

SEGUIMIENTO DE LA MOLIENDA ABRASIVA DEL GRANO DE AMARANTO PARA LA OBTENCIÓN DE DOS FRACCIONES CON POTENCIAL INDUSTRIAL

CONTROL OF ABRASIVE GRINDING OF AMARANTH GRAIN TO OBTAIN TWO FRACTIONS WITH INDUSTRIAL POTENTIAL

CONTROLO DA MOAGEM ABRASIVO DE AMARANTO GRÃO PARA A OBTENÇÃO DE DUAS FRACÇÕES COM POTENCIAL INDUSTRIAL

DIEGO ROA-ACOSTA¹, CARLOS GONZÁLEZ-CALLEJAS², YIMY CALDERÓN-YONDA³

RESUMEN

El interés por el grano de amaranto se ha incrementado en los últimos años gracias a su gran potencial como alimento funcional. Se investigó el efecto de las condiciones de molienda abrasiva sobre el contenido de proteína, el índice de área aparente y los parámetros de color de la fracción almidonosa (FA). Se utilizó un diseño experimental Box-Benhken, involucrando 3 factores: humedad (8-12%b.s.), Carga del molino (100-200 g) y tiempo de procesamiento (30-90 min). Se usó el análisis de imagen para determinar el área aparente y el fotocolorímetro para determinar los cambios de color del grano procesado. El contenido de proteína/grasa, coordenadas CIELAB y área aparente fueron afectados por los tres factores, siendo poco significativo el efecto de la humedad. Los resultados mostraron la formación de fracciones almidonosa y lipoproteica (FLP), la fracción FA puede ser utilizada directamente en la molienda húmeda para la extracción de almidón,

Recibido para evaluación: 30 de Noviembre de 2016. **Aprobado para publicación:** 2 de Marzo de 2017.

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias. Ph.D. Química Industrial. Popayán, Colombia.

2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias. MBA. Popayán, Colombia.

3 Fundación PRODESIC, Coordinación Agroindustrial. Ing. Agroindustrial. Popayán, Colombia.

mientras que, la fracción FLP tiene gran potencial para la extracción de polipeptidos en el área nutraceutica.

ABSTRACT

Interest in the grain amaranth has increased in recent years due to its great potential as a functional food. The investigation showed the effect of milling abrasive conditions on protein/fat content apparent area index and color parameters of the starchy fraction (FA) of the amaranth grain. It used a experimental design Box-Benhken, involving three factors: humidity (8-12%b.s.), mill feed (100-200 g) and process time (30-90 min). Image analysis was used to determine apparent area index, while chroma meter was used to determine color changes. Protein/fat contents, the CIELAB coordinates and apparent area index were affected by three factors, being little significant effect of the humidity. Results showed the formation of a starchy fraction and other lipoprotein fraction (FLP). The starchy fraction can be used directly in wet milling to obtain native starch, while lipoprotein fraction has great potential in the extraction of polypeptides to nutraceutical area.

RESUMO

O interesse em amaranto grãos aumentou nos últimos anos graças ao seu grande potencial como um alimento funcional. Efeito das condições abrasivas de moagem sobre o conteúdo proteínas, índice de área aparente e parâmetros CIELAB da fração amido (FA) foi investigada. Foi utilizado desenho experimental Box-Benhken envolvendo três factores: umidade (8-12%b.s.), carga de moinho (100-200 g) e tempo de processamento (30-90 min). A análise de imagem foi usada para determinar a área aparente e colorimetria para determinar a mudança de cor. Conteúdo da proteína/gordura, coordenadas CIELAB e área aparente foram afetadas por três fatores, o efeito de a humidade não foi significativa. Os resultados mostraram a formação de fracções de amido e gorduproteica (FLP). A fracção amilácea pode ser utilizado na moagem por via húmida para obtenção de amido nativo. A fracção gorduproteica tem um grande potencial na área nutracêutico.

INTRODUCCIÓN

El amaranto es un grano pequeño aproximadamente de 0,9 a 1,7 mm. Las semillas son lisas, brillantes y de color amarillo crema, doradas y hasta negras, poseen notables propiedades nutricionales y se considera un pseudocereal [1]. Al amaranto se le han atribuido propiedades curativas, las cuales pueden asociarse a la fracción lipídica, a la fracción fenólica y la fibra dietética, es decir al contenido de ciertos tipos de lípidos, como el escualeno, los fitoesteroles y polifenoles existiendo numerosos trabajos en la bibliografía que demuestran sus propiedades antioxidantes [2, 3, 4]. Los estudios sobre el amaranto se han centrado en la extracción del almidón a partir del grano entero [5]. Se ha empleado la molienda húmeda asistida mediante molino planetario para disminuir los tiempos de maceración del grano y lograr un proceso más eficiente [6]. Sin embargo, son pocos

PALABRAS CLAVE:

Amaranto, Molienda, Almidón, Proteína

KEYWORDS:

Amaranth, Milling, Starch, Protein.

