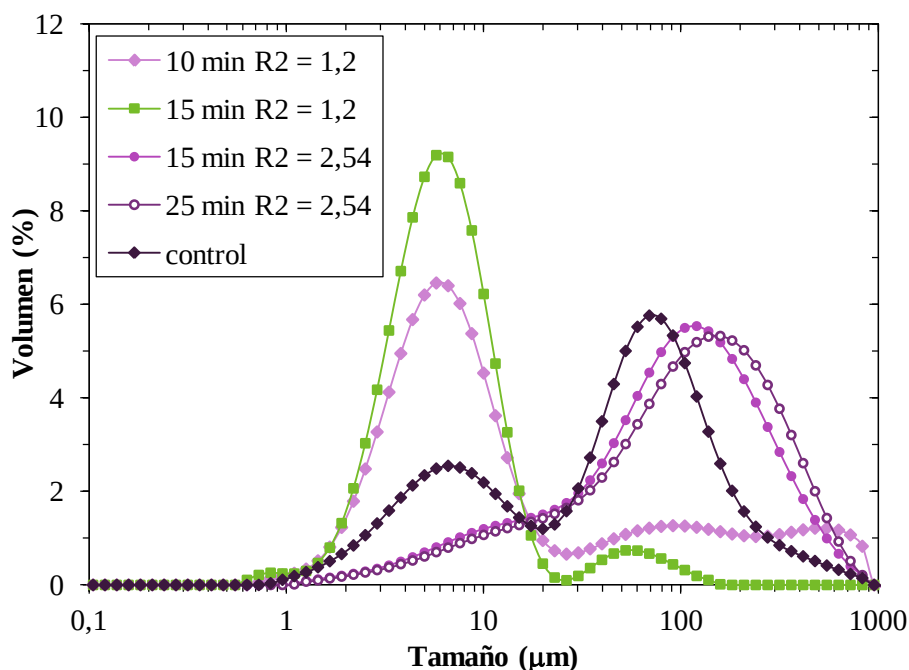


Figura 4.56. Efecto de la relación en masa de agua/arroz (R_2) sobre la distribución de tamaño de partícula de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB a 550 rpm con una relación en masa de bolas/arroz fija (R_1 : 5 p/p) y DTP de la harina control.

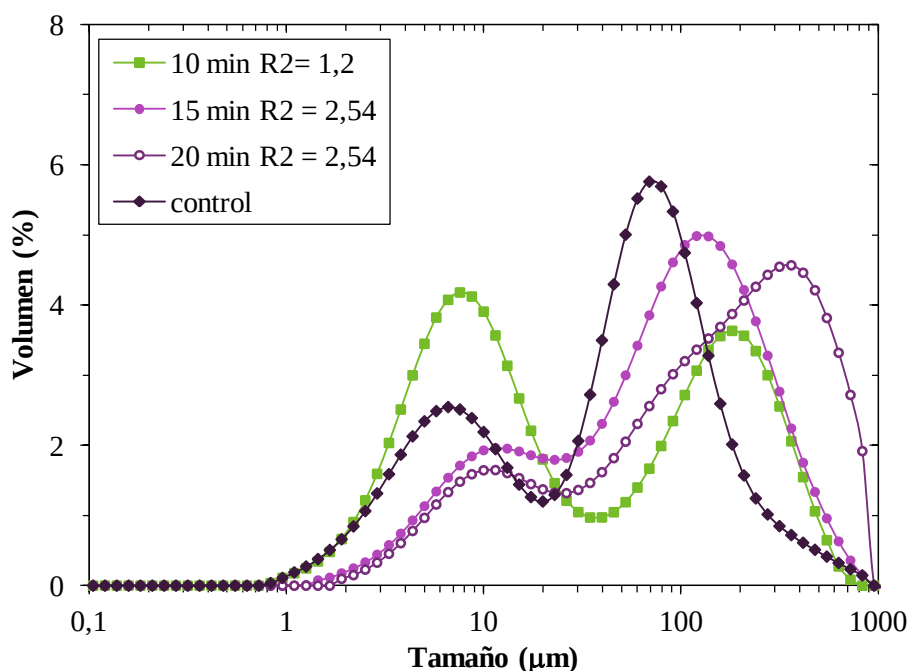


Figura 4.57. Efecto de la relación en masa de agua/arroz (R_2) sobre la distribución de tamaño de partícula de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB a 650 rpm con una relación en masa de bolas/arroz fija (R_1 : 5 p/p) y DTP de la harina control.

Se verificó según se representa en la figura 4.56, que 10 minutos de molienda a 550 rpm y R2 de 1,2 p/p, resultó insuficiente. Los fragmentos de granos originaron un elevado IDv (tabla 4.21), si bien se pudo visualizar el pico característico que abarcó de 1 μm a 26 μm , con una moda en 6 μm . Cuando R2 fue de 2,54 p/p, la harina obtenida a los 15 minutos de molienda exhibió una distribución de tamaño de partícula monomodal, con un máximo en 120 μm , extendiéndose entre 1 μm y 832 μm , en contraste a lo observado cuando R2 fue de 1,2 p/p, para el mismo tiempo de molienda. Un resultado similar se apreció cuando el tiempo de molienda alcanzó los 25 minutos, pero con una moda superior (158 μm). Ambas muestras, logradas con una R2 de 2,54 p/p, revelan valores notablemente mayores a los obtenidos con 15 minutos de molienda y una R2 de 1,2 p/p.

El arroz procesado a 650 rpm – 15 min (R2: 2,54 p/p), proporcionó una DTP bimodal (figura 4.57), la primera fracción en volumen presentó un máximo en 11 μm y la segunda en 120 μm , además, esta última fue más significativa. De la misma forma, el incremento del tiempo de molienda a 20 minutos proporcionó una distribución en volumen bimodal, con picos en 11 μm y 367 μm . Así es que, tanto a 550 rpm como a 650 rpm, una relación en masa de agua/arroz de 2,54 p/p, proporciona harinas con granulometría y heterogeneidad más elevada, que las que se obtienen cuando R2 es de 1,2 p/p (tabla 4.21), pese a que el tiempo de molienda y de maceración es mayor, por lo que la estructura del grano debería fragilizarse aún más. Esto se podría explicar por el hecho de que el aumento de la cantidad de agua, disminuye las probabilidades de impacto de las bolas con los granos, dificultándose más, cuando las partículas son de menor tamaño.

Hay que mencionar también, que para un valor fijo de R2 de 2,54 p/p, el aumento del tiempo produce un incremento de tamaño, quizás por el hinchamiento de las partículas y principalmente de los gránulos de almidón, a causa de las temperaturas desarrolladas dentro de la jarra (53 °C a 550 rpm – 25 min, y 63 °C a 650 rpm – 20 min).

Al respecto, Li y colaboradores (2008a) encontraron al calentar suspensiones de almidón con diferente contenido de amilosa, a 60 °C, que la distribución cambiaba de bimodal a monomodal, y al elevarse la temperatura a 70 °C, el diámetro promedio se incrementaba de 4,8 μm a 8 μm , para almidón de arroz con contenido medio de amilosa.

Por consiguiente, el incremento de la relación en masa de agua/arroz permite extender el tiempo de molienda evitando el aumento excesivo de viscosidad del sistema. Sin embargo, esta estrategia no resulta satisfactoria para lograr una reducción de tamaño y de la dispersión de la distribución.

4.2.1.3. Cinética de molienda húmeda de arroz en el MPB

Con base en el análisis previo, se fijaron R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p), y se seleccionó la menor velocidad de rotación (450 rpm), para ilustrar la evolución del tamaño de partícula durante la molienda húmeda de arroz. En la figura 4.58 se presentan las distribuciones de tamaño de partícula en función del tiempo de molienda, junto con la DTP del control.

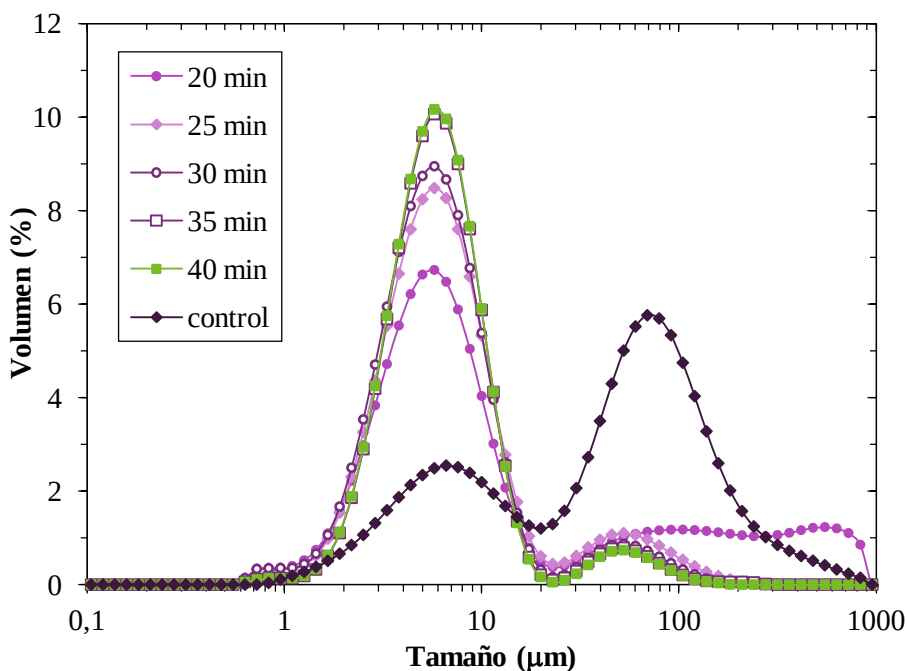


Figura 4.58. Distribución de tamaño de partícula. Cinética de molienda húmeda de arroz en el MPB a 450 rpm con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas y harina control.

El aumento del tiempo, promovió un incremento considerable de la homogeneidad de las harinas, menor IDv como se indica en la tabla 4.21. A partir de de los 25 minutos de molienda, no se observó diferencia en la mediana (Dv_{50}) y la DTP presentó dos modas, una de 6 μm y otra de 52 μm , con la primera fracción en volumen más importante que la segunda.

A modo de resumen, en la figura 4.59 se muestran las DTP de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, para el tiempo máximo de molienda correspondiente a las diferentes velocidades de rotación. Se incluyó con fines comparativos la DTP de las harinas de referencia.

Cabe destacar el carácter pregelatinizado de las harinas procesadas en el MPB (450 rpm – 40 min y 550 rpm – 15 min), señalado por la coincidencia entre la DTP de estas harinas y la DTP de la harina gelatinizada.

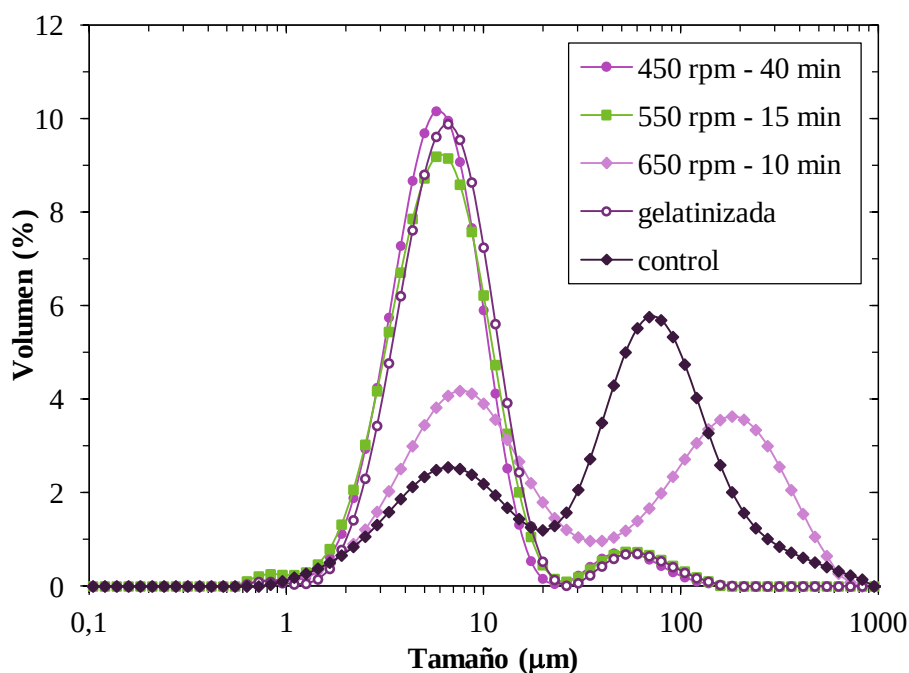


Figura 4.59. Distribución de tamaño de partícula de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas y de las harinas de referencia (control y gelatinizada).

Hasta el presente, no se han reportado en bibliografía antecedentes de molienda húmeda de arroz en MPB. No obstante, Araki y colaboradores (2009) analizaron harinas de arroz comerciales, elaboradas por molienda húmeda en molinos de chorro y de rodillos, y encontraron que las harinas procesadas en el molino de chorro presentaban una distribución polimodal (moda1: 20 μm , moda2: 60 μm , moda3: 150 μm), con las tres fracciones en volumen equiparables y una mediana de 38 μm ; en cambio, las harinas obtenidas en molinos de rodillos revelaron un pico entre 70 – 150 μm y un hombro a 20 μm , siendo la fracción del pico más importante que la del hombro, y el Dv50 varió entre 37 – 116 μm .

En comparación con ese datos de bibliografía, las harinas logradas en el presente trabajo, con R1 de 5 p/p y R2 de 1,2 p/p, exhibieron un Dv50 menor, y en contraste, una DTP bimodal con la primera fracción más importante. Se debe aclarar que en este trabajo, el análisis por difracción láser se realizó sobre la pasta (previo al liofilizado), y en el trabajo mencionado de Araki y colaboradores (2009) sobre la harina obtenida posterior al secado, tal como se comercializan. Este detalle experimental puede afectar los resultados del análisis de difracción láser, que constituye otro factor a tener en cuenta y pone de manifiesto las dificultades para realizar comparaciones con datos de bibliografía.

En conclusión puede afirmarse, que en la molienda húmeda en el MPB, el tiempo de maceración, el tiempo de molienda, la relación bolas/muestra y la relación agua/muestra, afectan la distribución de tamaño de partícula de la harina de arroz. Basándose en los ensayos realizados, las condiciones 450 rpm – 40 min y 550 rpm – 15 min, resultan equivalentes en cuanto a la DTP, sin embargo, el uso de 550 rpm tiene la ventaja de requerir menor tiempo de proceso.

4.2.2. Contenido de almidón dañado

Las muestras de harina obtenidas en el molino planetario de bolas por molienda húmeda, presentaron un contenido de almidón dañado (AD) considerablemente mayor que el del control, como se detalla en la tabla 4.22. Probablemente el menor tamaño de partícula alcanzado en el MPB (Dv50: 6,12 – 22,45 μm con R1 de 5 p/p y R2 de 1,2 p/p), en comparación con la molienda húmeda tradicional (Dv50: 54,95 μm) y la acción termomecánica de la molienda de alto impacto, propiciaron este aumento.

Tabla 4.22. Contenido de almidón dañado (AD) de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en función de las condiciones de molienda.

Muestra (rpm-min)	Mac.¹ (min)	R1² (p/p)	R2³ (p/p)	AD (g/100 g, b.s.)
450-30	150	5	1,2	12,79 $\pm$ 0,12 ^b
450-35	180	5	1,2	15,14 $\pm$ 0,34 ^c
450-40	210	5	1,2	n.d.
550-15	60	4,25	1,2	15,33 $\pm$ 0,19 ^c
550-15	60	5	1,2	20,01 $\pm$ 0,40 ^e
550-15	60	5,75	1,2	16,12 $\pm$ 0,17 ^d
650-10	30	5	1,2	23,75 $\pm$ 0,08 ^f
gelatinizada	60			n.d.
control	70			1,02 $\pm$ 0,05 ^a

¹ Tiempo de maceración *in situ*. ² Relación en masa de bolas/arroz. ³ Relación en masa de agua/arroz. n.d.: no determinado. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

En contraste, se ha informado que la molienda húmeda proporciona valores inferiores a los de otros métodos de molienda, ya que el agua absorbe el calor generado durante el proceso y el abundante contenido de humedad de los granos de arroz, da como resultado una estructura más blanda y susceptible al quebrado (Ngamnikom y Songsermpong, 2011).

Durante la maceración, la matriz de proteínas y otras sustancias se lixivian hacia afuera de la superficie de los gránulos, lo que resulta en harinas con menor proporción de AD y partículas más finas, que las obtenidas por ejemplo con la molienda seca (Chiang y Yeh, 2002). Ngamnikom y Songsermpong (2011) consiguieron valores de AD de $2,78 \pm 0,12$ g/100 g (b.s.), en harina de arroz elaborada por molienda húmeda en un molino coloidal, posterior a una maceración de 4 horas en agua. De la misma forma, Chiang y Yeh, (2002) lograron valores de AD inferiores al 1 g/100 g (b.s.), en harina de arroz procesada en un molino de piedra tradicional, con maceración previa en agua a 5 °C durante 120 horas. Sin embargo, en este trabajo la molienda de alta energía en un medio acuoso, proporcionó valores muy superiores, incluso a los de la molienda seca informado por otros autores, como por ejemplo Ngamnikom y Songsermpong (2011), quienes reportaron valores de AD de $11,43 \pm 1,10$ g/100 g (b.s.), en harina de arroz obtenida en un molino de martillos y $5,88 \pm 0,90$ g/100 g (b.s.), por molienda criogénica en un molino de martillos.

En concordancia con este trabajo, el incremento del contenido de almidón dañado también fue observado por Martínez-Bustos y colaboradores (2007), al moler almidón de mandioca y jícama con alto contenido de humedad (55 % a 67 %), en un molino de alto impacto, cuyos incrementos de AD fueron del 215 % (de 2,33 a 7,35 g/100 g, b.s.) y 242 % (de 2,13 a 7,29 g/100 g, b.s.) respectivamente.

Por lo que se refiere a la relación en masa de bolas/arroz (R1), se encontró a 550 rpm – 15 min y R2 fija (1,2 p/p), el siguiente orden de R1 decreciente en AD: 5 p/p > 5,75 p/p > 4,25 p/p, equivalente al orden creciente hallado para la mediana de la distribución de tamaño de partícula en volumen, como se mostró en la sección 4.2.1. A su vez, la prolongación del tiempo de molienda de 30 a 35 minutos, produjo una elevación del AD del 18 % a 450 rpm con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas. Finalmente, se debe mencionar que la velocidad de rotación de la jarra, tiene una prominente influencia en el contenido de almidón dañado de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el molino planetario. Dado que para R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, cuando se incrementó la velocidad en 100 rpm el AD creció un 56 % (450 rpm – 30 min a 550 rpm – 15 min) y cuando lo hizo en 200 rpm fue de 86 % (450 rpm – 30 min a 650 rpm – 10 min), independientemente del tiempo de molienda y de maceración *in situ*.

Por lo expuesto, se puede afirmar que, en la molienda húmeda de arroz en el molino planetario de bolas, no es notorio el efecto protector del agua sobre los gránulos de almidón. Por el contrario, el alto grado de pulverización obtenido se manifiesta por el

incremento significativo del contenido de almidón dañado, el cual depende de las condiciones de molienda empleadas.

4.2.3. Propiedades de hidratación

4.2.3.1. Índice de absorción de agua

Los valores del IAA de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el molino planetario a 550 rpm – 15 min, con una relación en masa de bolas/arroz fija (R2: 1,2 p/p), en función de la relación en masa de agua/arroz (R2), se esquematizan en la figura 4.60.A. El IAA determinado a 30 °C varió entre 2,61 – 2,79 g/g b.s., no observándose diferencias significativas ($p < 0,01$) cuando R1 se incrementó de 4,25 p/p a 5,75 p/p.

En cambio, cuando R1 permaneció fija en 5 p/p y R2 aumentó de 1,2 p/p a 2,54 p/p (figura 4.60.B.), se evidenció un incremento significativo ($p < 0,01$) del IAA del 46 %, al pasar de 15 minutos a 25 minutos de molienda a 550 rpm; y del 120 %, al elevar el tiempo de molienda de 10 minutos a 20 minutos a 650 rpm. Esto puede ser atribuido al ascenso de la temperatura (a 550 rpm – 25 min los granos alcanzaron 53 °C y a 650 rpm – 20 min, 63 °C) y a la molienda de alto impacto (calor local y daño mecánico), como se esperaba, a pesar de que los gránulos se fragilizan durante la maceración *in situ*.

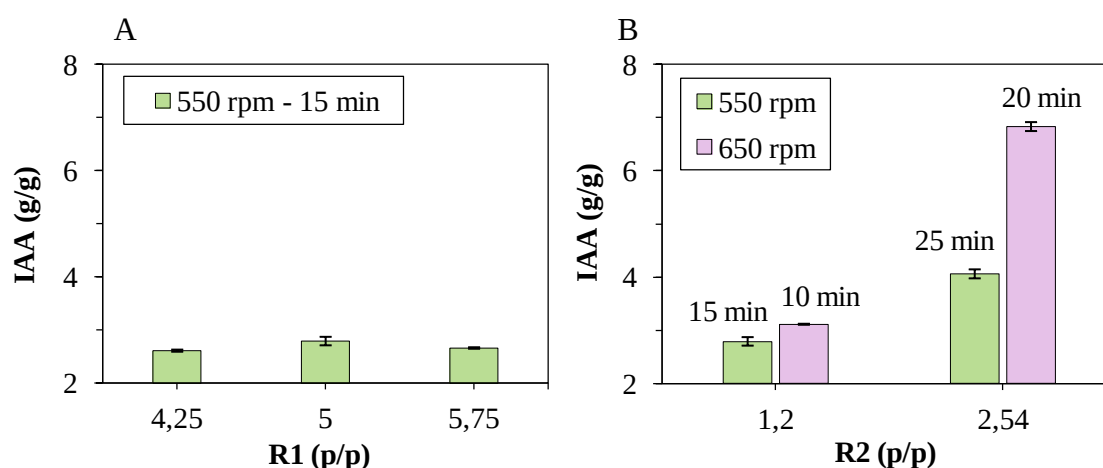


Figura 4.60. Índice de absorción de agua (IAA) de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en el MPB en función de **A)** la relación en masa de bolas/arroz (R1) con R2 (1,2 p/p) fija **B)** la relación en masa de agua/arroz (R2) con R1 (5 p/p) fija.

La elevada fricción que se origina en la molienda provoca la pérdida de la estructura ordenada en los gránulos de almidón, los que sufren diferentes grados de daño y el aumento del IAA. La molienda de alta energía implica el movimiento en tres direcciones

ortogonales, las cuales producen una geometría de colisión que conduce a la fragmentación de las partículas, con diferentes tipos de fracturas dependiendo del ángulo de impacto (Maurice y Courtney, 1990). En sistemas acuosos, la suspensión ofrece resistencia a la trayectoria de los elementos de molienda (bolas) y la velocidad de la colisión se reduce (Martínez-Bustos *et al.*, 2007).

Por consiguiente, la modificación de la relación en masa de bolas/arroz ensayada, no incide en la capacidad de absorción de agua de las harinas, elaboradas en el MPB, pero sí lo hace la relación en masa de agua/arroz.

En otro sentido, la prolongación del tiempo de molienda con R1 y R2 fijas (5 p/p y 1,2 p/p, respectivamente) a 450 rpm (figura 4.61.A.), reveló un crecimiento del IAA del 6 %, cuando el tiempo de molienda pasó de 20 minutos a 25 minutos; y del 4 %, cuando pasó de 25 minutos a 30 minutos; por el contrario, no se visualizaron diferencias de 30 minutos a 40 minutos.

A modo de resumen, en la figura 4.62.B. se muestran los valores del IAA de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, para el tiempo máximo de molienda correspondiente a las diferentes velocidades de rotación. Se incluyó con fines comparativos el IAA de las harinas de referencia.

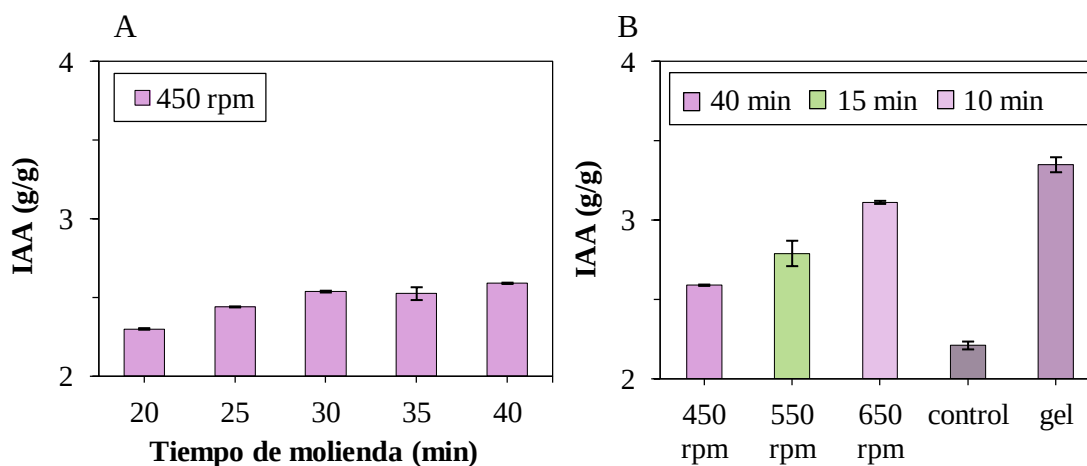


Figura 4.61. Índice de absorción de agua (IAA) de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en el MPB con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas en función de **A)** el tiempo de molienda **B)** las condiciones de molienda y de las harinas de referencia (control y gelatinizada).

El IAA de las harinas obtenidas en el MPB varió entre $2,59 \pm 0,01$ g/g, b.s. (450 rpm $\pm$ 40 min) y $3,11 \pm 0,01$ g/g, b.s. (650 rpm $\pm$ 10 min); estos valores resultaron mayores que el

perteneciente al control ($2,21 \pm 0,02$ g/g, b.s.), e inferiores al de la harina gelatinizada ($3,35 \pm 0,05$ g/g, b.s.), lo que denota el carácter pregelatinizado de las harinas procesadas, por molienda húmeda en el molino planetario. Al respecto, Chiang y Yeh (2002) informaron valores de IAA entre 2,1 – 2,9 g/g b.s., para harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en un molino de piedra tradicional, posterior a la maceración de los granos en agua bajo diferentes condiciones (a 25 °C y 0 – 480 min; 5 °C y 3 – 168 h).

El incremento de la absorción de agua se debe probablemente a un mayor nivel de daño en los gránulos de almidón, como lo demuestra la correlación significativa ($p < 0,01$) y positiva encontrada en este trabajo, entre el índice de absorción de agua y el contenido de almidón dañado (IAA–AD, $r = 0,95$). En la figura 4.62, se representa la relación lineal obtenida entre el índice de absorción de agua y el contenido de almidón dañado. Chiang y Yeh (2002) también hallaron una dependencia del IAA con el AD, aunque en este caso no fue lineal y concluyeron que, cuando el contenido de almidón dañado era menor al 5 %, el IAA estaba en el rango de 2,1 – 2,3 g/g b.s., por lo que esta información sería útil en el diseño de las condiciones de maceración, para preparar harinas especiales destinadas a productos específicos.

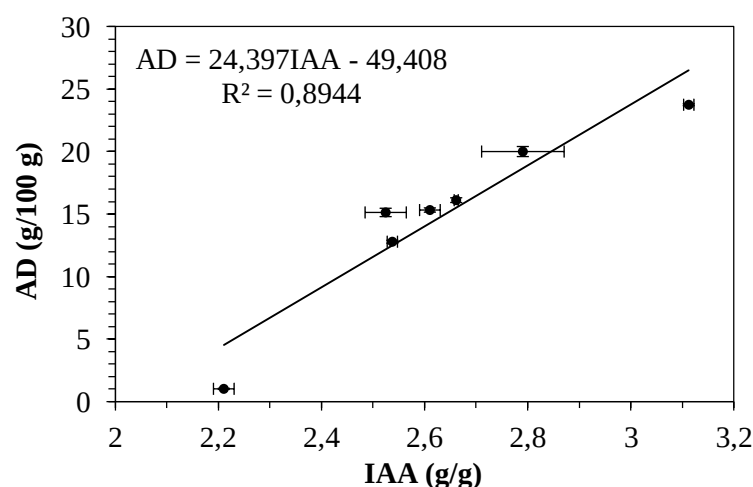


Figura 4.62. Relación entre el índice de absorción de agua (IAA) y el contenido de almidón dañado (AD).

Por lo dicho, esta propiedad funcional es fuertemente influenciada por el nivel de hidratación de los granos de arroz, la velocidad de rotación de la jarra y el tiempo de molienda. El agua probablemente entra en las regiones amorfas de los gránulos de almidón intactos, pero no puede penetrar o lo hace con dificultad en las regiones cristalinas

restantes, debido al fuerte enlace entre las cadenas (Multon, Bizot y Savet, 1980). Es muy posible, que la interrupción de la región cristalina, que induce la molienda de alta energía, aumente la exposición y la disponibilidad de los grupos hidroxilos en el almidón, para formar enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua y en definitiva el agua tiene una mayor oportunidad para hidratar el interior del gránulo (Devi *et al.*, 2009).

4.2.4. Propiedades térmicas

Los parámetros térmicos de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB y de las harinas de referencia, se estudiaron por calorimetría diferencial de barrido (DSC), en la tabla 4.23 se exponen los resultados.

Tabla 4.23. Parámetros térmicos de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda.

Muestra (rpm-min)	R1 ¹ (p/p)	R2 ² (p/p)	T _o (°C)	T _p (°C)	T _e (°C)	ΔH (J/g, b.s.)	GG (%)
550-15	4,25	1,2	63,24 ± 0,2 ^d	67,02 ± 0,5 ^{a,b}	71,52 ± 0,4 ^{b,c}	9,15 ± 0,2 ^e	18,4
550-15	5	1,2	63,41 ± 0,3 ^d	67,17 ± 0,5 ^b	71,11 ± 0,5 ^{a,b}	9,55 ± 0,5 ^{e,f}	14,9
550-15	5,75	1,2	62,58 ± 0,1 ^{b,c,d}	66,61 ± 0,3 ^{a,b}	71,01 ± 0,3 ^{a,b}	9,09 ± 0,4 ^e	19,0
550-25	5	2,54	63,18 ± 0,2 ^{c,d}	66,41 ± 0,4 ^{a,b}	70,14 ± 0,4 ^a	2,35 ± 0,1 ^a	79,0
650-10	5	1,2	62,36 ± 0,1 ^{b,c}	65,91 ± 0,1 ^a	70,21 ± 0,2 ^a	4,25 ± 0,2 ^b	62,2
650-20	5	2,54	-	-	-	-	100
450-20	5	1,2	61,45 ± 0,4 ^a	66,78 ± 0,2 ^{a,b}	72,4 ± 0,3 ^c	10,20 ± 0,3 ^f	9,1
450-25	5	1,2	61,24 ± 0,3 ^a	66,72 ± 0,5 ^{a,b}	72,17 ± 0,2 ^{b,c}	9,96 ± 0,1 ^{e,f}	11,2
450-30	5	1,2	61,18 ± 0,3 ^a	66,56 ± 0,3 ^{a,b}	71,78 ± 0,5 ^{b,c}	9,98 ± 0,3 ^{e,f}	11,1
450-35	5	1,2	61,47 ± 0,5 ^a	66,74 ± 0,5 ^{a,b}	71,16 ± 0,3 ^{a,b}	7,61 ± 0,5 ^d	32,2
450-40	5	1,2	61,04 ± 0,2 ^a	65,88 ± 0,4 ^a	71,48 ± 0,1 ^{b,c}	5,33 ± 0,3 ^c	52,5
gelatinizada			-	-	-	-	100
control			61,85 ± 0,1 ^{a,b}	67,39 ± 0,4 ^b	72,53 ± 0,6 ^c	11,22 ± 0,2 ^g	0

¹ Relación en masa de bolas/arroz. ² Relación en masa de agua/arroz. T_o, T_p, T_e: temperaturas de inicio, pico y finalización de la gelatinización, ΔH: entalpía de gelatinización, GG: grado de gelatinización. -: no detectado. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente (p<0,05).

La entalpía de gelatinización (ΔH) de todas las muestras elaboradas en el MPB, fue inferior a la del control, mientras que el grado de gelatinización (GG) establecido a partir de la ecuación 3.11, fue superior.

En general, se han descrito que los parámetros de DSC reflejan la apariencia de la estructura cristalina, determinada por la amilosa y la amilopectina en los gránulos de

almidón. Cuanto mayor es la estructura cristalina, que permanece en los gránulos de almidón componente mayoritario de la harina de arroz, más elevada es la entalpía de gelatinización (Chen *et al.*, 1999). Muchos investigadores informaron de la disminución del ΔH en muestras de harina de arroz, cuando los gránulos de almidón fueron dañados, a causa del método de molienda (Chen *et al.*, 1999; Yoenyongbuddhagal y Noomhorm, 2002). En particular, Martínez-Bustos y colaboradores (2007) comprobaron la reducción del ΔH y el incremento del GG, en almidón de jícama y de mandioca con elevado contenido de humedad, previamente procesados en un molino de alta energía. No obstante, es preciso señalar que la falta de trabajos publicados respecto a la molienda húmeda, para la obtención de harinas o de almidones, y particularmente de harina o de almidón de arroz, dificulta las comparaciones bibliográficas.

Por lo que se refiere a las temperaturas de gelatinización, en el presente trabajo se evidenció un descenso de la temperatura de pico (T_p) y de finalización (T_e) de las harinas obtenidas en el MPB, en comparación con la muestra control, sin embargo, la temperatura de inicio fue en general levemente superior, a excepción de las harinas procesadas a 450 rpm entre 20 minutos y 30 minutos, las que mostraron temperaturas similares a las del control. Esto también fue observado por Martínez-Bustos y colaboradores (2007), lo que indica que la molienda de alto impacto en un medio acuoso, desorganiza el orden cristalino y los arreglos del orden de las dobles hélices del almidón, presente en la harina.

Por otro lado, la modificación de la relación en masa de bolas/arroz (R_1), no manifestó cambios en los parámetros térmicos a 550 rpm – 15 min, con una relación en masa de agua/arroz (R_2) fija de 1,2 p/p, pero sí lo hizo el incremento de R_2 con R_1 (5 p/p) fija, y el consiguiente aumento del tiempo de molienda. Cuando R_2 pasó de 1,2 p/p a 2,54 p/p, a 550 rpm, el GG se elevó considerablemente hasta el 79 %, y a 650 rpm la harina fue completamente gelatinizada en 20 minutos de molienda. Martínez-Bustos y colaboradores (2007) informaron, que el grado de gelatinización del almidón de jícama procesado en un molino de alto impacto, se elevó del 17 % al 42 %, cuando el contenido de humedad pasó del 60 % al 65 % y el tiempo de molienda se incrementó de 8 minutos a 10 minutos. También, para el mismo tiempo de molienda (15 minutos) y una variación del contenido de humedad del 60 % al 67 %, el GG pasó del 19 % al 40 %, en almidón de mandioca tratado en similares condiciones. La menor gelatinización encontrada por estos autores es coherente con la limitación de agua, respecto al presente trabajo.

Por consiguiente, es evidente que pequeñas variaciones en el contenido de agua durante la producción de las harinas de arroz, o de compuestos con alto contenido amiláceo, en un molino planetario de bolas, producen grandes cambios en el grado de gelatinización del almidón.

En almidones pregelatinizados preparados en condiciones suaves (sin fuerza de corte sobre los granos hinchados), la fracción de amilosa está parcialmente solubilizada por lixiviación, y los componentes del almidón son ligeramente degradados y probablemente siguen conectados dentro de una matriz continua (Martínez-Bustos *et al.*, 2007). Por lo tanto, estos productos son más accesibles al agua, se dispersan fácilmente en agua fría para formar suspensiones moderadamente estables y pueden ser utilizados en alimentos y en la industria textil (Bonazzi *et al.*, 1996). En este trabajo, se encontró una relación no lineal entre el grado de gelatinización y el índice de absorción de agua (IAA, determinado en la sección 4.2.3.1), con un ajuste satisfactorio a un modelo polinómico de tercer grado ($R^2 = 0,95$; $p < 0,01$), el que reveló un incremento del IAA, principalmente cuando el GG fue superior al 50 % (figura 4.63).

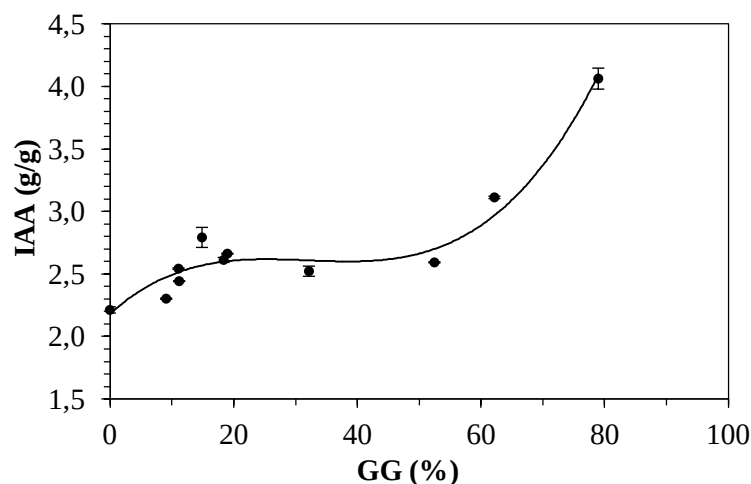


Figura 4.63. Relación entre el grado de gelatinización (GG) y el índice de absorción de agua (IAA).

La prolongación del tiempo de molienda, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, ocasionó un aumento significativo ($p < 0,01$) del GG desde los 35 minutos de molienda a 450 rpm, probablemente en razón de las temperaturas desarrolladas y el extenso tiempo de maceración *in situ*, pues a 450 rpm – 35 min se alcanzó una temperatura en el interior de la jarra de 42 °C, con un tiempo de maceración de 180 minutos y a 450 rpm – 40 min, 44 °C

y 210 minutos. Cuando la molienda llegó a los 35 minutos, la viscosidad de la suspensión formó una pasta, aunque todavía no era tan espesa como para adherir los elementos de molienda (bolas) a la pared de la jarra. A partir de este punto, la mayor fricción potencia la acción termomecánica del MPB.

Por último, en la figura 4.64 se visualizan los termogramas de las harinas elaboradas por molienda húmeda en el MPB, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, para el tiempo máximo de molienda correspondiente a las diferentes velocidades de rotación y los termogramas de las harinas de referencia.

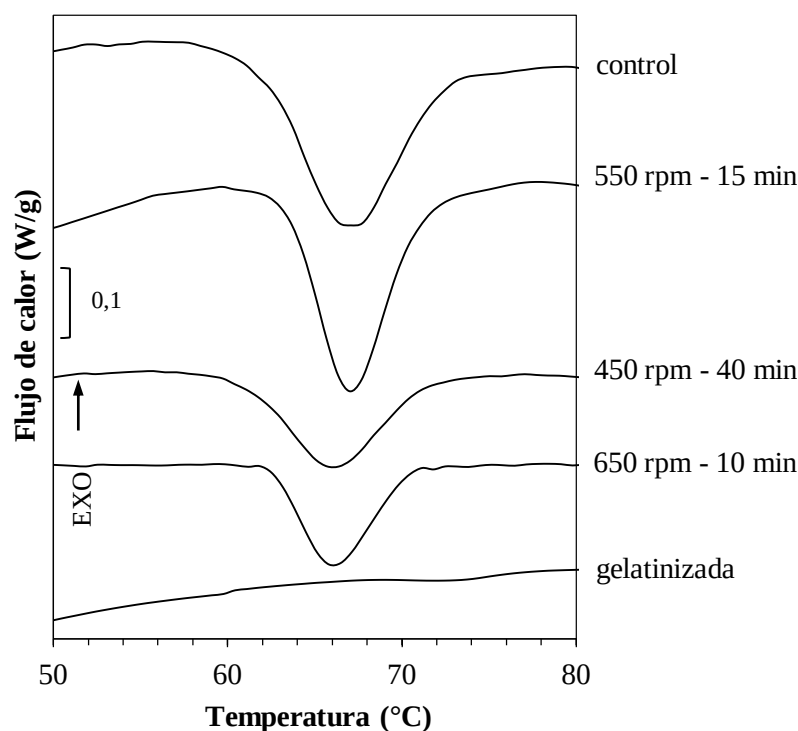


Figura 4.64. Termograma de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas; y de las harinas de referencia (control y gelatinizada).

Las muestras exhibieron un perfil con una sola transición endotérmica, entre 30 °C y 90 °C, típica del proceso de gelatinización de suspensiones con elevado contenido de agua. En contraste, la muestra denominada *gelatinizada*, no presentó ningún pico en el rango de temperatura estudiado como era de esperar, ya que fue obtenida a partir del arroz gelatinizado previo al proceso de molienda.

En vista de los termogramas que mostraron las harinas a 450 rpm – 40 min, 550 rpm – 15 min y 650 rpm – 10 min, se obtuvieron similares características al control a 550 rpm, en

cambio las harinas de los extremos de velocidad experimentales, fueron modificadas de manera notoria. En consecuencia, una velocidad alta o tiempos prolongados, tienen efecto similar sobre las temperaturas y entalpía de gelatinización del almidón presente en la harina de arroz, elaborada por molienda húmeda en un molino planetario.