PALAVRAS-CHAVE:

Amaranto, Fresagem, Amido, Proteína.

los estudios que se han enfocado en la separación de las partes anatómicas del grano para lograr obtener la fracción rica en proteínas y lípidos (propiedades funcionales). Por esta razón se propone un proceso de molienda abrasiva para la obtención de dos fracciones con diferente composición química, esto con el fin de ampliar los usos industriales a este grano andino.

MÉTODO

Materiales

El material usado fue el grano de amaranto (*Amaranthus cruentus*) el cual fue provisto por Cereales Naturales S.R.L (Lomas del Mirador, Argentina) el cual fue cosechado al oeste de la provincia de Buenos Aires. Los granos se tamizaron con el fin de remover el material extraño y luego fueron almacenados en bolsas de polipropileno a 4°C hasta su uso. El grano entero y las fracciones FA y FLP obtenidas mediante la molienda abrasiva fueron sometidas a los métodos oficiales para determinar su composición química: contenido de agua (AOAC 2000, 925.09 método); almidón (AACC 1995, 76–11 método); proteína (AOAC 2005, 960.52 método); grasa (AOAC 2005, 925.12 método) estos métodos son utilizados para determinar la composición en los granos [1].

Molienda abrasiva

La fracción almidonosa y la fracción lipoproteica se obtuvieron por el método de molienda abrasiva, usando un molino de laboratorio Suzuki MT- 95 (Suzuki, San Pablo, Brazil), mediante el cual se logra un rendimiento de separación del 70% para la fracción FA y del 28% para FLP [7].

Diseño experimental Box-Benhken

Para analizar el efecto de las condiciones de operación como la humedad, carga y tiempo, sobre el índice de área aparente (IAP), concentración de proteína y grasa, grado de homogenización aparente (HA) y parámetros de color CIELAB* (Comisión Internacional de la Iluminación), se empleó el método de superficies de respuesta (MSR) bajo el diseño experimental Box-Benhken. Los rangos de humedad (8%-12%b.s.), bach (100-200 g) y tiempo de procesamiento (30-90min) fueron estimados con base en ensayos preliminares.

El diseño Box-Benhken se comporta según la función polinómica de segundo grado en términos de variables codificadas:

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{i=1}^n a_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=2}^n a_{ij} X_i X_j \quad (\text{Ec.1})$$

Dónde a_0 , a_i y a_{ij} representan los coeficientes correspondientes a los términos constante, lineal y cuadrático respectivamente. La interacción entre los factores estudiados está dada por el coeficiente a_{ij} . Se aplicó una codificación lineal asignando los valores codificados 1 y -1 a los extremos superior e inferior del rango experimental establecido para cada una de las variables. Los factores codificados fueron X1 para la humedad, X2 para la cantidad de grano en la cámara de pulido y X3 para el tiempo de operación [7]. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el programa estadístico Statgraphics Plus ® versión 5.1 (Statistical graphics Corporation, Princeton, New Jersey, Estados Unidos de América).

Determinación del índice del área aparente

Las imágenes fueron adquiridas por triplicado mediante un scanner Hewlett-Packard PSC 1610. Para mejorar el estudio de las imágenes se empleó un fondo negro y se adoptó una escala milimetrada como patrón de referencia. Cada imagen contenía entre 250-300 granos de amaranto procesado (FA).

La imagen obtenida se procesó con el software ImageJ (versión 1.51i) de acceso libre en <http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>. Para el correcto análisis de imagen se normalizó la escala de trabajo (7800 pixel/mm), luego se binarizó la imagen (8 bit) [8], y se procesó con la función "Otsu".

La determinación del tamaño de partícula se realizó dentro del rango 0,2-1,4 mm². Este rango resultó de ensayos previos donde se encontró que valores menores a 0,2 mm² eran polvo o aglomeración de polvos, y valores mayores a 1,4 mm² indicaban la unión de semillas.

El programa ImageJ proporciona la distribución de área aparente: A_{10} , A_{50} , A_{90} (que representan los respectivos percentiles).

Determinación del índice de procesamiento abrasivo de las fracciones FA

El índice de procesamiento abrasivo (IPA) se calculó con base a la ecuación (2) utilizando las áreas aparentes de la fracción FA obtenidas por el procesamiento de las imágenes [7]:

$$IPA = 100 \left(\frac{AC - AA}{AC} \right) \quad (\text{Ec.2})$$

Donde el término (AA: es el área aparente de la fracción FA obtenida por el procesamiento de la imagen) y (AC: es el área aparente de la fracción FA en tiempo cero obtenida por el procesamiento de la imagen).

Determinación del grado de homogeneidad aparente (HD) de las fracciones FA

El valor de la homogeneidad aparente (HD) se determinó con base a la frecuencia acumulada de las áreas aparente obtenidas bajo las diferentes condiciones del diseño experimental. La homogeneidad se determinó según Roa (2015) [7]:

$$HD = \frac{AA_{90} - AA_{10}}{AA_{50}} \quad (\text{Ec.3})$$

Dónde AA_{10} , AA_{50} y AA_{90} son los valores del área aparente correspondientes al 10%, 50% y 90% de la distribución acumulada.

Determinación de los parámetros CIELAB de las fracciones FA

Se utilizó un fotocolorímetro Minolta modelo CM-508-d (Japón) con el iluminante CIE D65 y un ángulo de observación de 2°. Las componentes del sistema CIELAB (L, a, b) y la función ΔE se midieron por triplicado para cada muestra de la fracción FA. El ΔE se calculó mediante la ecuación (4).

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{0.5} \quad (\text{Ec.4})$$

RESULTADOS

Selección del rango de humedad

Humedades inferiores a 12% b.s son consideradas como seguras para mantener la calidad físico química y microbiológica de los cereales en condiciones de almacenamiento. Por otro lado, conseguir que el grano obtenga humedades inferiores a 8% b.s requiere tiempos largos de secado y un gran costo energético,

ya que valores de humedad del 8% b.s. son cercanos a los valores de humedad de monocapa (zona donde el agua interactúa fuertemente con la matriz sólida). Por lo tanto el rango de humedad elegido fue entre 8 y 12% b.s.

Selección del rango de la cantidad de granos en el molino

La cámara del molino de laboratorio Suzuki MT-95 fue diseñada para manejar un volumen de 160 cm³ de arroz, con el propósito de mantener la eficiencia de la cámara, se determinó que 128 (g) de amaranto equivalen al volumen arrocero, por lo tanto, para explorar el efecto del volumen de amaranto en la cámara de pulido se eligió una masa máxima de 200 (g) y una mínima de 100 (g).

Selección del tiempo de operación

Se prepararon 7 muestras (128 g) por duplicado y se procesaron durante tiempos comprendidos entre 0 y 120 minutos. Se realizó la captura de las imágenes de las fracciones FA obtenidas a diferentes tiempos y posteriormente se analizaron por medio del programa ImageJ obteniendo los valores de área aparente (AA). Se determinó que el tiempo de operación adecuado es de 90 minutos, ya que tiempos superiores de procesamiento provocan el empastamiento del molino y la aglomeración de polvo en las fracciones FA. Los efectos de adversos se vieron favorecidos por el aumento de temperatura.

Diseño box-behnken

En el cuadro 1 se logra observar las diferentes condiciones experimentales codificadas y el punto central del diseño identificado con las coordenadas 0,0,0. Se observó un descenso en el contenido de proteína desde 13,9% b.s hasta 4,96% b.s lo que equivale a una reducción del 64%, este contenido fue superior a los encontrados por Tosí (2000) [9] y Lindemboom (2005) [12], los contenidos superiores de proteína recuperada se deben al largo tiempo de operación. El contenido de grasa se comportó de una manera similar al contenido de proteína, indicando que durante el proceso de abrasión ocurre pérdida de estos compuestos, evidenciando la separación del germen del resto del grano. Se observó un cambio en el valor de ΔE desde 6,38 hasta 22,71 lo que indica que efectivamente la operación de abrasión cambió la propiedad física del color. Lo anterior se ve reflejado en el aumento

Cuadro 1. Factores y variables de respuesta del diseño Box Benhken.