4.2.5. Grado de Cristalinidad

El efecto de la relación en masa de agua/arroz (R2) sobre el espectro de difracción de rayos X, de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, a 550 rpm con R1 fija (5 p/p), se muestra en la figura 4.65, junto con el difractograma del control.

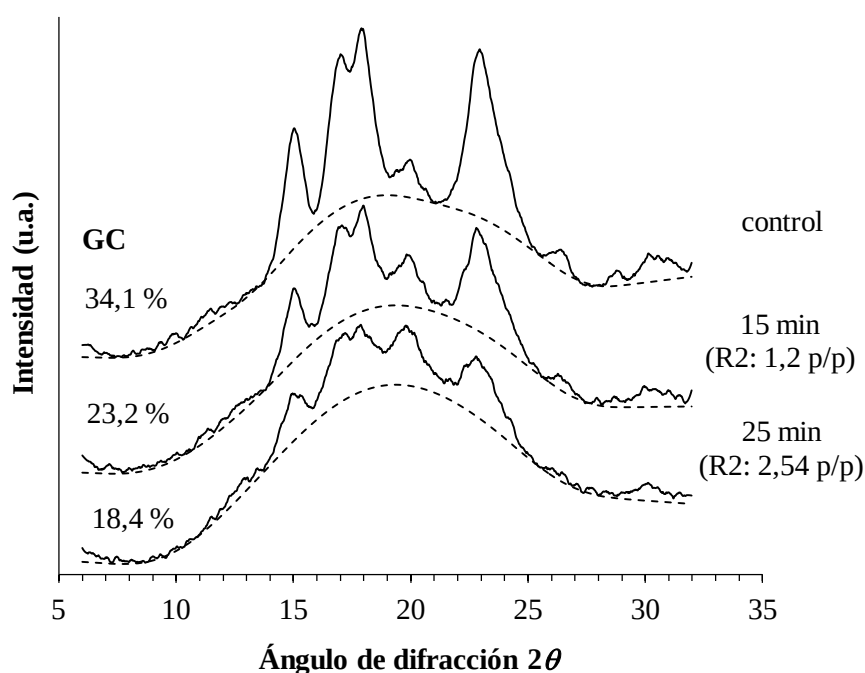


Figura 4.65. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad, de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB a 550 rpm, con una relación en masa de bolas/arroz fija (R1: 5 p/p); y de la harina control.

La harina control, mostró un patrón tipo A, con picos agudos en torno a 15 °, 17 °, 18 ° y 23 ° en 2θ y picos débiles en 11,5 °; 20 °; 26,7 °; y 30,4 ° en 2θ (Prasad, Singh y Anil, 2012).

El procesamiento de los granos de arroz con agua en el molino planetario, ya sea con R2 de 1,2 p/p o de 2,54 p/p, originó un aumento en la intensidad a 20 ° en 2θ , lo que se asocia a un patrón de cristalinidad tipo V. El desarrollo de este patrón sugiere la posible formación del complejo lípido-amilosa, durante la molienda húmeda en el MPB. Se ha informado que

el almidón de arroz tratado hidrotérmicamente (calor-húmedo) presenta este tipo de patrón (Shih *et al.*, 2007), al igual que la harina preparada a partir del arroz parbolizado bajo condiciones severas (Derycke *et al.*, 2005) o cocido (Rewthong *et al.*, 2011). Los cambios que se producen por la gelatinización del almidón nativo de los cereales, pueden ser observados por difracción de rayos X, donde el patrón A desaparece y surge el patrón V, a excepción de los almidones waxy (amilosa < 2 %) o que no contienen lípidos (Colonna, y Buleon, 2010).

Por otro lado, la muestra control exhibió un mayor grado de cristalinidad (GC) que las muestras preparadas en el MPB, con R2 de 2,54 p/p y 1,2 p/p. A su vez, el tiempo de molienda más prolongado que permitió una R2 de 2,54 p/p, con relación a 1,2 p/p (25 min *versus* 15 min), reflejó una cristalinidad 20 % menor.

Las harinas obtenidas en el MPB a 450 rpm, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, manifestaron también una reducción del GC con el incremento del tiempo de molienda (figura 4.66), aunque en este caso las diferencias fueron menos importantes, disminuyendo un 9 % entre 20 minutos y 40 minutos.

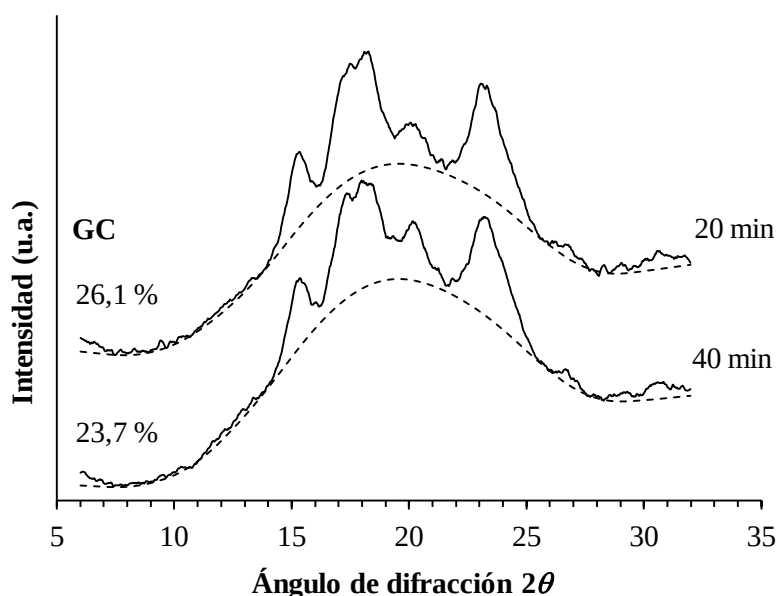


Figura 4.66. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad, de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB a 450 rpm, con una relación en masa de bolas/arroz (R1: 5 p/p); y de agua/arroz (R2: 1,2 p/p) fijas.

Sanguanpong y colaboradores (2003) realizaron una hidrólisis ácida o enzimática al almidón de mandioca, previa a la molienda en un molino de bolas, y encontraron un elevado grado de disgregación (3 – 8 μ m) con reducción de la cristalinidad, análogo a lo

obtenido en este trabajo por molienda de alto impacto, sin embargo, el almidón de mandioca conservó su patrón de difracción.

En la figura 4.67 se resume el efecto de la velocidad de rotación de la jarra y del tiempo de molienda asociado, sobre los espectros de difracción de rayos X de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, y se incluye el difractograma de la muestra control como referencia. Las harinas preparadas en el molino planetario exhibieron un GC inferior al control, con una pérdida de cristalinidad del 30 – 35 %, además, no se encontró diferencia significativa entre 450 rpm – 40 min y 550 rpm – 15 min, pero se registró un leve aumento del GC de estas dos con respecto a 650 rpm – 10 min. Al mismo tiempo, pudo observarse en los tres espectros un crecimiento de la intensidad a 20° en 2θ , en comparación con el control.

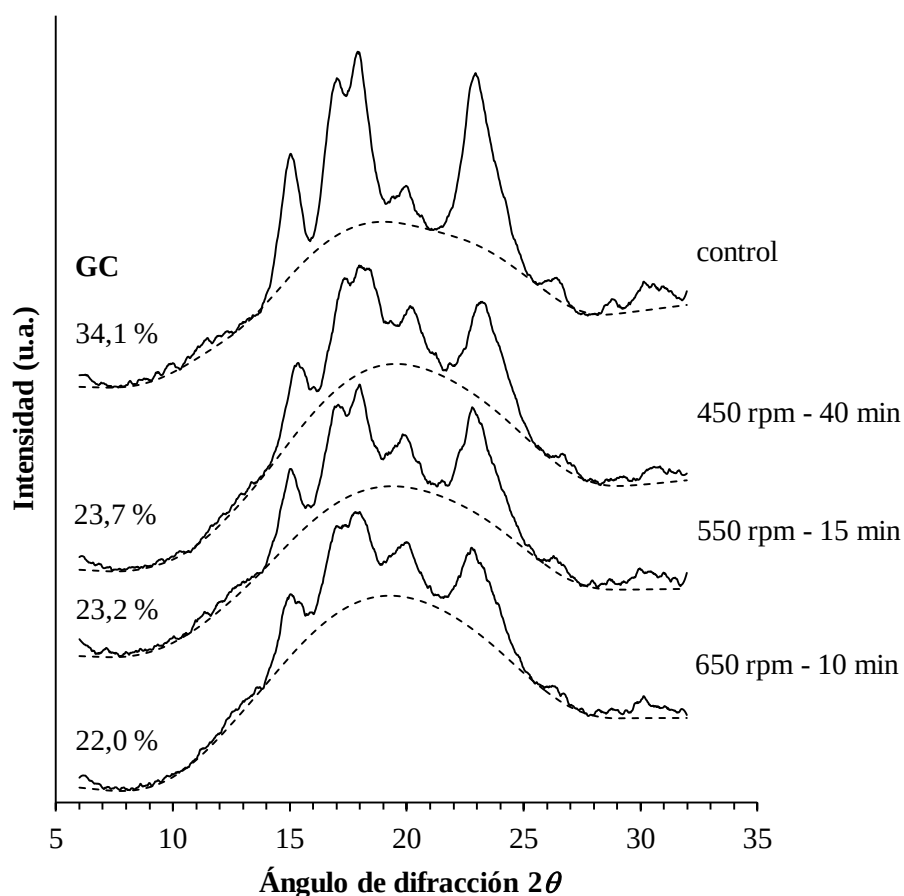


Figura 4.67. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad, de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con una relación en masa de bolas/arroz (R1: 5 p/p) y de agua/arroz (R2: 1,2 p/p) fijas; y de la harina control.

En vista de estos datos, la molienda de alto impacto promueve el desorden molecular y reduce la cristalinidad. Simultáneamente, los lípidos existentes en el interior o en la superficie de los granos de arroz, podrían formar compuestos de inclusión con la amilosa, localizándose dentro de la cavidad helicoidal, producto de la gelatinización parcial del almidón.

4.2.6. Microscopía electrónica de barrido

En la figura 4.68 se muestra la microestructura de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con R2 de 1,2 p/p, y de la harina control.

Se observó que la muestra control, macerada en agua a 35 °C y molida en una procesadora de cuchillas, está constituida por gránulos de almidón poligonales y cuerpos proteínicos esféricos. Estos cuerpos de proteínas, con un tamaño aproximado de 3 μm (1), se unen a la superficie de los gránulos de almidón y rellenan los espacios entre los gránulos (Juliano y Bechtel, 1985). La maceración en agua produce el debilitamiento de la interacción proteína-almidón y reduce así la dureza del grano de arroz, facilitando la liberación de los constituyentes del endospermo (Chiang y Yeh, 2002). Las harinas obtenidas en el MPB a 450 rpm – 40 min y a 550 rpm – 15 min, revelaron la pérdida de la integridad de algunos gránulos de almidón, característico de una gelatinización parcial (Da Rosa Zavareze *et al.*, 2010). La muestra procesada en el MPB a 650 rpm – 10 min, exhibió una mayor pérdida de la integridad física con relación a las harinas anteriormente mencionadas. Los gránulos presentaron una forma irregular, asociados a pequeñas partículas amorfas (2) de igual manera que se visualizó a 450 rpm – 40 min.

Durante la maceración *in situ* los gránulos de almidón absorben agua y se hinchan, volviéndose más susceptibles a la fragmentación mecánica. Los gránulos fragmentados y los intactos, cuando se gelatinizan, se adhieren a los demás para formar una matriz, lo que aumenta la viscosidad, permitiendo su reasociación al enfriarse (Martínez-Bustos *et al.*, 2007).

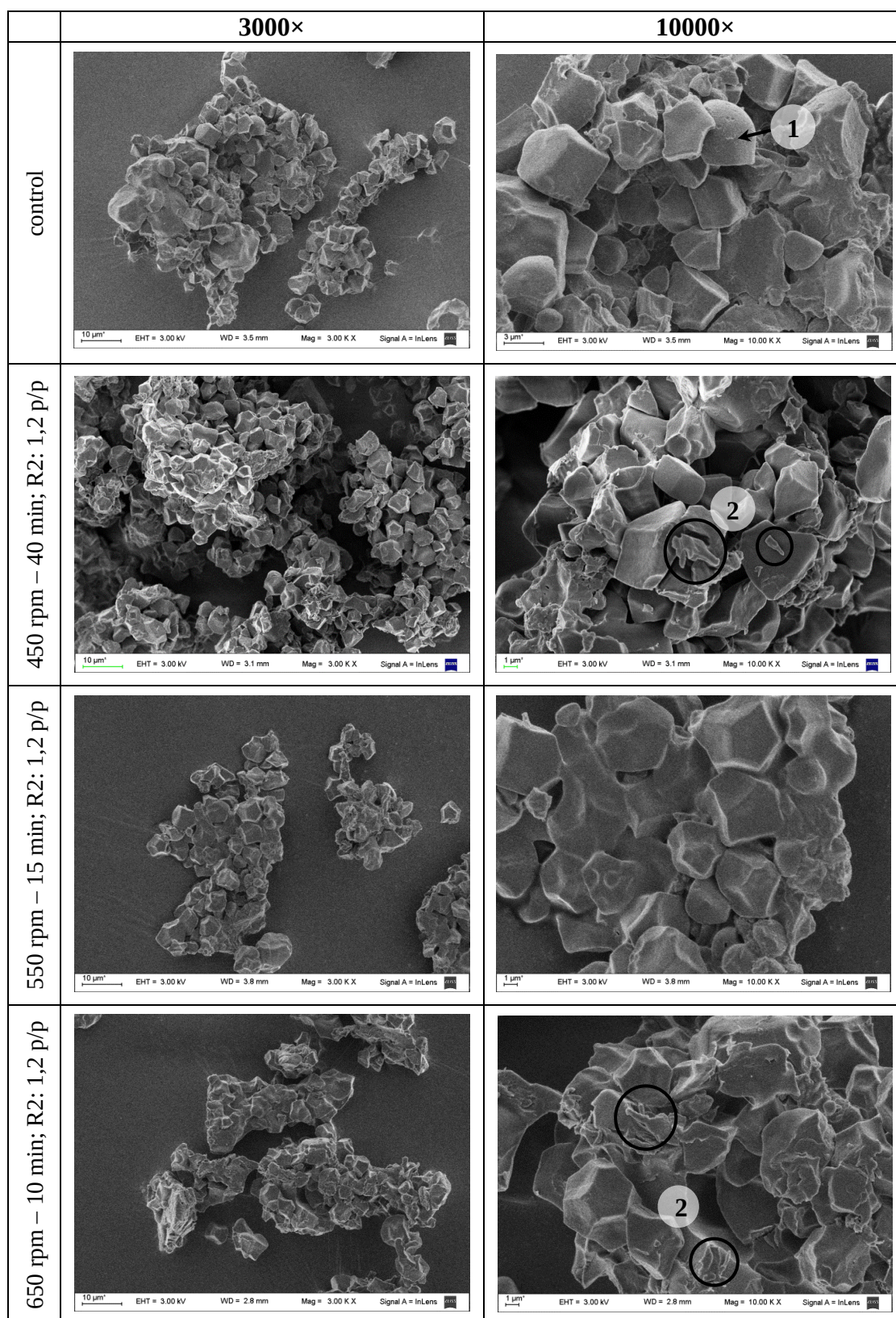


Figura 4.68. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en el MPB (R1: 5 p/p) y de la harina control. (1) Cuerpo proteico (2) fragmentos de partículas amorfas.

La figura 4.69 presenta la microestructura de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB con una R2 mayor (2,54 p/p), que evita el aumento excesivo de la viscosidad del sistema, y de la harina gelatinizada.

Cuando la molienda húmeda se extiende, producto de una mayor relación en masa de agua/arroz (R2), se aprecia una fusión de los componentes del grano. Así es que a 550 rpm – 25 min, se logró distinguir con dificultad la estructura de unos pocos gránulos absorbidos en la matriz amorfa y a 650 rpm – 20 min, el calor generado durante la molienda y la elevada energía involucrada, permitió el desarrollo de un líquido fundido altamente viscosos, en el que no se observaron los distintos componentes de manera diferenciada.

Por otra parte, la harina gelatinizada, obtenida a partir del arroz *gelatinizado previo al proceso de molienda*, mostró gránulos fusionados, si bien todavía fue posible diferenciar algunos, en contraste con lo sucedido a 650 rpm – 20 min, aunque ambas muestras se gelatinizaron completamente (sección 4.2.4). Algunos autores informaron, que la desestructuración completa de dichos gránulos se consigue cuando se somete la muestra a temperaturas de autoclave, acelerándose este proceso de manera considerable si además se agita violentamente (Valdés Martínez, 2006; Takahashi *et al.*, 2005). Esto demuestra el potencial del MPB para obtener harinas pregelatinizadas, a temperaturas de subgelatinización, dado que la máxima temperatura alcanzada en el molino fue de 63 °C (650 rpm – 20 min).

Luego de la molienda en un molino de alto impacto, la morfología de las harinas de arroz manifestó cambios importantes, a causa del daño mecánico, que transformó una estructura ordenada en una desordenada a través de la rotura de los enlaces intermoleculares. Al respecto, otros autores encontraron similares cambios morfológicos al moler almidón de jícama y de mandioca, con un gran contenido de humedad (55 % a 67 %), en un molino de alta energía a 1200 rpm – 10 min y a 1200 rpm – 15 min, respectivamente (Martínez-Bustos *et al.*, 2007).

Es de esperar, que la modificación física ocasionada por la molienda de alta energía, propuesta en este trabajo, tenga impacto en el comportamiento funcional de las harinas, y en particular sobre sus propiedades reológicas.

Los resultados hallados de la microscopía electrónica de barrido, corroboran el grado de gelatinización (GG) determinado por calorimetría diferencial de barrido (sección 4.2.4), siendo el orden creciente de daño térmico establecido a través del GG: control < 550 rpm –

15 min < 450 rpm – 40 min < 650 rpm – 10 min < 550 rpm – 25 min < gelatinizada = 650 rpm – 20 min.

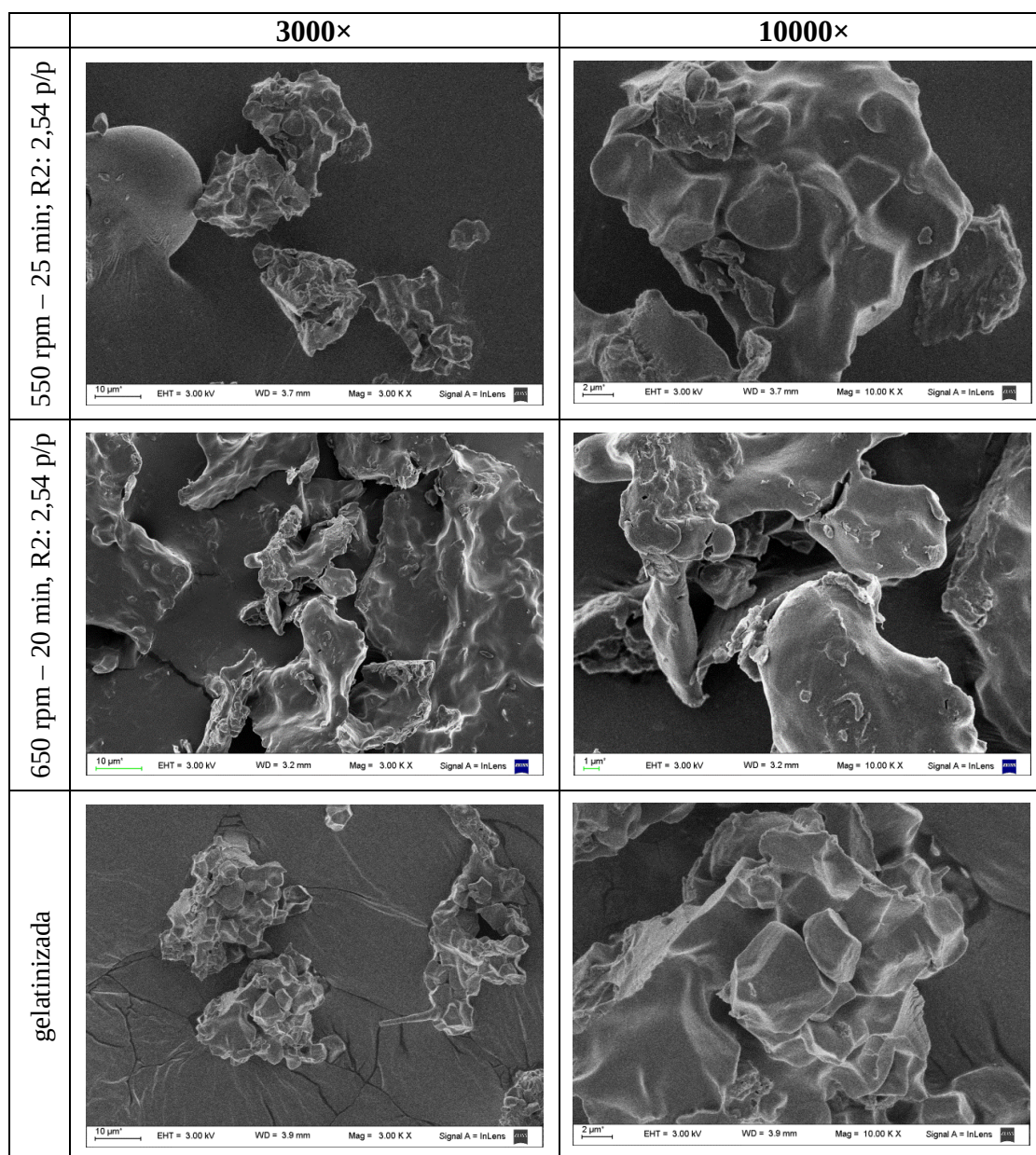


Figura 4.69. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en el MPB (R1: 5 p/p) y de la harina gelatinizada.

4.2.7. Espectroscopia por energía dispersiva

La harina de arroz obtenida en el molino planetario de bolas, en la condición más severa de proceso (650 rpm – 20 min; R1: 5 p/p; R2: 2,54 p/p), se analizó mediante espectroscopia por energía dispersiva (EDS). Con el objeto de establecer la composición de la muestra y

verificar su posible contaminación por parte del medio de molienda, un grave problema citado en bibliografía, que afecta a los molinos de alta energía, y es propiciado por el pequeño tamaño de las partículas y la disponibilidad de grandes áreas superficiales que se forman durante el proceso (Suryanarayana, 2001).

En la figura 4.70 se presenta el resultado del microanálisis por EDS, el cual reveló la presencia de carbono y oxígeno y no detectó trazas del material de los accesorios de molienda. Probablemente los tiempos reducidos de molienda y las pausas empleadas, así como el material de las bolas y de la jarra seleccionado, influyeron en la pureza de la harina de arroz elaborada por molienda húmeda en el MPB.

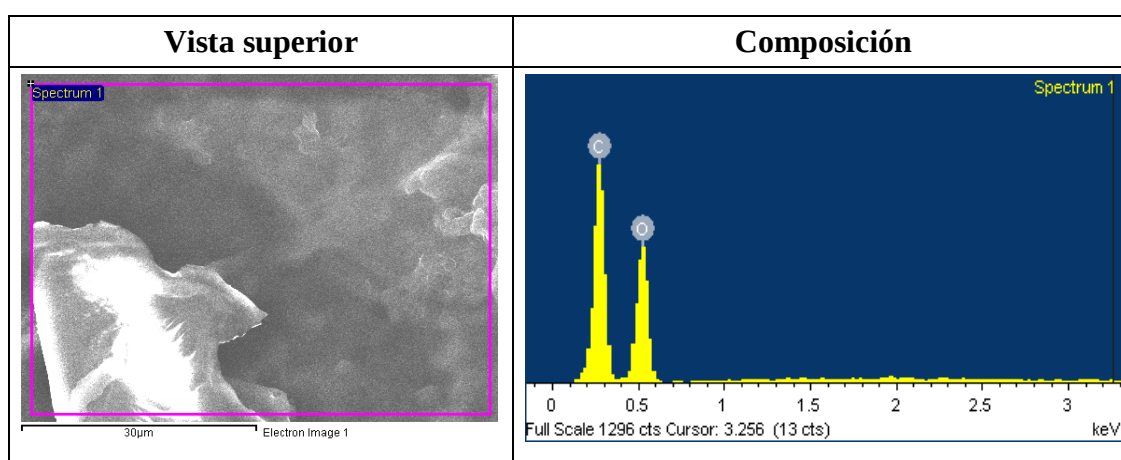


Figura 4.70. Imagen SEM y EDS de la harina de arroz obtenida por molienda húmeda (650 rpm – 20 min; R1: 5 p/p; R2: 2,54 p/p) en el MPB.

4.2.8. Propiedades de pasta

Las propiedades de pasta son una característica tecnológica importante, en la evaluación de la calidad de las harinas de arroz (Ramirez Ascheri *et al.*, 2012).

Cuando el almidón se calienta en agua, atraviesa algunos cambios físicos y químicos, tales como el hinchamiento, la rotura granular, la pérdida de cristalinidad y la lixiviación de amilosa (Lii *et al.*, 1996).

Las propiedades de pasta de las harinas de arroz son dependientes de la rigidez de los gránulos de almidón, que a su vez afecta la capacidad de hinchamiento de los gránulos (Sandhya Rani y Bhattacharya, 1989) y la cantidad de amilosa que lixivia en la solución (Morris, 1990). Además son influenciadas por la proporción de amilosa/amilopectina y por los constituyentes menores, tales como las proteínas y los lípidos (Debet y Gidley, 2006).

En la tabla 4.24 se presentan los parámetros viscoamilográficos de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con una relación en masa de bolas/arroz fija (R1: 5 p/p), y los parámetros de las harinas de referencia. Todas las muestras procesadas en el molino planetario exhibieron menor pico de viscosidad (PV), viscosidad media (VM), viscosidad final (VF), viscosidad de rompimiento (BD) y viscosidad de recuperación (SB), que la harina control. Wadchararat, Thongngam y Naivikul (2006) encontraron una reducción en estos parámetros, cuando la harina de arroz elaborada por molienda húmeda y con 60 % de humedad, fue pregelatinizada en un secador de tambor. Después de la modificación física, diferentes variedades de harinas de arroz mostraron la misma tendencia, debido al hecho de que la pregelatinización ocasionó la desorganización de los gránulos, y en consecuencia, cuando se volvieron a calentar durante el ensayo, se observó un adelgazamiento de las suspensiones (Wadchararat *et al.*, 2006). Sin embargo estos autores, también hallaron una reducción considerable de la temperatura de pasta (TP), por ejemplo, para una variedad con alto contenido de amilosa, TP pasó de 83,95 °C a 51,47 °C. En el presente trabajo, sólo fue observado en la harina obtenida a 550 rpm – 25 min, con R2 de 2,54 p/p.

Por otra parte, los autores previamente mencionados visualizaron una disminución del tiempo de pico de viscosidad (tP), en las harinas pregelatinizadas, en relación con las nativas (pasó de 6,93 min a 3,01 min), lo que no se evidenció en ninguna de las muestras logradas en el MPB. En cambio, estas harinas modificadas por molienda húmeda en un molino de alta energía, parecen tener un comportamiento similar al de las harinas tratadas hidrotérmicamente (calor-húmedo, HMT). Wadchararat y colaboradores (2006) encontraron una reducción importante de los parámetros viscoamilográficos, a excepción de TP y tP, en harinas de arroz con diferente contenido de amilosa, tratadas por HMT a 100 °C y 30 % de humedad durante 16 horas. Tal es el caso de una variedad con alto contenido de amilosa, cuyo PV se redujo de 2744 cP a 1858 cP, en contraste, TP se elevó de 83,95 °C a 88,64 °C y tP permaneció invariable. Cuando se comparan las propiedades de pasta de la harina elaborada por molienda tradicional con las obtenidas en el MPB, los resultados revelan que la molienda de alto impacto en un medio acuoso, fragmenta los gránulos de almidón (Martínez-Bustos *et al.*, 2007) y alterar la estructura cristalina, como se mencionó en la sección 4.2.5, disminuyendo los valores de viscosidad. Estos cambios de las propiedades de pasta, son probablemente el resultado de los enlaces inter e intramoleculares de hidrógeno de la cadena de amilosa y del complejos lípido-amilosa, producido durante la molienda, puesto que los gránulos de almidón tratados cambian su estructura (Hoover y Manuel, 1996).

Tabla 4.24. Propiedades de pasta de las harinas obtenidas por molienda húmeda, con una relación en masa de bolas/arroz fija (R1 = 5 p/p) en el MPB y de las harinas de referencia (control y gelatinizada).

Muestra (rpm-min)	R2 (p/p)	PV (cP)	VM (cP)	VF (cP)	BD (cP)	SB (cP)	TP (°C)	tP (min)
550-15	1,2	3640 ± 89 ^b	3005 ± 28 ^b	4686 ± 127 ^b	635 ± 61 ^{b,c,d}	1047 ± 39 ^e	85,8 ± 0,3 ^d	6,70 ± 0,03 ^c
550-25	2,54	2041 ± 10 ^a	1518 ± 5 ^a	2850 ± 24 ^a	523 ± 5 ^b	809 ± 14 ^a	68,9 ± 0,0 ^a	6,30 ± 0,03 ^b
650-10	1,2	3547 ± 6 ^b	3022 ± 13 ^b	4718 ± 34 ^b	525 ± 19 ^b	1171 ± 28 ^f	84,3 ± 0,4 ^c	6,70 ± 0,03 ^c
650-20	2,54	1961 ± 8 ^a	1625 ± 5 ^a	3012 ± 29 ^a	336 ± 13 ^a	1051 ± 21 ^e	90,6 ± 0,4 ^e	6,27 ± 0,07 ^{a,b}
450-20	1,2	5578 ± 83 ^d	4404 ± 53 ^d	8640 ± 115 ^e	1174 ± 30 ^f	3062 ± 32 ⁱ	85,8 ± 0,4 ^d	6,13 ± 0,00 ^a
450-25	1,2	4329 ± 14 ^c	3557 ± 10 ^c	5353 ± 5 ^d	772 ± 4 ^e	1024 ± 9 ^{d,e}	83,8 ± 0,0 ^c	6,77 ± 0,03 ^{c,d}
450-30	1,2	4184 ± 1 ^c	3464 ± 2 ^c	5134 ± 41 ^{c,d}	720 ± 3 ^{d,e}	951 ± 42 ^{c,d}	84,0 ± 0,0 ^c	6,80 ± 0,00 ^{c,d}
450-35	1,2	4090 ± 240 ^c	3406 ± 225 ^c	4948 ± 289 ^{b,c}	685 ± 16 ^{c,d,e}	858 ± 49 ^{a,b}	83,5 ± 0,4 ^c	6,87 ± 0,00 ^d
450-40	1,2	4175 ± 95 ^c	3393 ± 110 ^c	5078 ± 122 ^{c,d}	782 ± 16 ^e	904 ± 28 ^{b,c}	83,9 ± 0,0 ^c	6,73 ± 0,07 ^{c,d}
gelatinizada		3615 ± 53 ^b	3037 ± 24 ^b	5214 ± 89 ^{c,d}	578 ± 20 ^{b,c}	1599 ± 24 ^g	86,1 ± 0,2 ^d	6,67 ± 0,05 ^c
control		7323 ± 21 ^e	5172 ± 136 ^e	9449 ± 6 ^f	2151 ± 115 ^g	2126 ± 15 ^h	82,3 ± 0,7 ^b	6,30 ± 0,10 ^b

R2: relación en masa de agua/arroz, PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: viscosidad de rompimiento, SB: viscosidad de recuperación, TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

El análisis de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, con R1 fija de 5 p/p a 550 rpm (ver figura 4.71), reveló una reducción significativa ($p < 0,01$) de las viscosidades (PV: 44 %, VM: 49 %, VF: 39 %), cuando se elevó la relación en masa de agua/arroz (R2) de 1,2 p/p a 2,54 p/p, con el consiguiente aumento del tiempo; el mismo comportamiento se observó en las muestras tratadas a 650 rpm (PV: 45 %, VM: 46 %, VF: 36 %), con el incremento de R2 (ver tabla 4.24).

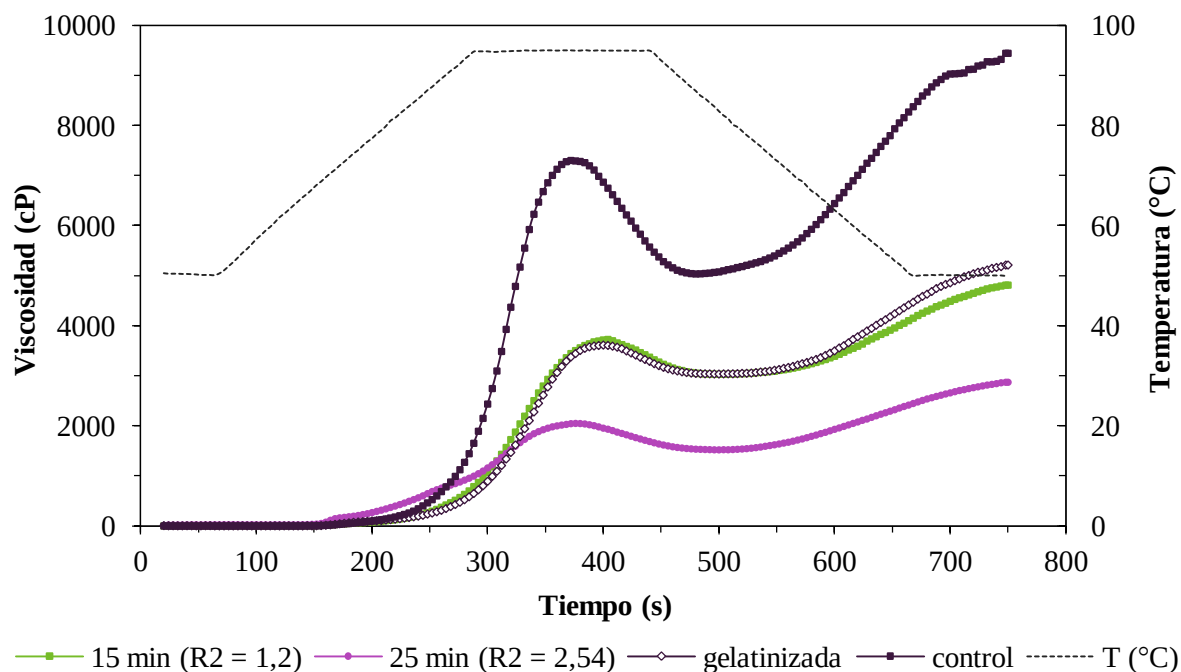


Figura 4.71. Efecto de la relación en masa de agua/arroz (R2) sobre el viscoamilograma de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB a 550 rpm con una relación en masa de bolas/arroz fija (R1: 5 p/p) y viscoamilograma de las harinas de referencia (control y gelatinizada).

Otros autores informaron la reducción de la viscosidad en almidón de jícama, procesado durante 10 minutos en un molino de alto impacto, del 50 % (al final del calentamiento) y del 48 % (al final del enfriamiento), al elevar el contenido de humedad del 55 % al 65 %. Además, determinaron este efecto en almidón de mandioca modificado en condiciones equivalentes, con una reducción del 41 % (a 90 °C) y del 19 % (a 50 °C). El aumento del contenido de humedad favoreció la reducción de la viscosidad, lo que atribuyeron a la fragmentación de los gránulos de almidón (Martínez-Bustos *et al.*, 2007).

En la figura 4.71, también se visualiza el viscoamilograma de la harina gelatinizada, previo a la molienda, la que mostró un perfil muy semejante al de la harina obtenida a 550 rpm –

15 min, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas, lo que denota el carácter pregelatinizado de esta última.

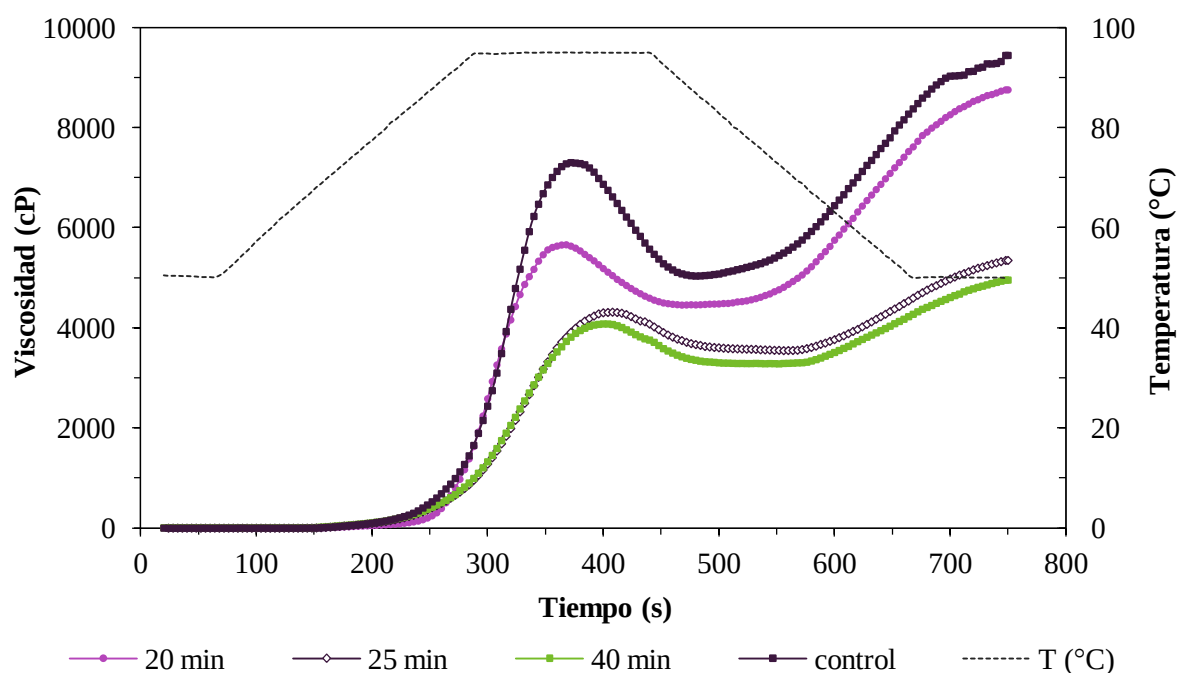


Figura 4.72. Viscoamilograma. Cinética de molienda húmeda de arroz en el MPB a 450 rpm con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas y harina control.

En otro sentido, la prolongación del tiempo de molienda a 450 rpm, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas (ver figura 4.72), reflejó una reducción significativa ($p < 0,01$) de las viscosidades (PV: 22 %, VM: 19 %, VF: 38 %), con el aumento del tiempo de molienda de 20 minutos a 25 minutos, sin embargo, cuando el tiempo se elevó de 25 minutos a 40 minutos, la disminución fue menos importante (PV: 4 %, VM: 5 %, VF: 5 %).

De igual modo Martínez-Bustos y colaboradores (2007), expusieron un descenso en la viscosidad del almidón de mandioca del 29 % a 90 °C, y del 9 % a 50 °C, cuando el tiempo de molienda se extendió de 10 minutos a 20 minutos, atribuible a la fricción mecánica y al calor local generado, durante el proceso de molienda de alta energía.

Asimismo en el presente trabajo, los valores más altos de viscosidad de las harinas obtenidas por molienda húmeda en el MPB, correspondieron a 450 rpm – 20 min, aunque inferiores a los del control, lo que demuestra que en esta condición la mayor parte de la integridad granular se conservó.

La figura 4.73, manifiesta el efecto de la velocidad de rotación de la jarra y del tiempo de molienda asociado, sobre los viscoamilogramas de las harinas de arroz obtenidas por

molienda húmeda en el MPB, con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas. Se incluyó el viscoamilograma de las harinas de referencia con propósitos comparativos.

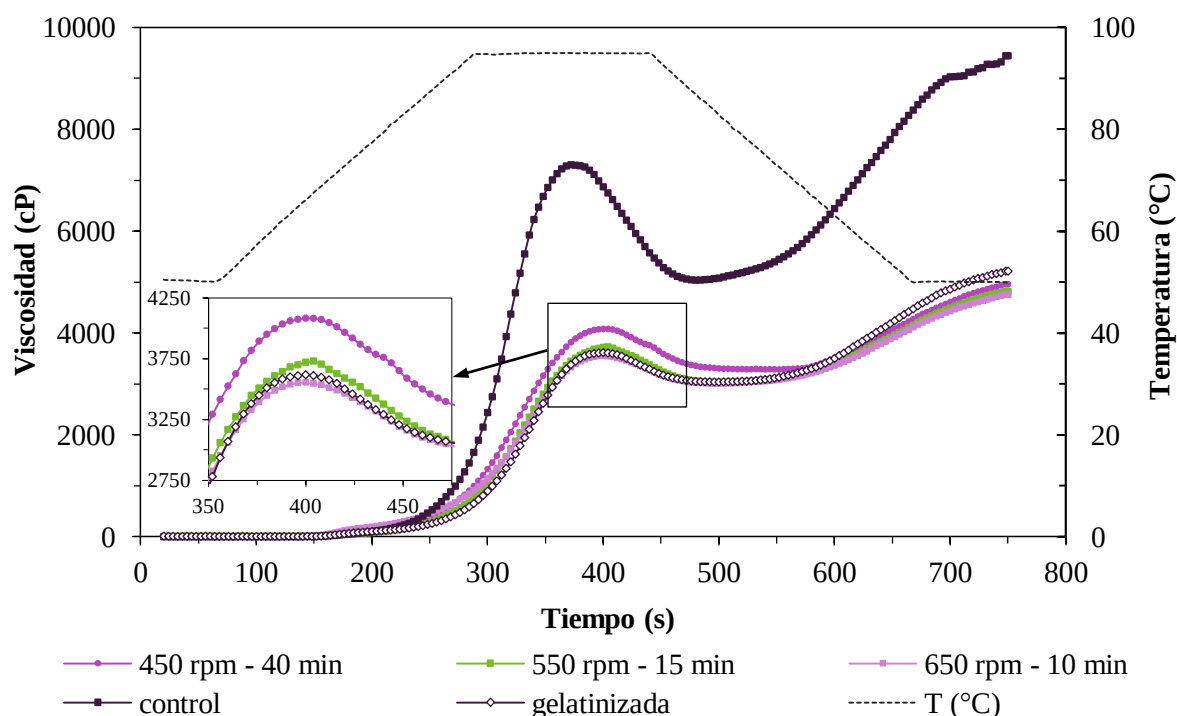


Figura 4.73. Viscoamilograma de las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda en el MPB con R1 (5 p/p) y R2 (1,2 p/p) fijas y de las harinas de referencia (control y gelatinizada).

Las tres muestras (450 rpm – 40 min, 550 rpm – 15 min y 650 rpm – 10 min), al igual que la gelatinizada, se hidrataron más lentamente que el control, como lo indica un mayor tP (~6,70 min *versus* 6,30 min). Simultáneamente se apreció que, PV cayó en el siguiente orden decreciente: control >> 450 rpm – 40 min > 550 rpm – 15 min ~ 650 rpm – 10 min ~ gelatinizada. Estas diferencias entre 450 rpm, 550 rpm y 650 rpm, señalan el efecto predominante de la velocidad de rotación de la jarra sobre el PV. De igual forma, no se observaron diferencias significativas ($p < 0,01$) en la VM, VF y BD, de las harinas elaboradas a 550 rpm – 15 min y 650 rpm – 10 min; en contraste, 450 rpm – 40 min fue levemente mayor. Por el contrario, SB exhibió un descenso en orden decreciente: 650 rpm – 10 min > 550 rpm – 15 min > 450 rpm – 40 min, siendo en todos los casos inferior al control, en primer lugar y a la muestra gelatinizada, en segundo lugar. De ahí que, el mayor tiempo de molienda en el MPB, asociado a una menor velocidad, dificulta la recuperación de la viscosidad de las harinas conseguidas por molienda húmeda.

Estos resultados sugieren que, el procesamiento en el molino planetario le confiere a las harinas de arroz obtenidas por molienda húmeda, características propias diferentes a las de las obtenidas o tratadas por otros métodos térmicos/mecánicos. Con una notable reducción de la viscosidad, y el incremento en las temperaturas de pasta y del tiempo en el que se alcanza el pico de viscosidad.

4.3. Comparación entre las propiedades las harinas de arroz obtenidas por molienda seca y húmeda

A modo de resumen se presentan conjuntamente con fines comparativos, las diferentes propiedades características de las harinas obtenidas por molienda seca (MS) y por molienda húmeda (MH).

a) Las harinas de arroz **control** evidenciaron (figura 4.74):

- Menor tamaño de partícula y mayor índice de dispersión por MH.
- Mayor contenido de almidón dañado, índice de absorción de agua y gelatinización (menor ΔH) por MS.
- Grado de cristalinidad similar por MS y MH.
- La MS presentó en relación con la MH, menores valores de pico de viscosidad, viscosidad final y viscosidad de rompimiento; mayores valores de viscosidad de recuperación y tiempo de pico de viscosidad; y similar valor de temperatura de pasta.

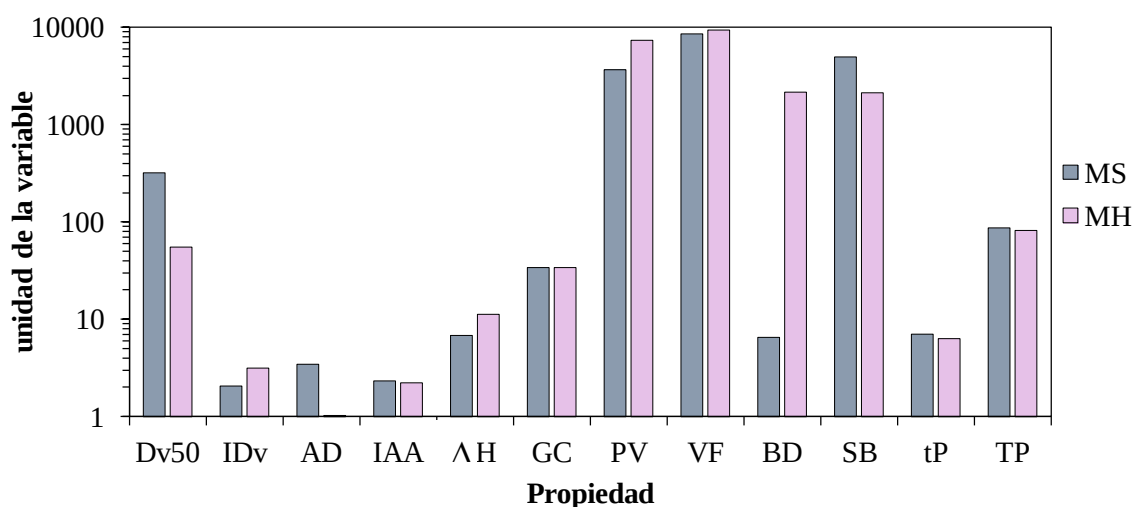


Figura 4.74. Propiedades características de las harinas de arroz **control** (Dv50: μm ; AD: g/ 100 g; IAA: g/g; ΔH : J/g; GC: %; PV, VF, BD, SB: cP; tP: min; TP: $^{\circ}\text{C}$)

b) Las harinas de arroz obtenidas en el MPB a **450 rpm – 40 min** (figura 4.75) y a **650 rpm – 10 min** (figura 4.76) revelaron:

- Menor tamaño de partícula por MH a 450 rpm y 650 rpm. El índice de dispersión de la distribución de tamaño de partícula por MH fue menor que por MS, a 450 rpm, pero a 650 rpm se invirtió este resultado.
- Mayor índice de absorción de agua y grado de gelatinización por MS a 450 rpm; en cambio, a 650 rpm la MH presentó mayores valores de estos parámetros.
- Mayor contenido de almidón dañado por MH tanto a 450 rpm como a 650 rpm, aunque la diferencia fue más notoria a 650 rpm.
- Similar grado de cristalinidad por MS y MH a 450 rpm; sin embargo, a 650 rpm la MH presentó menor grado de cristalinidad que la MS.
- Mayores valores de pico de viscosidad, viscosidad final, viscosidad de rompimiento y viscosidad de recuperación por MS a 450 rpm y a 650 rpm, menor tiempo de pico de viscosidad por MS a ambas velocidades y levemente menor temperatura de pasta por MS a 450 rpm, no obstante, a 650 rpm fue comparable.

Estos resultados demuestran el mayor daño termomecánico que ejerce la molienda húmeda, en comparación con la molienda seca en el molino planetario de bolas, en contraste con la molienda tradicional (muestras control), donde efectivamente se comprobó el efecto protector del agua.

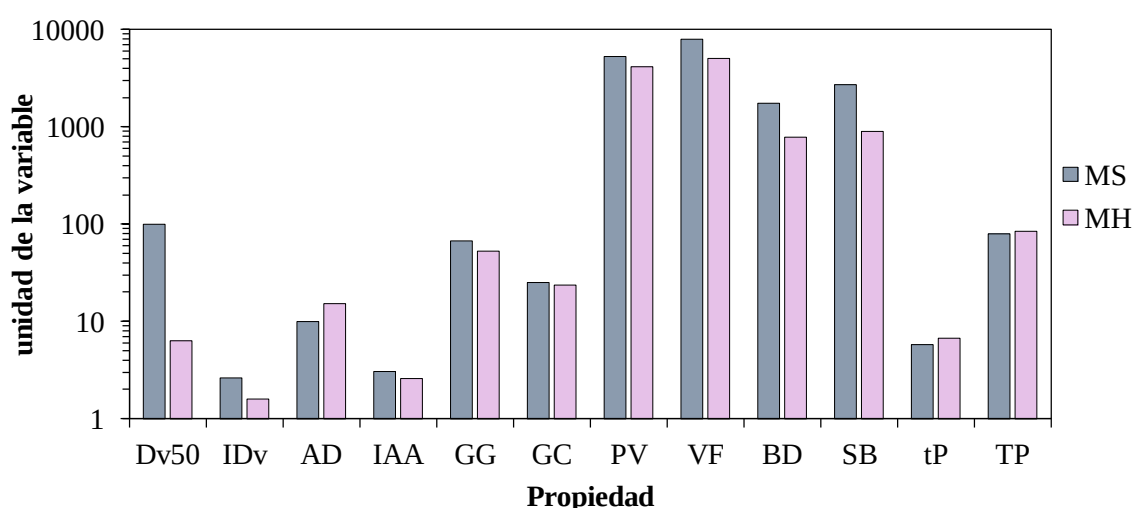


Figura 4.75. Propiedades características de las harinas de arroz obtenidas en el MPB a **450 rpm – 40 min** (Dv50: μm ; AD: g/ 100 g; IAA: g/g; GG: %; GC: %; PV, VF, BD, SB: cP; tP: min; TP: $^{\circ}\text{C}$)

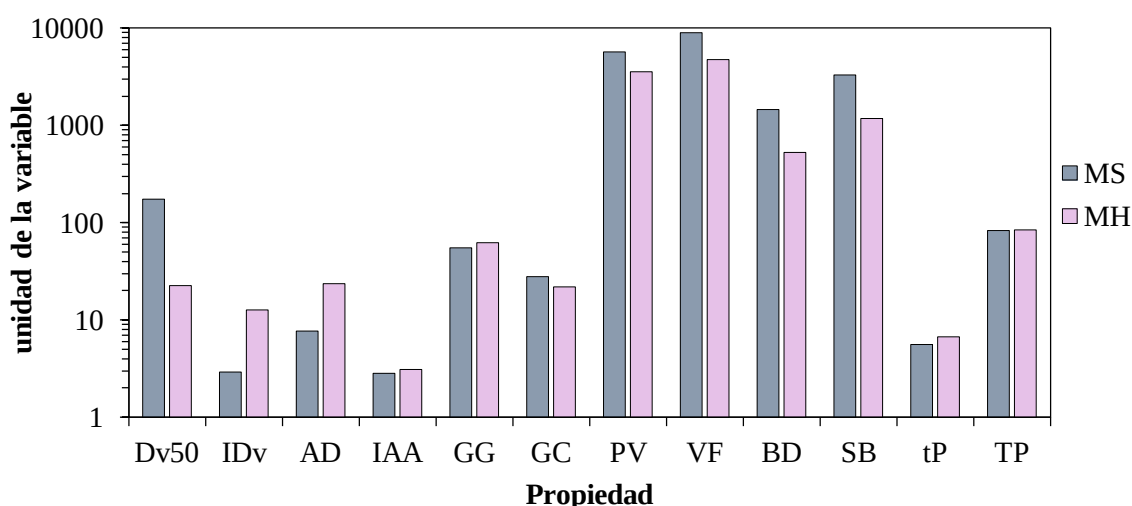


Figura 4.76. Propiedades características de las harinas de arroz obtenidas en el MPB a 650 rpm – 10 min (Dv50: μm ; AD: g/ 100 g; IAA: g/g; GG: %; GC: %; PV, VF, BD, SB: cP; tP: min; TP: $^{\circ}\text{C}$)

4.4. Molienda húmeda para la obtención de almidones

4.4.1. Rendimiento, recuperación y pureza del almidón

El proceso de molienda para la obtención de almidón busca separar los constituyentes del grano de la forma más eficiente posible.

Con este objetivo se evaluó el *rendimiento*, fracción de almidón recuperada en función de la masa inicial de arroz; la *recuperación*, fracción de almidón recuperada en función de la masa inicial de almidón en el arroz; y la *pureza* del almidón, que es inversamente proporcional al contenido de proteína en la fracción amilácea, y constituye uno de los indicadores más importante de calidad (Wang y Chung, 2002).

La tabla 4.25 muestra el rendimiento, la recuperación y el contenido proteico, del almidón nativo obtenido por molienda húmeda tradicional en una procesadora de cuchillas (C); de los almidones de referencia obtenidos por molienda húmeda en el MPB sin tensioactivo y con álcali (CA), y sin álcali y con tensioactivo (CT); y de los almidones aislados con diferentes combinaciones de SDS y NaOH (Alm 1 – Alm 9).

Los errores relativos porcentuales, calculados a partir de las réplicas experimentales, fueron de 0,4 %, 0,4 % y 3,3 % para el rendimiento, la recuperación y el contenido proteico, respectivamente.

Las diferentes combinaciones de tensioactivo y álcali presentaron rendimientos comprendidos entre 49,4 – 58,6 % (b.s.), y recuperación de almidón entre 62,11 – 73,68 %

(b.s.), superando algunas combinaciones los valores de la molienda tradicional (C). Por otra parte, los mayores valores de rendimiento y de recuperación de almidón se obtuvieron con la máxima concentración de SDS (1,5 % p/v) y sin álcali (CT). Este rendimiento resultó un 3 % mayor que el del control tradicional (C). Además, CT tuvo un contenido proteico 17,5 % menor que el de C.

Tabla 4.25. Rendimiento (R), recuperación (RecA) y pureza de los almidones de arroz; en función del diseño experimental y de los valores de referencia.

Muestra	Concentración (% p/v)		R (%, b.s.)	RecA (%, b.s.)	Proteína (g/100 g, b.s.)
	SDS	NaOH			
C ^a	0	0,1	55,30	69,56	1,03
CA ^b	0	0,1	57,09	71,81	1,15
CT ^c	1,5	0	62,59	78,73	0,85
Alm 1	0,3	0,025	54,75	68,87	0,66
Alm 2	0,3	0,075	58,54	73,63	0,91
Alm 3	0,9	0	55,80	70,19	0,84
Alm 4*	0,9	0,05	53,72	67,57	0,76
Alm 5*	0,9	0,05	54,07	68,01	0,80
Alm 6*	0,9	0,05	53,36	67,12	0,72
Alm 7	0,9	0,1	58,58	73,68	0,92
Alm 8	1,5	0,025	51,64	64,96	0,91
Alm 9	1,5	0,075	49,38	62,11	0,77

* Punto central del diseño experimental por triplicado. ^a Control obtenido en una procesadora de cuchillas.

^a Control alcalino en el MPB. ^b Control con tensioactivo en el MPB.

La cantidad de proteína residual en los almidones extraídos mediante combinaciones de tensioactivo y álcali fue de 0,66 – 0,92 g/100 g (b.s.), en todos los casos inferior a la de C (1,08 g/100 g, b.s.) y CA (1,21 g/100 g, b.s.), ambos aislados exclusivamente con solución alcalina. Sobre la base de estos resultados, es evidente que las condiciones de maceración afectaron el rendimiento, la recuperación y el contenido proteico de la fracción amilácea.

En bibliografía se han informado diversos valores de recuperación de almidón de arroz y de contenido proteico remanente en la fracción amilácea, en función del método empleado para la aislación. Por ejemplo, Lumdubwong y Seib (2000) estudiaron el efecto de una proteasa alcalina variando el pH, la concentración enzimática y el tiempo de maceración y hallaron la mejor recuperación (95 %, b.s.) y la menor cantidad de proteína residual (0,52

g/100 g, b.s.) para un pH de 10, una concentración enzimática de 1,1 % y un tiempo de maceración de 18 h a 25 °C. Los autores estimaron el costo del proceso enzimático en 2,3 veces el correspondiente a la molienda húmeda alcalina tradicional.

Más recientemente Wang y Wang (2004a) analizaron el efecto del ultrasonido de alta intensidad al macerar la harina de arroz en agua pura o en soluciones con diferentes tensioactivos: SDS, estearoil lactilato de sodio (SSL) y Tween 80. Estos investigadores encontraron los mejores resultados cuando combinaron ultrasonido y SDS (recuperación, 80,7 %, b.s. y proteína residual, 0,8 g/100 g, b.s. con 20 min de sonicación alternados con 20 min de pausa y una concentración de 0,3 % de SDS). Al presente, la técnica está desarrollada para el tratamiento de volúmenes muy pequeños (15 ml) y su aplicación está limitada a escala de laboratorio.

Cabe destacar que en el presente trabajo se procedió a partir del grano de arroz y el tiempo de maceración *in situ* fue solamente de una hora, en cambio, en los métodos descritos en bibliografía parten de la harina y en general los tiempos de maceración son bastante superiores (18 – 20 h), a excepción de la técnica de ultrasonido que emplea tiempos más reducidos (0,25 – 1 h). Es indudable que la aplicación de la molienda enzimática o de la molienda ultrasónica combinada con tensioactivos, permite alcanzar una mayor recuperación de almidón en comparación con la molienda húmeda alcalina tradicional o con el método propuesto en este trabajo. Sin embargo, la pureza del almidón obtenida aquí por molienda húmeda asistida en el molino planetario de bolas, resultó comparable a la de estos métodos más sofisticados y costosos.

Probablemente, la acción disgregante del MPB contribuye a la rotura de las asociaciones entre los gránulos de almidón y la matriz proteica, y facilita la difusión del tensioactivo.

Por otro lado, se ha informado que para remover las proteínas internas de alto peso molecular (59 – 149 kDa) se requiere el hinchamiento/gelatinización del almidón en presencia de una solución de SDS al 1 – 2 % (Skerritt, Frend, Robson, y Greenwell, 1990), lo que se logra a 50 °C o por encima de esta temperatura (Baldwin, 2001). Acorde con esto, el MPB permitió alcanzar una temperatura máxima de maceración *in situ* de 52 °C y promover el efecto del SDS, el cual fue eficaz en la separación de las proteínas. Kinugasa y colaboradores (2001) revelaron que los tensioactivos podrían formar complejo con las proteínas para promover su extracción. Como es sabido, el SDS desnatura por completo las proteínas y rompe las interacciones no covalentes que determinan la estructura terciaria y cuaternaria (figura 4.77); y los dodecil sulfatos estabilizan la proteína desnaturizada

formando una capa de solvatación micelar cargada de SDS, alrededor de la cadena polipeptídica (Shirahama *et al.*, 1974).

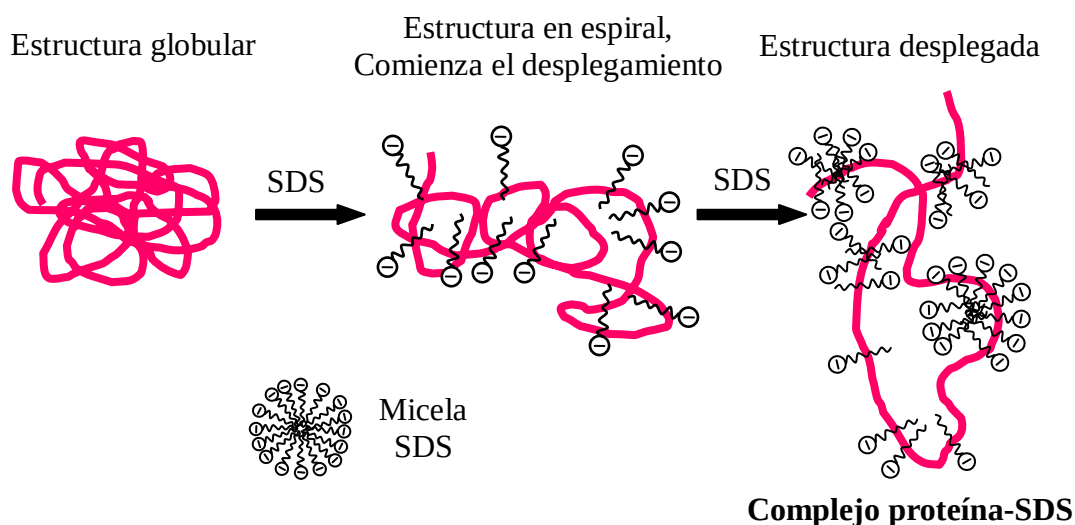


Figura 4.77. Descripción esquemática del cambio conformacional de las proteínas con SDS. Fuente: Columbia University, Industry/University Center of Surfactants (2014).

En otro sentido, es preciso resaltar los menores tiempos de maceración empleados en la aislación de almidón de arroz, cuando este proceso se realiza en simultáneo con la molienda de alta energía, en relación con el método tradicional (C) o enzimático, como lo evidencia la tabla 4.26. Simultáneamente, es posible reducir el consumo de agua, lo que se manifiesta en una menor relación en masa de agua/arroz para la maceración, en comparación con otros métodos como el tratamiento enzimático o ultrasónico. Por consiguiente, existirá menor cantidad de aguas residuales, que en la industria deberán ser tratadas antes de su eliminación.

Tabla 4.26. Comparación de las condiciones utilizadas en las diferentes estrategias de molienda húmeda, para la obtención de almidón de arroz.

Muestra	Tiempo de maceración	Relación agua/arroz (p/p)	Materia prima
C	24 h	2,0	Grano
CA (MPB)	1 h	1,2	Grano
CT (MPB)	1 h	1,2	Grano
Alm 1 – 9 (MPB)	1 h	1,2	Grano
MH enzimática ^a	18 h	3,0	Harina MH
MH ultrasónica + SDS ^b	20 min	2,0	Harina MS

^a Wang y Wang (2001), ^b Wang y Wang (2004a).

4.4.1.1. Efecto de las condiciones de maceración

Para cuantificar el efecto de las concentraciones de tensioactivo (x_1) y de álcali (x_2) en el rendimiento, la recuperación y el contenido proteico del almidón, se utilizó la metodología de superficies de respuesta. Por este procedimiento se determinaron los coeficientes numéricos de la ecuación 3.14 (tabla 4.27) a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$), lográndose un ajuste satisfactorio de los datos ($R^2 > 0,95$).

Tabla 4.27. Efectos de las condiciones de maceración sobre el rendimiento (R), la recuperación (RecA) y la pureza de los almidones de arroz, en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		R (%, b.s.)	RecA (%, b.s.)	Proteína (g/100 g, b.s.)
Constante	a_0	53,72	67,57	0,76
Lineal	a_1	-3,54*	-4,45*	0,03NS
	a_2	1,18*	1,48*	0,05NS
Cuadrático	a_{11}	-1,34*	-1,69*	0,03NS
	a_{22}	3,47*	4,37*	0,12*
Interacción	a_{12}	-3,49*	-4,39*	-0,23*
Correlación	r^2	0,9928	0,9928	0,9506

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

El rendimiento y la recuperación del almidón fueron afectados por la concentración de SDS y de NaOH, y la interacción entre ambos factores resultó significativa. Estos parámetros de la eficiencia de la molienda decrecieron linealmente al aumentar la concentración del tensioactivo, a la mayor concentración de álcali, en cambio, a la menor concentración de NaOH, el efecto del tensioactivo fue considerablemente menor.

Respecto a la interacción se encontró que a baja concentración de SDS el rendimiento y la recuperación del almidón son muy afectados por la concentración de álcali, aumentando al incrementarse esta. En contraste, para la mayor concentración de tensioactivo (1,5 % p/v) el aumento de la concentración de álcali tuvo efecto no lineal, observándose un mínimo para una concentración intermedia de NaOH.

La figura 4.78 muestra la superficie de respuesta correspondiente al rendimiento y a la recuperación del almidón para una mejor visualización de los efectos mencionados. El máximo rendimiento predicho (63,46 %, b.s.) y la máxima recuperación de almidón (79,81 %, b.s.) se señala para una combinación de 0,3 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH.

Este punto óptimo se comprobó experimentalmente obteniéndose un rendimiento y una recuperación de almidón de 63,6 % (b.s.) y 79,99 % (b.s.) respectivamente.

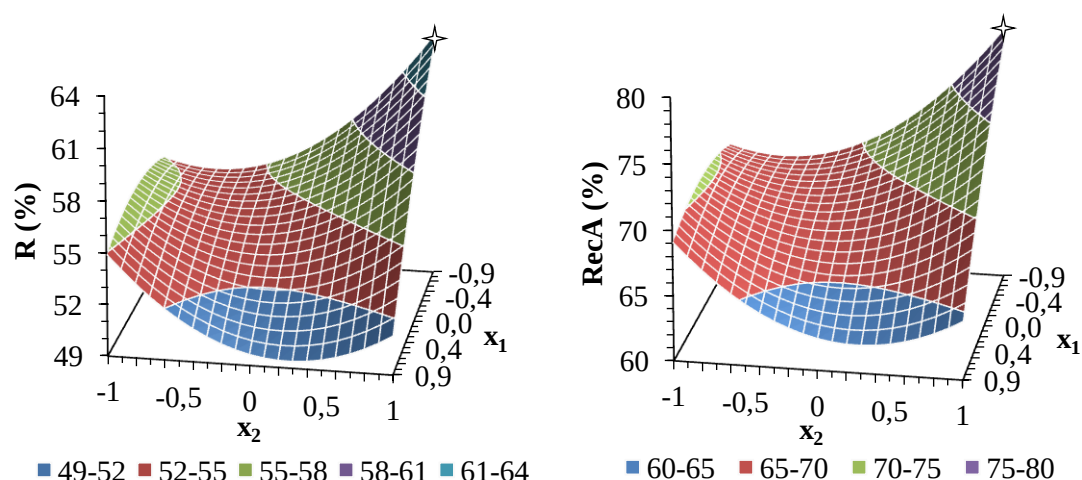


Figura 4.78. Superficies de respuesta del rendimiento (R) y de la recuperación (RecA) de almidón en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2).

Punto óptimo máximo ($\star$).

El contenido proteico del almidón fue dependiente de la concentración de NaOH y presentó una interacción significativa entre el tensioactivo y el álcali. En relación a los efectos principales, el contenido residual de proteína creció al elevarse la concentración de SDS, a la menor concentración de NaOH, mientras que a la máxima concentración de álcali mostró el efecto contrario. En cuanto a la interacción se encontró que a baja concentración de SDS el contenido proteico se incrementó con la concentración de álcali. Sin embargo, para la mayor concentración de tensioactivo, el aumento de la concentración de álcali mejoró la pureza del almidón.

La figura 4.79 muestra la superficie de respuesta correspondiente al contenido proteico de la fracción amilácea, donde se observan claramente los efectos mencionados. El menor contenido de proteína predicho de 0,64 g/100 g (b.s.) se indica para 0,3 % p/v SDS sin NaOH. Este contenido residual de proteína mínimo fue comprobado experimentalmente, encontrándose un valor de 0,62 g/100 g (b.s.).

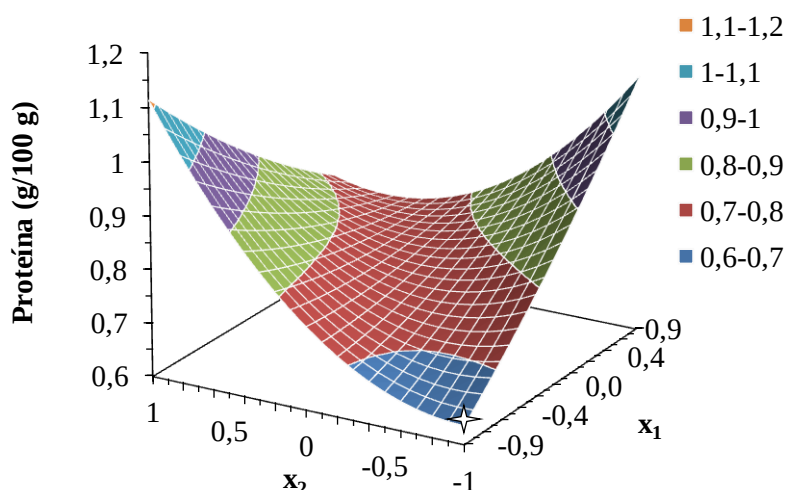


Figura 4.79. Superficies de respuesta del contenido proteico de la fracción amilácea en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2). Punto óptimo mínimo (∇).

La optimización múltiple fue realizada teniendo en cuenta que los óptimos no coincidieron, priorizándose el rendimiento y la recuperación del almidón, para lo cual se fijó el contenido proteico en 1,03 g/100 g (b.s.), valor perteneciente a la muestra C (método tradicional). La condición de maceración *in situ* lograda en el MPB fue para una combinación de 0,33 % p/v SDS y 0,09 % p/v de NaOH, cuyo rendimiento y recuperación de almidón predichos resultó ser de 61,53 % (b.s.) y 77,39 % (b.s.), respectivamente. La función deseabilidad (0,95), una medida de la coincidencia lograda con relación al criterio de optimización establecido, resultó satisfactoria. Para la comprobación experimental fue llevado a cabo un ensayo de molienda en las condiciones de maceración mencionadas, obteniéndose un rendimiento de 61,38 % (b.s.), una recuperación de almidón de 77,2 % (b.s.) y un contenido proteico de 0,99 g/100 g (b.s.). Estos valores concuerdan con los del MSR y puede considerarse que el punto óptimo fue verificado.

Además, se llevó a cabo otra optimización múltiple sin fijar el contenido proteico del almidón, encontrándose una recuperación de almidón de 72,45 % (b.s.), un rendimiento de 57,73 % (b.s.) y un contenido proteico de 0,85 g/100 g (b.s.) para una combinación de tensioactivo-álcali de 0,3 % p/v SDS y de 0,067 % p/v NaOH, con una deseabilidad muy satisfactoria (0,97). Los valores predichos de cada respuesta para este punto óptimo también fueron verificados experimentalmente.

Estos resultados permiten afirmar que en comparación con la molienda húmeda tradicional, la molienda húmeda asistida por el MPB permitió reducir significativamente el contenido

de álcali en la solución de maceración, respecto al método tradicional (0,1% p/v NaOH), así también como la reducción del tiempo de maceración (de 24 h a 1 h), por tratarse de una maceración *in situ* durante la molienda.

4.4.2. Distribución de tamaño de partícula

El tamaño de partícula del gránulo de almidón ha recibido mucha atención debido a la importancia que tiene para conferir sabor y textura como sustituto de grasa, dado que los gránulos pequeños ($\sim 2 \mu\text{m}$) son similares a las micelas lipídicas (Daniel y Whistler, 1990), y además, por modificar las propiedades de tensión de las películas de plástico biodegradable (Lim *et al.*, 1992).

El tamaño de partícula de los almidones se determinó por dispersión estática de luz (SLS). En la figura 4.80 se presenta la distribución en volumen correspondiente a los almidones (control, C; de referencias, CA y CT; y punto central del diseño experimental, Alm 5) y a la harina obtenida en la misma condición de molienda húmeda (velocidad de rotación, 550 rpm; tiempo de molienda, 15 minutos; relación en masa de bolas/arroz, 5 p:p; relación en masa de agua/arroz, 1,2 p:p) que la empleada para la aislación de los almidones, en el molino planetario de bolas.

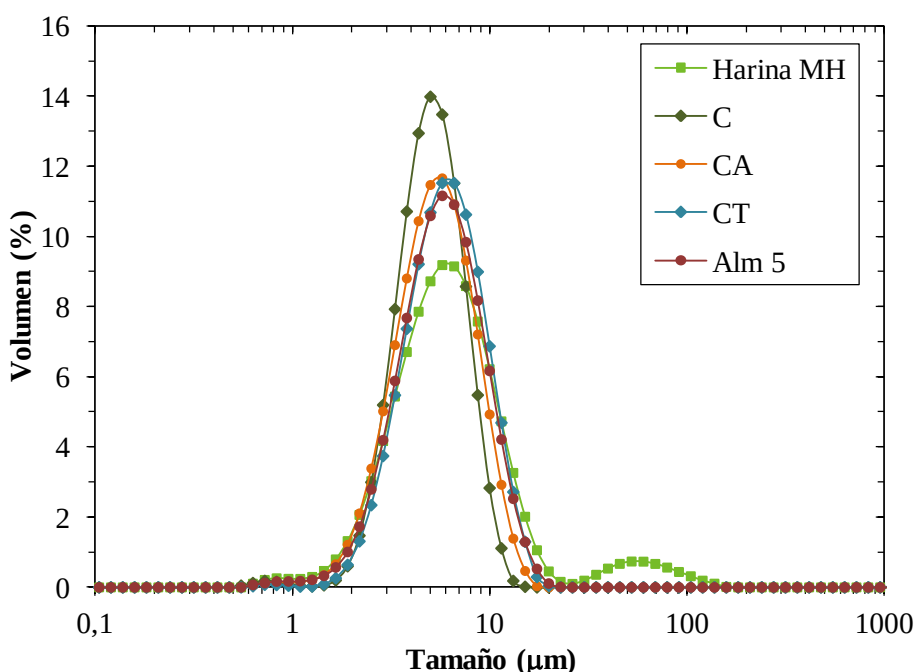


Figura 4.80. Distribución de tamaño de partícula en volumen de los almidones de arroz y de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB.

La distribución de la harina fue bimodal, la primera población tuvo un máximo en 5,75 μm y la segunda población en 52,48 μm . Asimismo, la primera población exhibió una fracción en volumen mayor que la segunda población. Por el contrario, los almidones presentaron una distribución monomodal, con un máximo en 5,01 μm para el almidón aislado por molienda húmeda en una procesadora de cuchillas (C), y en 5,75 μm para los almidones extraídos en el MPB, independientemente de las soluciones empleadas. En comparación a la harina, la fracción de la primera moda se incrementó significativamente ($p < 0,05$) y la segunda fracción desapareció. El tamaño de partícula del almidón extraído en el MPB, fue similar al obtenido por otros métodos. Li y colaboradores (2008b), encontraron que los almidones aislados con proteasa alcalina o neutra mostraban una distribución bimodal (moda_1 : 4,5 μm ; moda_2 : 45 μm), con la primera población más importante, al igual que cuando aplicaron sonicación antes de la digestión enzimática. Sin embargo, la segunda fracción en volumen desapareció cuando se aplicó sonicación posterior al tratamiento con proteasa. Estos autores asociaron la segunda población con un mayor contenido proteico del almidón, el cual pudo reducirse mediante el uso adecuado de ultrasonido de alta intensidad. Si además de los resultados de distribución de tamaño del almidón, obtenidos en el presente trabajo, se tiene en cuenta el bajo contenido proteico (tabla 4.25), puede afirmarse que la molienda húmeda llevada a cabo en el molino planetario con diferentes combinaciones de SDS – NaOH, ofrece un buen método para la obtención de almidón con elevada pureza.

La tabla 4.28 proporciona los parámetros de la distribución de tamaño en volumen de las muestras anteriormente mencionadas. El diámetro promedio de partícula y la dispersión poblacional del almidón aislado por molienda húmeda tradicional (C) fueron levemente inferiores que los hallados por molienda húmeda en el MPB. Estas diferencias podrían explicarse por la gelatinización parcial de las muestras en el molino planetario, si bien no se determinó el grado de gelatinización por calorimetría diferencial de barrido de los almidones, se podría relacionar con el porcentaje de gelatinización de la harina (14,9 %) obtenida en las mismas condiciones de molienda. No obstante, los diámetros de todas las muestras se aproximaron a los de los gránulos de almidón de arroz, que según bibliografía varían entre 2 y 5 μm (Hoseney, 1994), lo que sugeriría que las partículas se fragmentaron a nivel de los gránulos de almidón. Por último cabe señalar, conforme a los errores consignados en la tabla, que no existen diferencias significativas entre los almidones obtenidos por molienda húmeda en el molino planetario de bolas.

Tabla 4.28. Parámetros característicos de la distribución de tamaño de partícula en volumen obtenidos por difracción láser.

Muestra	D[4,3] ¹ (μm)	IDv ²	Fracción en volumen (%)		
			< 10 μm	10-100 μm	> 100 μm
Harina MH	10,48 $\pm$ 0,09 ^c	1,79 $\pm$ 0,05 ^c	76,46 $\pm$ 0,08 ^a	22,91 $\pm$ 0,08 ^d	0,63 $\pm$ 0,08 ^b
C	5,70 $\pm$ 0,04 ^a	1,01 $\pm$ 0,00 ^a	95,85 $\pm$ 0,11 ^d	4,15 $\pm$ 0,11 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
CA	6,24 $\pm$ 0,12 ^b	1,22 $\pm$ 0,07 ^b	90,25 $\pm$ 0,14 ^c	9,75 $\pm$ 0,14 ^b	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
CT	6,73 $\pm$ 0,08 ^b	1,22 $\pm$ 0,08 ^b	84,77 $\pm$ 0,15 ^b	15,92 $\pm$ 0,15 ^c	0,00 $\pm$ 0,00 ^a
Alm 5*	6,51 $\pm$ 0,15 ^b	1,30 $\pm$ 0,02 ^b	85,01 $\pm$ 0,09 ^b	14,86 $\pm$ 0,09 ^c	0,00 $\pm$ 0,00 ^a

¹D[4,3]: Diámetro promedio en volumen. ² Índice de dispersión de la población. * Punto central del diseño experimental. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

4.4.3. Grado de Cristalinidad

Los espectros de difracción de rayos X y el grado de cristalinidad de los almidones y de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB, se muestran en la figura 4.81.

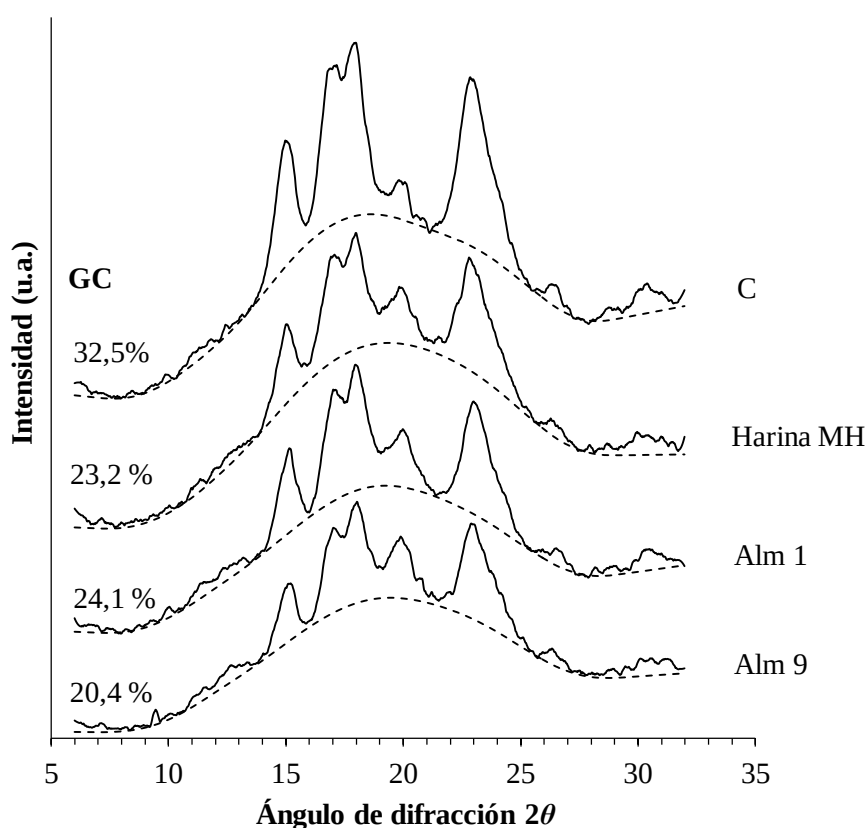


Figura 4.81. Espectros de difracción de rayos X y grado de cristalinidad, de los almidones de arroz (C: control, Alm 1 y Alm 9: puntos opuestos del diseño experimental) y de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB.

El almidón aislado con 0,1 % p/v NaOH sin tensioactivo en una procesadora de cuchillas (C), mostró el mismo tipo de perfil que el de la harina control, informado en la sección 4.2.5, correspondiente a un patrón tipo A, con reflexiones a 15° y 23° y un doblete a 17° y 18° en 2θ , análogo a lo reportado por otros autores (Wani *et al.*, 2012). Sin embargo, el espectro de difracción de los almidones obtenidos en el MPB (Alm 1 y Alm 9) fue diferente, independientemente de la combinación de álcali y tensioactivo utilizada. La intensidad de todos los picos decreció en relación con C, a excepción del que se halla a 20° en 2θ , lo que indicaría la presencia de un patrón tipo V, el que podría ser atribuido a la formación de un complejo entre la amilosa, y en menor medida la amilopectina, y compuestos anfifílicos, como los lípidos endógenos del arroz (Shih *et al.*, 2007). Una representación del modelo molecular del complejo se detalla en la figura 4.82, donde se aprecia la inclusión de la porción alifática de la molécula de ácido graso, en la cavidad hidrofóbica de la estructura helicoidal simple, que forman las cadenas de amilosa (Buleón *et al.*, 1998).

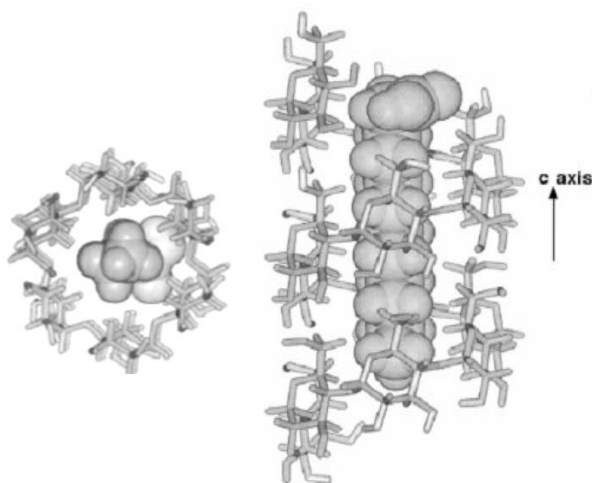


Figura 4.82. Representación esquemática del complejo lípido – amilosa.