X1	X2	X3	Proteína (%b.s.)	Grasa (%b.s.)	IAP	HA	ΔE	L	a	b
0	1	1	11,30	5,22	35,80	0,30	9,94	63,53	3,41	20,45
0	0	0	9,26	4,10	40,34	0,15	17,28	70,54	1,56	17,14
1	1	0	9,35	4,13	31,82	0,31	12,40	67,81	2,76	21,24
1	0	-1	13,90	6,36	15,72	0,21	6,38	66,84	3,72	24,36
0	0	0	8,71	3,48	41,29	0,18	19,44	72,25	0,92	15,95
0	1	-1	12,84	6,75	25,19	0,38	7,47	60,64	3,61	21,78
-1	0	-1	11,01	4,80	21,40	0,27	12,24	67,62	2,55	21,33
-1	0	1	6,72	2,53	37,50	0,19	19,69	72,89	0,90	16,30
0	-1	-1	11,91	5,14	32,77	0,21	12,92	69,28	2,30	22,74
0	-1	1	4,96	1,54	40,65	0,21	16,98	71,38	1,51	18,98
1	0	1	10,42	4,72	38,45	0,31	14,21	67,50	2,02	18,42
-1	-1	0	7,83	2,87	39,39	0,16	19,03	73,47	0,98	18,17
1	-1	0	5,59	1,86	40,34	0,20	22,71	75,96	0,24	15,45
-1	1	0	9,58	3,92	42,23	0,32	13,87	68,12	2,46	19,38
0	0	0	9,71	4,73	42,23	0,16	18,92	71,96	1,09	16,37

X1 (humedad), X2 (carga), X3 (tiempo), Factores codificados (variables operativas). IAP: índice de área aparente. HA: homogeneidad aparente. ΔE: variación del color. L,a,b parámetros CIELAB

de la luminosidad (L) y en el descenso del parámetro (a). Otro cambio en las variables de respuesta fue el aumento del índice IAP, esto significa que durante la abrasión, el amaranto pierde área superficial.

Efecto de las condiciones de operación sobre las respuestas del diseño.

Los efectos de las condiciones de operación se estudiaron mediante las superficies de respuesta para cada punto del diseño. Las figuras muestran los efectos principales de dos factores y mantiene constante el factor de menos relevancia. La figura 1 muestra el

efecto del tiempo de procesamiento y la cantidad de amaranto en la cámara de pulido. Puede observarse niveles bajos de proteína (región azul) en la fracción FA, cuando el grano es sometido a humedades bajas ($X_1 = -1$), tiempos altos y baja carga en la cámara de pulido. El análisis de los principales efectos mostro que el tiempo y la carga tiene un efecto lineal ($p\text{-value} < 0,05$) sobre el contenido de proteína remanente, esto quiere decir que cuando aumenta el tiempo de operación y disminuye la carga del grano, el contenido de proteína en FA disminuye.

Tosí (2000) [9] observó que el tiempo de operación y la temperatura de secado influenciaban de manera significativa la recuperación de una fracción proteica. La función del polinomio modela los datos con un R^2 de 0,88. El contenido de grasa en la fracción FA se comportó de manera similar al contenido de proteína, siendo los principales efectos el tiempo y la carga en la cámara de pulido.

En la figura 2 puede observarse el comportamiento del índice de área aparente con relación al tiempo de proceso y a la alimentación en el molino. El análisis estadístico mostró que el tiempo de operación fue la única variable que afectó significativamente el índice de área aparente, el

Figura 1. Superficie de respuesta para el contenido de proteína.

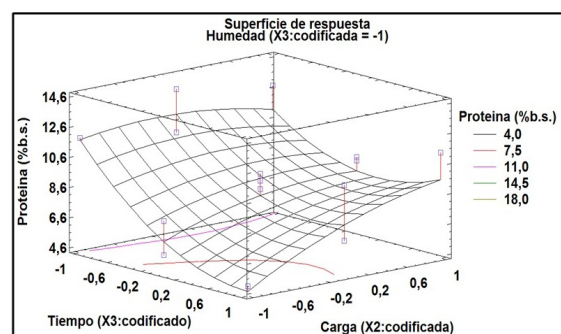
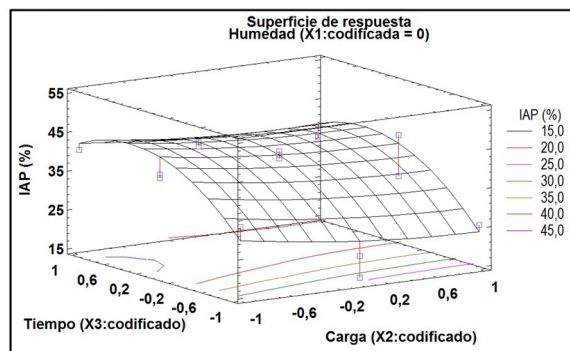
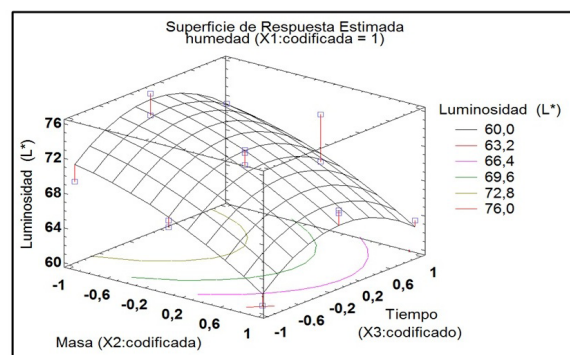