Fuente: Buléon y colaboradores (1998).

También se ha informado, que la amilosa y las cadenas lineales de amilopectina originan complejos de inclusión con el SDS, con la cola hidrófoba del grupo dodecilo insertado en el anillo helicoidal y la cabeza hidrófila atrapada en los gránulos (Kurakake *et al.*, 2004). No obstante, Eerlingen, Cillen y Delcour (1994) demostraron que el complejo SDS-amilosa, sólo se produciría durante el calentamiento. Igualmente, Ghiasi, Varriano-Marston, y Hosene (1982) evidenciaron la formación del complejo estearoil lactilato de

sodio (SSL)-amilosa a temperaturas superiores a 60 °C y su disociación a 95 °C. Chan, Bhat y Karim (2010) trataron almidones de maíz, papa, sagú y frijol mungo (*Vigna radiata*) con una solución al 2 % p/v de SDS y sonicación, lavaron tres veces y secaron a 40 °C, al finalizar el procedimiento no visualizaron en ningún caso la formación del complejo por difracción de rayos X.

En este trabajo, la máxima temperatura desarrollada durante la molienda húmeda en el MPB fue de 52 °C y los almidones se deshidrataron por liofilización. Además, la harina procesada en el MPB en las mismas condiciones que los almidones (550 rpm – 15 min, R1: 5 p/p, R2: 1,2 p/p), pero sin SDS, también mostró el incremento de la intensidad a 20 ° en 2 θ , en comparación con la harina control como se informó en la sección 4.2.5. Por lo cual se atribuye el surgimiento del patrón V de cristalinidad, en los almidones aislados por molienda asistida en el MPB, a la formación del complejo entre los constituyentes del almidón y los lípidos remanentes, y al efecto del molino planetario de bolas, como se observó en las harinas elaboradas por molienda húmeda. A su vez se ha indicado que el contenido de ácidos grasos residual en el extracto amiláceo purificado del arroz en base seca es de 0,22 – 0,50 % (Buleón *et al.*, 1998).

Desde un punto de vista práctico, estos complejos son de interés en la industria alimentaria, pues por ejemplo, retardan la retrogradación del almidón y el enranciamiento en los productos panificados (Krog *et al.*, 1989; Krog y Jensen, 1970; Eliasson, 1985), evitan la pegajosidad en el puré de papa instantáneo (Hoover y Hadziyev, 1981) y controlan la textura de los productos extrudados (Launay y Lisch, 1983). Asimismo, la capacidad encapsulante de la amilosa, con características similares a las de las ciclodextrinas, pero con una mayor flexibilidad en el tamaño y la longitud de los sitios de unión de huéspedes, le confieren propiedades para la retención y la liberación del sabor en los alimentos y principios activos en los fármacos (Mira, 2006).

Por otra parte, se observó una mayor pérdida de cristalinidad de los almidones obtenidos en el MPB, en comparación con el control, cuando las concentraciones de SDS y de NaOH fueron más elevadas. El almidón extraído con 0,3 % p/v SDS y de 0,025 % p/v NaOH (Alm 1), exhibió una reducción del 26 %, en cambio, el almidón aislado con 1,5 % p/v SDS y de 0,075 % p/v NaOH (Alm 9), manifestó una disminución del 37 %. Cardoso y colaboradores (2007) encontraron, al aislar almidón de alta amilosa con distintas concentraciones de álcali, una reducción de la cristalinidad con el incremento de la concentración, y la fusión del doblete a 17 ° y 18 ° en 2 θ , cuando la concentración fue de

0,3 % p/v NaOH, aunque no observaron el patrón tipo V, debido a que el almidón fue aislado por molienda tradicional.

En el presente trabajo la disminución del grado de cristalinidad, podría ser a causa del daño termomecánico ocasionado por la molienda húmeda en el MPB y a la modificación interna de los gránulos de almidón, por la acción del NaOH y del SDS, durante el proceso de extracción. Las soluciones alcalinas, probablemente reducen la rigidez, así como la estabilidad de la organización molecular del almidón (Cardoso et al., 2007).

Puesto que, la aislación del almidón de arroz es más dificultosa que la aislación del almidón de maíz o de trigo, por el carácter microgranular del almidón de arroz, se requieren condiciones más severas de proceso que contribuyen al hinchamiento de las regiones amorfas, las que imponen tensión sobre la región cristalina, provocando la disociación de los enlaces de hidrógeno y un debilitamiento de la estructura, lo que conduce en parte, a la pérdida de la cristalinidad (Cardoso, 2007).

Esto ocasionaría cambios en las propiedades reológicas de los almidones tratados con combinaciones de álcali y tensioactivo en el MPB, por efecto de la disociación de los enlaces de hidrógeno intermoleculares (Yamamoto *et al.*, 2006; Tako y Hizukuri, 2002; Martínez-Bustos *et al.*, 2007).

Los resultados muestran, que tanto el molino como la combinación de SDS-NaOH afecta la región amorfa, causando una desorganización parcial de los dominios cristalinos y una reducción de la cristalinidad de los gránulos de almidón.

4.4.4. Propiedades de hidratación

4.4.4.1. Índice de absorción de agua

Los resultados obtenidos del índice de absorción de agua (IAA) de los almidones aislados por molienda húmeda en el MPB (Alm 1 – Alm 9), con diferentes combinaciones de SDS y NaOH; de los almidones de referencia extraídos sin tensioactivo y con álcali (CA), sin álcali y con tensioactivo (CT) en el MPB; y del almidón control obtenido por molienda húmeda tradicional, en una procesadora de cuchillas (C), se esquematizan en la figura 4.83. El almidón control exhibió el menor IAA a 30 °C ($2,04 \pm 0,01$ g/g, b.s.), mientras que los almidones de referencia, CA ($2,42 \pm 0,01$ g/g, b.s.) y CT ($2,45 \pm 0,01$ g/g, b.s.), manifestaron valores prácticamente equivalentes a los conseguidos con combinaciones de SDS y NaOH, los que variaron entre 2,21 – 2,45 g/g, b.s.

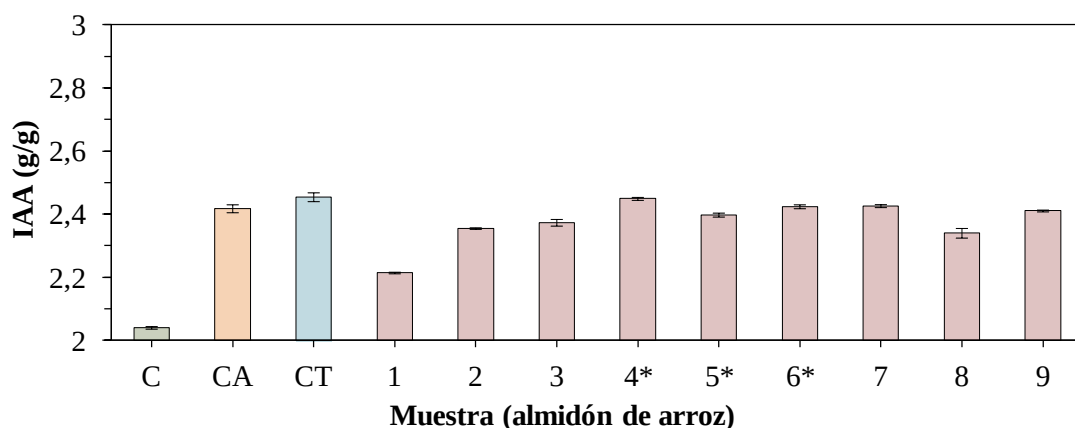


Figura 4.83. Índice de absorción de agua (IAA) de los almidones de arroz.

La acción termomecánica del MPB manifestada en la obtención de los almidones, provoca cambios en la estructura cristalina, como se mencionó en la sección 4.2.5, facilitando así el ingreso del agua en los gránulos (Martínez-Bustos *et al.*, 2007).

A su vez, no hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los almidones aislados en el molino planetario de bolas, independientemente de las soluciones empleadas (tabla 4.29). Es factible que, las condiciones de molienda no fueron tan severas como para visualizar un cambio de este índice.

En otro sentido, estos almidones extraídos por molienda asistida en el MPB, al absorber mayor cantidad de agua fría, los gránulos se hinchan de manera reversible, y presentan un incremento del tamaño de partícula, el que puede llegar a ser de hasta un 10 % (Seib y Stearns, 1972), lo que se corroboró en la sección 4.4.2.

Tabla 4.29. Efectos de las condiciones de maceración sobre el índice de absorción de agua (IAA) de los almidones de arroz, en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		IAA (g/g)
Constante	a_0	2,424
Lineal	a_1	0,053NS
	a_2	0,053NS
Cuadrático	a_{11}	-0,117NS
	a_{22}	-0,024NS
Interacción	a_{12}	-0,04NS
Correlación	r^2	0,8616

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo.

4.4.5. Microscopía electrónica de barrido

La micrografía electrónica de barrido del almidón aislado, en el molino planetario de bolas, con una solución de 0,9 % p/v SDS y 0,05 % p/v NaOH (Alm 5) y del almidón obtenido por molienda húmeda tradicional, en una procesadora de cuchillas, con 0 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH (C) se muestra en la figura 4.84.

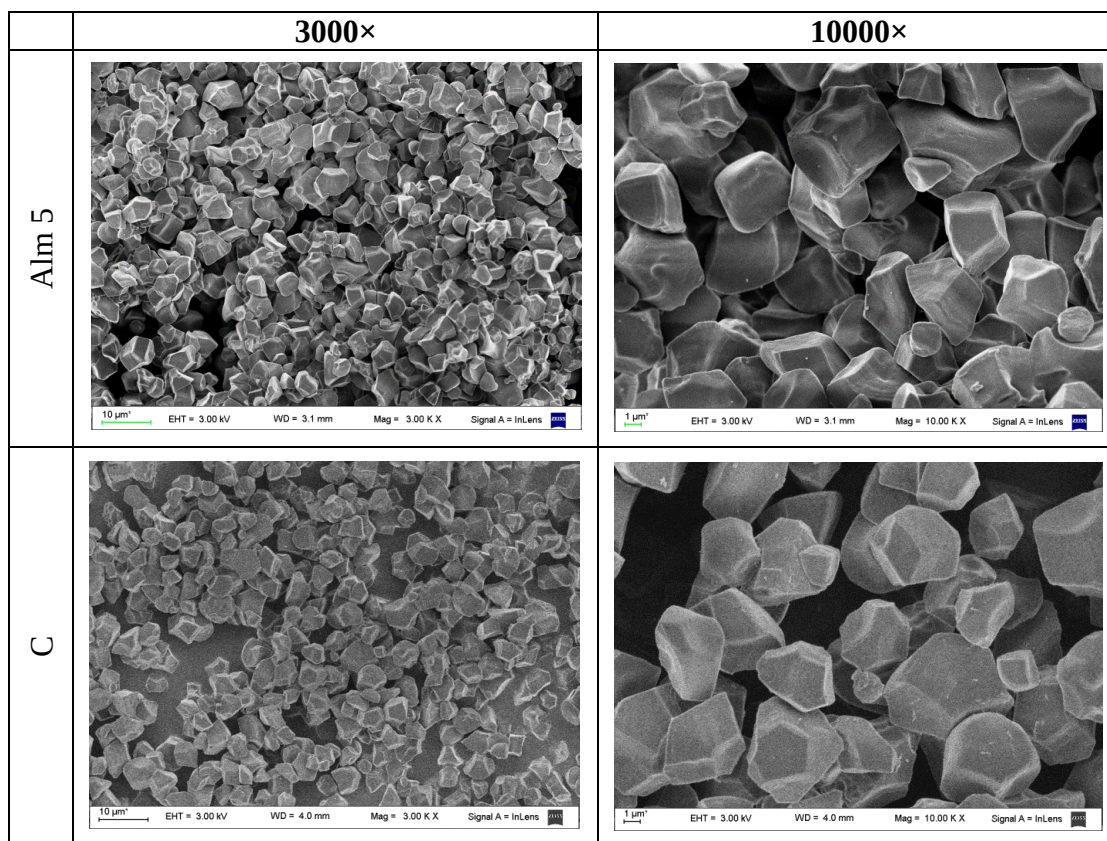


Figura 4.84. Imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de los almidones de arroz obtenidas por molienda húmeda (C: control, Alm 5: punto central del diseño experimental).

No se observaron cuerpos proteicos, lo que indica su remoción exitosa. Todos los gránulos visualizados presentaron un tamaño inferior a 10 μm , en coincidencia con el análisis por difracción láser (sección 4.4.2). La mayoría de los gránulos exhibieron una forma poliédrica, sin daño aparente en la superficie. Algunos revelaron una forma irregular con cavidades, probablemente como resultado de la eliminación de los cuerpos proteicos durante el aislamiento, puesto que se unen a las superficies de los gránulos de almidón de arroz en estas áreas (Li *et al.*, 2008b). Los tratamientos combinados con tensioactivo y álcali, así como el método de molienda, no expusieron diferencias evidentes. Wang y

Wang (2004a, 2004b) informaron resultados similares en almidón de arroz aislado, con sonicación y tensioactivo o sonicación y proteasa. Estos autores concluyeron que la combinación de tratamientos tal vez, sólo afectó la unión no covalente entre el almidón y la proteína sin dañar la estructura granular o molecular del almidón.

En el presente trabajo no se pudo correlacionar las observaciones de SEM con la reducción de la cristalinidad, inducida por el MPB y la combinación tensioactivo-álcali. Posiblemente la pérdida de cristalinidad no fue tan elevada como para apreciar cambios morfológicos en los gránulos de almidón.

4.4.6. Espectroscopia por energía dispersiva

La técnica de espectroscopia por energía dispersiva (EDS) se empleó en este caso, con el propósito de constatar la ausencia de dodecil sulfato de sodio, en las muestras de almidón aisladas con combinación de tensioactivo y álcali, para lo cual se analizó el punto central del diseño experimental (0,9 p/v SDS y 0,05 p/v NaOH). El microanálisis por EDS de tipo cualitativo, presentado en la figura 4.85, reveló la presencia de carbono y oxígeno y no se detectó azufre, elemento constituyente del SDS, lo que corroboraría la hipótesis de la inexistencia del complejo SDS-amilosa, en los almidones aislados con SDS-NaOH en el molino planetario de bolas.

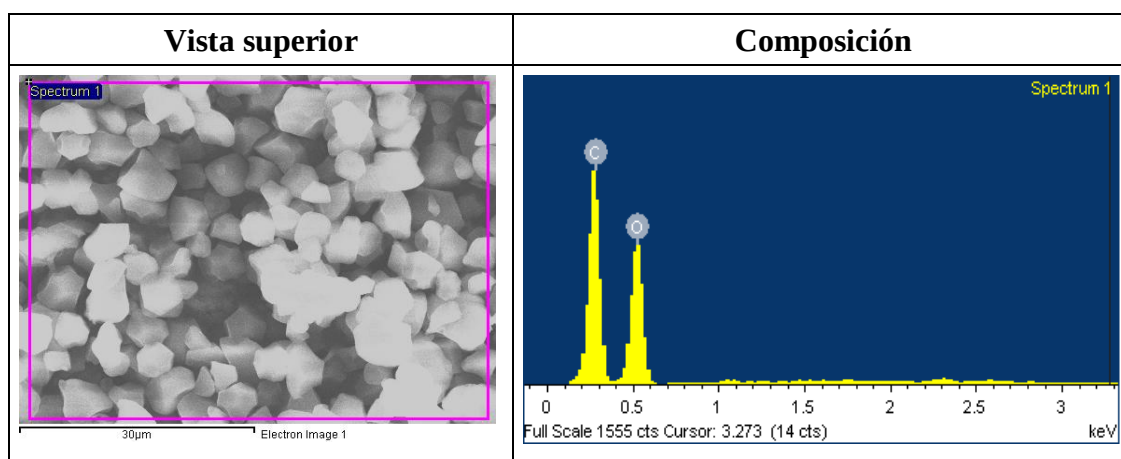


Figura 4.85. Imagen SEM y EDS del almidón de arroz obtenido por molienda húmeda en el MPB (Alm 5: punto central del diseño experimental).

4.4.7. Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier

En esta técnica, la radiación infrarroja (IR) es reflejada a través de una muestra, una parte de la radiación IR es absorbida y otra parte transmitida. El espectro resultante de las bandas

de los grupos funcionales, representa los enlaces químicos de las sustancias, que tienen frecuencias de vibración específicas, y crean una impresión digital molecular de la muestra. No existen dos estructuras moleculares que generen el mismo espectro infrarrojo, por lo que es posible realizar una identificación de los materiales o investigar su composición (Cremer y Kaletunç, 2003).

En el presente trabajo, la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) fue usada para confirmar la ausencia del complejo SDS-amilosa.

La figura 4.86 presenta los espectros de FTIR del dodecil sulfato de sodio; del almidón control (C) aislado con 0,1 % de NaOH; y del almidón extraído con la mayor concentración de SDS (1,5% p/v) sin álcali (CT), en el molino planetario de bolas.

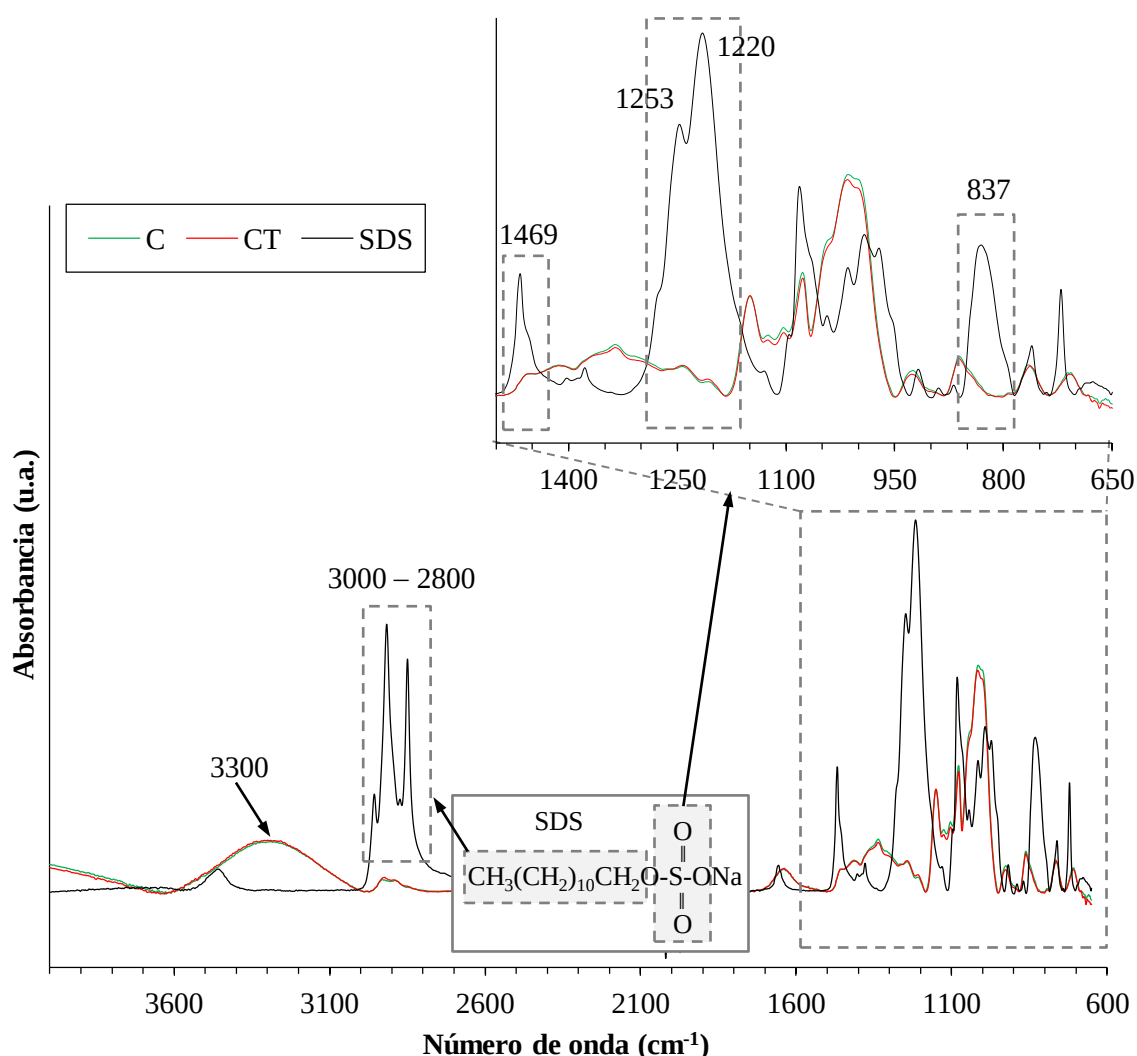


Figura 4.86. Espectro de FTIR y esquema molecular del SDS; y espectros de los almidones aislados por molienda húmeda (C: control, CT: control tensioactivo en el MPB). Se destacan algunas bandas características en las que se señala el número de onda en cm^{-1} .

En la zona del espectro que se extiende entre $1500 - 650 \text{ cm}^{-1}$, constituyente de la región de la huella digital, que no se encuentra perturbada por la presencia de agua y es muy rica en cuanto a información estructural, se señalan algunas bandas características del SDS: 1469 y 1220 cm^{-1} , correspondientes al estiramiento del SO_2 ; 1253 cm^{-1} , proveniente del estiramiento asimétrico del SO_2 (ROSO_3Na) y 837 cm^{-1} , del estiramiento asimétrico del S-O-C. También se distingue en la región comprendida entre $4000 - 2700 \text{ cm}^{-1}$, una señal fuerte aportada por la vibración de los grupos alifáticos (CH_2 y CH_3) entre 2800 cm^{-1} y 3000 cm^{-1} , análogo a lo reportado por otros autores (Leal Denis *et al.*, 2008). Estas señales claramente no están presentes en el espectro del control ni en la muestra CT.

El espectro infrarrojo de C presentó una banda ancha con pico en 3300 cm^{-1} , atribuida al estiramiento del grupo hidroxilo (OH) (Khanmirzaei y Ramesh, 2013), la cual no se encuentra en el espectro del SDS.

En bibliografía se ha informado que cuando se origina el complejo SDS-amilosa, el grupo éter del SDS, la cabeza polar del tensioactivo, reacciona con el grupo hidroxilo del almidón (almidón-OH) y forma un enlace de hidrógeno intermolecular (O---H-O-H), que aumenta la intensidad de la banda del grupo hidroxilo en la región entre 3000 cm^{-1} y 3600 cm^{-1} (Hossain *et al.*, 2012).

Sin embargo, en el espectro de CT no se observaron diferencias significativas con el de C, en esta región. La ausencia de la formación del enlace de hidrógeno intermolecular, demostró la inexistencia del complejo SDS-amilosa en el almidón de arroz aislado en presencia del tensioactivo.

4.4.8. Propiedades de pasta

El calentamiento de los gránulos de almidón, en exceso de agua, resulta en la formación de una pasta viscosa o de un gel (Adebowale y Lawal, 2003). La viscosidad del almidón depende, en gran medida, del grado de gelatinización de los gránulos de almidón y de la extensión de su distribución molecular (El-Dash, Gonzales y Ciol, 1983), siendo la viscosidad, un factor importante a considerar para el desarrollo de productos alimenticios (Adebowale y Lawal, 2003).

Con el propósito de determinar las propiedades de pasta, durante un ciclo de calentamiento-mantenimiento-enfriamiento, se registró la viscosidad de las suspensiones de almidón en un equipo RVA.

El viscoamilograma del almidón control (C), de los almidones de referencia obtenidos por molienda húmeda en el MPB y de los almidones aislados con diferentes combinaciones de tensioactivo y álcali, se muestran en la figura 4.87 junto con el viscoamilograma de la harina obtenida por molienda húmeda, en el MPB. Además, en la tabla 4.29 se dan los parámetros asociados a la curva viscoamilográfica.

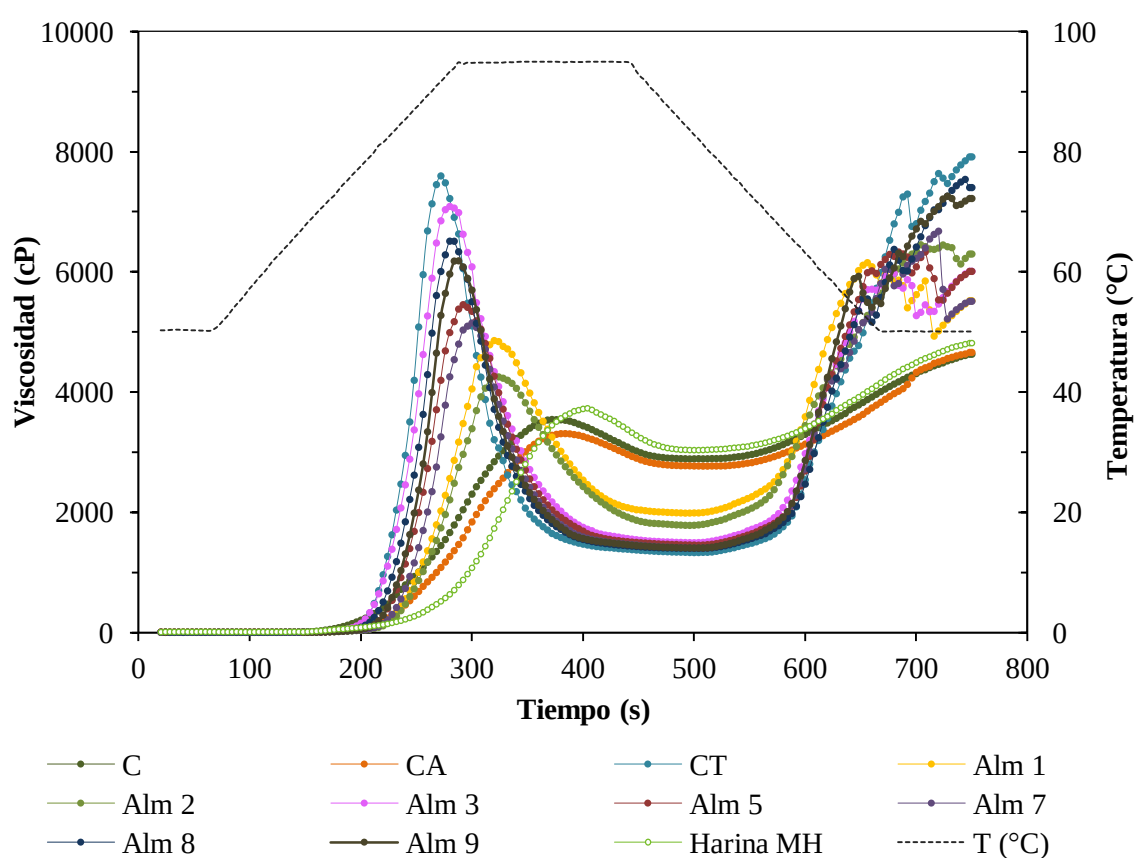


Figura 4.87. Viscoamilograma de los almidones de arroz (C: control, CA: control alcalino en el MPB, CT: control tensioactivo en el MPB, Alm 1 – Alm 9: diseño experimental) y de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB.

Tabla 4.29. Propiedades de pasta de los almidones de arroz, en función de las condiciones de maceración, y de la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB.

Muestra	SDS (% p/v)	NaOH (% p/v)	PV (cP)	VM (cP)	VF (cP)	BD (cP)	SB (cP)	TP (°C)	tP (min)
Harina MH	0	0	3640 ± 89 ^b	3005 ± 28 ⁱ	4686 ± 127 ^a	635 ± 61 ^a	1047 ± 39 ^a	85,8 ± 0,3 ^h	6,70 ± 0,03 ^h
C	0	0,1	3555 ± 13 ^b	2904 ± 18 ^h	4633 ± 5 ^a	650,5 ± 6 ^a	1078 ± 8 ^a	75,2 ± 0,0 ^a	6,23 ± 0,03 ^f
CA	0	0,1	3286 ± 21 ^a	2732 ± 34 ^g	4569 ± 89 ^a	554 ± 13 ^a	1283 ± 68 ^b	79,6 ± 0,5 ^f	6,37 ± 0,03 ^g
CT	1,5	0	7579 ± 16 ^k	1319 ± 8 ^a	-	6260 ± 8 ^k	-	76,0 ± 0,0 ^b	4,53 ± 0,00 ^a
Alm 1	0,3	0,025	4836 ± 19 ^d	1961 ± 24 ^f	-	2876 ± 5 ^c	-	80,9 ± 0,0 ^g	5,30 ± 0,03 ^e
Alm 2	0,3	0,075	4358 ± 72 ^c	1777 ± 3 ^e	-	2581 ± 75 ^b	-	81,0 ± 0,0 ^g	5,37 ± 0,03 ^e
Alm 3	0,9	0	7029 ± 58 ^j	1485 ± 7 ^d	-	5544 ± 51 ^j	-	76,0 ± 0,0 ^b	4,70 ± 0,03 ^b
Alm 4*	0,9	0,05	5334 ± 28 ^f	1458 ± 2 ^{c,d}	-	3877 ± 27 ^e	-	79,5 ± 0,3 ^{e,f}	5,00 ± 0,00 ^d
Alm 5*	0,9	0,05	5442 ± 11 ^f	1444 ± 7 ^{b,c,d}	-	3998 ± 4 ^f	-	78,3 ± 0,0 ^d	4,83 ± 0,03 ^c
Alm 6*	0,9	0,05	5688 ± 9 ^g	1445 ± 7 ^{c,d}	-	4244 ± 3 ^g	-	78,4 ± 0,0 ^d	4,87 ± 0,00 ^c
Alm 7	0,9	0,1	5114 ± 35 ^e	1393 ± 8 ^b	-	3721 ± 27 ^d	-	80,0 ± 0,0 ^f	5,00 ± 0,00 ^d
Alm 8	1,5	0,025	6597 ± 88 ⁱ	1417 ± 19 ^{b,c}	-	5181 ± 70 ⁱ	-	77,2 ± 0,3 ^c	4,63 ± 0,03 ^b
Alm 9	1,5	0,075	6208 ± 26 ^h	1393 ± 12 ^b	-	4816 ± 38 ^h	-	78,8 ± 0,4 ^{d,e}	4,80 ± 0,00 ^c

PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, VF: viscosidad final, BD: viscosidad de rompimiento, SB: viscosidad de recuperación, TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad. * Punto central del diseño experimental. -: no detectado. Valores seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$).

El almidón de referencia obtenido en el MPB sin SDS y con 0,1 % p/v NaOH (CA), presentó un perfil viscoamilográfico análogo al del almidón nativo, extraído en una procesadora de cuchillas (C) con la misma solución de maceración. Aunque CA manifestó un leve descenso del pico de viscosidad (PV), de la viscosidad media (VM) y del tiempo de pico de viscosidad (tP) y una mayor viscosidad de recuperación (SB) que el control. Estos resultados evidencian el efecto de la molienda de alto impacto, realizada a una velocidad intermedia (550 rpm – 15 min).

A su vez, la harina obtenida por molienda húmeda en el MPB a 550 rpm durante 15 minutos, exhibió un perfil parecido al de la muestra de almidón CA, si bien la harina tuvo una temperatura de pasta (TP) 6,2 °C mayor que CA y también presentó un retraso de tP respecto de esta última. Cabe señalar, que al separar el almidón, el PV descendió un 10 % y SB se incrementó un 23 %, sin embargo, la viscosidad final (VF) no fue afectada.

Puncha-arnon y Uttapap (2013) lograron resultados similares, al comparar las propiedades de pasta de la harina de arroz, elaborada por molienda húmeda tradicional, con el almidón aislado a partir de ésta, por molienda alcalina. Algunos investigadores demostraron, que la proteína es el principal responsable de las diferencias en las propiedades de pasta, entre la harina y el almidón de arroz (Lim, Lee y Shin, 1999; Xie *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2010).

En otro sentido, todas las muestras procesadas en el molino planetario con tensioactivo (Alm 1 – Alm 9 y CT), en relación con C, revelaron un incremento del PV (23 – 113 %), de la viscosidad de rompimiento, BD, (297 – 862 %) y de TP (1 – 8 %), en contraste, se visualizó una reducción de tP (14 – 27 %) y de VM (32 – 55 %).

Wang y Wang (2001) hallaron un significativo ascenso del PV y de BD, en almidones de arroz extraídos por digestión enzimática (18 h a 50 °C), con proteasa ácida, alcalina o neutra, en comparación con el tratamiento alcalino tradicional y atribuyeron esta variación al contenido de proteína y de almidón dañado de las muestras.

Sin embargo, los presentes resultados, no exhiben una tendencia clara con respecto al contenido de proteína residual, sobre el pico de viscosidad. El efecto conjunto de la molienda de alta energía, con las diferentes combinaciones de tensioactivo y álcali, sobre las propiedades de pasta del almidón, añaden una complejidad adicional al análisis. No obstante, se encontraron correlaciones significativas del contenido de proteína con la viscosidad de rompimiento, la temperatura de pasta y la temperatura de pico de viscosidad (Proteína–BD, $r = 0,82$, $p < 0,05$; Proteína–TP, $r = -0,91$, $p < 0,01$; Proteína–tP, $r = -0,91$,

$p < 0,01$), cuando se analizaron estos parámetros excluyendo las muestras con contenido de proteína superior al 0,90 g/ 100 g b.s.

En un trabajo más reciente, Wang y Wang (2004a) determinaron que el PV aumentó un 11% (desde 3936 cP hasta 4356 cP) y que el BD se incrementó un 50% (desde 1764 cP hasta 2652 cP), en almidones de arroz aislados con ultrasonido de alta intensidad (20 min) y soluciones de SDS, cuando se elevó la concentración del tensioactivo de 0,1 % a 0,5 %. Por el contrario, cuando emplearon otros surfactantes (Tween 80 y SSL) no obtuvieron los mismos resultados. Tampoco encontraron una relación entre el contenido de proteína y estos parámetros viscoamilográficos.

Por otro lado, en la figura 4.87 puede observarse la forma aguda de los picos de viscosidad, en las muestras aisladas con soluciones de SDS, especialmente para concentraciones superiores a 0,3 % p/v SDS, lo que indicaría la presencia de gránulos de almidón con propiedades de expansión y de rompimiento más uniformes (Ramirez Ascheri *et al.*, 2012). Asimismo, no se pudo determinar VF y SB, debido a que las muestras obtenidas con tensioactivo presentaron ruido al final del ensayo. En un principio se atribuyó este comportamiento a la posible formación de un complejo de inclusión SDS-amilosa, sin embargo esta hipótesis pudo descartarse mediante el análisis de FTIR de la sección 4.4.7. Por lo tanto, es más probable que el *ruido* sea el producto de la formación de un gel, que por efecto de la cizalla durante la corrida, se rompía; registrándose como un zigzagado de la viscosidad.

4.4.8.1. Efecto de las condiciones de maceración

Se aplicó el método de superficie de respuesta, a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$), para cuantificar el efecto de las condiciones de maceración (concentración de SDS y de NaOH), en el MPB, sobre los parámetros característicos de la curva viscoamilográfica de los almidones de arroz. Los resultados de este análisis se visualizan en las tablas 4.30.

El modelo polinómico propuesto (ec. 3.14), ajustó satisfactoriamente los datos experimentales ($R^2 > 0,89$). Tanto la concentración del tensioactivo como del álcali afectaron significativamente las viscosidades (PV, VM y BD) y sólo se evidenció la interacción de los factores en el valor de VM.

En la figura 4.88 se presentan las superficies de respuesta de las propiedades de pasta de los almidones, para una mejor consideración de los efectos.

El incremento de la concentración de SDS ocasionó el aumento de PV y BD, en cambio, el aumento de la concentración de NaOH provocó la reducción de ambas. Al mismo tiempo,

las mayores concentraciones de tensioactivo mostraron una menor VM, siendo más importante en ausencia de álcali. Con 1,5 % p/v SDS no se observaron cambios en VM con la variación de NaOH, en contraste, con 0,3 % p/v SDS hubo una reducción considerable de VM, al aumentar NaOH.

La temperatura de pasta y el tiempo de pico de viscosidad fueron afectadas de forma positiva y lineal por la concentración de álcali, y de manera negativa por el tensioactivo; además, no se manifestó una interacción de las condiciones de maceración.

Es decir, que las diferentes combinaciones de SDS-NaOH producen grandes cambios en las propiedades de pasta, de los almidones de arroz aislados por molienda húmeda en el molino planetario de bolas.

Tabla 4.30. Efectos de las condiciones de maceración sobre las propiedades de pasta en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		PV (cP)	VM (cP)	BD (cP)	TP (°C)	tP (min)
Constante	a_0	5488	1445	4039	78,7	4,90
Lineal	a_1	1042*	-268*	1310*	-1,7*	-0,36*
	a_2	-783*	-65*	-718*	1,59*	0,14*
Cuadrático	a_{11}	-179NS	256*	-432*	1,24*	0,18*
	a_{22}	583*	---	593*	-0,75NS	-0,05NS
Interacción	a_{12}	---	92*	---	0,85NS	0,06NS
Correlación	r^2	0,954	0,9885	0,9599	0,8977	0,9573

* Significativo a $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---, coeficiente eliminado. PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, BD: viscosidad de rompimiento, TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad.

En resumen, los almidones de arroz obtenidos por molienda húmeda en el MPB, con diferentes combinaciones de SDS-NaOH, mostraron características distintivas con relación al control (C). Presentaron un adelanto en la formación de pasta y mayores valores del pico de viscosidad, de la viscosidad de rompimiento y de la temperatura de pasta. También se demostró que es posible obtener un amplio rango de PV (4360-7030 cP), seleccionando las concentraciones de tensioactivo y de álcali convenientemente.

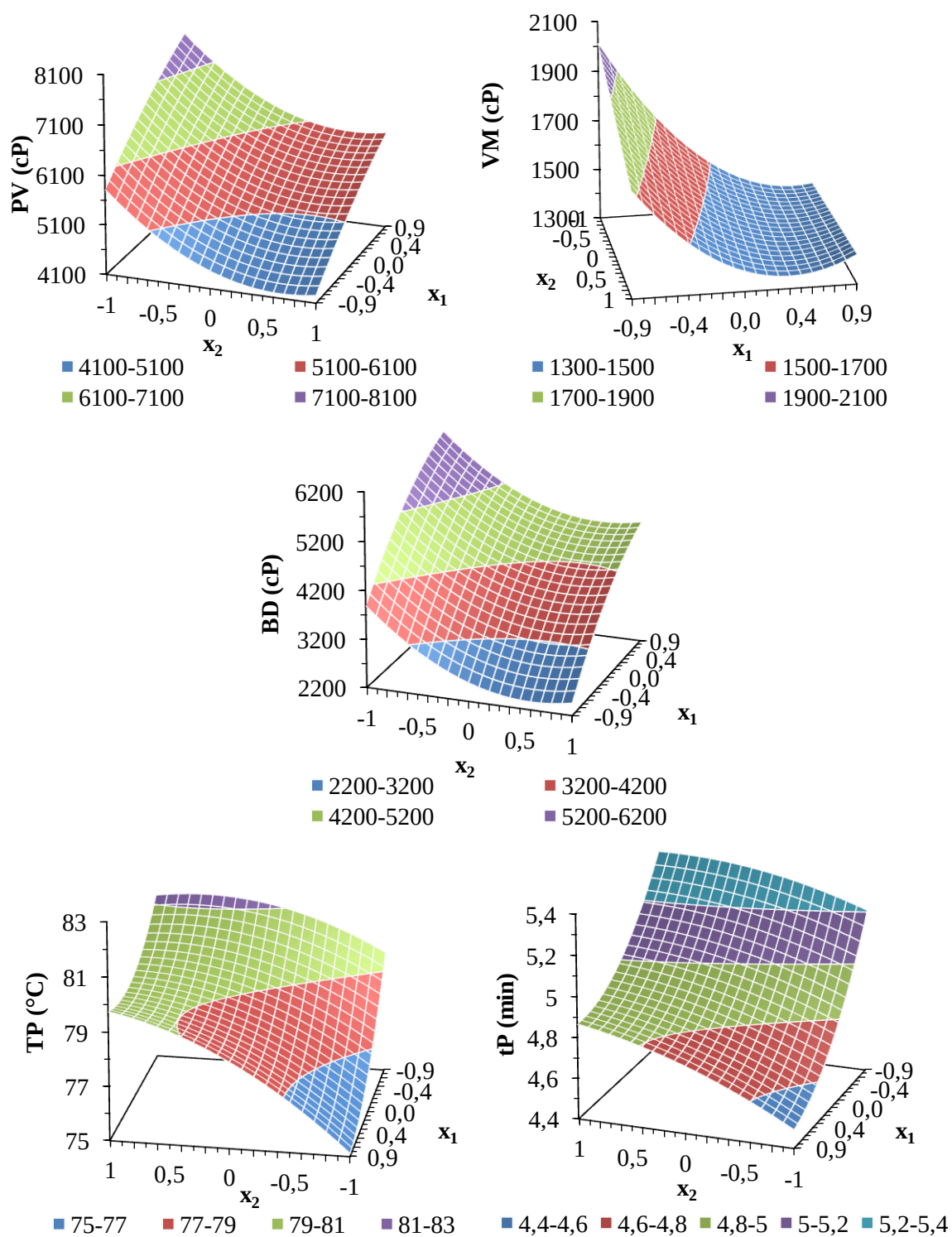


Figura 4.88. Superficies de respuesta de las propiedades de pasta (PV: pico de viscosidad, VM: viscosidad media, BD: viscosidad de rompimiento, TP: temperatura de pasta, tP: tiempo de pico de viscosidad), en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2).

4.4.9. Propiedades viscoelásticas

Con el propósito de caracterizar las propiedades reológicas de las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz, así como los cambios asociados durante el proceso de gelatinización, se utiliza la reometría dinámica de pequeña amplitud, de la cual se obtiene dos parámetros independientes. El módulo de almacenamiento o elástico (G' , Pa) describe la cantidad de energía almacenada elásticamente por el material y el módulo de pérdida o viscoso (G'' , Pa), la energía disipada por el flujo. La relación entre la parte viscosa y la parte elástica del material (G''/G'), determina el valor de la tangente del ángulo de desfase o tangente de pérdida ($\tan \delta$).

Este tipo de estudio ayuda a entender y predecir la textura, las propiedades de flujo durante el procesamiento y los atributos de calidad de los productos que contienen almidón (Steffe, 1996).

En una primera etapa, para interpretar el proceso de gelatinización de las suspensiones de almidón de arroz, se llevó a cabo el barrido de temperatura; en una segunda etapa, para definir las condiciones de ensayo no destructivas del material, se determinó el rango de viscoelasticidad lineal (RVL); y en una tercera etapa, para establecer la naturaleza de la estructura de las muestras gelatinizadas, se realizó el barrido de frecuencia.

4.4.9.1. Barrido de temperatura

A fin de caracterizar las distintas etapas de la gelatinización de las suspensiones de almidón de arroz (8 % p/p, b.s.), se procedió a registrar la evolución de G' y G'' a lo largo del tiempo de calentamiento, como se observa en las figuras 4.89 a 4.92.

El almidón control (C) obtenido en una procesadora de cuchillas, y el almidón de referencia (CA) obtenido en el MPB, con 0 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH, presentaron un comportamiento similar. En cambio, el almidón aislado con la máxima concentración de tensioactivo y sin álcali (CT) y el almidón extraído con SDS y NaOH (Alm 5, correspondiente al punto central del diseño experimental), presentaron valores mayores de G' y G'' (figura 4.89).

En la figuras 4.90 y 4.91 se muestra el efecto de la concentración de SDS sobre G' y G'' a una concentración constante de NaOH (0,025 % y 0,075 % p/v, respectivamente), asimismo, en la figura 4.92 se muestra el efecto de la concentración de NaOH sobre G' y G'' a una concentración constante de SDS (0,9 % p/v).

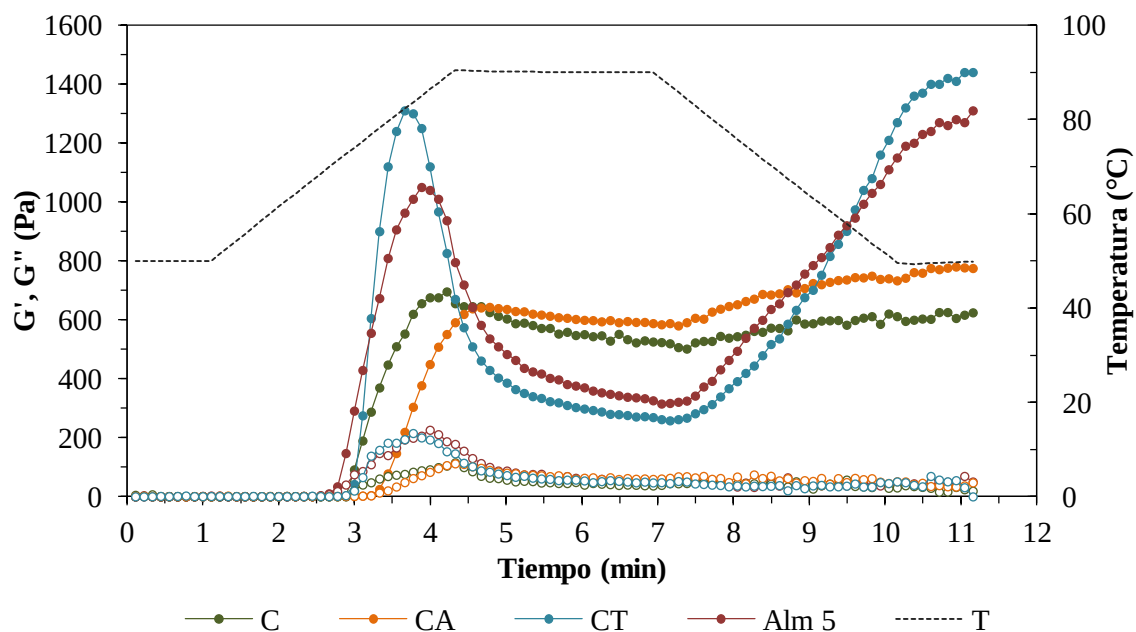


Figura 4.89. Barrido de temperatura (módulos de almacenamiento: G' , ●; módulos de pérdida: G'' , ○) de las suspensiones de almidones de arroz (8 % p/p, b.s.) a frecuencia (1 Hz) y deformación constante ($\gamma = 0,1$ %).

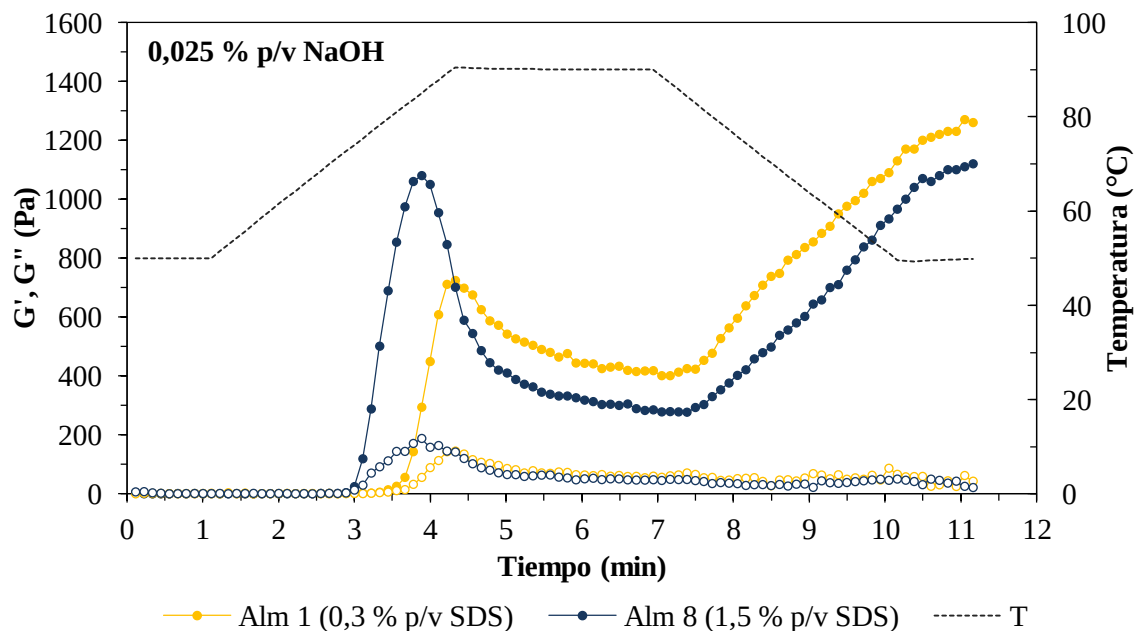


Figura 4.90. Barrido de temperatura (módulos de almacenamiento: G' , ●; módulos de pérdida: G'' , ○) de las suspensiones de almidones de arroz (8 % p/p, b.s.) a frecuencia (1 Hz) y deformación constante ($\gamma = 0,1$ %).

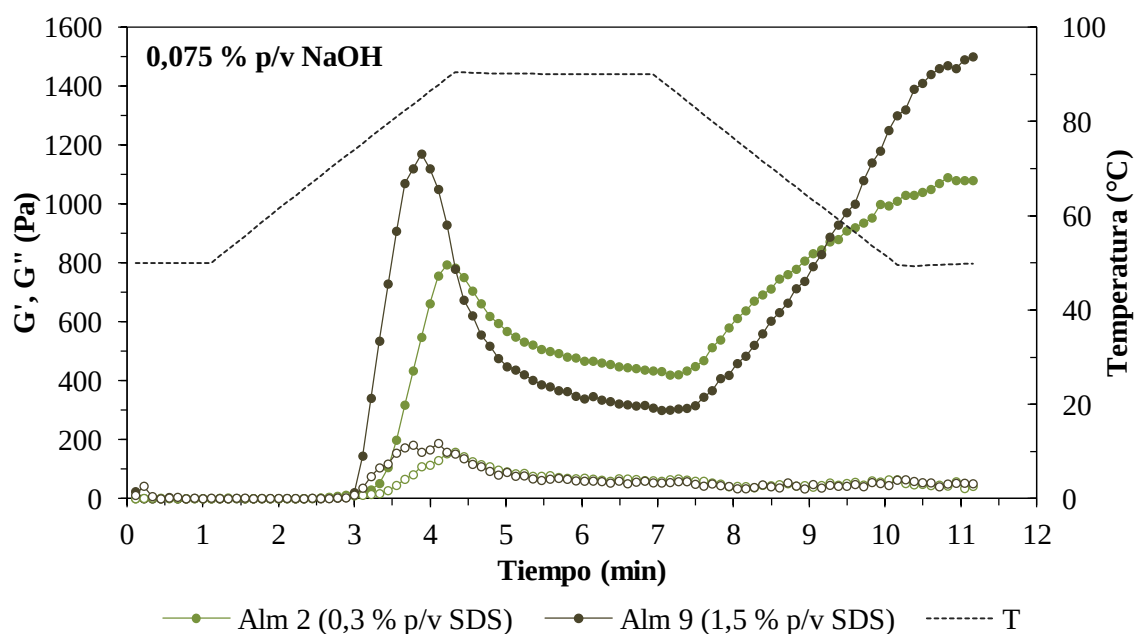


Figura 4.91. Barrido de temperatura (módulos de almacenamiento: G' , ●; módulos de pérdida: G'' , ○) de las suspensiones de almidones de arroz (8 % p/p, b.s.) a frecuencia (1 Hz) y deformación constante ($\gamma = 0,1$ %).

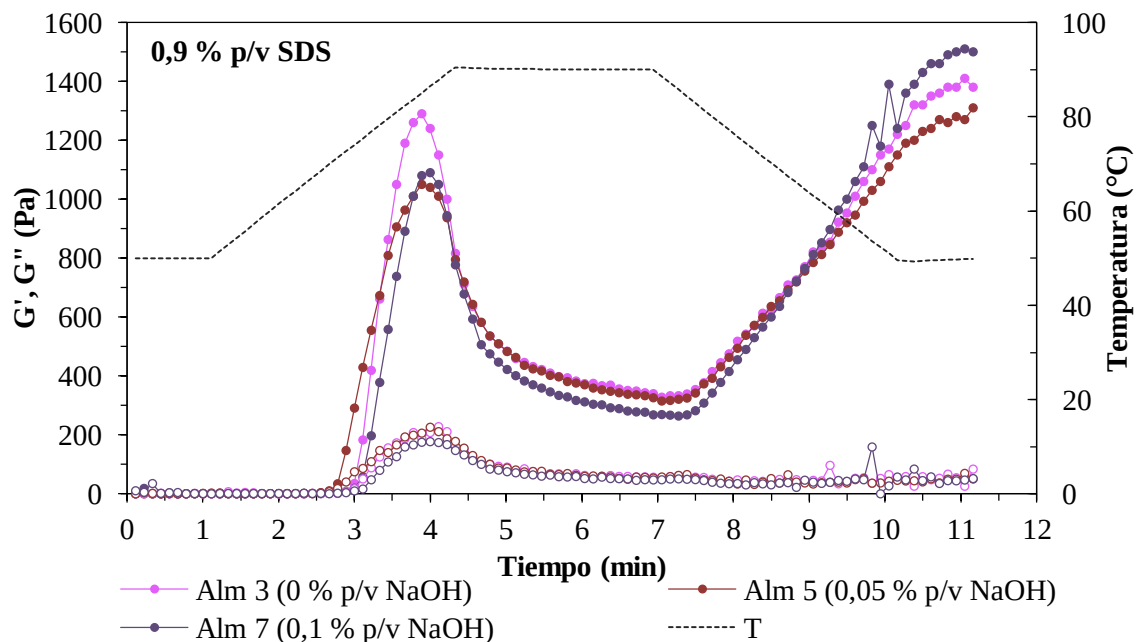


Figura 4.92. Barrido de temperatura (módulos de almacenamiento: G' , ●; módulos de pérdida: G'' , ○) de las suspensiones de almidones de arroz (8 % p/p, b.s.) a frecuencia (1 Hz) y deformación constante ($\gamma = 0,1$ %).

El módulo de almacenamiento y el módulo de pérdida de todas las suspensiones de almidón de arroz aumentaron rápidamente hasta un máximo ($G'_{\max}$ y $G''_{\max}$) y luego disminuyeron cuando prosiguió el calentamiento. La temperatura a la cual los módulos exhibieron el mayor valor ($T_{\max}$), varió de 82,2 a 90,5 °C (tabla 4.31). El aumento rápido de G' y G'' , antes de alcanzar $T_{\max}$, se suele atribuir al hinchamiento de los gránulos de almidón para cubrir todo el volumen disponible del sistema y a la lixiviación de las cadenas de amilosa. A partir de la amilosa liberada se forma una red tridimensional reforzada por una fuerte interacción entre los gránulos de almidón hinchados (Eliasson, 1986; Vasanthan y Bhatt, 1996; Tsai, Li y Lii, 1997). Los valores máximos de G' mostraron una variación considerable entre 643 Pa para CA y 1310 Pa para CT. Lin y colaboradores (2010), hallaron una reducción de los valores de G' con la disminución de contenido de proteína de los almidones de arroz.

Tabla 4.31. Parámetros viscoelásticos de las suspensiones de almidón de arroz gelatinizadas (8 % p/p, b.s.).

Muestra	$G'_{\max}$ (Pa)	$G''_{\max}$ (Pa)	$T_{\max}$ (°C)
C	696 ^b	104 ^a	89,2 ^f
CA	643 ^a	90 ^a	90,3 ^g
CT	1310 ^g	194 ^c	82,2 ^a
Alm 1	724 ^b	145 ^b	90,5 ^f
Alm 2	794 ^c	153 ^b	89,2 ^e
Alm 3	1290 ^g	188 ^c	85,1 ^c
Alm 4*	1100 ^e	183 ^c	85,0 ^b
Alm 5*	1050 ^e	206 ^c	85,0 ^b
Alm 6*	1123 ^e	195 ^c	85,0 ^b
Alm 7	1090 ^e	177 ^c	86,4 ^d
Alm 8	1080 ^e	188 ^c	85,1 ^c
Alm 9	1170 ^f	158 ^b	85,0 ^b

* Punto central del diseño experimental por triplicado. $G'_{\max}$: módulo de almacenamiento máximo, $G''_{\max}$: módulo de pérdida máximo. Promedio de los valores medidos a 1 Hz de frecuencia y 0,1 % de deformación. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

En el presente trabajo, se encontró una correlación significativa ($p < 0,01$) y positiva entre $G'_{\max}$ y el contenido de proteína ($G'_{\max}$ –Proteína, $r = 0,88$), cuando se analizaron estos parámetros excluyendo las muestras con contenido de proteína superior al 0,90 g/ 100 g

b.s. Por lo tanto, los cambios de $G'_{\max}$ pueden ser explicados por las diferencias en el contenido de proteína de las muestras.

Por otra parte, los valores de $G'_{\max}$ siempre fueron mayores que los valores de $G''_{\max}$, esto muestra el carácter predominantemente elástico del sistema estudiado.

La tabla 4.32 reproduce los valores de G' , G'' y $\tan \delta$ alcanzados al final del calentamiento isotérmico a 90 °C (G'_{90} , G''_{90} y $\tan \delta_{90}$) y al final del enfriamiento isotérmico a 50 °C (G'_{50} , G''_{50} y $\tan \delta_{50}$). Durante el calentamiento prolongado los valores de los módulos oscilatorios disminuyeron con respecto a los módulos máximos ($G'_{90} < G'_{\max}$, $G''_{90} < G''_{\max}$), lo que indica la desintegración de los gránulos de almidón, probablemente por la fusión de la región cristalina remanente y por el debilitamiento de las interacciones entre las cadenas debido al aumento de la movilidad molecular (Hsu, Lu y Huang, 2000).

Tabla 4.32. Parámetros viscoelásticos de las suspensiones de almidón de arroz (8 % p/p, b.s.), obtenidos al finalizar de calentamiento (90 °C) y el enfriamiento (50 °C).

Muestra	G'_{90} (Pa)	G''_{90} (Pa)	$\tan \delta_{90}$	G'_{50} (Pa)	G''_{50} (Pa)	$\tan \delta_{50}$
C	526 ^g	36,9 ^a	0,070 ^a	625 ^a	19,0 ^a	0,030 ^b
CA	588 ^h	59,3 ^d	0,101 ^b	775 ^b	47,4 ^c	0,061 ^d
CT	269 ^a	47,3 ^b	0,176 ^e	1440 ^g	31,0 ^b	0,022 ^a
Alm 1	418 ^e	60,0 ^c	0,144 ^c	1260 ^e	42,9 ^c	0,034 ^c
Alm 2	434 ^f	61,4 ^c	0,141 ^c	1080 ^c	42,3 ^c	0,039 ^c
Alm 3	340 ^d	56,3 ^b	0,166 ^d	1380 ^f	83,8 ^d	0,061 ^d
Alm 4*	299 ^c	48,5 ^b	0,162 ^d	1360 ^f	45,4 ^c	0,033 ^c
Alm 5*	326 ^c	53,6 ^b	0,164 ^d	1310 ^f	50,4 ^c	0,038 ^c
Alm 6*	313 ^c	51,1 ^b	0,163 ^d	1335 ^f	54,8 ^c	0,041 ^c
Alm 7	268 ^b	47,2 ^b	0,176 ^e	1500 ^h	51,7 ^c	0,034 ^c
Alm 8	285 ^c	47,8 ^b	0,168 ^d	1120 ^d	21,4 ^a	0,019 ^a
Alm 9	308 ^c	54,2 ^b	0,176 ^e	1500 ^h	51,2 ^c	0,034 ^c

* Punto central del diseño experimental por triplicado. G' : módulo de almacenamiento, G'' : módulo de pérdida. Promedio de los valores medidos a 1 Hz de frecuencia y 0,1 % de deformación. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

La viscoelasticidad se incrementó durante el enfriamiento controlado de las muestras gelatinizadas, lo cual se evidencia en la reducción de los valores de la tangente de pérdida ($\tan \delta_{50} < \tan \delta_{90}$). Por otro lado, los almidones aislados con tensioactivo mostraron un

aumento de los módulos ($G'_{50} > G'_{90}$, $G''_{50} > G''_{90}$) superior al observado en los almidones obtenidos solamente con álcali, esto implica que las diferentes condiciones de maceración influyen sobre las propiedades del material.

En otro sentido, se establecieron correlaciones significativas ($p < 0,01$) y positivas entre $G'_{\max}$ y el pico de viscosidad (PV), determinado en la sección 4.4.8 en un equipo RVA, y entre G'_{90} y la viscosidad media (VM), determinada en la sección 4.4.8, ($G'_{\max}$ -PV, $r = 0,92$; G'_{90} -VM, $r = 0,95$), por lo que existen una relación estrecha entre las propiedades reológicas y las propiedades de pasta de los almidones aislados.

Cabe aclarar que la comparación con datos de bibliografía se dificulta, debido a que los resultados dependen del contenido de amilosa, de la concentración de la suspensión utilizada y de la velocidad de calentamiento, durante el barrido de temperatura. Es sabido que la concentración tiene un efecto positivo y la velocidad de calentamiento un efecto negativo sobre los módulos viscoelásticos (Ahmed *et al.*, 2008). A su vez, Biliaderis y Juliano (1993) encontraron que la rigidez de los geles (G') de arroz muestra una dependencia de tipo potencial con la concentración (8-40%).

Un análisis detallado del efecto de las condiciones de maceración (concentración de tensioactivo y álcali) sobre los parámetros viscoelásticos mencionados previamente se llevó a cabo mediante MSR a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$). En la tabla 4.33 se muestra el efecto de los factores sobre $G'_{\max}$, $G''_{\max}$ y $T_{\max}$. En todos los caso el ajuste fue satisfactorio ($R^2 > 0,90$) y las respuestas estudiadas fueron explicadas adecuadamente por un modelo de segundo orden. La temperatura ($T_{\max}$) a la cual se obtuvieron los mayores valores de los módulos dinámicos ($G'_{\max}$ y $G''_{\max}$), disminuyó con el aumento de la concentración de SDS. También se observó el efecto positivo de la concentración de tensioactivo sobre los valores de $G'_{\max}$ y $G''_{\max}$, siendo más marcado en ausencia de NaOH (figura 4.93).

Tabla 4.33. Efectos de las condiciones de maceración sobre los valores máximos del módulo de almacenamiento ($G'_{\max}$), del módulo de pérdida ($G''_{\max}$) y de la temperatura ($T_{\max}$), en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		$G'_{\max}$ (Pa)	$G''_{\max}$ (Pa)	$T_{\max}$ (°C)
Constante	a_0	1091	195	85,0
Lineal	a_1	211*	14NS	-2,8*
	a_2	-40NS	-7NS	---
Cuadrático	a_{11}	-232*	-41*	3,0*
	a_{22}	99NS	-12NS	0,8NS
Interacción	a_{12}	---	-22NS	0,7NS
Correlación	r^2	0,9036	0,9159	0,9626

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

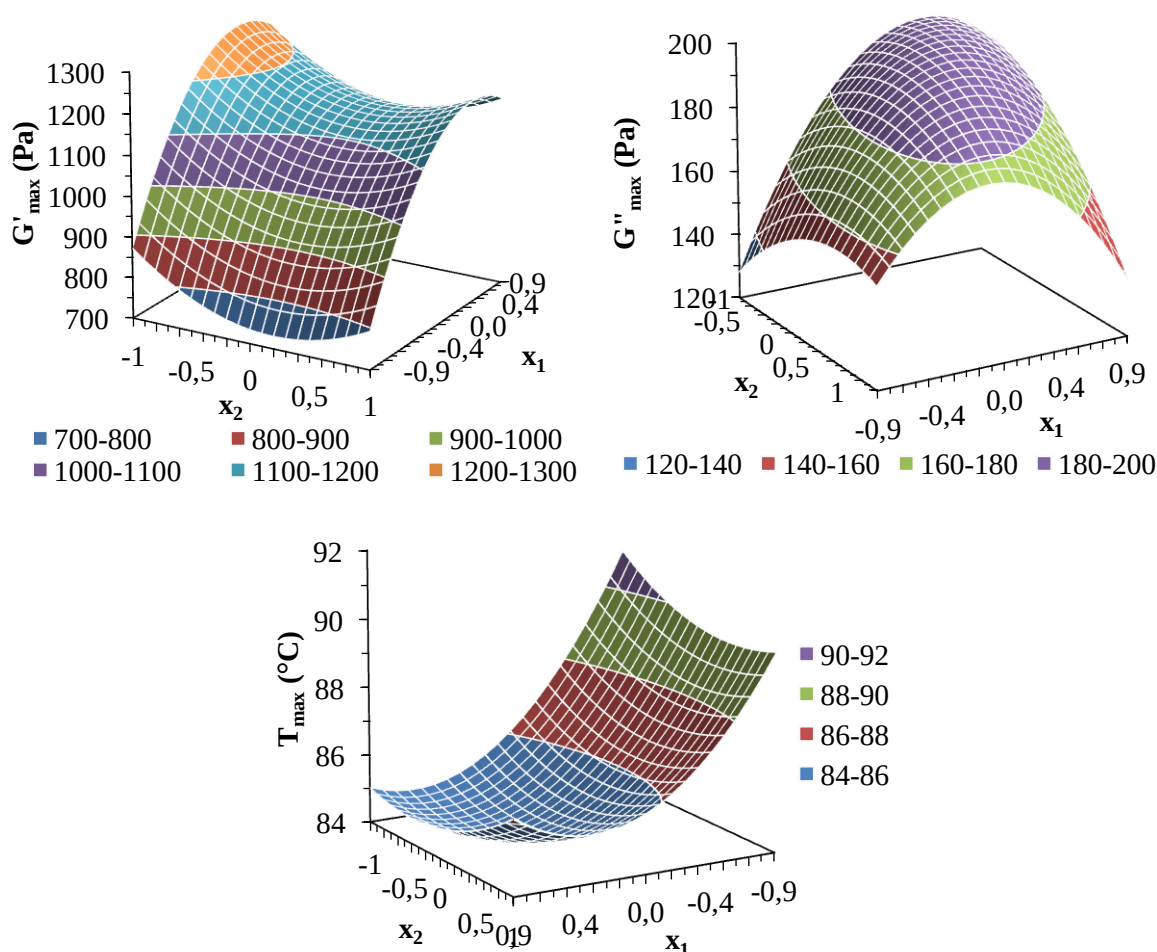


Figura 4.93. Superficies de respuesta de los valores máximos del módulo de almacenamiento ($G'_{\max}$), del módulo de pérdida ($G''_{\max}$) y de la temperatura ($T_{\max}$) en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2).

En la tabla 4.34 se presentan los coeficientes de los polinomios de segundo orden, que describen el efecto de las condiciones de maceración sobre los valores de los módulos de almacenamiento y de pérdida, al finalizar el calentamiento y el enfriamiento. Los datos correspondientes a G' ($R^2 = 0,91$ y $0,99$ para G'_{90} y G'_{50} ; respectivamente) ofrecieron un mejor ajuste que G'' ($R^2 = 0,72$ y $0,68$ para G''_{90} y G''_{50} ; respectivamente).

Tabla 4.34. Efectos de las condiciones de maceración sobre los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') al finalizar el calentamiento ($90\text{ }^{\circ}\text{C}$) y el enfriamiento ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$), en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		G'_{90} (Pa)	G''_{90} (Pa)	G'_{50} (Pa)	G''_{50} (Pa)
Constante	a_0	313	51,3	1335	50,2
Lineal	a_1	-75*	-5,6NS	81*	-3,6NS
	a_2	-18NS	-1,7NS	73*	-5,8NS
Cuadrático	a_{11}	68*	6,0NS	-162*	-20,2NS
	a_{22}	-9NS	---	105*	17,6NS
Interacción	a_{12}	---	2,9NS	323*	17,6NS
Correlación	r^2	0,9073	0,7164	0,9865	0,6829

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

El efecto de la concentración de SDS fue significativo para G'_{90} y G'_{50} , y la concentración de NaOH sólo afectó a G'_{50} . En contraste, no se observaron efectos significativos de las condiciones de maceración sobre G''_{90} y G''_{50} . La interacción entre el tensioactivo y el álcali fue relevante únicamente para G'_{50} (figura 4.94), obteniéndose el mayor valor de G' al finalizar el enfriamiento ($G'_{50} = 1742\text{ Pa}$), con la máxima concentración de tensioactivo y álcali (1,5 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH).

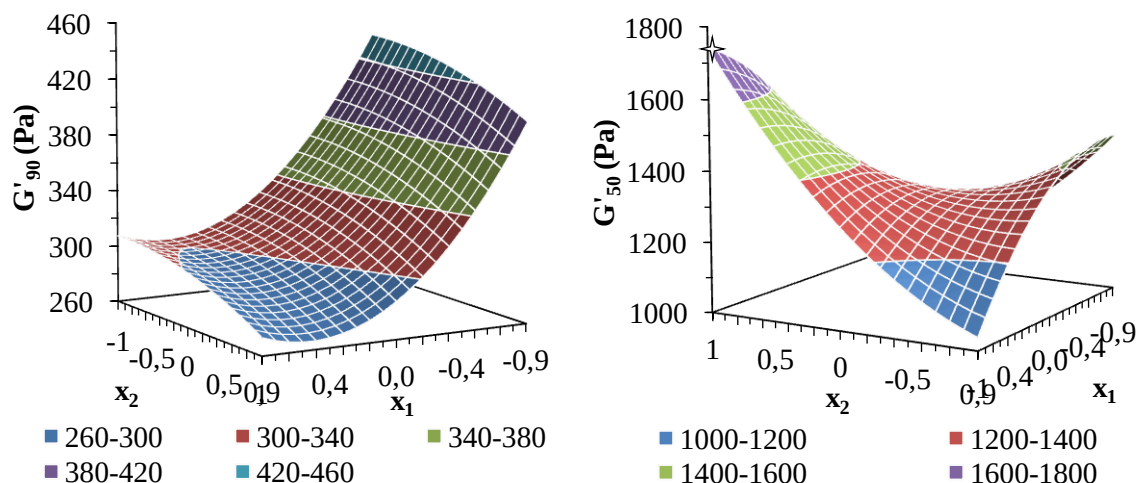


Figura 4.94. Superficies de respuesta del módulo de almacenamiento (G') al finalizar el calentamiento (90 °C) y el enfriamiento (50 °C) en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2). Punto óptimo máximo (★).

4.4.9.2. Barrido de deformación

El barrido de deformación se realiza para determinar los límites del comportamiento viscoelástico lineal, zona dónde la deformación medida es directamente proporcional al esfuerzo aplicado, rango en el cual los módulos son independientes de la deformación (Karim, Norziah y Seow, 2000).

Al finalizar el barrido de temperatura, esta se aumentó de 50 °C a 70 °C, luego de dos minutos, se efectuó el barrido de deformación a frecuencia constante (1 Hz) y se identificó el rango viscoelástico lineal (RVL) de cada muestra. Zhong y colaboradores (2009) determinaron las propiedades viscoelásticas de las pastas de almidón de arroz a 65 °C, e informaron que las mediciones reológicas se podrían hacer sin efectos de la retrogradación del almidón. Con el objetivo de limitar tales efectos, en el presente estudio se seleccionó una temperatura de 70 °C.

En la figura 4.95 se representa el módulo de almacenamiento (G' , Pa) y el esfuerzo de corte (τ , Pa) en función de la amplitud de deformación (γ , %), en el rango de 0,01 a 10 % para los almidones de referencia (C, CA y CT) y el punto central del diseño (Alm 5) a 70 °C. El RVL se presenta hasta deformaciones inferiores al 4 % para los almidones obtenidos con 0 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH (C y CA), mientras que para las restantes combinaciones de tensioactivo y álcali, como se muestra en la tabla 4.35, la variación de G' con la deformación es lineal en todo el rango experimental, al igual que el almidón obtenido con 1,5 % p/v SDS y sin álcali (CT). Esto indicaría que los almidones aislados con tensioactivo exhibe una mayor resistencia a la deformación, de donde se infiere que

serían más adecuados para la formulación de alimentos que requieran condiciones severas de procesamiento. El límite de viscoelasticidad lineal de estas suspensiones gelatinizadas fue superior a los encontrados por otros autores para harina de arroz (Cappa, Lucisano y Mariotti, 2013). Loubes y colaboradores (2012) informaron un comportamiento viscoelástico lineal para amplitudes menores del 5 % en almidón de amaranto, el cual comparte el carácter microgranular con el almidón de arroz. Otros investigadores encontraron valores críticos de RVL comprendidos entre 6 y 10 % de deformación para diferentes sistemas amiláceos (Rosalina y Bhattacharya, 2002; Sopade, Halley y Junming, 2004).

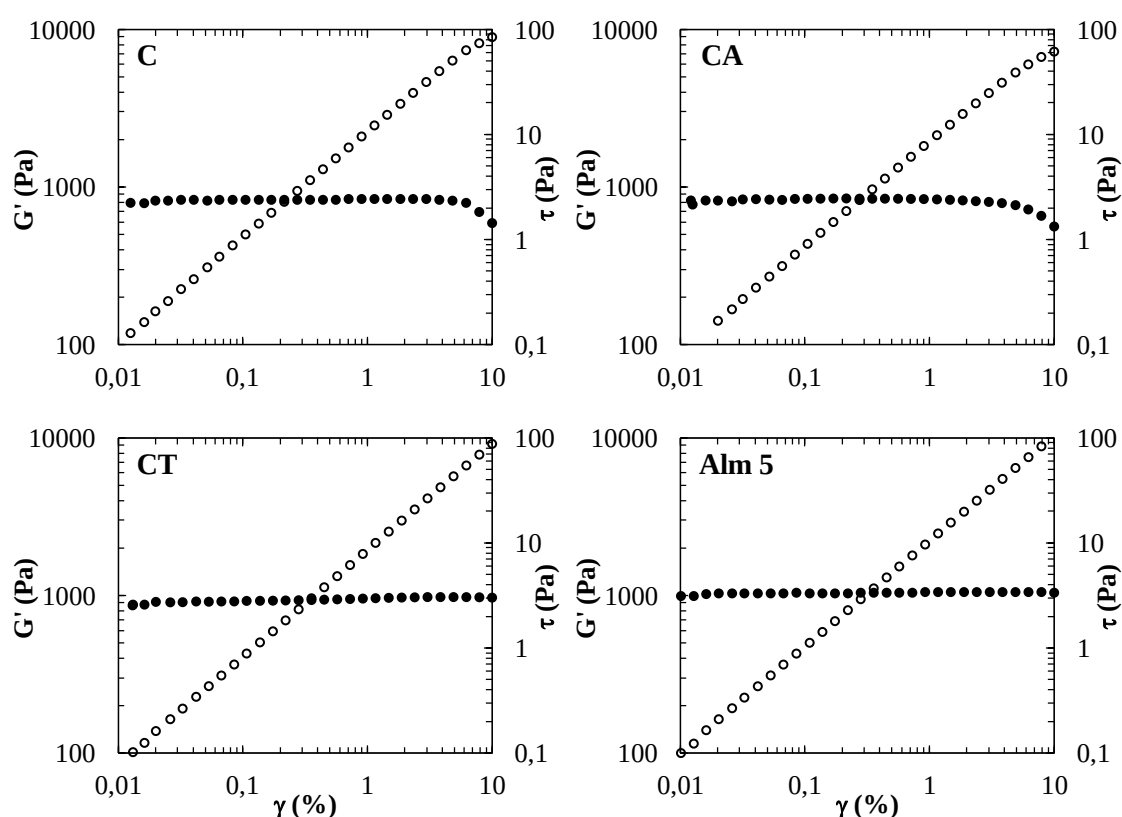


Figura 4.95. Barrido de deformación de los geles de almidón de arroz (8 % p/p, b.s.). Los valores del módulo de almacenamiento (G' , ●) y del esfuerzo (τ , ○) fueron determinados a 1 Hz en función del incremento de la deformación (γ).

Por otra parte, los valores de G' para los tratamientos con SDS fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) que los obtenidos para los tratamientos con álcali y sin tensioactivo, y la tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta = G''/G'$) menor, razón por la cual los tratamientos con SDS producen un mayor grado de elasticidad.

A partir de estos resultados los espectros mecánicos se realizaron a una amplitud de deformación del 0,1 % para todos los sistemas estudiados.

Tabla 4.35. Parámetros viscoelásticos correspondientes al RVL para los geles de almidón de arroz (8 % p/p, b.s.) a 70 °C.

Muestra	γ (%)	G' (Pa)	G'' (Pa)	tan δ
C	0,01-3,77	833,16 ^a	42,04 ^b	0,050 ^c
CA	0,01-2,35	835,38 ^a	41,40 ^b	0,050 ^c
CT	0,01-10	942,41 ^b	43,57 ^b	0,046 ^b
Alm 1	0,01-10	1203,57 ^d	59,01 ^d	0,049 ^c
Alm 2	0,01-10	988,73 ^b	44,05 ^b	0,045 ^b
Alm 3	0,01-10	795,68 ^a	38,26 ^a	0,048 ^c
Alm 4*	0,01-10	1012,76 ^b	37,09 ^a	0,037 ^a
Alm 5*	0,01-10	1039,29 ^b	37,77 ^a	0,036 ^a
Alm 6*	0,01-10	1026,02 ^b	38,45 ^a	0,037 ^a
Alm 7	0,01-10	1062,50 ^c	38,04 ^a	0,036 ^a
Alm 8	0,01-10	1025,36 ^b	46,54 ^c	0,045 ^b
Alm 9	0,01-10	1075,20 ^c	45,19 ^c	0,042 ^b

* Punto central del diseño experimental por triplicado. G': módulo de almacenamiento, G'': módulo de pérdida, tan δ : tangente del ángulo de desfasaje. Promedio de los valores medidos a 1 Hz de frecuencia dentro del RVL. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

4.4.9.3. Barrido de frecuencia

El barrido de frecuencia es una prueba dinámica que muestra cómo cambia el comportamiento elástico y viscoso del material, con la velocidad de aplicación de la deformación. La representación gráfica de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia de oscilación, determina el espectro mecánico dinámico del material, si se lleva a cabo en condiciones de viscoelasticidad lineal. A través de los años, este tipo de experimentación se ha utilizado ampliamente para proporcionar conocimiento sobre la estructura de los biomateriales (Rao, 2003).

En la figura 4.96 se presentan los espectros mecánicos de las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz (8 % p/p, b.s.), a 70 °C y deformación constante ($\gamma = 0,1$ %), en un rango de frecuencia de 1 a 10 Hz.

Los valores de G' fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) que los de G'' a la misma frecuencia, en todas las muestras analizadas, indicando un carácter predominantemente

elástico. Por otra parte, G'' fue más dependiente de la frecuencia angular que G' , aunque en general G'' es menos importante que G' , debido a su menor valor ($G' > G''$ en al menos un orden de magnitud) y a la falta de dependencia de G' con la frecuencia (Chang, Lim y Yoo, 2004). Estos resultados sugieren que las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz forman gel.

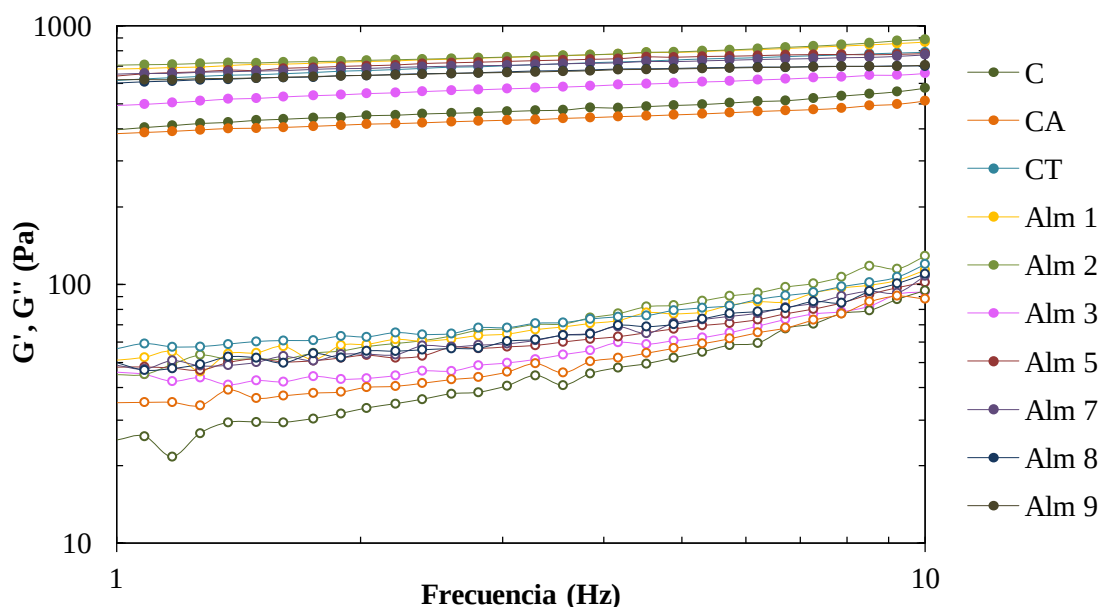


Figura 4.96. Espectros mecánicos dinámicos (módulos de almacenamiento: G' , ●; módulos de pérdida: G'' , ○) de los geles de almidones de arroz (8 % p/p, b.s.) a 70 °C y deformación constante ($\gamma = 0,1$ %).

Por otra parte, los geles correspondientes a los almidones de arroz obtenidos con la máxima concentración de álcali y sin tensioactivo (C y CA), resultaron similares en cuanto a su comportamiento viscoelástico, con valores de G' y G'' menores que los del gel del almidón aislado con tensioactivo puro (CT). Con relación a los geles de los almidones elaborados en el MPB usando combinaciones de tensioactivo-álcali, los módulos viscoelásticos mostraron valores mayores que los de los geles del almidón control (C) y del almidón de referencia (CA), obtenidos en una procesadora de cuchilla y en el MPB, respectivamente.

Alternativamente el carácter viscoelástico puede expresarse a través de la tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta$), lo que constituye una nueva función del material. La figura 4.97 muestra los valores de la $\tan \delta$ en función de la frecuencia, en todos los casos fueron menores a 0,2; validando así el carácter sólido de tipo predominante de la estructura.