Figura 2. Superficie de respuesta para el índice de abrasión aparente.

IAP aumento con el incremento del tiempo, esto significa que el área del grano disminuye y simultáneamente la fracción FA pierde proteína y grasa.

El análisis estadístico evidenció el efecto cuadrático del tiempo, indicando que hay un tiempo óptimo de procesamiento, esto se debe a que durante el procesamiento la cámara de pulido eleva la temperatura e inician procesos de empastamiento y aglomeración de polvos sobre las fracciones FA, este fenómeno es evidente con la disminución gradual del IAP.

En la figura 3 se puede observar el comportamiento de la luminosidad (L). La carga en la cámara de pulido es la principal variable que afecta la luminosidad, cargas menores incrementan el valor de L, esto significa que la fracción FA incrementa su color blanco que corresponde al almidón nativo. En otras palabras, la operación de abrasión es más efectiva a niveles bajos de carga. En la figura 3 se observa una región de color naranja, en esta región se localiza los valores óptimos de la luminosidad ($L = 75,3$). Las condiciones operativas bajo las cuales se obtienen estos valores máximos

Figura 3. Superficie de respuesta de la luminosidad.

para la L es 100 (g) de amaranto con una humedad cercana al 12% b.s y un tiempo de molienda entre 60 a 69 minutos. Ponce (2015) [11] observó que en los tratamientos de molienda abrasiva o de trituración las propiedades físicas como el color cambian con la intensidad del tratamiento, ya sea que se incremente la luminosidad por el aumento del almidón o que se genere un cambio en el ΔE debido a procesos de oxidación de lípidos cuando las harinas son almacenadas.

Cada uno de los índices utilizados en el seguimiento de la molienda abrasiva indica regiones óptimas de trabajo diferente, por lo tanto, surge la necesidad de hacer un análisis de optimización multirespuesta. Las condiciones de operación multirespuesta son: (X1: -0,8); (X2: -1); (X3:0,6). La condición del diseño experimental que mejor satisface esta optimización es el punto 10, la cual corresponde a adecuar la humedad inicial del grano a 10%b.s, manteniendo la carga del grano en 100g en la cámara de pulido por un tiempo de procesamiento de 90 minutos.

El cuadro 2 muestra los contenidos de proteína, grasa y carbohidratos del grano entero de amaranto y de las dos fracciones FA y FLP que se obtienen después de la molienda abrasiva optimizada. Puede observarse un aumento significativo en los contenidos de grasa y de proteína en la fracción FLP, esto se debe a la acción abrasiva del molino, la cual desprende el germen y las capas constitutivas del pericarpio que son las partes anatómicas del grano ricas en estos compuestos. Por otro lado, el endospermo liberado del salvado constituye la fracción enriquecida en almidón o fracción amilácea (FA). Este comportamiento también fue registrado por Lindeboom (2005) [12] cuando utilizó un molino de abrasión tangencial para granos de quinoa. Por otra parte, en la cuadro 2 se detalla un incremento del 20% en el contenido de almidón en la fracción FA con respecto al grano entero, mientras que disminuyó considerablemente el conte-

Cuadro 2. Composición de las diferentes fracciones obtenidas por molienda abrasiva.