Los geles exhiben propiedades microestructurales y mecánicas muy diversas, de tal forma que es difícil definirlos. Según Clark (1991), un gel es un material formado por una red sólida tridimensional continua (network) que embebe el solvente (agua) y lo inmoviliza, transformándose en una matriz viscoelástica. Sin embargo, la apariencia de un gel puede fluctuar desde un sólido blando que no se autoaporta a un material con características de sólido, razón por la cual una definición estricta es muy difícil y se utilizan los términos fuerte y débil como una sub clasificación (Clark y Ross-Murphy, 1987).

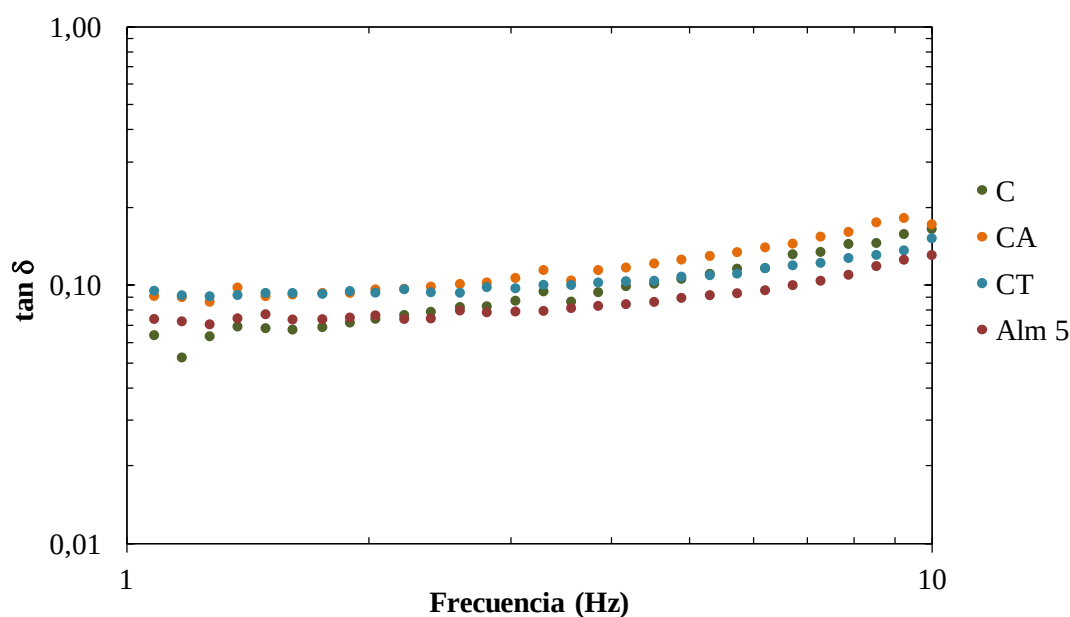


Figura 4.97. Tangentes de pérdida ($\tan \delta$) mecánicas dinámicas de los geles de almidones de arroz (8 % p/p, b.s.), a 70 °C y deformación constante ($\gamma = 0,1$ %).

4.4.9.3. a. Modelado de los espectros mecánicos dinámicos

La naturaleza del gel formado por los almidones aislados bajo diferentes condiciones de tratamiento se puede establecer a partir del modelado del espectro mecánico.

La ley de la potencia (Ross-Murphy, 1995) ha sido propuesta para simular la dependencia de los módulos viscoelásticos con la frecuencia.

$$G' = K' \omega^{n'} \quad G'' = K'' \omega^{n''} \quad (4.13)$$

En su forma linealizada se enuncia

$$\text{Log} (G' , G'') = \text{Log} (K' , K'') + (n' , n'') \text{Log} (\omega) \quad (4.14)$$

Donde n' y n'' son las pendientes correspondientes a los ajustes de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') respectivamente, ω es la frecuencia expresada en rad/s, y K' y K'' son los valores de G' y G'' a la frecuencia de 1 rad/s.

Desde un punto de vista estructural, cuando las pendientes (n' y n'') tienden a cero, y por consiguiente los módulos viscoelásticos resultan independientes de la frecuencia de oscilación, las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz se pueden considerar geles fuertes, mientras que de carácter débiles o pastas cuando las pendientes son positivas (Ross-Murphy, 1984). Según algunos autores (Kokini, Lai y Chedid, 1992; Lopes da Silva, Goncalves y Rao, 1993) para valores de $n' \sim 0,4$ el sistema puede apreciarse como una pasta, es decir, muestra incapacidad para la formación de un gel.

Los datos experimentales obtenidos mediante los ensayos dinámicos se ajustaron con la expresión linealizada (ec. 4.14), en función de la frecuencia angular en el rango de 6,28 – 62,8 rad/s (1 a 10 Hz).

La tabla 4.36 proporciona los valores de los parámetros del ajuste y los coeficientes de determinación ($R^2 > 0,962$ para G' y $R^2 > 0,923$ para G''), de las suspensiones gelatinizadas de almidón de arroz.

Tabla 4.36. Parámetros de ajuste de la ec. 4.14 para las suspensiones de almidón de arroz gelatinizadas (8 % p/p, b.s.) a 70 °C.

Muestra	G'			G''		
	n'	K' (Pa s ^{n'})	R^2	n''	K'' (Pa s ^{n''})	R^2
C	$0,124 \pm 0,004^g$	$327,7 \pm 0,9^b$	0,989	$0,570 \pm 0,002^g$	$7,8 \pm 0,9^a$	0,973
CA	$0,112 \pm 0,002^g$	$312,2 \pm 0,5^a$	0,986	$0,421 \pm 0,007^f$	$14,1 \pm 0,7^b$	0,941
CT	$0,108 \pm 0,001^f$	$508,0 \pm 1,0^d$	0,998	$0,286 \pm 0,005^b$	$31,0 \pm 0,5^g$	0,930
Alm 1	$0,100 \pm 0,002^e$	$564,0 \pm 0,5^g$	0,995	$0,334 \pm 0,003^e$	$25,4 \pm 0,4^f$	0,947
Alm 2	$0,094 \pm 0,003^d$	$580,5 \pm 0,2^j$	0,962	$0,429 \pm 0,001^f$	$19,7 \pm 0,2^d$	0,981
Alm 3	$0,118 \pm 0,005^g$	$402,7 \pm 0,4^c$	0,995	$0,414 \pm 0,002^f$	$17,6 \pm 0,9^c$	0,960
Alm 4*	$0,088 \pm 0,001^c$	$566,8 \pm 0,2^h$	0,993	$0,303 \pm 0,003^c$	$25,7 \pm 0,5^f$	0,946
Alm 5*	$0,088 \pm 0,002^c$	$565,3 \pm 0,2^h$	0,982	$0,308 \pm 0,005^c$	$24,5 \pm 0,1^e$	0,923
Alm 6*	$0,081 \pm 0,007^c$	$566,0 \pm 0,9^h$	0,992	$0,297 \pm 0,003^c$	$26,8 \pm 0,5^f$	0,941
Alm 7	$0,072 \pm 0,001^b$	$570,6 \pm 0,1^i$	0,997	$0,322 \pm 0,001^d$	$24,3 \pm 0,2^e$	0,942
Alm 8	$0,074 \pm 0,001^b$	$531,0 \pm 0,3^e$	0,983	$0,301 \pm 0,002^c$	$26,2 \pm 0,4^f$	0,964
Alm 9	$0,062 \pm 0,008^a$	$548,7 \pm 0,2^f$	0,994	$0,265 \pm 0,009^a$	$29,7 \pm 0,8^g$	0,929

* Punto central del diseño experimental. G' : módulo de almacenamiento, G'' : módulo de pérdida. Valores seguidos de la misma letra dentro de una misma columna no difieren significativamente ($p < 0,05$).

Los almidones aislados combinando tensioactivo y álcali presentaron un módulo elástico relativamente independiente de la frecuencia ($n' < 0,1$), mientras que el módulo viscoso fue levemente dependiente de la frecuencia ($0,27 < n'' < 0,43$), en cambio los almidones de arroz aislados con 0 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH (C y CA) presentaron un carácter más viscoso con una mayor dependencia de la frecuencia ($n' > 0,1$ y $0,42 < n'' < 0,57$). Además, el módulo de pérdida se vio afectado en mayor medida que G' ($n' < n''$). Este tipo de comportamiento se asocia con un gel débil (Clark y Ross-Murphy, 1987).

Los geles fuertes tienen las características de geles verdaderos, en virtud de lo cual, bajo pequeñas condiciones de deformación manifiestan el comportamiento típico de sólido viscoelástico, y bajo un valor crítico de deformación se rompen en lugar de fluir. Por otra parte, los geles débiles poseen propiedades reológicas intermedias entre soluciones y geles fuertes. Bajo pequeñas deformaciones los geles débiles se asemejan a los geles fuertes en su comportamiento mecánico, pero cuando la deformación se incrementa la red sólida tridimensional experimenta una rotura progresiva, en agregados más pequeños (Rosalina y Bhattacharya, 2002).

En relación a n' , se encontraron valores similares a los informados en bibliografía para materiales amiláceos (Navarro, Martino y Zaritsky, 1997; Yoneya, *et al.*, 2003) y almidones de arroz químicamente modificados por acetilación (Shon y Yoo, 2006), en cambio fueron inferiores a los encontrados para harina de arroz (Chun y Yoo, 2004) y mezclas de almidón de arroz con hidrocoloides (Kim, Lee y Yoo, 2006; Rosell, Yokoyama y Shoemaker, 2011).

El efecto de las condiciones de maceración (concentración de tensioactivo y álcali) sobre los parámetros de la ec. 4.14 fue estimado mediante MSR a un nivel de significación del 5 % ($p < 0,05$). El modelo matemático empleado ajustó más satisfactoriamente los datos correspondientes a G' ($R^2 = 0,92$ y $0,88$ para n' y K' , respectivamente) que a G'' ($R^2 = 0,83$ y $0,87$ para n'' y K'' , respectivamente). El análisis mostró un efecto lineal de la concentración de SDS sobre n' y n'' , y un efecto lineal de la concentración de NaOH sobre n' . En cambio la concentración de tensioactivo no fue significativa sobre K' y K'' , mientras que la concentración de álcali evidenció un efecto cuadrático sobre K' y no fue significativo sobre K'' (tabla 4.37).

Las superficies de respuesta para los parámetros n' , n'' y K' se muestran en las figuras 4.98 y 4.99, para ayudar a la visualización del efecto de los factores.

Por otra parte, los valores de n' y n'' aumentaron con la disminución de la concentración de SDS bajo diferentes concentraciones de álcali. Estos resultados indican que una menor concentración de tensioactivo promueve estructuras más inestables y más dependientes de la velocidad de deformación. Al mismo tiempo señalan el efecto significativo de las combinaciones de tensioactivo-álcali sobre las características viscoelásticas del almidón, obtenido mediante molienda húmeda asistida en el molino planetario de bolas.

Tabla 4.37. Efectos de las condiciones de maceración sobre los parámetros de la ec. 4.14, en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		G'		G''	
		n'	K' (Pa s $^{n'}$)	n''	K'' (Pa s $^{n''}$)
Constante	a_0	0,086	566,0	0,310	25,7
Lineal	a_1	-0,017*	-18,7NS	-0,057*	3,1NS
	a_2	-0,018*	61,6*	-0,021NS	1,9NS
Cuadrático	a_{11}	-0,008NS	13,1NS	---	1,0NS
	a_{22}	0,009NS	-79,4*	0,062NS	-4,7NS
Interacción	a_{12}	-0,003NS	---	-0,076NS	5,3NS
Correlación	r^2	0,9214	0,8760	0,8271	0,8565

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

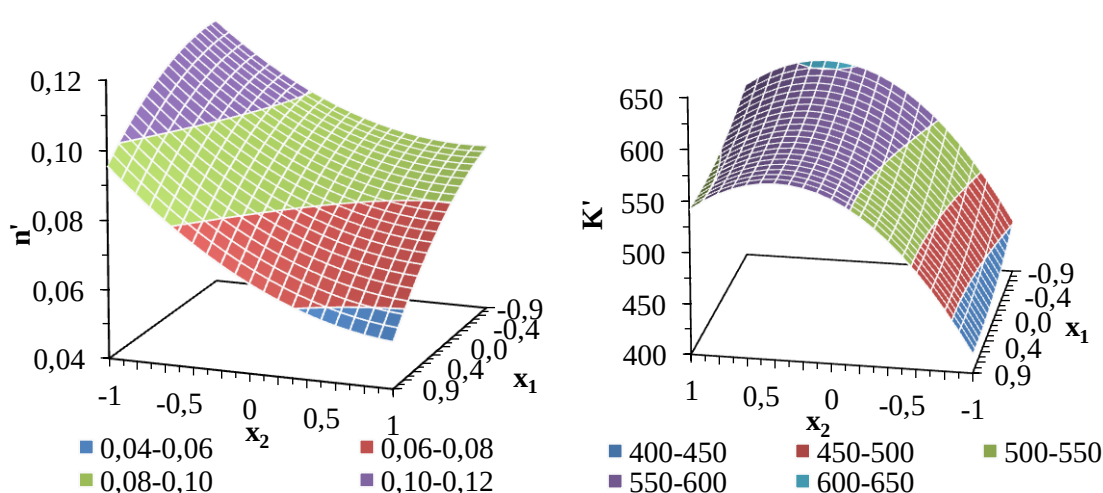


Figura 4.98. Superficies de respuesta de los parámetros n' y K' de la ec.4.14 en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2).

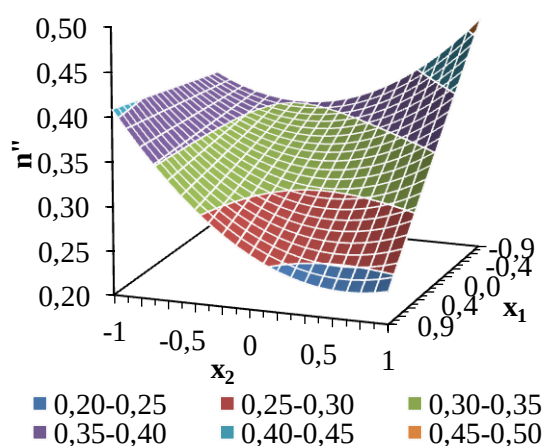


Figura 4.99. Superficie de respuesta del parámetro n'' de la ec.4.14 en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2).

4.4.10. Estabilidad de los geles de almidón al proceso de congelación y descongelación

La determinación del porcentaje de sinéresis, de los geles de almidón sometidos a congelación y descongelación, se utiliza para evaluar la capacidad del almidón para soportar los cambios físicos indeseables que se producen durante este proceso. La sinéresis en un gel congelado-descongelado es causada por el aumento de las asociaciones moleculares entre las cadenas de almidón, en particular, la retrogradación de la amilosa (Morris, 1990), que resulta en la expulsión de agua de la estructura del gel (Saartratra, *et al.*, 2005). La cantidad de agua liberada debido a la sinéresis es un indicador útil de la tendencia del almidón a retrogradar (Karim, Norziah y Seow, 2000) y es inversamente proporcional a la estabilidad a la congelación-descongelación de un gel de almidón.

En la figura 4.100 se observan los porcentajes de sinéresis de los geles de almidón de arroz (5 % p/p, b.s.) sometidos a un ciclo de congelación-descongelación durante siete días. Después de la descongelación se encontró que los almidones de arroz aislados con 0 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH (C y CA) presentaron un gel poroso de textura áspera (superficie rugosa) con una estructura similar a una esponja que permitió retener durante la centrifugación parte del agua, sin embargo al separarla, dado que el gel no quedó retenido en el tubo de centrifuga y se requirió un filtro, el gel siguió exudando, al igual que una esponja cuando es presionada, dificultando la determinación de la sinéresis. Por el contrario, las restantes muestras obtenidas con combinaciones de álcali y tensioactivo presentaron un gel de textura suave que quedó adherido a la pared del tubo de centrifuga, facilitando la determinación de la sinéresis (figura 4.101).

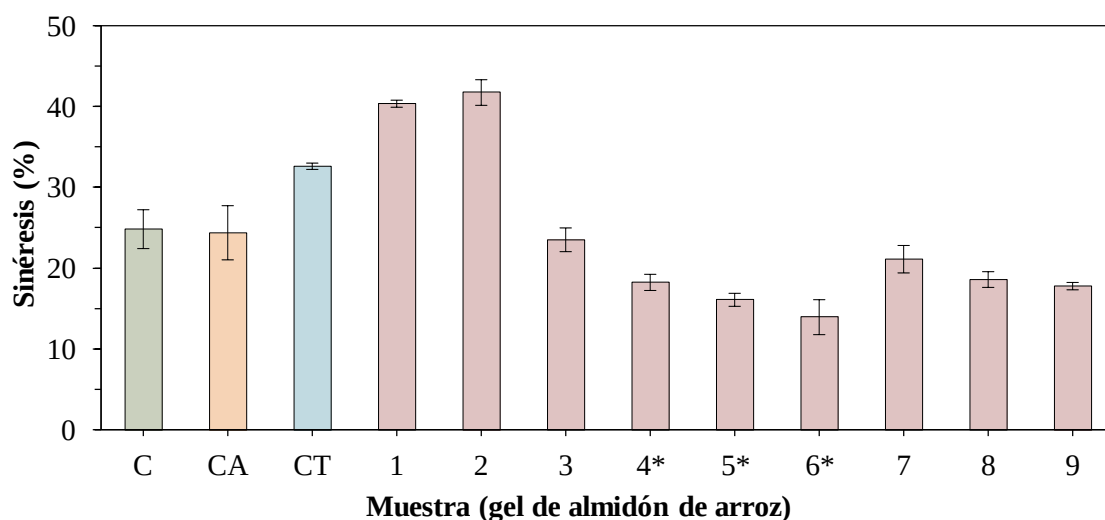


Figura 4.100. Porcentaje de sinéresis de los geles de almidón de arroz (5 % p/p, b.s.) sometidos a un ciclo de congelación (7 días) - descongelación.

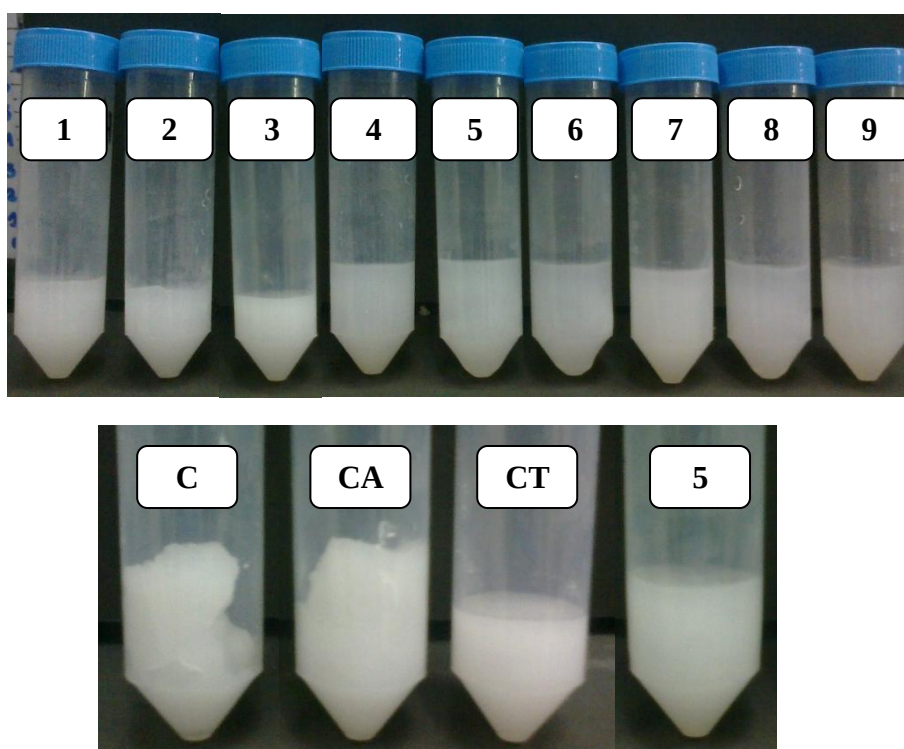


Figura 4.101. Geles de almidón de arroz (5 % p/p, b.s.) sometidos a un ciclo de congelación (7 días) - descongelación.

Otros autores encontraron la formación de una estructura porosa en geles de almidón de arroz con alto contenido de amilosa previamente congelados. Los cristales de hielo se extienden dentro del gel y tras la posterior descongelación a una temperatura inferior a 30

°C, los cristales se derriten y se observa el fenómeno de retrogradación (Deetae *et al.*, 2008).

En relación con los porcentajes de sinéresis observados en el presente trabajo, tanto el almidón nativo, obtenido por molienda húmeda tradicional en una procesadora de cuchillas (C) como el almidón de referencia obtenido en el MPB (CA), presentaron el mismo comportamiento, alcanzando valores de sinéresis de $24,8 \pm 2,4$ % y $24,4 \pm 3,4$ %, respectivamente. Sin embargo el almidón de referencia obtenido en el MPB con la máxima concentración de SDS (1,5 % p/v) y sin álcali (CT), mostró un incremento significativo de la sinéresis tomando valores de $32,6 \pm 0,4$ %. Deetae y colaboradores (2008) informaron valores similares para almidón nativo de arroz (28,7 % de sinéresis), al igual que Varavinit y colaboradores (2002) para harina de arroz nativa (33,7 % de sinéresis) de contenido intermedio de amilosa, en cambio los geles de almidón de arroz waxy mostraron valores cercanos a cero debido a la formación de un menor número de asociaciones inter-moleculares.

Las variaciones en las técnicas para determinar el porcentaje de sinéresis empleadas por los diferentes autores, dificulta la comparación de los datos. Eliasson y Kim (1992) mostraron que la fuerza centrífuga influyó en el grado de sinéresis, y que la sensibilidad del método creció con el aumento de la fuerza gravitacional. Por otra parte, la velocidad de congelación y la temperatura de descongelación puede afectar la estabilidad de la pasta (Varavinit, Anuntavuttikul y Shobsngob, 2000).

El efecto de las condiciones de maceración (concentración de tensioactivo y de álcali) sobre el porcentaje de sinéresis de los geles de almidón de arroz, se presenta en la tabla 4.38. Puede observarse que la estabilidad al proceso de congelación-descongelación dependió significativamente ($p < 0,05$) de la concentración de SDS, y fue menos dependiente de la concentración de NaOH. El porcentaje de sinéresis disminuyó con el incremento de la concentración de tensioactivo, y se encontró un valor óptimo (mínimo) de 13,3 % de sinéresis para una concentración de 1,19 % p/v SDS y 0,05 % p/v NaOH (figura 4.102). En contraste la condición más desfavorable (46,7 % de sinéresis) se halló para una concentración de 0,3 % p/v SDS y 0 % p/v NaOH.

Estos resultados sugieren que los almidones de arroz aislado con una combinación adecuada de álcali y tensioactivo presentan un potencial uso en la elaboración de productos congelados, y podrían sustituir a los almidones químicamente modificados (por acetilación o hidroxipropilación), que son empleados en la industria alimentaria por ofrecer una mejor

estabilidad a la congelación-descongelación en comparación a los almidones nativos (Huber y BeMiller, 2010).

Tabla 4.38. Efectos de las condiciones de maceración sobre la estabilidad de los geles de almidón de arroz, en términos de los factores codificados: concentración de SDS (x_1) y concentración de NaOH (x_2).

Coeficientes		Sinéresis (%)
Constante	a_0	16,110
Lineal	a_1	-13,312*
	a_2	-0,778NS
Cuadrático	a_{11}	16,095*
	a_{22}	6,214*
Interacción	a_{12}	---
Correlación	r^2	0,9468

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

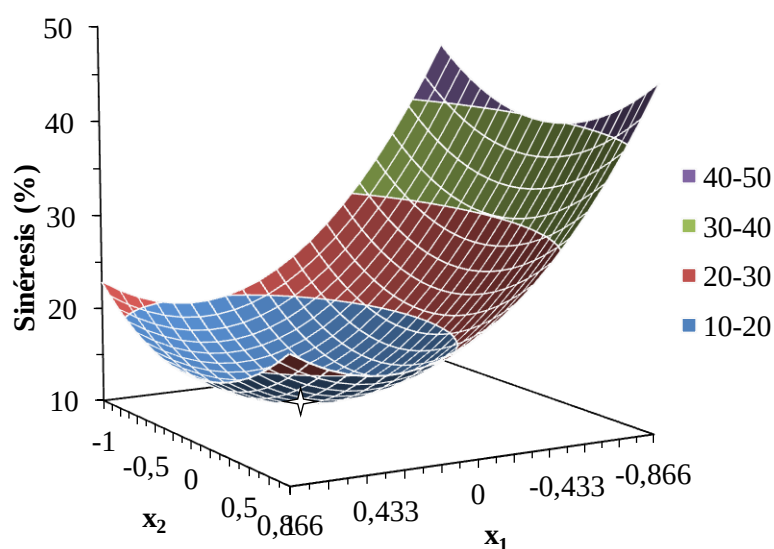


Figura 4.102. Superficies de respuesta del porcentaje de sinéresis en función de las concentraciones de SDS (x_1) y de NaOH (x_2). Punto óptimo mínimo ($\rightarrow$).

4.5. Pastas sin gluten

4.5.1. Selección de los ingredientes funcionales

La creciente demanda de alimentos libres de gluten, ha favorecido el desarrollo de numerosos productos a base de harina de arroz, buscando imitar la calidad de sus homólogos elaborados con trigo. Sin embargo, la eliminación del gluten en las formulaciones de pastas origina masas quebradizas, debido a que éste les confiere extensibilidad (Molina-Rosell, 2013). Por consiguiente, la fabricación de pastas libres de gluten requiere el uso de ingredientes poliméricos, que emulen la funcionalidad del mismo (Sozer, 2009).

Con el propósito de evaluar el efecto de diferentes sustitutos del gluten, sobre las propiedades mecánicas de los fideos frescos elaborados a base de harina de arroz, obtenida en el MPB, se probaron siete formulaciones que fueron preparadas según la tabla 3.6 (presentada en la sección 3.2.1.5.b). Los diferentes ingredientes funcionales fueron: almidón gelatinizado de mandioca (**F3**) y de maíz (**F5**), harina de arroz gelatinizada (**F1**) y mezclas de harina de arroz gelatinizada con hidroxipropilmetilcelulosa (**F4**) o diferentes gomas: xántica (**F2**), guar (**F6**) y espina corona (**F7**). Esta última es similar químicamente a la goma guar (Modini *et al.*, 2012) y adquiere importancia ya que se produce en Argentina y ha sido autorizada para su uso en alimentos (Maiocchi, n.d.), lo que reduciría los costos de producción (Di Stéfano, 2013). Como control se elaboró una pasta a base de sémola de trigo candeal (**F8**).

En la figura 4.103 se muestra una selección de las curvas de esfuerzo (σ) *versus* deformación relativa (ϵ), correspondientes a los ensayos de tracción uniaxial al que fueron sometidas las pastas laminadas cocidas, elaboradas a partir de las diferentes formulaciones. Se incluyó también el control a base de harina de trigo, el cual ocasionó la mayor deformación.

En la tabla 4.39 se presentan los valores promedio de los parámetros característicos en el punto de rotura, así como los del módulo de Young. El control (F8) exhibió valores de 28 ± 4 kPa, para el esfuerzo en el punto de rotura (σ_r); 27 ± 4 %, para la deformación en el punto de rotura (ϵ_r); y 211 ± 24 kPa, para el módulo de Young o módulo elástico (MY). Las diferentes formulaciones variaron entre $7 - 29$ kPa (σ_r), $6 - 21$ % (ϵ_r) y $98 - 266$ kPa (MY). Las formulaciones con las gomas, proporcionaron los mayores niveles de esfuerzo (goma guar) y deformación (goma xántica).

En comparación con el control, varios sustitutos de gluten exhibieron una disminución significativa ($p < 0,05$) de los parámetros mecánicos. Con el almidón de mandioca las reducciones fueron de 56 % (σ_r), 55 % (ϵ_r) y 33 % (MY). El almidón de maíz mostró una deformación 59 % menor al control, mientras que la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y la goma espina corona, manifestaron una disminución del σ_r del 42 % y 61 % y del ϵ_r del 55 % y 73 % respectivamente.

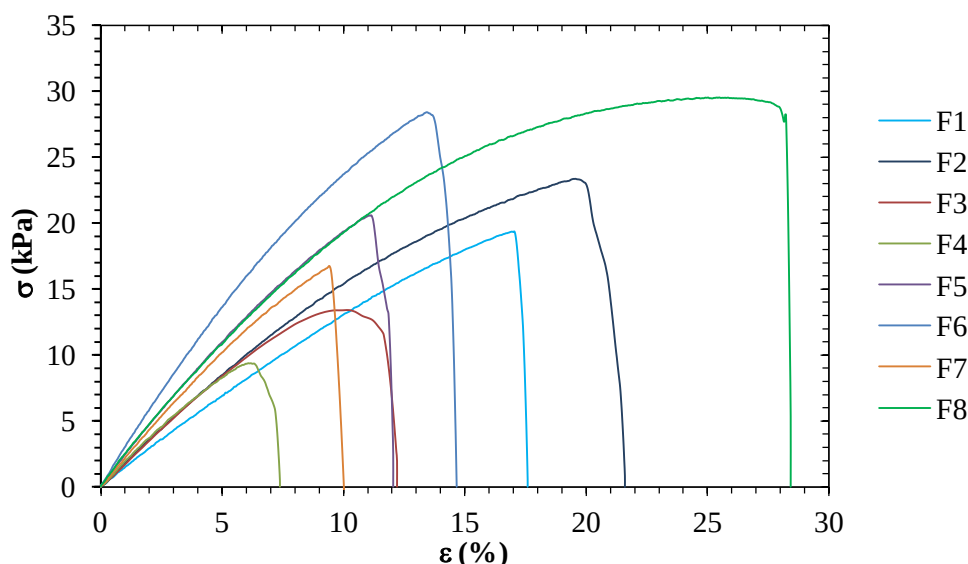


Figura 4.103. Curvas de esfuerzo (σ) versus deformación relativa (ϵ) de los fideos frescos cocidos sometidos a tracción uniaxial. F1: harina de arroz G, F2: harina de arroz G y goma xántica, F3: almidón de mandioca G, F4: harina de arroz G y HPMC, F5: almidón de maíz G, F6: harina de arroz G y goma guar, F7: harina de arroz G y espina corona, F8: control.

Tabla 4.39. Parámetros mecánicos (ϵ_r : deformación en el punto de rotura, σ_r : esfuerzo en el punto de rotura, MY: módulo de Young) de los fideos frescos cocidos, en función de la formulación para la selección de ingredientes funcionales.

Formulaciones	σ_r (kPa)	ϵ_r (%)	MY (kPa)
F1	$19,22 \pm 2,36^{a,b,c,d}$	$15,51 \pm 1,98^{b,c}$	$157,01 \pm 13,39^{a,b}$
F2	$23,14 \pm 1,63^{c,d}$	$18,08 \pm 2,94^{b,c}$	$189,63 \pm 31,09^{a,b,c}$
F3	$10,69 \pm 3,51^{a,b}$	$11,51 \pm 2,51^{a,b}$	$127,64 \pm 29,56^a$
F4	$10,96 \pm 1,82^a$	$7,32 \pm 1,22^a$	$188,28 \pm 13,07^{b,c}$
F5	$19,83 \pm 3,40^{b,c,d}$	$10,67 \pm 2,06^{a,b}$	$239,20 \pm 26,37^c$
F6	$24,99 \pm 3,54^{c,d}$	$15,73 \pm 2,59^{b,c}$	$234,07 \pm 18,83^c$
F7	$16,20 \pm 2,55^{a,b}$	$11,62 \pm 2,25^{a,b}$	$188,40 \pm 15,39^b$
F8	$28,02 \pm 4,31^d$	$27,19 \pm 3,87^c$	$210,46 \pm 24,42^{b,c}$

F1: harina de arroz G, F2: harina de arroz G y goma xántica, F3: almidón de mandioca G, F4: harina de arroz G y HPMC, F5: almidón de maíz G, F6: harina de arroz G y goma guar, F7: harina de arroz G y espina corona, F8: control. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

En relación a la formulación sin aditivos (F1), el agregado de ingredientes funcionales provocó aumento (goma xántica, goma guar, almidón de maíz gelatinizado) o disminución (HPMC, almidón de mandioca gelatinizado, goma espina corona), de los parámetros mecánicos.

A diferencia de lo encontrado en el presente trabajo, Susanna y Prabhasankar (2013) observaron valores de firmeza comparables al control a base de trigo (276 g_f), usando goma xántica (281 g_f), goma guar (284 g_f) y HPMC (298 g_f), como ingredientes funcionales en la elaboración de pastas sin gluten a base de soja, sorgo y proteína de suero. Más aún, cuando no agregaron aditivos a la mezcla, consiguieron una firmeza incluso mayor (328 g_f), respecto del control (trigo). Las diferencias probablemente se pueden atribuir al uso de harinas proteicas de soja y sorgo, en lugar de harina de arroz. Heo y colaboradores (2013), quienes seleccionaron goma xántica como ingrediente funcional, para elaborar fideos de arroz, informaron mayor resistencia y deformación en el punto de rotura, cuando usaron harina obtenida por molienda seca (1,1 N y 6,5 mm), en lugar de harina producida por molienda húmeda (0,7 N y 3,3 mm). No obstante, utilizaron un ensayo de extensibilidad diferente al de este trabajo, además de presentar los resultados en unidades de fuerza (F) y de longitud (L), en lugar de esfuerzo ($\sigma = F/A$) y deformación relativa ($\varepsilon = \Delta L/L_0$), lo que dificulta la comparación.

Para una mejor visualización del tratamiento estadístico de los datos, se presentan los diagramas de caja y todos los valores experimentales del esfuerzo en el punto de rotura (figura 4.104), de la deformación relativa en el punto de rotura (figura 4.105) y del módulo de Young (figura 4.106), en función de las formulaciones propuestas. Sobre la base de los intervalos de confianza representados en las figuras, se realizó un análisis comparativo entre las formulaciones, a fin de establecer las diferencias entre ellas y con el control. Solamente tres de las formulaciones propuestas no presentaron diferencias significativas respecto al control, estas fueron la harina de arroz gelatinizada (F1) y sus mezclas con goma xántica (F2) o con goma guar (F6). Con la incorporación de almidón de mandioca gelatinizado, HPMC o con la goma espina corona, no se alcanzó un producto de calidad tecnológica aceptable.

La goma xántica sola o en combinación con otros hidrocoloides (goma guar, goma garrofín, HPMC) ha sido utilizada con éxito, para la elaboración de pastas sin gluten (Larrosa *et al.*, 2013; Huang y Knight, Goad, 2001; Marti, Seetharaman y Pagani, 2010; Sozer, 2009).

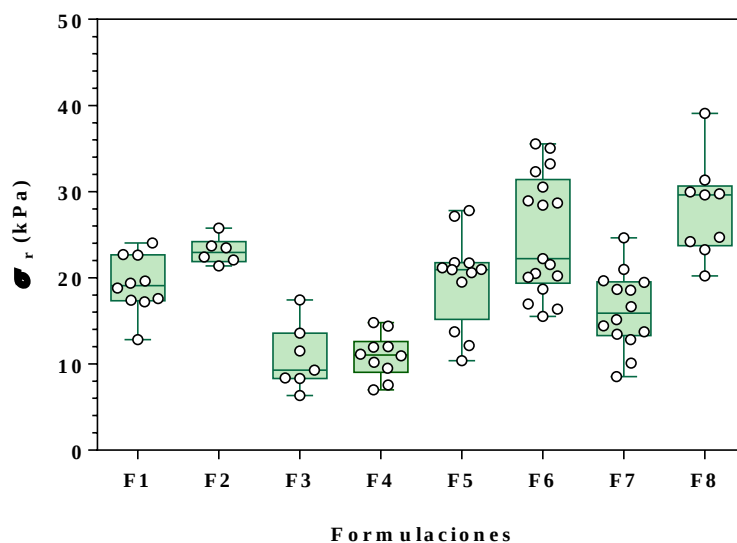


Figura 4.104. Esfuerzo en el punto de rotura (σ_r) en función de la composición de la pasta cocida (F1: harina de arroz G, F2: harina de arroz G y goma xántica, F3: almidón de mandioca G, F4: harina de arroz G y HPMC, F5: almidón de maíz G, F6: harina de arroz G y goma guar, F7: harina de arroz G y espina corona, F8: control).

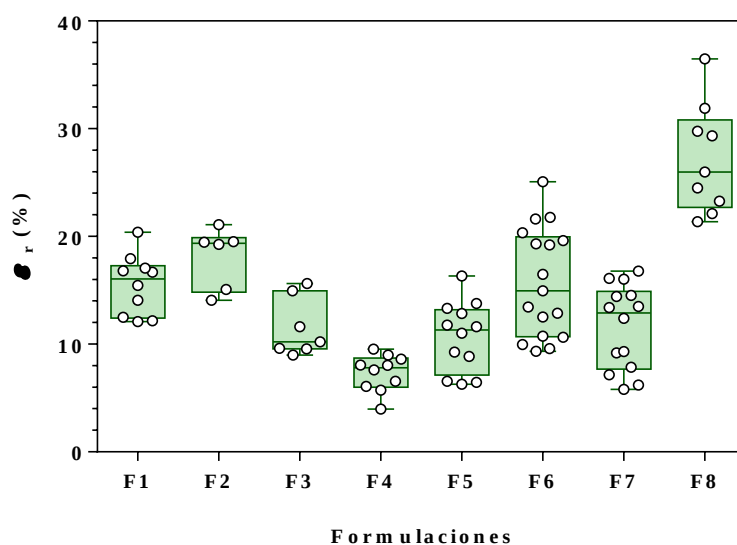


Figura 4.105. Deformación en el punto de rotura (ϵ_r) en función de la composición de la pasta cocida (F1: harina de arroz G, F2: harina de arroz G y goma xántica, F3: almidón de mandioca G, F4: harina de arroz G y HPMC, F5: almidón de maíz G, F6: harina de arroz G y goma guar, F7: harina de arroz G y espina corona, F8: control).

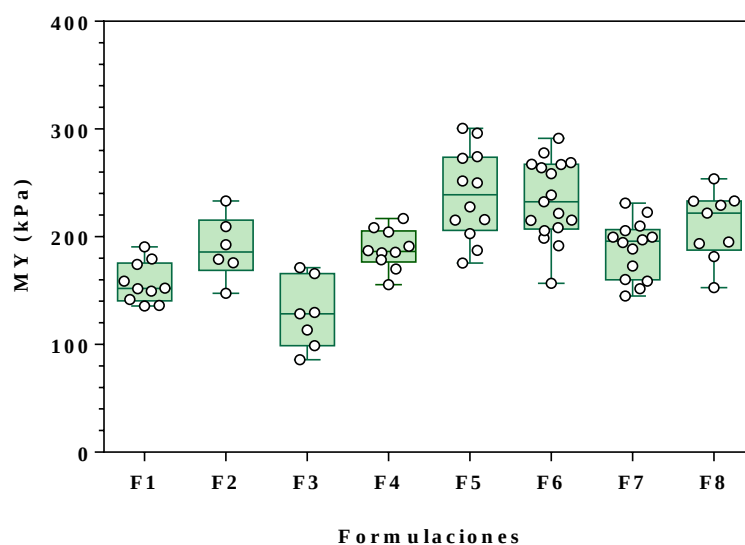


Figura 4.106. Módulo de Young (MY) en función de la composición de la pasta cocida (F1: harina de arroz G, F2: harina de arroz G y goma xántica, F3: almidón de mandioca G, F4: harina de arroz G y HPMC, F5: almidón de maíz G, F6: harina de arroz G y goma guar, F7: harina de arroz G y espina corona, F8: control).

Los resultados obtenidos en esta tesis permiten concluir que, las propiedades mecánicas de las pastas frescas a base de harina de arroz mejoraron en relación a su extensibilidad y fuerza, cuando se incorporó a la formulación goma xántica o guar y harina de arroz gelatinizada, y en menor medida cuando se adicionó almidón de maíz gelatinizado.

Por lo tanto, fueron seleccionados como sustitutos de gluten más aptos para la elaboración de fideos, el almidón de maíz gelatinizado (**AMG**, x_1), la goma guar (**GG**, x_2) y la goma xántica (**GX**, x_3). En la siguiente sección, estos sustitutos se combinaron en un diseño de mezclas, a fin de evaluar posibles efectos sinérgicos entre ellos.

4.5.2. Diseño de Mezclas

El diseño de mezclas aplicado al desarrollo de alimentos, permite determinar la combinación de ingredientes que proporciona al producto las características requeridas. En la formulación de pastas aptas para celíacos, debe determinarse la combinación de ingredientes funcionales (gomas, almidones modificados), que actúen como sustitutos del gluten. Los sustitutos del gluten y sus interacciones, juegan una función importante en las propiedades de las pastas cocidas (Larrosa *et al.*, 2013).

Se eligió un diseño de mezclas centroide simplex, para analizar el posible efecto sinérgico de los tres ingredientes funcionales seleccionados (almidón de maíz gelatinizado, AMG;

goma xántica, GX; y goma guar, GG), sobre las propiedades mecánicas y de cocción de las pastas frescas elaboradas con harina de arroz, obtenida por molienda seca en el MPB.

La composición de las mezclas se indicó en la sección de materiales y métodos (tabla 3.7 de la sección 3.2.5.2.b), como se informó, el diseño de mezcla adoptado incluyó exclusivamente los ingredientes secos y de éstos, solamente los tres ingredientes funcionales seleccionados, tuvieron composiciones variables.