M	P (%)	L (%)	C (%)
A	16,8±0,1b	7,7±0,1b	73±0,4b
FA	5±0,1c	1,5±0,1c	87,7±0,1a
FLP	46,6±0,1a	23,2±0,1a	25,2±0,1c

M: muestra; **A:** grano entero; **FA:** fracción amilácea; **FLP:** fracción lipoproteica; **P:** proteína; **L:** lípidos; **C:** carbohidratos. Las diferentes letras (**a-c**) indican diferencias significativas.

nido de proteínas (70%) y el de lípidos (80%). De la misma manera, el contenido de lípidos se triplica y el de proteínas se multiplica por 2,77 en la fracción FLP en relación al grano entero. Cabe señalar que los niveles de enriquecimiento en las fracciones FA y FLP en este artículo fueron similares a los obtenidos por Tosi *et al.* (2000) [9] quienes lograron separar las fracciones del grano de amaranto combinando procesos de secado y molienda diferencial.

Posibles usos industriales de las fracciones FA y FLP

La fracción FA está compuesta principalmente por almidón microgranular con un diámetro de 1mm [1], tamaño menor al almidón obtenido de las fuentes tradicionales como maíz, papa y mandioca. La temperatura de gelatinización está entre los 65°C y 75°C y tienden a formar geles débiles debido a su bajo contenido en amilosa. Esta característica lo hace especial para la formulación de sopas instantáneas que no necesitan grandes cantidades de energía de gelatinización. Recientemente Roa y coautores [10] probaron la eficacia de esta fracción en procesos de encapsulación y retención de antioxidantes a diferentes condiciones de almacenamiento. Por otro lado, la fracción FLP ha mostrado interesantes propiedades farmacológicas, por ejemplo, en el uso de sus péptidos bioactivos. Estos péptidos tienen potencial como factores antitrombóticos [3] y como agentes antioxidantes [5].

CONCLUSIONES

La molienda abrasiva se mostró como un método eficiente para obtener dos fracciones con composición química diferente a partir del grano entero de amaranto. Los diferentes métodos químicos y físicos utilizados para el seguimiento de la operación de molienda fueron exitosos, ya que indicaron rangos de operación similares; lo que permitió encontrar un punto óptimo de molienda donde se maximizó el rendimiento de almidón para el grano pulido y paralelamente se incrementó el porcentaje de proteína y grasa en el salvado. Por medio de la molienda de abrasión se obtuvo un subproducto de altísimo valor nutricional sin la necesidad de extracciones químicas y la posterior generación de efluentes. La molienda abrasiva se perfila como un pretratamiento necesario a la molienda húmeda, que podría influir positivamente en los rendimientos de extracción del almidón nativo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de INNOVACAUCA y de la Universidad del Cauca por la financiación y divulgación de este artículo.

REFERENCIAS

- [1] ROA, D.F., SANTAGAPITA, P.R., BUERA, M.P. AND TOLABA, M.P. Amaranth milling strategies and fraction characterization by FTIR. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 2014, p. 2723-2731.
- [2] QUIROGA, A., BARRIO, D. and AÑÓN M. Amaranth lectin presents potential antitumor properties. *LWT - Food Science and Technology*, 60, 2015, p. 478-485.
- [3] SABBIONE, A.C., SCILINGO, A. and AÑÓN, M.C. Potential antithrombotic activity detected in amaranth proteins and its hydrolysates. *LWT-Food Science and Technology*, 60, 2015, p. 171-177.
- [4] MORONTA, J., SMALDINI, P., DOCENA, G. and AÑÓN, M. Peptides of amaranth were targeted as containing sequences with potential anti-inflammatory properties. *Journal of Functional Foods*, 21, 2016, p. 463-473.
- [5] ORSINI, M., TIRONI, V.A. and AÑÓN, M.C. Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 2011, p. 1752-1760.
- [6] Roa, D.F., BAEZA, R., Buera, M.P. and Tolaba, M.P. Effect of ball milling energy on rheological and thermal properties of amaranth flour. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2015, p. 8389-8394.
- [7] ROA D. Dry and wet grinding methods in planetary ball mill to obtain and characterize fractions of amaranth and its application as an encapsulating agent [Ph.D. Thesis Industrial Chemical]. Buenos Aires (Argentina): University of Buenos Aires, Faculty of Exact Sciences, 2015, p 40.
- [8] AGUDELO, L., SCHEBOR, C. and BUERA, M. P. Water content effect on the chromatic attributes of dehydrated strawberries during storage, as evaluated by image analysis. *LWT-Food Science* 52, 2014, p 157-162
- [9] TOSI, E., RE, E., LUCERO, H. and MASCIARELLI, R. Amaranth (*Amaranthus* spp.) grain conditioning to obtain hyperproteic flour by differential milling. *Food Science and Technology International*, 2000, p .60-63.