En la tabla 4.40 se detallan los valores promedios del esfuerzo (σ_r) y la deformación (ε_r) en el punto de rotura y del módulo de Young (MY) de las siete mezclas estudiadas y de las réplicas del punto central del diseño (triplicado). En la tabla se visualiza que varias mezclas (M1-M4) proporcionaron valores del esfuerzo similares al de los fideos a base de trigo (F8). Sin embargo, las mezclas presentaron deformaciones inferiores al control; en el mejor de los casos, la reducción fue del 27 %.

Tabla 4.40. Parámetros mecánicos (ε_r : deformación en el punto de rotura, σ_r : esfuerzo en el punto de rotura, MY: módulo de Young) de los fideos frescos cocidos, en función del diseño de mezcla, para la evaluación de efectos sinérgicos.

Mezclas	σ_r (kPa)	ε_r (%)	MY (kPa)
M1	28,57 $\pm$ 0,96 ^b	11,03 $\pm$ 0,27 ^{c,d}	341,68 $\pm$ 8,24 ^c
M2	32,28 $\pm$ 2,20 ^b	9,84 $\pm$ 0,60 ^{b,c}	429,58 $\pm$ 7,64 ^d
M3	31,75 $\pm$ 1,65 ^b	19,83 $\pm$ 0,38 ^e	234,09 $\pm$ 20,20 ^{a,b}
M4	28,64 $\pm$ 1,30 ^b	13,46 $\pm$ 0,54 ^d	293,16 $\pm$ 7,98 ^{b,c}
M5*	21,33 $\pm$ 1,22 ^a	10,90 $\pm$ 0,56 ^c	235,27 $\pm$ 4,08 ^a
M5*	22,60 $\pm$ 2,35 ^a	12,14 $\pm$ 0,59 ^{c,d}	252,77 $\pm$ 2,95 ^{a,b}
M5*	22,96 $\pm$ 0,99 ^a	11,98 $\pm$ 0,54 ^{c,d}	255,03 $\pm$ 4,78 ^{a,b}
M6	17,93 $\pm$ 1,36 ^a	7,73 $\pm$ 0,37 ^b	290,70 $\pm$ 11,22 ^{b,c}
M7	17,30 $\pm$ 0,74 ^a	5,09 $\pm$ 0,18 ^a	420,51 $\pm$ 19,50 ^d

* Punto central del diseño experimental. Valores en la misma columna con la misma letra no difieren significativamente ($p < 0,05$).

Los parámetros mecánicos fueron modelados en función de la composición de las mezclas (ec. 3.20), encontrándose efectos significativos ($p < 0,05$) de todos los ingredientes funcionales, tal como se observa en la tabla 4.41, junto con los coeficientes del polinomio.

Tabla 4.41. Efecto de la composición de la pasta cocida sobre las propiedades mecánicas en términos de los factores sin codificar: almidón de maíz gelatinizado (AMG), goma guar (GG) y goma xántica (GX).

Coeficientes	σ_r (kPa)	ε_r (%)	MY (kPa)
β_0	-41,188	-25,450	-304,901
AMG	8,581	5,302	63,521
GG	-1,097	-1,596	162,185
GX	24,878	12,211	92,598
AMG-GX	-3,574*	-1,935*	---
AMG-GG	1,203NS	0,607NS	-10,111*
GG-GX	13,289*	0,837NS	246,832*
AMG-GG-GX	-2,200*	---	-48,500*
R^2	0,9943	0,9655	0,9948

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

σ_r : esfuerzo en el punto de rotura, ε_r : deformación en el punto de rotura, MY: módulo de Young.

Se debe aclarar, que estos coeficientes corresponden a la siguiente ecuación:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i c_i + \sum_{i < j}^3 \beta_{ij} c_i c_j + \sum_{i < j < k}^3 \beta_{ijk} c_i c_j c_k \quad (4.15)$$

En la ec. 4.15, en lugar de los factores codificados (x_1, x_2, x_3) aparecen las concentraciones de los componentes de las mezclas, donde c_1, c_2 y c_3 son las concentraciones de AMG, GG y GX respectivamente. Como consecuencia de este cambio de variable, surge un coeficiente independiente (β_0). Para obtener esta ecuación, a partir del polinomio dado en términos de los coeficientes codificados (ec. 3.20), se realizó una decodificación lineal teniendo en cuenta las siguientes relaciones:

$$x_1 = \frac{c_{AMG} - 4,8}{3,7} \quad (4.16)$$

$$x_2 = \frac{c_{GG}}{3,7} \quad (4.17)$$

$$x_3 = \frac{c_{GX}}{3,7} \quad (4.18)$$

La superficie de cada una de las respuestas, en función de la composición de las mezclas estudiada, fue predicha mediante la ec. (4.15). La relación entre el esfuerzo en el punto de rotura y la composición de la pasta (figura 4.107), fue adecuadamente representada por un modelo cúbico especial, al igual que el módulo de Young (figura 4.108), ambas propiedades con un ajuste satisfactorio de los datos ($R^2 > 0,99$). La deformación en el punto de rotura (figura 4.109), fue explicada en cambio, por un modelo cuadrático ($R^2 = 0,96$), siendo significativos los efectos de interacción entre los sustitutos del gluten, como se expone en la tabla 4.41.

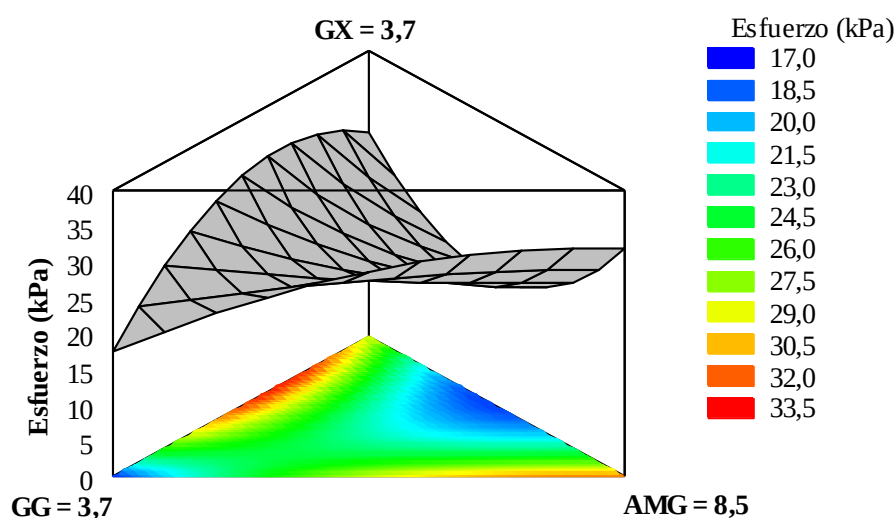


Figura 4.107. Superficie de respuesta del esfuerzo en el punto de rotura en función de la composición de la pasta cocida. Almidón de maíz gelatinizado (AMG: 4,8 – 8,5 %), goma guar (GG: 0 – 3,7 %), goma xántica (GX: 0 – 3,7 %).

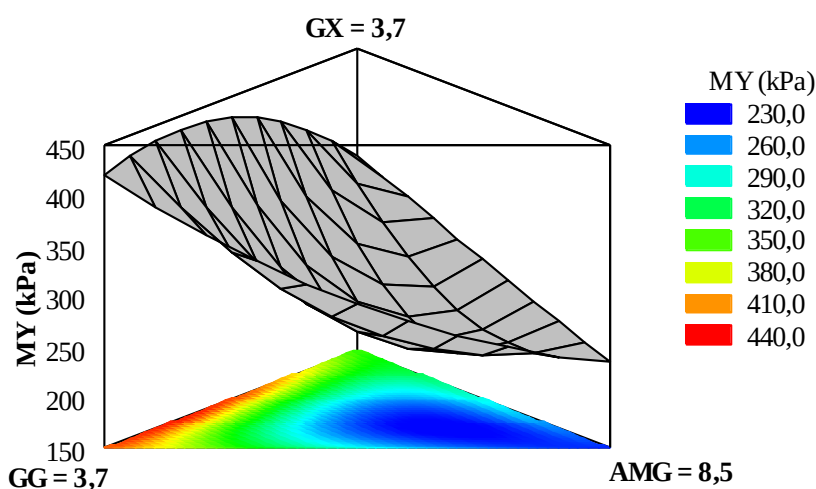


Figura 4.108. Superficie de respuesta del módulo de Young (MY) en función de la composición de la pasta cocida. Almidón de maíz gelatinizado (AMG: 4,8 – 8,5 %), goma guar (GG: 0 – 3,7 %), goma xántica (GX: 0 – 3,7 %).

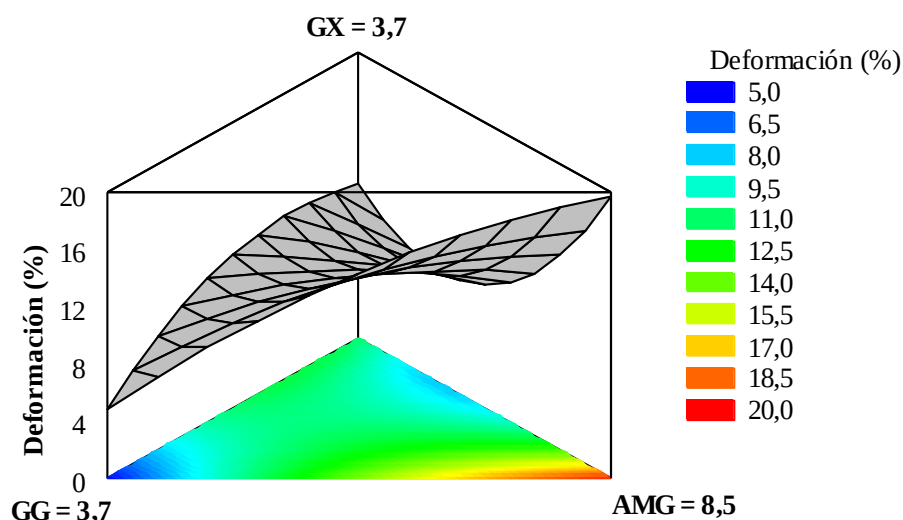


Figura 4.109. Superficie de respuesta de la deformación en el punto de rotura en función de la composición de la pasta cocida. Almidón de maíz gelatinizado (AMG: 4,8 – 8,5 %), goma guar (GG: 0 – 3,7 %), goma xántica (GX: 0 – 3,7 %).

En la tabla 4.42, se presentan los resultados de la optimización, obtenidos a partir de cada una de las superficies de respuesta. Se informan en dicha tabla los valores máximos y mínimos de los parámetros mecánicos característicos y la composición de la mezcla respectiva. Se detectó un efecto sinérgico al combinar las gomas, observándose valores máximos del σ_r (33 kPa, GG/GX: 0,54) y del MY (437 kPa, GG/GX: 2,36), para la menor concentración de AMG.

Tabla 4.42. Valores máximos y mínimos predichos de las propiedades mecánicas de las pastas cocidas en función de la composición.

			AMG (%)	GG (%)	GX (%)
ε_r (%)	max	19,618	8,5	0	0
	min	4,874	4,8	3,7	0
σ_r (kPa)	max	33,132	4,8	1,29	2,41
	min	17,304	4,8	3,7	0
MY (kPa)	max	437,477	4,8	2,6	1,1
	min	225,151	6,85	0,82	0,83

AMG: almidón de maíz gelatinizado, GG: goma guar, GX: goma xántica.

σ_r : esfuerzo en el punto de rotura, ε_r : deformación en el punto de rotura, MY: módulo de Young.

La interacción sinérgica entre polisacáridos, se debe al entrecruzamiento de los segmentos de ambos polímeros y permite mejorar las propiedades texturales, es por ello que estas interacciones han suscitado el interés de muchos investigadores (Mao y Rwei, 2006). Larrosa y colaboradores (2013) usaron con éxito mezclas de GX y goma garrofín (galactomanano extraído del algarrobo) como ingrediente funcional, al formular pastas sin gluten a base de harina de maíz, logrando buena extensibilidad con valores de deformación en el punto de rotura, comprendidos entre 10,6 y 13 mm.

En el presente trabajo, la mayor deformación de la pasta (20 %) se obtuvo en ausencia de gomas, para la máxima concentración de AMG (M3, tabla 4.42). En este caso, si bien la concentración de AMG usada (8,5 % b.s.) fue levemente inferior a la de F5 (9,09 %, b.s.), se consiguió incrementar en un 84 % la deformación obtenida con F5 (10,67 %), debido a la presencia de harina de arroz gelatinizada (4,8 % b.s.).

El uso de la combinación de fracciones gelatinizadas (AMG y HAG), resultó conveniente para mejorar la extensibilidad de la pasta cocida y presentó, además, un esfuerzo en el punto de rotura similar al del control a base de trigo.

En concordancia con esta tesis, el uso de almidón pregelatinizado, obtenido mediante etapas sucesivas de calentamiento y enfriamiento que provocan la retrogradación del almidón, ha sido propuesto, para lograr una pasta parecida a la tradicional, basada en trigo (Cabrera-Chávez *et al.*, 2012; Mariotti *et al.*, 2011). Se trata de pastas elaboradas al estilo oriental (procesos de evaporación-enfriamiento-cortado) o bien obtenidas por extrusión. En este trabajo se propone un método alternativo, basado en la harina *pregelatinizada* por molienda seca en el MPB, la cual presenta un nivel moderado de daño térmico. El carácter que esta harina le confiere a la mezcla, se potencia aún más con la incorporación de fracciones totalmente gelatinizadas (HAG y AMG).

4.5.2.1. Propiedades de cocción

Se determinaron dos índices, la capacidad de absorción de agua de la pasta (AA) y el residuo de cocción (RC), que es medida de la pérdida de sólidos durante la cocción.

Las propiedades de cocción, esquematizadas en la figura 4.110, manifestaron diferencias notorias según la composición de la mezcla. La AA de los fideos varió entre 48 – 77 % y el RC entre 8 – 18 %. Además, se registró una reducción importante del RC (55 %) al aumentar la concentración de GG, y la AA disminuyó un 28 % con el incremento del AMG.

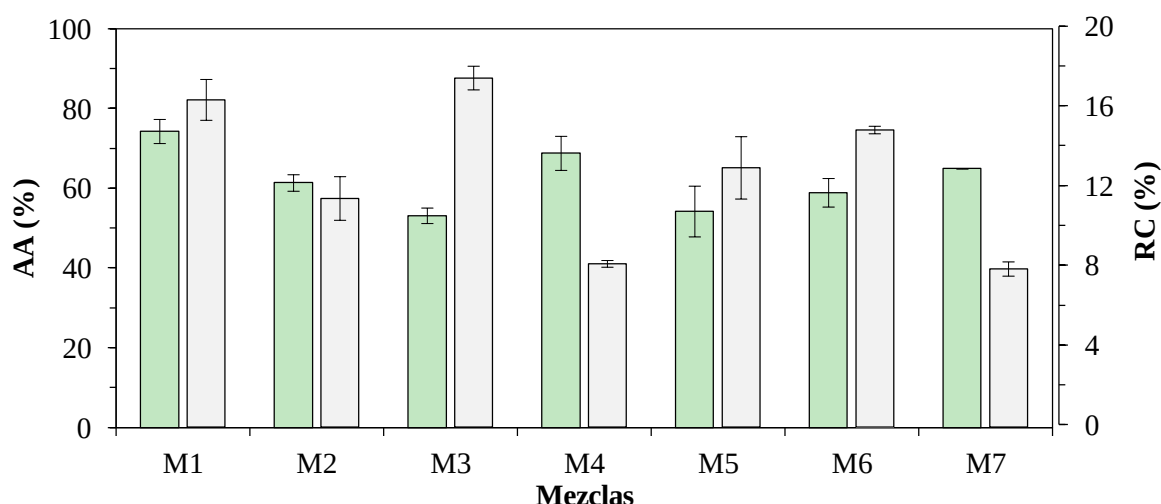


Figura 4.110. Absorción de agua (AA, ■) y residuo de cocción (RC, □)

Los valores de AA resultaron similares al de otras pastas sin gluten, de acuerdo a lo informado en la bibliografía por Susanna y Prabhasankar (2013), quienes registraron valores de AA comprendidos entre 59,2 – 62,3 % y valores de RC entre 8,50 – 12,25 %. Algunos autores informaron valores de RC un tanto inferiores, Heo y colaboradores (2013) obtuvieron valores del residuo de cocción entre 6 – 9,2 % para fideos de arroz elaborados a partir de harinas obtenidas por molienda húmeda y seca respectivamente. En tanto, Kim y colaboradores (2014) reportaron valores de RC entre 5,34 – 11,83 %, para fideos a base de harina de arroz al que le agregaron proteína de arroz y/o transglutaminasa, para mejorar las propiedades de la pasta.

Siguiendo la metodología del análisis de mezclas, se ajustaron satisfactoriamente ($R^2 > 0,92$) las respuestas en función de la composición, usando la ec. 4.15. Los resultados de este análisis se exhiben en la tabla 4.43, en la que se presentan los coeficientes del polinomio, junto con el nivel de significación correspondiente. Para AA, hubo interacción significativa entre los tres ingredientes funcionales, mientras que para RC se encontró una interacción significativa entre GG y AMG. La absorción de agua (figura 4.113) disminuyó al agregar GG o AMG, a las mezclas con GX, mientras que el residuo de cocción aumentó al adicionar GX o AMG, a las mezclas con GG (figura 4.112). Los valores predichos, máximos y mínimos, de estas respuestas se muestran en la tabla 4.44, en la que se observan los valores máximos de AA (74,27 %) y RC (17,53 %), ubicados en los vértices de GX y de AMG respectivamente. El valor mínimo de AA (47,68 %) resultó próximo al centro del diseño (GX/GG = 1,1 y AMG = 6,2), en cambio, el valor mínimo de RC (6,94 %) fue para una mezcla de AMG y GG (AMG/GG = 2), en ausencia de GX, la cual corresponde a una

absorción de agua de 66,1 %; similar a lo informado en bibliografía para pastas sin gluten (Susanna y Prabhasankar, 2013).

Tabla 4.43. Efecto de la composición de la pasta cocida sobre las propiedades de cocción en términos de los factores sin codificar: almidón de maíz gelatinizado (AMG), goma guar (GG) y goma xántica (GX).

Coefficientes	AA (%)	RC (%)
β_0	-68,927	-22,745
AMG	14,360	4,739
GG	9,850	8,504
GX	26,805	7,333
AMG-GX	-1,402NS	-0,602NS
AMG-GG	1,603NS	-1,324*
GG-GX	30,669*	-6,082NS
AMG-GG-GX	-6,891-22*	1,324NS
R^2	0,9210	0,9430

* Significativo para $p < 0,05$; NS: coeficiente no significativo; ---: coeficiente eliminado.

AA: absorción de agua, RC: residuo de cocción.

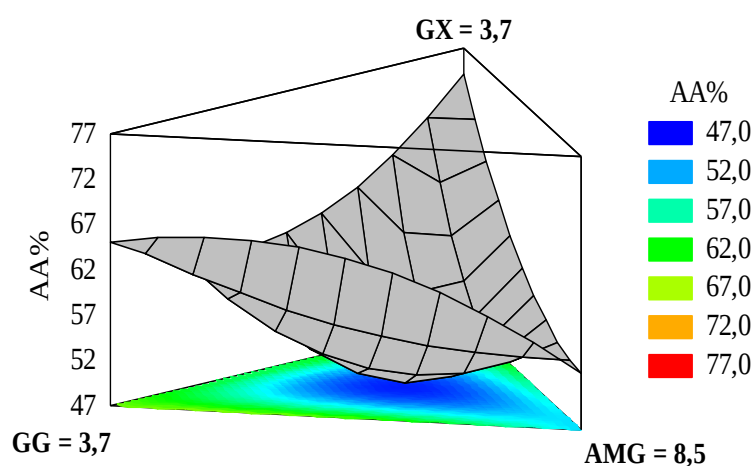


Figura 4.111. Superficie de respuesta de la absorción de agua (AA) en función de la composición de la pasta. Almidón de maíz gelatinizado (AMG: 4,8 – 8,5 %), goma guar (GG: 0 – 3,7 %), goma xántica (GX: 0 – 3,7 %).

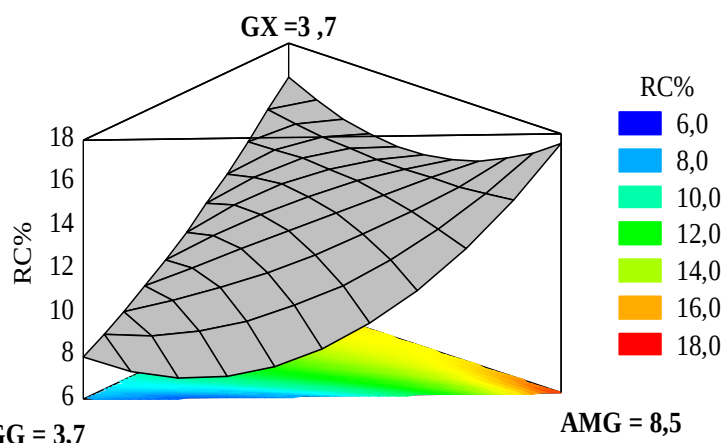


Figura 4.112. Superficie de respuesta del residuo de cocción (RC) en función de la composición de la pasta. Almidón de maíz gelatinizado (AMG: 4,8 – 8,5 %), goma guar (GG: 0 – 3,7 %), goma xántica (GX: 0 – 3,7 %).

Tabla 4.44. Valores máximos y mínimos predichos de las propiedades de cocción de las pastas en función de la composición.

			AMG (%)	GG (%)	GX (%)
AA %	max	74,27	4,8	0	3,7
	min	47,68	6,18	1,09	1,23
RC %	max	17,53	8,5	0	0
	min	6,94	5,67	2,83	0

AMG: almidón de maíz gelatinizado, GG: goma guar, GX: goma xántica.

AA: absorción de agua, RC: residuo de cocción.

Finalmente se llevó a cabo una optimización múltiple, para encontrar la mezcla que proporcione los valores deseados de las principales respuestas. Se adoptó como criterio maximizar la deformación y simultáneamente minimizar el residuo de cocción. El óptimo se halló cercano al vértice correspondiente a AMG (deseabilidad = 0,96), en una mezcla de 0,7 % de GG y 7,8 % de AMG, en ausencia de goma xántica. Esta mezcla proporciona una deformación del 17,95 % y un residuo de cocción del 13,0 %. Además, los valores predichos de absorción de agua (58,70 %) y de esfuerzo en el punto de rotura ($\sigma_r = 31,54$ kPa) fueron aceptables.

Debido al bajo contenido de goma, en la mezcla óptima (GG = 0,7 %), cabe pensar en la posibilidad de eliminarla. Si se adopta M3 (AMG: 8,5 %; GG: 0 %; GX: 0 %) se obtendrá muy buena resistencia mecánica (31,75 kPa) y máxima deformación (19,83 %). No

obstante, esta mezcla presenta en relación con la óptima, un nivel de absorción de agua inferior (53,13 %) y un residuo de cocción mayor (17,53 %).

Los resultados encontrados permiten afirmar, que la fracción gelatinizada (HAG y AMG) facilita la formación de entrecruzamientos, entre las cadenas de los polímeros presentes en la mezcla, cuando ocurre la cocción de la pasta. Se constituye así una red estructural alternativa a la que forma el gluten, en las pastas tradicionales a base de trigo, la cual le confiere firmeza a la pasta cocida y reduce las pérdidas de material soluble, en el agua de cocción.

En conclusión, es posible reducir significativamente el uso de las gomas en las formulaciones de pastas frescas a base de harina de arroz, mediante su reemplazo parcial por almidón de maíz gelatinizado, sin detrimento de su calidad.

5. Conclusiones

5.1. Molienda seca

La molienda de alta energía en el MPB se presenta como un método rápido y alternativo para la modificación física de la harina. Fue posible controlar el daño termomecánico aplicando un protocolo basado en combinaciones de períodos de molienda y pausa.

Las harinas modificadas presentaron una menor granulometría y una mayor heterogeneidad, en relación a la harina obtenida en un molino de cuchillas. Además, este efecto se intensificó con el incremento del tiempo de molienda y de la velocidad de rotación. En un período de dos horas de molienda, se obtuvo harina completamente amorfa con capacidad aglomerante, lo cual abre perspectivas para su uso como agente encapsulante.

La modelización del proceso de molienda mediante la ecuación generalizada, solamente resultó satisfactoria para la menor velocidad. Los valores de n fueron cercanos al del modelo de Rittinger, propio de la molienda fina. La modificación de la ecuación generalizada, a partir de la consideración de la energía no disipada, brindó un excelente ajuste para todas las velocidades estudiadas, cuando se utilizó el diámetro de partícula correspondiente al volumen acumulado al 80 %.

Con respecto a las características de las harinas, se observó un aumento en las propiedades de hidratación y en el grado de gelatinización, y pérdida de la cristalinidad a tiempos prolongados de molienda, estos cambios fueron más notorios a mayor velocidad. Todas estas propiedades correlacionaron satisfactoriamente con el nivel de daño termomecánico del almidón. La harina amorfa presentó valores de solubilidad en agua muy superiores al de las restantes muestras.

La temperatura de pasta y el tiempo de pico de viscosidad se redujeron, conforme se intensificó el proceso. En general, el pico de viscosidad fue mayor al de la harina obtenida en un molino de cuchillas y la viscosidad final se correlacionó con el tamaño de partícula. Tanto el pico de viscosidad como la viscosidad final fueron máximas a la menor velocidad y tiempo intermedio de molienda, y mínimas en la condición más severa.

La modificación de la harina puede controlarse seleccionando las condiciones de molienda. Se obtuvieron mediante MSR expresiones para calcular las diferentes propiedades, en función de la velocidad de rotación de la jarra y del tiempo de molienda.

La relación entre la energía disipada y las diferentes propiedades de las harinas, corroboraron la asociación entre la disipación térmica y las modificaciones observadas, las

cuales se vinculan con los cambios estructurales en el almidón, evidenciados por difracción de rayos X y calorimetría diferencial de barrido.

Las harinas modificadas presentaron carácter pregelatinizado, el cual puede ofrecer nuevas oportunidades para su aplicación como ingrediente para alimentos instantáneos.

5.2. Molienda húmeda

El método de molienda húmeda asistida por el MPB permitió conseguir harinas de arroz de menor tamaño de partícula y mayor homogeneidad, que la harina obtenida por molienda húmeda tradicional, al utilizar una relación en masa de bolas/arroz de 5 p/p y de agua/arroz de 1,2 p/p. Sin embargo, a la mayor velocidad no fue posible obtener una harina de fina granulometría, por el reducido tiempo de maceración *in situ*. El aumento de la relación agua/arroz permitió extender el tiempo de molienda, pero no proporcionó una reducción de tamaño.

Se demostró que el daño termomecánico que ejerce la molienda húmeda en un molino de alto impacto, es superior al de la molienda seca, a la misma velocidad y tiempo de proceso, lo que se reflejó en un mayor contenido de almidón dañado.

Las propiedades térmicas de las harinas, fueron igualmente afectadas por una elevada velocidad de rotación de la jarra o por tiempos prolongados de molienda, obteniéndose un amplio rango de gelatinización, el cual se relacionó satisfactoriamente con el índice de absorción de agua.

La mayor pérdida de cristalinidad se logró con el incremento de la relación en masa de agua/arroz y el consecuente aumento del tiempo de molienda a una velocidad intermedia. A su vez, las harinas presentaron un patrón de cristalinidad tipo V, por lo que posiblemente se formaron complejos de inclusión lípido-amilosa. También se observaron cambios morfológicos importantes, lo que corroboró la aptitud del molino para producir harinas pregelatinizadas a temperaturas de subgelatinización.

Todas las harinas presentaron una notable reducción de la viscosidad, y el incremento en las temperaturas de pasta y del tiempo en el que se alcanza el pico de viscosidad.

Se determinó la velocidad de rotación (550 rpm) y el tiempo de molienda húmeda (15 min) más adecuados para la aislación de almidón.

5.3. Molienda húmeda para la obtención de almidones

Mediante molienda con diferentes combinaciones de SDS-NaOH y maceración *in situ* en el MPB, se obtuvieron almidones de arroz con una pureza superior, al del almidón aislado por molienda tradicional (C). Las diferentes condiciones de maceración afectaron tanto el contenido proteico, como el rendimiento y la recuperación de almidón, encontrándose el mínimo contenido de proteínas para una combinación de 0,3 % p/v SDS sin NaOH y la máxima recuperación y rendimiento para 0,3 % p/v SDS y 0,1 % p/v NaOH.

A partir de la optimización multirespuesta se determinó, que la molienda húmeda asistida por el MPB, en relación con la molienda húmeda tradicional, permitió reducir el contenido de NaOH en la solución de maceración desde 0,1 % a 0,067 % p/v y disminuir el tiempo de maceración desde 24 horas a 1 hora.

La molienda de alto impacto ocasionó la pérdida de cristalinidad del almidón y la presencia de un patrón de cristalinidad tipo V, análogo a lo observado en las harinas obtenidas por molienda húmeda. Asimismo, la pérdida de cristalinidad se incrementó con el aumento de las concentraciones de SDS y de NaOH. Por otra parte, se constató la ausencia de la formación de un complejo SDS-amilosa.

El índice de absorción de agua fue superior al de C, además se comprobó que las concentraciones de SDS y de NaOH no incidieron sobre el mismo.

Los almidones de arroz mostraron características distintivas con relación a C. Presentaron un adelanto en la formación de pasta y mayores valores del pico de viscosidad, de la viscosidad de rompimiento y de la temperatura de pasta. También se demostró que es posible obtener un amplio rango de pico de viscosidad, seleccionando las concentraciones de SDS y de NaOH convenientemente.

Los módulos viscoelásticos obtenidos a partir del barrido de frecuencia, fueron mayores a los de C. Las propiedades reológicas de las suspensiones gelatinizadas de los almidones, indicaron un carácter predominantemente elástico, sugiriendo que forman gel.

La estabilidad de los geles al proceso de congelación-descongelación dependió de la concentración de SDS, aumentando con el incremento de este y fue menos dependiente de la concentración de NaOH, encontrándose el menor porcentaje de sinéresis con 1,19 % p/v SDS y 0,05 % p/v de NaOH.

5.4. Pastas sin gluten

5.4.1. Selección de ingredientes funcionales

Las propiedades mecánicas de las pastas frescas a base de harina de arroz, mejoraron con relación a su extensibilidad y fuerza, cuando se incorporó a la formulación goma xántica o guar y harina de arroz gelatinizada, y en menor medida cuando se adicionó almidón de maíz gelatinizado. Con la incorporación de almidón de mandioca gelatinizado y HPMC o goma espina corona, no se alcanzó un producto de calidad tecnológica aceptable.

5.4.2. Diseño de mezclas

Al determinar las propiedades mecánicas de los fideos frescos cocidos, algunas mezclas proporcionaron valores del esfuerzo en el punto de rotura similar al de los fideos a base de trigo, sin embargo, las deformaciones en el punto de rotura fueron inferiores.

El diseño de mezcla que se implementó permitió detectar un efecto sinérgico entre la goma xántica y la goma guar, observándose un valor máximo del esfuerzo para la menor concentración de almidón de maíz gelatinizado. En contraste, la mayor deformación de la pasta se obtuvo en ausencia de gomas, para la máxima concentración de almidón de maíz gelatinizado.

Se observó una reducción importante del residuo de cocción al aumentar la concentración de goma guar, mientras que la absorción de agua disminuyó con el incremento del almidón de maíz gelatinizado.

A partir de la optimización multirespuesta se determinó que la formulación que maximiza la deformación y minimiza el residuo de cocción fue de 0,7 % de goma guar y de 7,8 % de almidón de maíz gelatinizado, en ausencia de goma xántica.

La mezcla de harina de arroz obtenida en el MPB parcialmente gelatinizadas, en combinación con almidón de maíz gelatinizado y goma guar, contribuyeron a mejorar las propiedades mecánicas de los fideos frescos cocidos y a reducir las pérdidas de material soluble en el agua de cocción. Fue posible disminuir el uso de gomas en las formulaciones de pastas laminadas a base de arroz, mediante su reemplazo parcial por almidón de maíz gelatinizado, sin detrimento de su calidad.

6. Referencias

A

- AACC (1995). *Approved methods of the AACC (9^o Ed.)*. St Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Acevedo, M. A., Castrillo, W. A., y Belmonte, U. C. (2006). Origen, evolución y diversidad del arroz. *Agronomía Tropical*, 56 (2), 151-170.
- Adebowale, K. O., y Lawal, O. S. (2003). Microstructure, physicochemical properties and retrogradation behavior of Mucuna bean (*Mucuna pruriens*) starch on heat moisture treatments. *Food Hydrocolloids*, 17, 265-272.
- Ahmed, J., Ramaswamy, H. S., Ayad, A., y Alli, I. (2008). Thermal and dynamic rheology of insoluble starch from basmati rice. *Food Hydrocolloids*, 22, 278-287.
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis*. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Araki, E., Ikeda, T. M., Ashida, K., Takata, K., Yanaka, M., y Iida, S. (2009). Effects of rice flour properties on specific loaf volume of one-loaf bread made from rice flour with wheat vital gluten. *Food Science and Technology Research*, 15 (4), 439-448.
- Ashogbon, A. O., y Akintayo, E. T. (2012). Morphological, functional and pasting properties of starches separated from rice cultivars grown in Nigeria. *International Food Research Journal*, 19 (2), 665-671.

B

- Baláž, P. (2008). *Mechanochemistry in Nanoscience and Minerals Engineering*. Berlin: Springer.
- Baldwin, P. M. (2001). Starch granule-associated proteins and polypeptides: A review. *Starch/Starke*, 53, 475-503.
- Bao, J. (2008). Accurate measurement of pasting temperature by the rapid visco-analyser: a case study using rice flour. *Rice Science*, 2008, 15 (1), 69-72.
- Bao, J., Ao, Z., y Jane, J. L. (2005). Characterization of physical properties of flour and starch obtained from gamma-irradiated white rice. *Starch/Stärke*, 57, 480-487.
- Bao, J., y Bergman, C. J. (2004). The functionality of rice starch. En A. C. Eliasson (Ed.), *Starch in Food: Structure, Function and Applications* (pp. 258-287). Boca Ratón: CRC Press.
- Barbosa-Cánovas, G. V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P., y Yan, H. (2005). *Food powders: Physical properties, processing, and functionality*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Bautista, R. C., Siebenmorgen, T. J., y Burgos, R. M. (2007). Using kernel strength to estimate rice milling quality. *B.R. Wells Rice Research Studies*, 241-233.
- Bello, M. (2009). *Procesamiento hidrotérmico de arroz cáscara. Efecto de las condiciones de hidratación y cocción en el rendimiento, textura y propiedades térmicas del grano elaborado*. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.
- Bello-Pérez, L. A., Osorio-Díaz, P., Agama-Acevedo, E., Nuñez-Santiago, C., y Paredes López, O. (2002). Chemical, physicochemical and rheological of masas and nixtamalized corn flours. *Agrociencia*, 36, 319-328.
- Bello Gutiérrez, J. (2000). *Ciencia Bromatológica: Principios generales de los alimentos*. Madrid: Díaz de Santos S. A.

- Benavidez, R. A. (2006). La cultura del arroz irrigado. En R. A., Benavidez (Ed.), *El arroz: su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos* (pp. 337-569). Concepción del Uruguay: Universidad Nacional de Entre Ríos y Universidad Nacional del Litoral.
- Berndt, C. C. (2004). Material production processes. En J. R., Davis (Ed.), *Handbook of thermal spray technology* (pp. 147-158). EE. UU.: ASM International.
- Biliaderis, C. G., y Juliano, B. O. (1993). Thermal and mechanical properties of concentrated rice starch gels of varying composition. *Food Chemistry*, 48, 243-250.
- Bindar, Y., Efan, A., y Rahmi (2013). Sodium hydroxide (NaOH) concentration and steeping time duration effects on starch production from dry-milled low quality rice IR 64 grade 3 flour using alkaline-protease enzyme digestion method. *International Food Research Journal*, 20 (3), 1353-1358.
- Blaszczak, W., Fornal, J., Kiseleva, V. I., Yuryev, V. P., Sergeev, A. I., y Sadowska, J. (2007). Effect of high pressure on thermal, structural and osmotic properties of waxy maize and Hylon VII starch blends. *Carbohydrate Polymers*, 68 (3), 387-396.
- Blengino, C. (2014). Arroz. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/otros/arroz/informes/2014_07Jul.pdf. Ultimo acceso: 4 de enero de 2015.
- Boldyrev, V. V., Pavlov, S. V., y Goldberg, E. L. (1996). Interrelation between fine grinding and mechanical activation. *International Journal of Mineral Processing*, 44-45, 181-185.
- Bonazzi, C., Dumoulin, E., Raoult-Wack, A. L., Berk, Z., Bimbenet, J. J., Courtois, F., Trystram, G., y Vasseur, J. (1996). Food drying and dewatering. *Drying Technology*, 14, 2135-2170.
- Bond, F. C. (1952). The third theory of comminution. *Transactions of AIME, Minerals Engineering*, 193, 484-494.
- Bruckner, S. (2000). Estimation of the background in powder diffraction patterns through a robust smoothing procedure. *Journal of Applied Crystallography*, 33, 977-979.
- Brunauer, S., Emmett, P. H., y Teller, E. (1938). Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60, 309-19.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Bal, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological macromolecules*, 23 (2), 85-112.

C

- Cabrera-Chávez, F., Calderón de la Barca, A. M., Islas-Rubio, A. R., Marti, A., Marengo, M., Pagani, M. A., Bonomi, F., y Iametti, S. (2012). Molecular rearrangements in extrusión processes for the production of amaranth-enriched, glutenfree rice pasta. *LWT e Food Science and Technology*, 47, 421-426.
- Cappa, C., Lucisano, M., y Mariotti M. (2013). Rheological properties of gels obtained from gluten-free raw materials during a short term aging. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 464-472.
- Cardoso M. B. (2007). *From rice starch to amylose crystals: alkaline extraction of rice starch, solution properties of amylose and cristal structure of V-amylose inclusion complexes*. Tesis doctoral, Chemistry Institute, Federal University of Rio Grande do Sul.
- Cardoso, M. B., Putaux, J. L., Samios, D., y da Silveira N. P. (2007). Influence of alkali concentration on the deproteinization and/or gelatinization of rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 70, 160-165.
- Cham, S., y Suwannaporn, P. (2010). Effect of hydrothermal treatment of rice flour noodles quality. *Journal of Cereal Science*, 51, 284-291.
- Champagne, E. T. (1996). Rice starch composition and characteristics. *Cereal Foods World*, 41, 833-837.

- Champagne, E., Wood, D., Juliano, B., y Bechtel, D. (2004). The rice grain and its gross composition. En E. T., Champagne (Ed.), *Rice: Chemistry and Technology* (pp 77-107). Minnesota: AACCC. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Chan, H. T., Bhat, R., y Karim, A. A. (2010). Effects of sodium dodecyl sulphate and sonication treatment on physicochemical properties of starch. *Food Chemistry*, 120, 703-709.
- Chang, Y. H., Lim, S. T., y Yoo, B. (2004). Dynamic rheology of corn starch-sugar composites. *Journal of Food Engineering*, 64, 521-527.
- Charkhi, A., Kazemian, H., Kazemeini, M. (2010). Optimized experimental design for natural clinoptilolite zeolite ball milling to produce nano powders. *Powder Technology*, 203, 389-396.
- Chen, J. J., Lii, C. Y., y Lu, S. (2003). Physicochemical and morphological analyses on damaged rice starches. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11 (4), 283-289.
- Chen, J. J., Lu, S., y Lii, C. Y. (1998). Thermal characteristics and microstructure changes in waxy rice flours by different milling methods. *Food Science*, 25, 314-330 (Chinese).
- Chen, J. J., Lu, S., y Lii, C. Y. (1999). Effects of milling on the physicochemical characteristics of waxy rice in Taiwan. *Cereal Chemistry*, 76 (5), 796-799.
- Chen, Y., Ding, Y., Papadopoulos, D. G., y Ghadiri M. (2004). Energy-Based Analysis of Milling α -Lactose Monohydrate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93 (4), 886-895.
- Chiang, P. Y., y Yeh, A. I. (2002). Effect of soaking on wet-milling of rice. *Journal of Cereal Science*, 35, 85-94.
- Chun, S. Y., y Yoo, B. (2004). Rheological behavior of cooked rice flour dispersions in steady and dynamic shear. *Journal of Food Engineering*, 65, 363-370.
- Clark, A. H. (1991). Structural and mechanical properties of biopolymer gels. En E. Dickinson (Ed.), *Food Polymers, Gels and Colloids* (pp. 322-337). Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- Clark, A. H., y Ross-Murphy, S. B. (1987). Structural and mechanical properties of biopolymer gels. *Advances in Polymer Science*, 83, 57-192.
- Colonna, P., y Buleon, A. (2010). Thermal transitions of starches. En A. C. Bertolini (Ed.), *Starches: Characterization, Properties, and Applications* (pp. 71-102). Boca Ratón: CRC Press.
- Columbia University, Industry/University Center of Surfactants (2014). *Schematic description of the conformational change of proteins*. Disponible en: www.columbia.edu/cu/iucrc/research.shtml. Último acceso: 25 de diciembre de 2014.
- Cremer, D., y Kaletunç, G. (2003). Fourier transform infrared microspectroscopy study of the chemical microstructure of corn and oat flour-based extrudates. *Carbohydrate Polymers*, 52, 53-65.
- CTCRI, Central Tuber Crops Research Institute (2015). *Modified starches*. Disponible en: <http://www.ctcri.in/ModifiedStarches/IntroModifiedStarches.aspx>. Último acceso: 25 de enero de 2015.

D

- Daniel, J. R., y Whistler, R. L. (1990). Fatty sensory properties qualities of polysaccharides. (Abstr.) *Cereal Foods World*, 35, 825.
- Da Rosa Zavareze, E., Storck, C. R., Suita de Castro, L. A., Artigas Schirmer, M., y Guerra Dias, A. R. (2010). Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content. *Food Chemistry*, 121, 358-365.

- De Battista, J. J., y Rivarola, S. E., (2006). Pácticas culturales del arroz en Entre Ríos. En R. A., Benavidez (Ed.), *El arroz: su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos* (pp. 339-343). Concepción del Uruguay: Universidad Nacional de Entre Ríos y Universidad Nacional del Litoral.
- De la Hera, E., Gomez, M., y Rosell C. M. (2013). Particle size distribution of rice flour affecting the starch enzymatic hydrolysis and hydration properties. *Carbohydrate Polymers*, 98, 421-427.
- Debet, M. R., y Gidley, M. J. (2006). Three clases of starch granule swelling: influence of surface proteins and lipids. *Carbohydrate Polymers*, 64, 452-465.
- Deetae, P., Shobsngob, S., Varayanond, W., Chinachoti, P., Naivikul, O., y Varavinit, S. (2008). Preparation, pasting properties and freeze-thaw stability of dual modified crosslink-phosphorylated rice starch. *Carbohydr Polymers*, 73, 351-8.
- Degiovanni, V., Berrío, L. E., y Charry, R. E. (2010). Origen, taxonomía, anatomía y morfología de la planta de arroz (*Oryza sativa* L.). En V., Degiovanni, C., Martínez, y F., Motta (Eds.), *Producción eco-eficiente del arroz en América Latina, Tomo I* (pp. 35-59). Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Derycke, V., Vandeputte, G. E., Vermeylen, R., De Man, W., Goderis, B., Koch, M. H. J., y Delcour, J. A. (2005). Starch gelatinization and amylose-lipid interactions during rice parboiling investigated by temperature resolved wide angle X-ray scattering and differential scanning calorimetry. *Journal of Cereal Science*, 42, 334-343.
- Devi, A. F., Fibrianto, K., Torley, P. J., y Bhandari, B. (2009). Physical properties of cryomilled rice starch. *Journal of Cereal Science*, 49, 278-284.
- Dhital, S., Shrestha, A. K., Flanagan, B. M., Hasjim, J., y Gidley, M. J. (2011). Cryomilling of starch granules leads to differential effects on molecular size and conformation. *Carbohydrate Polymers*, 84 (3), 1133-1140.
- Donald, A. M. (2004). Understanding starch structure and functionality. En A. C. Eliasson (Ed.), *Starch in Food: Structure, Function and Applications* (pp. 156-179). Boca Ratón: CRC Press.
- Dubat, A. (2004). The importance and impact of Starch Damage and evolution of measuring methods. Disponible en: www.concereal.es/importance_impact_starch_damage. Último acceso: 22 de enero de 2015.
- Dziki, D. (2008) The crushing of wheat kernels and its consequence on the grinding process. *Powder Technology*, 185, 181-186.

E

- Eerlingen, R. C., Cillen, G., y Delcour, J. A. (1994). Enzyme-resistant starch. IV. Effect of endogenous lipids and added sodium dodecyl sulfate on formation of resistant starch. *Cereal Chemistry*, 71, 170-177.
- El-Dash, A. A., Gonzales, R., y Ciol, M. (1983). Response surface methodology in the control of thermoplastic extrusion of starch. *Journal of Food Engineering*, 2, 129-152.
- Eliasson, A. C. (1985). Starch gelatinization the presence of emulsifier. A morphological study of wheat starch. *Starch*, 37, 411-415.
- Eliasson, A. C. (1986). Viscoelastic behavior during the gelatinization of starch II -effects of emulsifiers. *Journal of Textural Studies*, 17, 357-375.
- Eliasson, A., y Gudmundsson, M. (2006). Starch: Physicochemical and Functional Aspects. En A. Eliasson (Ed.), *Carbohydrates in food* (pp. 391-469). Boca Ratón: CRC Press.

Eliasson, A. C., y Kim, H. R. (1992). Changes in rheological properties of hydroxypropyl potato starch pastes during freeze-thaw treatments. 1. A Rheological approach for evaluation of freeze-thaw stability. *Journal Texture Studies*, 23, 279-295.

F

FAO (2004). *Rice and human nutrition*. Disponible en: <http://www.fao.org/rice2004/en/f-sheet/factsheet3.pdf>. Último acceso: 2 de enero de 2015.

FAO (2014). *FAO Rice Market Monitor*. Disponible en: <http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>. Último acceso: 2 de enero de 2015.

Frost, K., Kaminski, D., Kirwan, G., Lascaris, E., y Shanks, R. (2009). Crystallinity and structure of starch using wide angle X-ray scattering. *Carbohydrate Polymers*, 78, 543-548.

Farrand, E. A. (1972). The influence of particle size and starch damage on the characteristics of bread flours. *Baker's Digest*, 46 (1), 22-26.

Fokina, E. L., Budim, N. I., Kochnev, V. G. y Chernik, G. G. (2004). Planetary ball mills of periodic and continuous action. *Journal of Materials Science*, 39, 5217-5222.

Food-Info (2014). Starch. Disponible en: <http://www.food-info.net/uk/carbs/starch.htm>. Último acceso: 14 de diciembre de 2014.

Franquet Bernis, J. M., y Borràs Pàmies, C. (2004). *Variedades y mejora del arroz: Oryza sativa, L.* España: Universidad Internacional de Cataluña.

Fukumori, Y., Tamura, I., Jono, K., Miyamoto, M., Tokumitsu, H., Ichikawa, H., y Block, L. H. (1998). Dry grinding of chitosan powder by a planetary ball mill. *Advanced Powder Technology*, 9 (4), 281-292.

G

Gallagher, E., Gormley, T. R., y Arendt, E. K. (2004). Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 143-152.

Gariboldi, F. (1984). Rice parboiling. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Gennaro A. R. (2003). *Remington Farmacia, volumen 1 (20° Ed.)*. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Ghiasi, K., Varriano-Marston, E., y Hoseney, R. C. (1982). Gelatinization of wheat starch. II. Starch-surfactant interaction. *Cereal Chemistry*, 5, 86-88.

Gómez Pallarés, M., León, A. E., y Rosell, C. M. (2007). Trigo. En A. E., León, y C. M., Rosell (Eds.), *De tales harinas, tales panes* (pp. 19-71). Córdoba: CYTED.

González, R. J., Torres, R. L., y De Greef, D. M. (2006). El arroz como alimento, el grano y la harina. En R. A., Benavidez (Ed.), *El arroz: su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos* (pp. 19-45). Concepción del Uruguay: Universidad Nacional de Entre Ríos y Universidad Nacional del Litoral.

Greenwood, C. T. (1976). Starch. En Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in Cereal Science and Technology: Vol. I* (pp. 119-157). St Paul Minnesota: American Association of Cereal Chemists.

GRiSP (Global Rice Science Partnership) (2013). *Rice Almanac (4° Ed.)*. Los Baños: International Rice Research Institute.

Gu, D., y Shen, Y. (2009). Microstructures and properties of high Cr content coatings on inner surfaces of carbon steel tubular components prepared by a novel mechanical alloying method. *Applied Surface Science*, 256, 223-230.

H

- Hagenimana, A., Ding, X., y Fang, T. (2006). Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, 43, 38-46.
- Han, M. R., Chang, M. J., y Kim, M. H. (2007). Changes in physicochemical properties of rice starch processed by ultra-fine pulverization. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 50 (4), 234-238.
- Han, Z., Zeng, X. A., Zhang, B. S., y Yu, S. J. (2009). Effects of pulsed electric fields (PEF) treatment on the properties of corn starch. *Journal of Food Engineering*, 93 (3), 318-323.
- Hasjim, J., Li, E., y Dhital, S. (2012). Milling of rice grains: The roles of starch structures in the solubility and swelling properties of rice flour. *Starch - Stärke*, 64 (8), 631-645.
- Hasjim, J., Li, E., y Dhital, S. (2013). Milling of rice grains: Effects of starch/flour structures on gelatinization and pasting properties. *Carbohydrate Polymers*, 92, 682-690.
- He, S., Qin, Y., Walid, E., Li, L., Cui, J., y Ma, Y. (2014). Effect of ball-milling on the physicochemical properties of maize starch. *Biotechnology Reports*, 3, 54-59.
- Heo, S., Lee, S. M., Shim, J. H., Yoo, S. H., y Lee, S. (2013). Effect of dry- and wet-milled rice flours on the quality attributes of gluten-free dough and noodles. *Journal of Food Engineering*, 116, 213-217.
- Higareda Rodríguez, C. S. (2011). *Estudio del efecto de la molienda de ultra alta energía en la producción a escala de polvo de magnesio y su hidruración*. Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional, México.
- Hogan, J. T. (1967). The manufacture of rice starch. *Starch Chemistry Technology*, 2, 65-78.
- Hoover, R., y Hadziyev, D. (1981). The effect of monoglycerides on amylose complexing during a potato granule process. *Starch/Stärke*, 33, 346-355.
- Hoover, R., y Manuel, H. (1996). The effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of normal maize, waxy maize, dull waxy maize and amylomaize V starch. *Journal of Cereal Science*, 23, 153-162.
- Hormdok, R., y Noomhorm, A. (2007). Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. *LWT - Food Science and Technology*, 40, 1723-1731.
- Hoseney, R. C., (1994). *Principles of Cereal Science and Technology (2° Ed.)*. St Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- Hossain, M., Mondal, I. H., Khan, M. R., Alam, F., y Hasan, K. (2012). Interactions between starch and surfactants by ternary phase diagram. *Canadian Journal on Scientific and Industrial Research*, 3 (4), 246-255.
- Hossen, M. S., Sotome, I., Takenaka, M., Isobe, S., Nakajima, M. y Okadome H. (2011). Starch damage and pasting properties of rice flours produced by dry jet grinding. *Cereal Chemistry*, 88 (1), 6-11.
- Hsu, S., Lu, S., y Huang C. (2000). Viscoelastic changes of rice starch suspensions during gelatinization. *Journal of Food Science*, 65 (2), 215-220.
- Hu, R. (1999). *Food product design: A computer-aided statistical approach (1° Ed.)*. Lancaster, Pennsylvania: Technomic.
- Huang, J. C., Knight, S., y Goad, C., (2001). Model prediction for sensory attributes of nongluten pasta. *Journal of Food Quality*, 24 (6), 495-511.
- Huang, Z. Q., Lu, J. P., Li, X. H., y Tong, Z. F. (2007). Effect of mechanical activation on physico-chemical properties and structure of cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 68 (1), 128-135.

- Huang, Z. Q., Xie, X. L., Chen, Y., Lu, J. P., Tong, Z. F. (2008). Ball-milling treatment effect on physicochemical properties and features for cassava and maize starches. *Comptes Rendus Chimie*, 11, 73-79.
- Huber, K. C., y BeMiller, J. N. (2010). Modified starch: Chemistry and properties. En A. C. Bertolini (Ed.), *Starches: Characterization, Properties, and Applications* (pp. 145-183). Boca Ratón: CRC Press.
- Hukki, R. T. (1975). The principles of comminution: An analytical summary. *Engineering & Mining Journal*, 176, 106.

J

- Jacobs, H., y Delcour, J. A. (1998). Hydrothermal modification of granular starch with retention of the granular structure: A review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 (8), 2895-2905.
- Jane, J. L. (2009). Structural features of starch granules II. En J., BeMiller, y R., Whistler (Eds.), *Starch: Chemistry and Technology* (pp. 193-225). San Diego: Academic Press.
- Juliano, B. O., y Bechtel, D. B. (1985). The rice grain and its gross composition. En B. O. Juliano (Ed.), *Rice: Chemistry and technology* (pp. 17-57). St Paul, MN: The American Association of Cereal Chemists.
- Juliano, B. O. (1994). *El arroz en la nutrición humana*. Roma: FAO.

K

- Karim, A. A., Norziah, M. H., y Seow, C. C. (2000). Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, 71, 9-36.
- Karlsson, M. E., y Eliasson, A. C. (2003). Gelatinization and retrogradation of potato (*Solanum tuberosum*) starch in situ as assessed by differential scanning calorimetry (DSC). *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 36 (8), 735-741.
- Khanmirzaei, M. H., y Ramesh, S. (2013). Ionic transport and FTIR properties of lithium iodide doped biodegradable rice starch based polymer electrolytes. *International Journal of Electrochemical Science*, 8, 9977-9991.
- Khuri, A. I., y Cornell, J. A. (1987). *Response Surfaces, Designs and Analyses*. New York: Marcel Dekker.
- Kick, F. (1883) A critique of industrial methods of measurement of strength. *Dinglers Polytechnik Journal*, 247, 1-15.
- Kim, M. H. (2013). Review on Rice Flour Manufacturing and Utilization. *Journal of Biosystems Engineering*, 38 (2), 103-112.
- Kim, C., Lee, S. P., y Yoo, B. (2006). Dynamic rheology of rice starch-galactomannan mixtures in the aging process. *Starch/Stärke*, 58, 35-43.
- Kim, Y., Kee, J. I., Lee, S., y Yoo, S. H. (2014). Quality improve of rice noodle restructured with rice protein isolate and transglutaminase. *Food Chemistry*, 145, 409-416.
- Kinugasa, T., Sanagi, K., Watanabe, K., y Takeuchi, H. (2001). Effect of interaction between protein and surfactant in aqueous phase on extraction rate of protein into reverse micellar solution. En Society of Chemical Industry, *Solvent Extraction for the 21st Century: proceedings of the ISEC '99 Vol.1* (pp.89-93). London: Society of Chemical Industry.
- Kokini, J. L., Lai, L. S., y Chedid, L. L. (1992) Effect of starch structure and starch rheological properties. *Food Technology*, 46 (6), 124-139.

- Kong, X., Bao, J., y Corke H. (2009). Physical properties of Amaranthus starch. *Food Chemistry*, 113, 371-376.
- Krishna Murthy, T. P., y Manohar, B. (2013). Grinding studies of mango ginger: mathematical modelling of particle size distribution and energy consumption. *American Journal of Food Science and Technology*, 1 (4), 70-76.
- Krog, N., y Jensen, B. N. (1970). Interactions of monoglycerides in different physical states with amylose and their anti-firming effects in bread. *Journal Food Technology*, 5, 77-87.
- Krog, N., Olesen, S. N., Toernaes, H., y Joensson, T. (1989). Retrogradation of the starch fraction in wheat bread. *Cereal Foods World*, 34, 281-285.
- Kung, L. L., Chen, H. J., y Sung, H. Y. (1987). A new method for separation of rice protein and starch. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 25, 299-307.
- Kurakake, M., Hagiwara, H., y Komaki, T. (2004). Effects of various surfactants on the rheological properties of maize starch granules. *Cereal Chemistry*, 81, 108-114.
- L**
- Lai, H. M. (2001). Effects of hydrothermal treatment on the physicochemical properties of pregelatinized rice flour. *Food Chemistry*, 72, 455-463.
- Larrosa, V., Lorenzo, G., Zaritzky, N., y Califano, A. (2013). Optimization of rheological properties of gluten-free pasta dough using mixture design. *Journal of Cereal Science*, 57, 520-526.
- Launay, B., y Lisch, J. M. (1983). Twin-screw extrusion cooking of starch: Flow behavior of starch pastes, expansión and mechanical properties of extrudates. *Journal of Food Engineering*, 2, 259-280.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., y Biliaderis, C. (2007). Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal Food Engineering*, 79, 1033-1047.
- Leal Denis, M. F., Lázaro Martínez, J. M., Buldain, G. Y., y Campodall Orto, V. (2008). Modificación de un polianfolito empleando un surfactante aniónico. Diseño, estudios fundamentales y aplicaciones. *Actas del 8º Congreso Internacional de Metalurgia y Materiales*, 28 al 31 de octubre de 2008, Santiago de Chile.
- Lewandowicz G., Jankowski, T., y Fornal, J. (2000). Effect of microwave radiation on physico-chemical properties and structure of cereal starches. *Carbohydrate Polymers*, 42 (2), 193-199.
- Li, Y., Shoemaker, C. F., Ma, J., Moon, K. J., y Zhong, F. (2008a). Structure-viscosity relationships for starches from different rice varieties during heating. *Food Chemistry*, 106, 1105-1112.
- Li, Y., Shoemaker, C. F., Shen, X., Ma, J., Ibáñez-Carranza, A. M., y Zhong, F. (2008b). The isolation of rice starch with food grade proteases combined with other treatments. *Food Science and Technology International*, 14 (3), 215-224.
- Li, J. Y., y Yeh, A. I. (2001). Relationship between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *Journal of Food Engineering*, 50, 141-148.
- Lii, C. Y., Tsai, M. L., y Tseng, K. H. (1996). Effect of amylose content on the rheological property of rice starch. *Cereal Chemistry*, 73, 415-420.
- Lim, S., Jane, J., Rajagopalan, S., y Seib, P. A. (1992). Effect of starch granule size on physical properties of starch-filled polyethylene film. *Biotechnology Progress*, 8, 51-57.

- Lim, H. S., Lee, J. H., y Shin, D. H. (1999). Comparison of protein extraction solutions for rice starch isolation and effects of residual protein content on starch pasting properties. *Starch/Stärke*, 51, 120-125.
- Lin, Q., Liu, Z. H., Xiao, H., Li, L., Yu, F., y Tian, W. (2010). Studies on the pasting and rheology of rice starch with different protein residual. En D. Li, y C. Zhao (Eds.), *Computer and Computing Technologies in Agriculture III* (pp. 407-419). Berlin: Springer.
- Liu, T.Y., Ma, Y., Yu, S. F., Shi, J., Xue, S. (2011). The effect of ball milling treatment on structure and porpsity of maize starch granule. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 586-593.
- Livore, A. B. (2006). La genética del arroz. En R. A., Benavidez (Ed.), *El arroz: su cultivo y sustentabilidad en Entre Ríos* (pp. 53-74). Concepción del Uruguay: Universidad Nacional de Entre Ríos y Universidad Nacional del Litoral.
- Lopes da Silva, J., Goncalves, M., y Rao, M. (1993). Viscoelastic Behavior of Mixtures of Locust Bean Gum and Pectin Dispersions. *Journal of Food Engineering*, 18, 211-228.
- López, O. V., Viña, S. Z., Pachas, N. A., Sisterna, M. N., Rohatsch, P. H., Mugridge, A., Fassola, H. E. y García, M. A. (2010). Composition and food properties of Pachyrhizus ahipa roots and starch. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 223-233.
- López-Torres, R., Ramírez-Guzmán, M. E., González-Cossio, F. V., Martínez-Garza, A., y Espinosa-Solares, T. (2002). A confidence region for the explanatory variables in experiments with mixtures using calibration. *Agrociencia*, 36, 579-592.
- Lorlowhakarn, K., y Naivikul, O. (2006). Modification of rice flour by heat moisture treatment (HMT) to produce rice noodles. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 40 (Suppl.), 135-143.
- Loubes, M. A., Calzetta Resio, A. N., Tolaba, M. P., y Suárez, C. (2012). Mechanical and thermal characteristics of amaranth starch isolated by acid wet-milling procedure. *LWT - Food Science and Technology*, 46, 519-524.
- Lu, S., y Lin, T. C. (2001). Rice-based snacks foods. En W. Lusas (Ed.), *Snack foods processing* (pp. 438-456). Boca Raton: CRC Press.
- Lumdubwong, N., y Seib, P. A. (2000). Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet-milled rice flour. *Journal of Cereal Science*, 31, 63-74.

M

- Mahapatra, A. K., y Lan, Y. (2007). Postharvest handling of grains and pulses En M. S., Rahman (Ed.), *Handbook of Food Preservation* (pp. 73-129). Boca Ratón: CRC Press.
- Manaois R. V. (2009). *Modification of rice starch properties by addition of amino acids at various pH levels*. Tesis de Maestría, Department of Food Science, Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.
- Mao, C. F., y Rwei, S. P. (2006). Cascade analysis of mixed gels of xanthan and locust bean gum. *Polymer*, 47, 7980-7987.
- Mariotti, M., Iametti, S., Cappa, C., Rasmussen, P., y Lucisano, M. (2011). Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: evaluation of the uncooked products. *Journal of Cereal Science*, 53 (3), 319-327.
- Marshall, W. E. (1992). Effect of degree of milling of brown rice and particle size of milled rice on starch gelatinization. *Cereal Chemistry*, 69 (6), 632-636.
- Marti, A., Seetharaman, K., Pagani, M. A., (2010). Rice-based pasta: a comparison between conventional pasta-making and extrusion-cooking. *Journal of Cereal Science*, 52 (3), 404-409.

- Martínez-Bustos, F., López-Soto, M., San Martín-Martínez, E., Zazueta-Morales, J. J., y Velez-Medina, J. J. (2007). Effects of high energy milling on some functional properties of jicama starch (*Pachyrrhizus erosus* L. Urban) and cassava starch (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Food Engineering*, 78 (4), 1212-1220.
- Martínez, C., y Cuevas, F. (1989). *Evaluación de la calidad culinaria y molinera de arroz*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Martinez Orellana, A. (2010). *Microanálisis por dispersión de energías de rayos-x (XEDS)*. Disponible en: <http://www.uma.es/sme/nueva/Documentos/EDXS.pdf>. Último acceso: 15 de Enero de 2015.
- Maurice, D. R., y Courtney, T. H. (1990). The physics of mechanical alloying: A first report. *Metallurgical Transactions A*, 21, 289-302.
- McCabe, W., Smith, J., y Harriott, P. (1991). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química (4º Ed.)*. Madrid: Mc Graw-Hill.
- McWatters, K. H. (1983). Physical and sensory characteristics of Akara processed from cowpea paste and Nigerian cowpea flour. *Cereal Chemistry*, 60, 333-336.
- Medcalf, D. G. y Gilles, K. A. (1965). Rice starch: physicochemical properties and isolation. *Cereal Chemistry*, 43, 553-558.
- Menegassi, B., Pilosof, A. M. R., y Arêas, J. A. G. (2011). Comparison of properties of native and extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L. - BRS Alegria) flour. *Food Science and Technology*, 44, 1915-1921.
- Meuser, F. (1993). Types of mil and their uses. En R., Macrae, R. K. Robinson y M., Sadler (Eds.), *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition* (pp. 3987-3997). Londres: Academic Press.
- Mira, I. (2006). *Interactions between surfactants and starch: from starch granules to amylose solutions*. Tesis doctoral, Institute for Surface Chemistry, Royal Institute of Technology, Stockholm.
- Mohd Rozalli, N. H., Chin, N. L., y Yusof Y. A. (2015). Grinding characteristics of Asian originated peanuts (*Arachis hypogaea* L.) and specific energy consumption during ultra-high speed grinding for natural peanut butter production. *Journal of Food Engineering*, 152, 1-7.
- Molina-Rosell, C. (2013). Alimentos sin gluten derivados de cereales. En L., Rodrigo y A. S., Peña (Eds.), *Enfermedad celíaca y sensibilidad al gluten no celíaca* (pp. 447-461). España: Omnia Publisher.
- Morris, V. J. (1990). Starch gelation and retrogradation. *Trends in Food Science and Technology*, 1, 2-6.
- Morrison, W. R., y Laignelet, B. (1983). An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *Journal of Cereal Science*, 1, 9-20.
- Morrison, W. R. y Tester, R. F. (1994). Properties of damaged starch granules. IV. Composition of ball-milled wheat starches and fractions obtained on hydration. *Journal Cereal Science*, 20, 69-77.
- Morrison, W. R., Tester, R. F., y Gidley, M. J. (1994). Properties of damaged starch granules. II. Crystallinity, molecular order and gelatinisation of ball-milled starches. *Journal of Cereal Science*, 19 (3), 209-217.
- Multon, J. L., Bizot, H., y Savet, B. (1980). Water absorption in cereal foods and water activity measurement. En G. E. Inglett, y L. Munck (Eds.), *Cereals for Food and Beverages* (pp. 97-120). New York: Academic Press.

N

- Navarro, A. S., Martino, M. N., y Zaritsky, N. E. (1997). Viscoelastic properties of frozen starch–triglyceride systems. *Journal of Food Engineering*, 34, 411-427.
- Nishita, K. D., y Bean, M. M. (1982). Grinding methods: their impact on rice flour properties. *Cereal Chemistry*, 59, 46-49.
- Ngamnikom, P., y Songsermpong, S. (2011). The effects of freeze, dry, and wet grinding processes on rice flour properties and their energy consumption. *Journal of Food Engineering*, 104, 632-638.

O

- Osella, C., de la Torre, M., y Sánchez, H. (2014). Safe foods for celiac people. *Food and Nutrition Sciences*, 5 (9), 787-800.

P

- Pourghahramani, P., y Forssberg, E. (2006). Comparative study of microstructural characteristics and stored energy of mechanically activated hematite in different grinding environments. *International Journal of Mineral Processing*, 79 (2), 120-139.
- Prasad, K., Singh, Y., y Anil, A. (2012). Effects of grinding methods on the characteristics of Pusa 1121 rice flour. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 40 (2), 193-201.
- Puncha-arnon, S., y Uttapap, D. (2013). Rice starch vs. rice flour: Differences in their properties when modified by heat–moisture treatment. *Carbohydrate Polymers*, 91, 85-91.

R

- Radley, J. A. (1976). *Industrial uses of starch and its derivatives*. Essex: Springer.
- Ramirez Ascheri, D. P., Alvez Boêno, J., Zaczuk Bassinello, P., y Ramírez Ascheri J. L. (2012). Correlation between grain nutritional content and pasting properties of pre-gelatinized red rice flour. *Revista Ceres (Viçosa)*, 59, 16-24.
- Rao, M. A. (2003). Phase transitions, food texture and structure. En B. M. McKenna (Ed.), *Texture in food Volume I: Semi-solid foods* (pp. 36-58). Cambridge, UK: Woodhead Publishing.
- Retsch GmbH (n.d.). El proceso de la trituración. *La muestra*, 36. Disponible en: <http://www.retsch.es/es/descarga/revista-la-muestra/>. Último acceso: 22 de febrero de 2015.
- Retsch GmbH (2009). *Molienda con molinos planetarios de bolas*. Haan: Retsch GmbH.
- Retsch GmbH (2012a). *Instrucciones de servicio para molino de bolas Modelo PM100/ PM200*. Haan: Retsch GmbH.
- Retsch GmbH (2012b). *Instrucciones de servicio: Sistema de medición de presión y temperatura PM GrindControl*. Haan: Retsch GmbH.
- Rewthong, O., Soponronnarit, S., Taechapairoj, C., Tungtrakul, P., y Prachayawarakorn, S. (2011). Effects of cooking, drying and pretreatment methods on texture and starch digestibility of instant rice. *Journal of Food Engineering*, 103, 258-264.
- Rhodes, M. J. (2013). *Introduction to Particle Technology (2° Ed.)*. Chichester: John Wiley & Sons.
- Rittinger, P.R. (1867) *Lehrbuch der Aufbereitungskunde*. Berlin: Ernst und Korn.

- Roa, D. F., Santagapita, P. R., Buera, M. P., y Tolaba, M. P. (2014a). Ball Milling of Amaranth Starch-Enriched Fraction. Changes on Particle Size, Starch Crystallinity, and Functionality as a Function of Milling Energy. *Food and Bioprocess Technology*, 7 (9), 2723-2731.
- Rodríguez, P., San Martín, M. E., y González de la Cruz, G. (2001). Calorimetría diferencial de barrido y rayos-x del almidón obtenido por nixtamalización fraccionada. *Superficies y Vacío*, 13, 61-65.
- Rojas, J. M. (2005). *Ciclo de vida del arroz*. Disponible en: <http://www.biologia.edu.ar/botánica/animaciones/ciclos/arroz/ciclo%20normal/index.htm>. Último acceso: 22 de febrero de 2015.
- Rosalina, I., y Bhattacharya, M. (2002). Dynamic rheological measurements and analysis of starch gels. *Carbohydrate Polymers*, 48, 191-202.
- Rosell, C. M., Yokoyama, W., y Shoemaker, C. (2011). Rheology of different hydrocolloids–rice starch blends. Effect of successive heating–cooling cycles. *Carbohydrate Polymers*, 84, 373-382.
- Rosell, C. M., Moita Brites, C., Pérez, E., y Gualarte, M. (2007). Arroz. En A. E., León, y C. M., Rosell (Eds.), *De tales harinas, tales panes* (pp. 123-160). Córdoba: CYTED.
- Ross-Murphy, S. B. (1984). Rheological methods. En H. W. S. Chan (Ed.), *Biophysical methods in food research* (pp. 138-199). Oxford: Blackwell.
- Ross-Murphy, S. B. (1995). Rheological characterization of gels. *Journal of Texture Studies*, 26, 391-400.
- Roudot, A. C. (2004). *Reología y análisis de la textura de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- S**
- Saartratra, S., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., y Uttapap, D. (2005). Paste and gel properties of low - substituted acetylated canna starches. *Carbohydrate Polymers*, 61, 211-221.
- Sahay, K. M. y Singh, K. K. (2009). *Unit Operations of Agricultural Processing (2° Ed.)*. Delhi: Vikas Publishing House PVT.
- Sánchez, H. D., Gonzalez, R. J., Osella, C. A., Torres, R. L., y de la Torre, M. A. (2008). Elaboración de pan sin gluten con harinas de arroz extruidas. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 6 (2), 109-116.
- Sandhya Rani, M. P., y Bhattacharya, K. R. (1989). Rheology of rice flour pastes: effect of variety, concentration, and temperature and time of cooking. *Journal Texture Studies*, 20, 127-137.
- Sandoval Aldana, A., Rodriguez Sandoval, E., y Fernandez Quintero, A. (2005). Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) para la caracterización de las modificaciones del almidón. *Dyna*, 72 (146), 45-53.
- Sanguanpong, V., Chotineeranat, S., Piyachomkwan, K., Oates, C. G., Chinachoti, P., y Sriroth, K. (2003). Hydration and physicochemical properties of small-particle cassava starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83 (2), 123-132.
- Scheffé, H. (1958). Experiments with mixtures. *Journal of the Royal Statistical Society B*, 20, 344-360.
- Seib, P. A., y Stearns, M. (1972). Extrusion processing of wheat starch. *Cereal Science Today*, 17, 9-12.
- Sharma, P., Chakkaravarthi, A., Singh, V., y Subramanian, R. (2008). Grinding characteristics and batter quality of rice in different wet grinding systems. *Journal of Food Engineering*, 88, 499-506.
- Shashidhar, M. G., Murthy, T. P. K., Girish, K. G., y Manohar, B. (2013). Grinding of coriander seeds: modeling of particle size distribution and energy studies. *Particulate Science and Technology*, 31, 449-457.

- Shih, F., y Daigle, K. (2002). Preparation and characterization of low oil uptake rice cake donuts. *Cereal Chemistry*, 79 (5), 745-748.
- Shih, F., King, J., Daigle, K., An, H. J., y Ali, R. (2007). Physicochemical properties of rice starch modified by hydrothermal treatments. *Cereal Chemistry*, 84 (5), 527-531.
- Shirahama, K., Tsujii, K., y Takagi, T. (1974). Free-boundary electrophoresis of sodium dodecyl sulfate-protein polypeptide complexes with special reference to SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Biochemistry*, 75, 309-319.
- Shon K. J., y Yoo, B. (2006). Effect of Acetylation on Rheological Properties of Rice Starch. *Starch/Stärke*, 58, 177-185.
- Singh, J., Kaur, L., y McCarthy, O. J. (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids*, 21, 1-22.
- Skerritt, J. H., Frend, A. J., Robson, L. G., y Greenwell, P. (1990). Immunological homologies between wheat gluten and starch granule proteins. *Journal of Cereal Science*, 12, 123-126.
- Sopade, P. A., Halley, P. J., y Junming, L. L. (2004). Gelatinisation of starch in mixtures of sugars. I. Dynamic rheological properties and behaviours of starch-honey systems. *Journal of Food Engineering*, 61 (3), 439-448.
- Sozer, N. (2009). Rheological properties of rice pasta dough supplemented with proteins and gums. *Food Hydrocolloids*, 23, 849-855.
- StatPoint, Inc. (2006). Diseño de Experimentos – Diseños de Mezclas. Disponible en: http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/322/DDE__Disenos_de_Mezclas.pdf. Último acceso: 15 de febrero de 2015.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering* (2° Ed.). East Lansing: Freeman Press.
- Suksomboon, A., y Naivikul, O. (2006). Effect of dry- and wet-milling processes on chemical, physicochemical properties and starch molecular structures of rice starches. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 40 (Suppl.), 125-134.
- Suryanarayana, C. (2001). Mechanical alloying and milling. *Progress in Materials Science*, 46, 1-184.
- Susanna, S, y Prabhasankar, P. (2013). A study on development of gluten free pasta and its biochemical and immunological validation. *LWT- Food Science and Technology*, 50, 613-621.
- Szymońska, J., Targosz-Korecka, M., y Krok, F. (2009). Characterization of starch nanoparticles. *Journal of Physics: Conference Series*, 146 (1), 012027. doi:10.1088/1742-6596/146/1/012027. Disponible en: <http://iopscience.iop.org/17426596/146/1/012027>.
- T**
- Takacs, L., y McHenry, J. S. (2006). Temperature of the milling balls in shaker and planetary mills. *Journal of Materials Science*, 41, 5246-5249.
- Takahashi, T., Miura, M., Ohisa, N., y Kobayashi, S. (2005). Modification of gelatinization properties of rice flour by heat-treatment. *Nihon Reorogi Gakkaishi*, 33 (2), 81-85.
- Tako, M., y Hizukuri, S. (2002). Gelatinization mechanism of potato starch. *Carbohydrate Research*, 48, 397-401.
- Tamaki, S., Hisamatsu, M., Teranishi, K., Adachi, T., y Yamada, T. (1998). Structural change of maize starch granules by ball-mill treatment. *Starch/Stärke*. 50, 342-348.

- Tamaki, S., Hisamatsu, M., Teranishi, K., y Yamada, T. (1997). Structural change of potato starch granules by ball-mill treatment. *Starch/Stärke*, 49, 431-438.
- Tang, S., Hettiarachchy, N. S., Horax, R., y Eswaranandam, S. (2003). Physicochemical properties and functionality of rice bran protein hydrolyzate prepared from heat-stabilized defatted rice bran with the aid of enzymes. *Journal of Food Science*, 68 (1), 152-157.
- Technics and Technology of Disintegration Co. (2015). Planetary mills. Disponible en: www.ttd.spb.ru. Ultimo acceso: 10 de enero de 2015.
- Tester, R. F., y Morrison, W. R. (1990). Swelling and gelatinization of cereal starches. II. Waxy rice starches. *Cereal Chemistry*, 67, 558-563.
- Tran, T. T. B., Shelat, K. J., Tang, D., Li, E., Gilbert, R. G., y Hasjim, J. (2011). Milling of rice grains. The degradation on three structural levels of starch in rice flour can be independently controlled during grinding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (8), 3964-3973.
- Tsai, M. L., Li, C. F., y Lii, C. Y. (1997). Effects of granular structures on the pasting behaviors of starches. *Cereal Chemistry*, 74, 750-757.
- Tsai, W. T., Yang, J. M., Hsu, H. C., Lin, C. M., Lin, K. Y., y Chiu, C. H. (2008). Development and characterization of mesoporosity in eggshell ground by planetary ball milling. *Microporous and Mesoporous Materials*, 111, 379-386.
- Tudorică, C. M., Kuri, V., y Brennan, C. S. (2002). Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 347-356.
- V**
- Valdés Martínez, S. E. (2006). Hidratos de carbono. En S. Badui Dergal (Ed.), *Química de los alimentos* (pp. 29-109). México: Addison Wesley.
- Vandeputte, G. E., Derycke, V., Geeroms, J., y Delcour, J. A. (2003). Rice starches. II. Structural aspects provide insight into swelling and pasting properties. *Journal of Cereal Science*, 38, 53-59.
- Varavinit, S., Anuntavuttikul, S., y Shobsngob, S. (2000). Influence of Freezing and Thawing Techniques on Stability of Sago and Tapioca Starch Pastes. *Starch/Stärke*, 52, 214-217.
- Varavinit, S., Shobsngob, S., Varayanond, V., Chinachoti, P., y Naivikul, O. (2002). Freezing and thawing conditions affect the gel stability of different varieties of rice flour. *Starch/Stärke*, 54, 31-6.
- Vasanthan, T., y Bhatta, R. S. (1996). Physicochemical properties of small- and large-granule starches of waxy, regular, and high-amylose barleys. *Cereal Chemistry*, 73, 199-207.
- Velázquez, N., Sánchez, H.D., Osella, C., y Santiago, L. (2012). Using white sorghum flour for gluten-free breadmaking. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63 (4), 491-497.
- W**
- Wadchararat, C., Thongngam, M., y Naivikul, O. (2006). Characterization of pregelatinized and heat moisture treated rice flours. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 40 (Suppl.), 144-153.
- Walker, W. H., Lewis, W. K., Mcadams, W. H., y Gilliland, E. R. (1937). *Principles of Chemical Engineering*. New York: McGraw-Hill.
- Wang, D., y Chung, D. S. (2002). Study of a small scale laboratory wet milling procedure for wheat. *Cereal Chemistry*, 79 (1), 115-119.

- Wang, L., y Wang, Y. J. (2001). Comparison of protease digestion at neutral pH with alkaline steeping method for rice starch isolation. *Cereal Chemistry*, 78 (6), 690-692.
- Wang, L., y Wang, Y. J. (2004a). Application of High-Intensity Ultrasound and Surfactants in Rice Starch Isolation. *Cereal Chemistry*, 81, 140-144.
- Wang, L., y Wang, Y. J. (2004b). Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. *Journal of Cereal Science*, 39, 291-296.
- Wang, L., Xie, B., Shi, J., Xue, S., Deng, Q., Wei, Y., y Tian, B. (2010). Physicochemical properties and structure of starches from Chinese rice cultivars. *Food Hydrocolloids*, 24, 208-216.
- Wani, A. A., Singh, P., Shah, M. A., Schweiggert-Weisz, U., Gul, K., y Wani, I. A. (2012). Rice starch diversity: effects on structural, morphological, thermal, and physicochemical properties—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11 (5), 417-436.
- Wilkinson, J. B., y Moore, R. J. (1990). *Cosmetología de Harry*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Wimberly, J. E. (1983). *Technical Handbook for the Paddy Rice Postharvest Industry in Developing Countries*. Los Baños: International Rice Research Institute.
- X**
- Xie, L., Chen, N., Duan, B., Zhu, Z., y Liao, X. (2008). Impact of proteins on pasting and cooking properties of waxy and non-waxy rice. *Journal of Cereal Science*, 47, 372-379.
- Y**
- Yamamoto, H., Makita, E., Oki, Y., y Otani, M. (2006). Flow characteristics and gelatinization kinetics of rice starch under strong alkali conditions. *Food Hydrocolloids*, 20, 9-20.
- Yang, C. C., Lai, H. M., y Lii, C. Y. (1984). The modified alkaline steeping method for isolation of rice starch. *Food Science*, 11, 158-162.
- Yeh, A. I. (2004). Preparation and applications of rice flour. En E. T. Champagne (Ed.), *Rice: chemistry and Technology* (pp. 495-539). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Yoenyongbuddhagal, S., y Noomhorm, A. (2002). Effect of raw material preparation on rice vermicelli quality. *Starch/Stärke*, 54, 534-539.
- Yoneya, T., Ishibashi, K., Hironaka, K., y Yamamoto, K. (2003). Influence of crosslinked potato starch treated with POCl₃ on DSC, rheological properties and granule size. *Carbohydrate Polymers*, 53 (4), 447-457.
- Z**
- Zavareze, E. R., Storck, C. R., Suita de Castro, L. A., Artigas Schirmer, M., y Guerra Dias, A. R. (2010). Effect of heat-moisture treatment on rice starch of varying amylose content. *Food Chemistry*, 121, 358-365.
- Zhang, Z., Zhao, S., y Xiong, S. (2010). Morphology and physicochemical properties of mechanically activated rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 79, 341-348.
- Zhong, F., Li, Y., Ibañez, A.M., Oh, M. H., McKenzie, K.S., y Shoemaker, C. (2009). The effect of rice variety and starch isolation method on the pasting and rheological properties of rice starch pastes. *Food Hydrocolloids*, 23, 406-414.
- Zhongkai, Z., Kevin, R., Stuart H., y Chris, B. (2002). Composition and functional properties of rice. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 849-868.

- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., y Blanchard, C. (2003). Effect of rice storage on pasting properties of rice flour. *Food Research International*, 36 (6), 625-634.
- Zhu, F. (2015). Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. *Trends in Food Science & Technology*, doi:10.1016/j.tifs.2014.12.008 Disponible online 3 enero de 2015.
- Zhu, L. J., Liu, Q. Q., Sang, Y., Gu, M. H., y Shi, Y. C. (2010). Underlying reasons for waxy rice flours having different pasting properties. *Food Chemistry*, 120, 94-100.
- Zobel, H. F. (1988). Starch crystal transformations and their industrial importance. *Starch/Stärke*, 40, 1-7.
- Zobel, H. F., Young, S. N., y Rocca, L. A. (1988). Starch gelatinization: X-ray diffraction study. *Cereal Chemistry*, 65, 443-445.